



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS E BIOTECNOLOGIA

ERISSANDRO DOS SANTOS SILVA

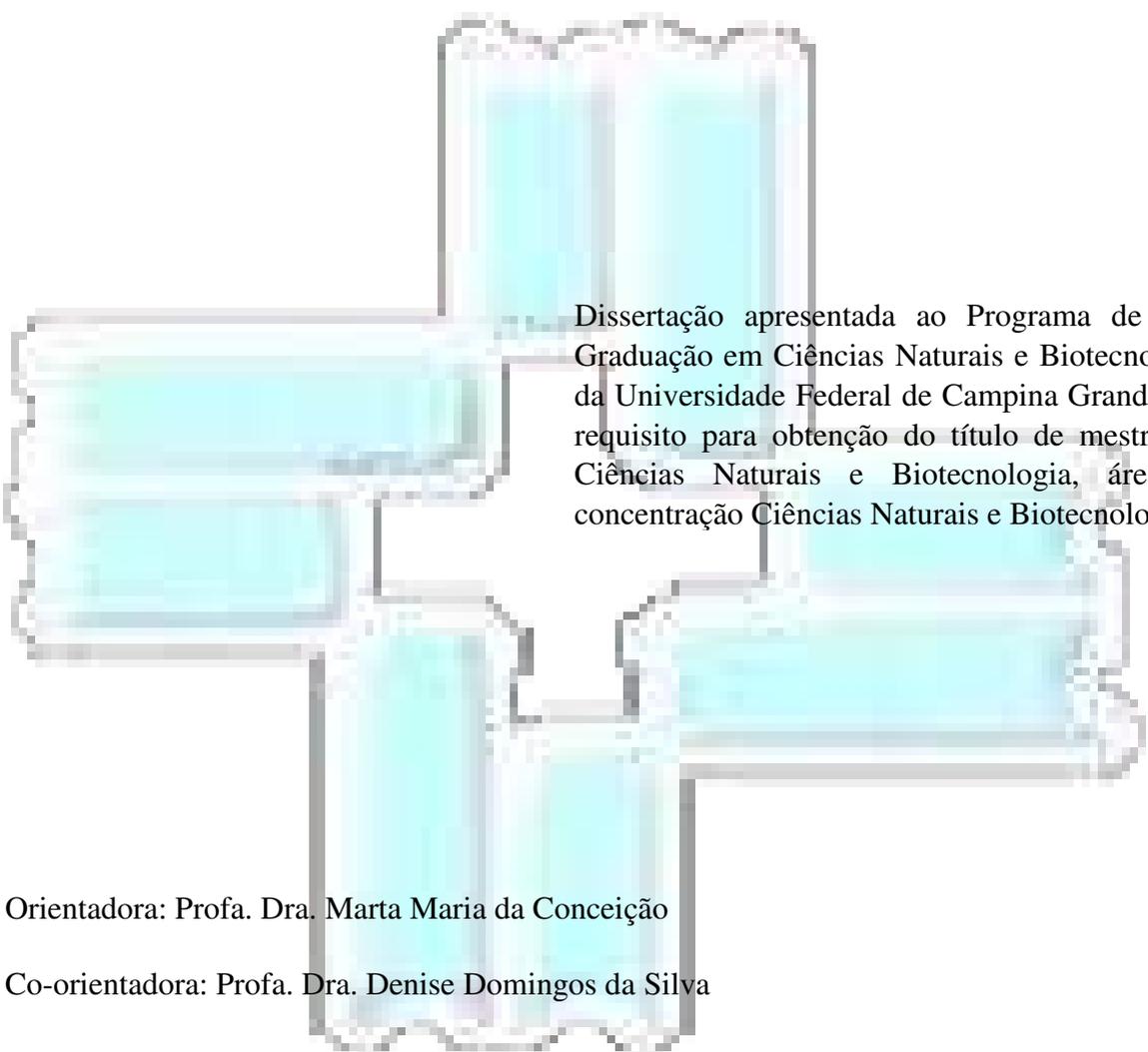
**AVALIAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS NA ESTABILIDADE DE
BIODIESEL DE SOJA**

CUITÉ-PB

2017

ERISSANDRO DOS SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS NA ESTABILIDADE DE
BIODIESEL DE SOJA**



Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais e Biotecnologia da Universidade Federal de Campina Grande, em requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Naturais e Biotecnologia, área de concentração Ciências Naturais e Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Marta Maria da Conceição

Co-orientadora: Profa. Dra. Denise Domingos da Silva

CUITÉ-PB

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

S586a Silva, Erissandro dos Santos.

Avaliação de antioxidantes naturais na estabilidade de biodiesel de soja. / Erissandro dos Santos Silva. – Cuité: CES, 2017.

72 fl. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais e Biotecnologia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2016.

Orientadora: Dra. Marta Maria da Conceição.

Coorientadora: Dra. Denise Domingos da Silva.

1. Biodiesel. 2. Maracujá. 3. Nim. 4. Biodiesel - biodegradável. 5. Biodiesel - estabilidade oxidativa. 6. *Passiflora edulis*. 7. *Azadirachta indica*. 8. Biodiesel de soja. 9. Extratos naturais - antioxidantes. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 546.40

**AVALIAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS NA ESTABILIDADE DE
BIODIESEL DE SOJA**

ERISSANDRO DOS SANTOS SILVA

Dissertação **Aprovada** em 24 de novembro de 2017 pela Banca Examinadora constituída dos seguintes membros:

Profa. Dra. Marta Maria da Conceição - UFPB (Orientadora)

Profa. Dra. Denise Domingos da Silva - UFCG (Co-orientadora)

Profa. Dra. Maria Elieidy Gomes de Oliveira - UFPB

Prof. Dr. José Carlos Oliveira Santos - UFCG

Dedicatória

Ao meu maravilhoso e grandioso Deus, pois nada disso seria possível sem a sua permissão. Aos meus pais, Maria Margarida dos Santos Silva e José Orlando Santos, os quais me deram a educação familiar e me ensinaram a dar os meus primeiros passos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por ter me fortalecido nos momentos difíceis e por me ensinar a vencer a batalha;

Aos meus pais, Margarida Maria dos Santos Silva e José Orlando Santos, pelo o amor, cuidado e dedicação em toda minha vida;

A minha esposa Francineide, por sempre me apoiar e aconselhar em todos os momentos;

Aos meus irmãos, Eriberto e Orlando, pelo companheirismo e as minhas irmãs, Jéssica, Maria José e Jeane pelas as palavras de incentivo;

A Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), ao Centro de Educação e Saúde (CES), localizado na cidade de Cuité-PB, e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais e Biotecnologia, pela oportunidade de realização desse mestrado;

A minha orientadora, Professora Dra. Marta Maria da Conceição, por ter acreditado no meu trabalho, por ter participado juntamente comigo da construção dessa dissertação, por ter me orientado de forma sincera e com bastante maestria. Quero expressar meu sentimento dizendo que aprendi muito com seus valiosos conselhos;

A Professora Dra. Denise Domingos da Silva, pela coorientação nesse trabalho, me aconselhando em vários momentos e por sempre me ajudar nos momentos que estive precisando;

Aos meus amigos Franklin, Aleir e Gustavo, por terem me acolhido em sua casa na cidade de João Pessoa - PB durante a realização desse trabalho. Quero agradecer pelas valiosas sugestões e contribuições na realização desse trabalho.

Aos meus colegas professores, aos meus alunos do ensino médio, aos funcionários e a minha amiga e nobre gestora da Escola Estadual de Ensino Médio Prefeito Aguitônio Dantas pelo o apoio dado nos momentos que eu mais precisei;

Aos amigos do Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB): Anderson, Maristela, Bruno, Alex e Gabrielly, pelas significativas contribuições durante a minha pesquisa;

Aos colegas de turma do mestrado, pelos laços de amizade formados e pela convivência harmoniosa que permitiu muitos aprendizados.

Obrigado a todos!

“Mesmo que lutar seja doloroso é necessário que lutemos, pois, nenhuma conquista vem sem luta e nenhuma liberdade é alcançada sem derramar suor por ela”.

Celso Gondin

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Reação geral de transesterificação.....	22
Figura 2 -	Etapas reacionais da reação de transesterificação.....	23
Figura 3 -	Mecanismo representativo da reação de transesterificação.....	24
Figura 4 -	Potencialidade brasileira para produção e consumo de combustíveis vegetais por região.....	25
Figura 5 -	Matriz energética do biodiesel nos anos de 2008 a 2015.....	26
Figura 6 -	Porcentagem (%) da produção total por produto no Brasil – safra 2015 /2016.....	27
Figura 7 -	Mecanismo de auto-oxidação.....	30
Figura 8 -	Mecanismo geral de ação de um antioxidante fenólico.....	31
Figura 9 -	Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos.....	32
Figura 10 -	Estrutura química de alguns compostos fenólicos presentes nas plantas: antocianinas, flavonóis, flavan-3-ols, ácido hidroxibenzóico, hidroxicinâmica e curcumina.....	33
Figura 11 -	Extratos obtidos após a evaporação dos solventes.....	36
Figura 12 -	Fluxograma geral de obtenção dos extratos.....	37
Figura 13 -	Sistema utilizado na síntese do biodiesel via transesterificação.....	41
Figura 14 -	Separação das fases mais leve (biodiesel) e mais densa (glicerina).....	41
Figura 15 -	Representação da purificação do biodiesel por lavagem.....	42
Figura 16 -	Fluxograma da síntese do biodiesel.....	43
Figura 17 -	Armazenamento das amostras de biodiesel.....	46
Figura 18 -	Cromatogramas do perfil dos compostos bioativos presentes nos extratos EEAM e EEAN.....	52
Figura 19 -	Espectros de infravermelhos dos extratos EEAN e EEAM.....	53
Figura 20 -	Curvas termogravimétricas dos extratos EEAM e EEAN.....	55
Figura 21 -	Espectros de absorção na região do infravermelho das amostras de biodiesel.....	56
Figura 22 -	Curvas termogravimétricas das amostras de biodiesel.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Principais ácidos graxos presentes no óleo de soja.....	28
Tabela 2	- Identificação dos extratos obtidos das folhas de maracujá e nim.....	35
Tabela 3	- Código das amostras do BMS sem aditivo e aditivadas.....	46
Tabela 4	- Conteúdo de fenólicos totais dos extratos obtidos das folhas de maracujá e nim.....	47
Tabela 5	- Atividade antioxidante dos extratos obtidos das folhas maracujá e nim pelo método de DPPH•.....	49
Tabela 6	- Compostos bioativos presentes nos extratos das folhas de maracujá e nim (expressos em mg do composto fenólico por 100g de extrato)	50
Tabela 7	- Dados termogravimétricos dos extratos EEAM e EEAN.....	54
Tabela 8	- Dados termogravimétricos das amostras de biodiesel sem aditivo e aditivadas.....	57
Tabela 9	- Índice de acidez (mg KOH/g) do biodiesel de soja sem aditivo e aditivado.....	59
Tabela 10	- Viscosidade cinemática a 40 °C (mm ² /s) das amostras de biodiesel de soja sem aditivo aditivado.....	60
Tabela 11	- Estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de soja no tempo zero.....	61
Tabela 12	- Estabilidade oxidativa das amostras de biodiesel durante armazenamento.....	62

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

ANP	Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis
BAM-2	Biodiesel aditivado com extrato das folhas de maracujá a 2000 ppm
BAM-3	Biodiesel aditivado com extrato das folhas de maracujá a 3000 ppm
BAN-2	Biodiesel aditivado com extrato das folhas de nim a 2000 ppm
BAN-3	Biodiesel aditivado com extrato das folhas de nim a 3000 ppm
BAT-2	Biodiesel aditivado com TBHQ a 2000 ppm
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-hidroxitolueno
BSA	Biodiesel sem aditivo
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DPPH•	Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EAM	Extrato acetônico das folhas de maracujá
EAN	Extrato acetônico das folhas de nim
EEAM	Extrato das folhas de maracujá obtido da mistura entre os solventes etanol e acetona
EEAN	Extrato das folhas de nim obtido da mistura entre os solventes etanol e acetona
EEM	Extrato etanólico das folhas de maracujá
EEN	Extrato etanólico das folhas de nim
EHM	Extrato hidroalcolico das folhas de maracujá
EHN	Extrato hidroalcolico das folhas de nim
IA	ndice de acidez
PI	Período de indução
TBHQ	Terc-butil hidroquinona

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Atividade antioxidante total.....	39
Equação 2 - Rendimento do biodiesel.	42
Equação 3 - Índice de acidez	44
Equação 4 - Viscosidade cinemática	45

RESUMO

O biodiesel apresenta vantagens em relação ao diesel do petróleo, a exemplo da renovabilidade e biodegradabilidade, porém a sua baixa estabilidade oxidativa é uma desvantagem, sendo necessária a adição de antioxidantes para inibir o processo oxidativo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência dos extratos naturais das folhas de maracujá e nim no controle do processo oxidativo do biodiesel metílico de soja durante 60 dias de armazenamento. Os extratos naturais foram obtidos a partir das folhas de maracujá (*Passiflora edulis*) e nim (*Azadirachta indica*), por maceração, e utilizando como solventes etanol, acetona, a mistura etanol/acetona (1:1) e etanol/água (80:20). O potencial antioxidante dos extratos naturais foi avaliado pela determinação do conteúdo de fenólicos totais e pelo método de DPPH•. A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência foi usada para identificar e quantificar os compostos bioativos presentes nos extratos. O biodiesel de soja foi obtido pela reação de transesterificação na rota metílica, utilizando catálise alcalina. As técnicas usadas no monitoramento do processo oxidativo do biodiesel foram: índice de acidez, viscosidade cinemática e Rancimat. O biodiesel de soja foi caracterizado também por técnicas espectroscópicas e termogravimétricas. Os extratos que apresentaram maior atividade antioxidante foram os extratos de maracujá e nim obtidos da mistura dos solventes etanol:acetona. Através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência foram identificados como compostos majoritários presentes nos extratos de maracujá e nim: o ácido 2,5 diidroxibenzoico e o flavonóide rutina. As amostras de biodiesel sem adição de extrato e com extratos de nim e maracujá a 2000 ppm não alcançaram o limite mínimo de estabilidade oxidativa especificado no Regulamento Técnico da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. A amostra de biodiesel adicionada de extrato de nim a 3000 ppm apresentou índice de acidez, viscosidade cinemática e estabilidade oxidativa (período de indução de 8h) dentro da norma no tempo zero. No entanto, a estabilidade oxidativa não se manteve dentro da norma durante o armazenamento a 30 e 60 dias.

Palavras-chaves: Nim, Maracujá, Estabilidade.

ABSTRACT

Biodiesel has advantages over petroleum diesel, such as renewability and biodegradability, but its low oxidative stability is a disadvantage, requiring the addition of antioxidants to inhibit the oxidative process. The objective of this work was to evaluate the efficiency of the natural extracts of passion fruit leaves and neem in the control of the oxidative process of soybean methyl biodiesel during 60 days of storage. The natural extracts were obtained from (*Passiflora edulis*) passion fruit leaves and (*Azadirachta indica*) neem by maceration, and using ethanol, acetone, ethanol/acetone (1:1) and ethanol / water (80:20) as the solvent. The antioxidant potential of the natural extracts was evaluated by determining the total phenolic content and by the DPPH• method. High Performance Liquid Chromatography was used to identify and quantify the bioactive compounds present in the extracts. Soybean biodiesel was obtained by the transesterification reaction in the methyl route, using alkaline catalysis. The techniques used in the monitoring of the oxidative process of biodiesel were: acidity index, kinematic viscosity and Rancimat. Soybean biodiesel was also characterized by spectroscopic and thermogravimetric techniques. The extracts with the highest antioxidant activity were passion fruit extracts and neem obtained from the mixture of ethanol: acetone solvents. Through High Performance Liquid Chromatography were identified as major components present in the extracts of passion fruit and neem: 2.5 dihydroxybenzoic acid and flavonoid rutin. Samples of biodiesel without addition of extract and extracts of neem and passion fruit at 2000 ppm did not reach the minimum limit of oxidative stability specified in the Technical Regulation of the National Agency of Petroleum, Natural Gas and Biofuels. The sample of biodiesel added with neem extract at 3000 ppm presented acidity index, kinematic viscosity and oxidative stability (induction period of 8h) within the norm at time zero. However, oxidative stability did not remain within the norm during storage at 30 and 60 days.

Keywords: Neem, Passion fruit, Stability.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	20
2.1. Objetivo geral.	20
2.2. Objetivos específicos.	20
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
3.1. BIODIESEL	21
3.1.1. Reação de transesterificação.....	22
3.1.2. Matérias-primas na produção de biodiesel.	25
3.1.3. Biodiesel de soja	26
3.2. ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL.....	28
3.3. PROCESSO OXIDATIVO DO BIODIESEL	29
3.4. ANTIOXIDANTES	30
3.4.1. Antioxidantes sintéticos.....	31
3.4.2. Antioxidantes naturais.	32
3.5. Maracujá (<i>Passiflora edulis</i>)	33
3.6. Nim (<i>Azadirachta indica</i>)	34
4. MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1. LOCAL DE EXECUÇÃO	35
4.2. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.	35
4.3. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS.....	37
4.3.1. Determinação do conteúdo de fenólicos totais.	38
4.3.2. Determinação da atividade antioxidante	38
4.3.3. Identificação e quantificação dos compostos fenólicos por CLAE	39
4.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	40
4.5. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA.	40
4.6. OBTENÇÃO DO BIODIESEL METÁLICO DE SOJA	40
4.7. CARACTERIZAÇÃO DO BIODIESEL	44
4.7.1. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	44
4.7.1.1. Índice de acidez	44

4.7.1.2. Viscosidade cinemática	45
4.8. MONITORAMENTO DO PROCESSO OXIDATIVO DO BIODIESEL PELO RANCIMAT	45
4.8.1. Rancimat	45
4.9. ADITIVAÇÃO DAS AMOSTRAS DE BIODIESEL PARA ARMAZENAMENTO..	46
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
5.1. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS	47
5.1.1. Conteúdo de fenólicos totais.....	47
5.1.2. Atividade antioxidante pelo método de DPPH•	48
5.1.3. Identificação dos compostos bioativos nos extratos EEAM e EEAN por CLAE.....	50
5.1.4. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho.....	53
5.1.5. Análise termogravimétrica	54
5.2. SÍNTESE DO BIODIESEL.....	55
5.3. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho.....	56
5.4. Análise termogravimétrica	57
5.5. MONITORAMENTO DO PROCESSO OXIDATIVO DO BIODIESEL SEM ADITIVO E ADITIVADO DURANTE O ARMAZENAMENTO	58
5.5.1. Índice de acidez	59
5.5.2. Viscosidade cinemática	60
5.5.3. Estabilidade oxidativa no Rancimat.....	61
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1. INTRODUÇÃO

Os gases emitidos durante a combustão de combustíveis fósseis degradam a camada de ozônio, intensificam a poluição do ar, provocam o aumento da temperatura do planeta e afetam diretamente à saúde do ser humano (ARANSIOLA et al., 2012). Além disso, a crescente demanda por combustíveis fósseis vem sendo outra questão bastante preocupante, pois o petróleo é uma fonte de energia não renovável e o seu elevado consumo vem provocando o rápido esgotamento de suas reservas (HAJJARI et al., 2017).

Diante desse contexto, a busca por combustíveis menos poluentes, de origem renovável e que possam reduzir a dependência da sociedade em relação aos combustíveis derivados do petróleo é fundamental. Uma das alternativas em evidência atualmente são os biocombustíveis, a exemplo do biodiesel, que é produzido por transesterificação de óleos vegetais ou gordura animal, e pode ser empregado na substituição do diesel fóssil (DIAS et al., 2014).

Entre as vantagens do biodiesel em relação ao diesel destacam-se o fato do mesmo ser proveniente de matérias-primas renováveis, o seu caráter biodegradável e a baixa quantidade de gases poluentes liberados durante a sua combustão. Porém, por ser constituído por uma mistura de ésteres de ácidos graxos saturados e, principalmente, insaturados apresenta baixa estabilidade oxidativa, que é uma desvantagem técnica em relação ao diesel. Destacando-se o biodiesel de soja, que é o mais produzido no Brasil e adicionado de antioxidantes sintéticos.

O processo oxidativo do biodiesel durante o armazenamento gera compostos indesejáveis, a exemplo de peróxidos e hidroperóxidos, alterando suas propriedades, reduzindo o tempo de vida útil e ocasionando problemas no motor, como a corrosão (CREMONEZ et al., 2016).

Uma forma de inibir ou retardar o processo oxidativo do biodiesel é a adição de antioxidantes, os quais podem ser sintéticos ou obtidos de extratos de plantas (origem natural). Os antioxidantes naturais apresentam várias vantagens em relação aos antioxidantes sintéticos, tais como: são de origem natural, apresentam elevada biodegradabilidade, podem ser obtidos com menores custos (SPACINO et al., 2016).

O maracujá é uma planta comestível, ornamental e de flores exóticas, do gênero *Passiflora*, que engloba, aproximadamente, 450 espécies. A *Passiflora edulis* é uma das espécies mais conhecidas, popularmente chamada de maracujá amarelo, tem fácil adaptação a

regiões de climas tropicais. Sua aplicabilidade é vasta, pode ser utilizado, por exemplo, como um relaxante suave e apresenta atividade antioxidante (SILVA et al., 2013).

O nim é uma árvore de origem indiana, pertencente à família das *Meliáceas* e cientificamente é conhecida como *Azadirachta indica*. Apresenta múltiplas aplicações, tais como: controle de pragas, produtos farmacêuticos, cosméticos e produção de madeira (TAKASE et al., 2015).

Diante desse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante dos extratos obtidos das folhas de maracujá e nim, como também analisar a eficiência desses extratos naturais no controle do processo oxidativo do biodiesel metílico de soja durante 60 dias de armazenamento.

1. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito de antioxidantes naturais presentes nas folhas de maracujá e nim no controle do processo oxidativo do biodiesel metílico de soja durante 60 dias de armazenamento.

2.2. Objetivos específicos

- Preparar extratos das folhas de maracujá (*Passiflora edulis*) e nim (*Azadirachta indica*) com diferentes solventes: etanol, acetona, mistura etanol/acetona e mistura etanol/água;
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos através do conteúdo de fenólicos totais e pelo sequestro do radical livre DPPH•;
- Identificar e quantificar os compostos bioativos presentes nos extratos;
- Caracterizar os extratos de maior atividade antioxidante por técnicas espectroscópicas e termogravimétricas;
- Sintetizar o biodiesel a partir do óleo de soja pela transesterificação na rota metílica;
- Caracterizar o biodiesel metílico de soja por técnicas espectroscópicas e termogravimétricas;
- Monitorar o processo oxidativo do biodiesel metílico de soja sem adição de extrato e com extratos de maracujá e nim durante 60 dias de armazenamento.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. BIODIESEL

A procura por combustíveis alternativos que emitam menos gases poluentes e que possam substituir os combustíveis fósseis derivados do petróleo vem se tornando cada vez mais necessário (RASHEDUL et al., 2014). Diante desse contexto, a conversão de biomassa em biocombustíveis provenientes de fontes renováveis surge como uma alternativa bem interessante (SOUZA et al., 2015).

Entre os biocombustíveis destacados atualmente se encontra o biodiesel, que é um combustível derivado de fontes renováveis e biodegradáveis, a exemplo de óleos vegetais e gordura animal. O biodiesel é obtido a partir da transesterificação e/ou esterificação de matérias graxas e é constituído por uma mistura de alquil ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia longa, devendo atender aos parâmetros de qualidade especificados pela Resolução de N° 45 da ANP (Brasil, 2014).

Diante desse contexto o biodiesel vem sendo considerado um possível substituto do combustível diesel derivado do petróleo (AVHAD; MARCHETTI, 2015), podendo ser usado misturado ao óleo diesel em diferentes proporções ou até mesmo empregado diretamente em motores diesel sem necessidade de modificações (CAN et al., 2016).

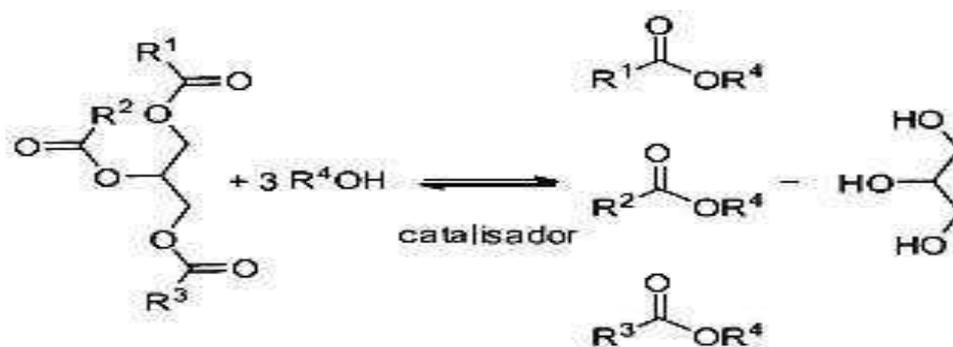
As principais vantagens do biodiesel em relação ao diesel do petróleo são: proveniente de fontes renováveis, biodegradável, não tóxico, pode ser obtido a partir de diversas matérias-primas, durante sua queima emite quantidades menores de dióxido de carbono (CO₂) e gera emprego e renda em sua cadeia produtiva (RACHEDUL et al., 2015). Essas vantagens tornam o biodiesel um combustível alternativo bastante promissor (YAAKOB et al., 2014).

Historicamente pode-se destacar dois fatos fundamentais que incentivaram a produção e o uso de biodiesel no Brasil: O lançamento e implementação do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel em 6 de dezembro de 2004 e o estabelecimento da Lei Federal 11.097 (Brasil, 2005), que além de tornar a comercialização do biodiesel no Brasil obrigatória, determinou também uma adição inicial de 2% de biodiesel ao óleo diesel, sendo que desde 1 de novembro de 2014 passou a ser de 7% (MATTEI, 2010).

3.1.1. Reação de transesterificação

A reação de transesterificação é a forma mais utilizada para obtenção de biodiesel no mundo. Na transesterificação os triacilglicerídeos que fazem parte da composição química dos óleos, gorduras vegetais ou animal reagem com um álcool de cadeia curta (álcool metílico ou etílico) na presença de um catalisador, produzindo no final da reação dois produtos, o glicerol e a mistura de ésteres metílicos ou etílicos (SAYDUTE et al., 2016), conforme se ilustra na Figura 1.

Figura 1 - Reação geral de transesterificação.

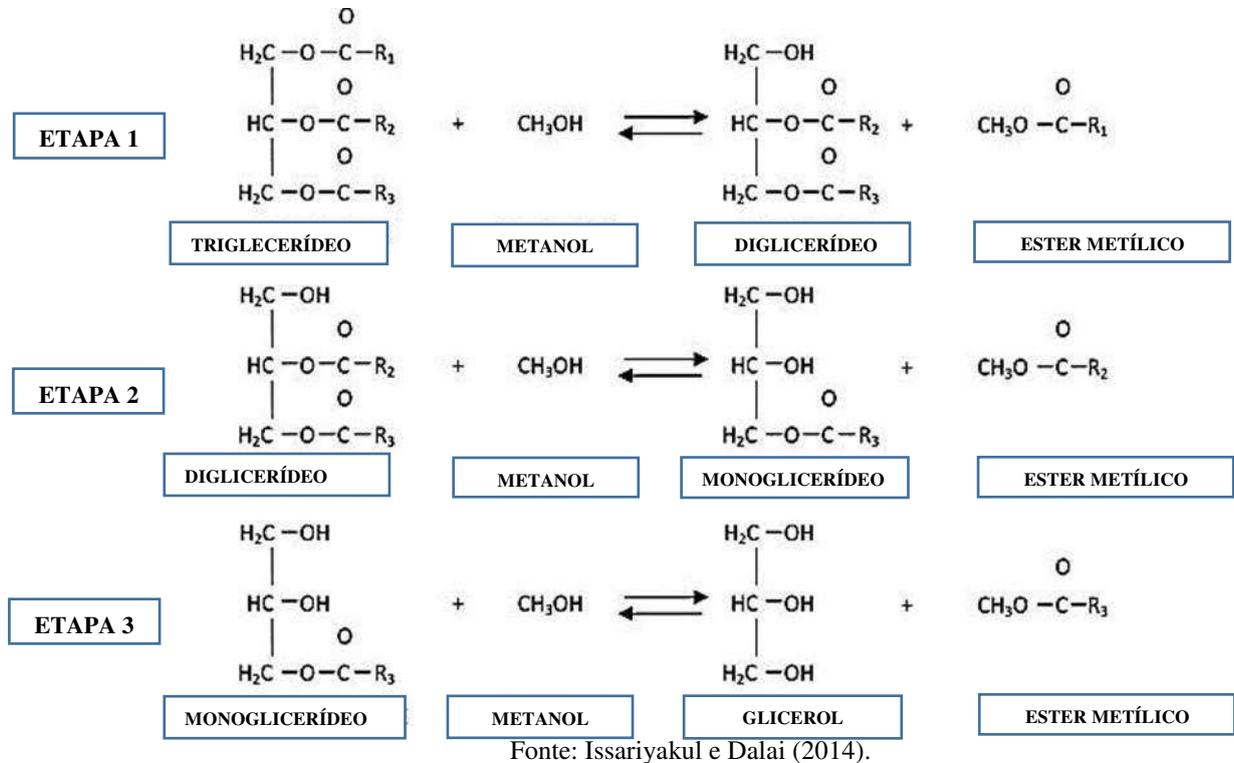


Fonte: Oliveira et al., (2013).

A transesterificação pode ser afetada por diversos fatores, tais como: temperatura, catalisador usado, quantidade e tipo de álcool utilizado, tempo reacional e o tipo de ácido graxo presente na composição química do óleo vegetal ou gordura (HONG et al., 2015). Em um estudo realizado por Aghel et al., (2013), que tinha como finalidade analisar como a variação de diferentes condições poderia afetar a produção de biodiesel de soja via transesterificação em um microrreator, constatou-se uma conversão máxima de 99%, utilizando uma concentração de 1,2% de hidróxido de potássio (KOH) e uma razão molar de 9:1. No mesmo estudo verificou-se também o efeito da temperatura na conversão, observando-se que um aumento da temperatura de 55 a 60 °C possibilitou conversões mais elevadas e que reações a 65 °C proporcionaram conversões mais baixas.

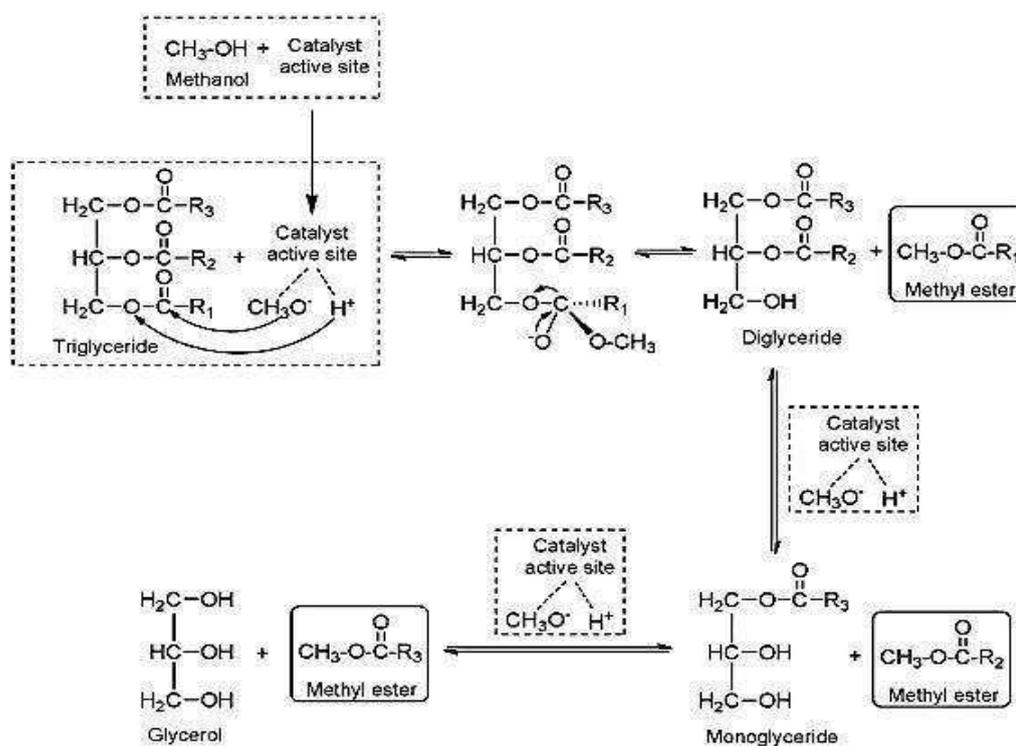
A transesterificação é uma reação que ocorre em três etapas reversíveis e consecutivas: na primeira etapa os triacilglicerídeos são convertidos a diacilglicerídeos, os quais são transformados em monoacilglicerídeos na segunda etapa, obtendo-se na última etapa duas fases, glicerol e biodiesel (SALES et al., 2016). As etapas que ocorrem na reação de transesterificação estão ilustradas na Figura 2.

Figura 2 - Etapas reacionais da reação de transesterificação.



O mecanismo da reação de transesterificação ocorre em três estágios, como se ilustra na Figura 3. O primeiro estágio está associado ao ataque do íon alcóxido (dependendo do álcool pode ser metóxido ou etóxido) ao carbono carbonílico da molécula do triglicerídeo para formar um intermediário tetraédrico. No segundo estágio, o intermediário tetraédrico reage com o álcool e o íon alcóxido é regenerado. No terceiro estágio ocorre o rearranjo do intermediário tetraédrico para formar éster de alquilo e diglicerídeo (ISSARIYAKUL e DALAI, 2014). Esse processo se repete até a obtenção do biodiesel e da glicerina.

Figura 3 - Mecanismo representativo da reação de transesterificação.



Fonte: Wu et al., (2017).

Os catalisadores utilizados na reação de transesterificação podem ser homogêneos, heterogêneos ou enzimáticos. Atualmente, os catalisadores básicos e homogêneos são mais usados na reação de transesterificação, pois são capazes de propiciarem tempos menores de reação e melhorar o rendimento (RAMOS et al., 2011). Por outro lado, a produção de biodiesel empregando catalisadores ácidos requer tempos de reação mais prolongados e ainda pode provocar corrosão no motor, não sendo assim tão viável (BERNARDO, 2010). Os catalisadores heterogêneos, por sua vez, vêm despertando um grande interesse, principalmente por apresentarem vantagens ambientais e por reduzirem significativamente o custo durante o processo de produção do biodiesel (MANEERUNG et al., 2016). Já os catalisadores enzimáticos apresentam como principal vantagem os benefícios ambientais, mas o elevado custo do catalisador dificulta o seu uso (BUDŽAKI et al., 2017).

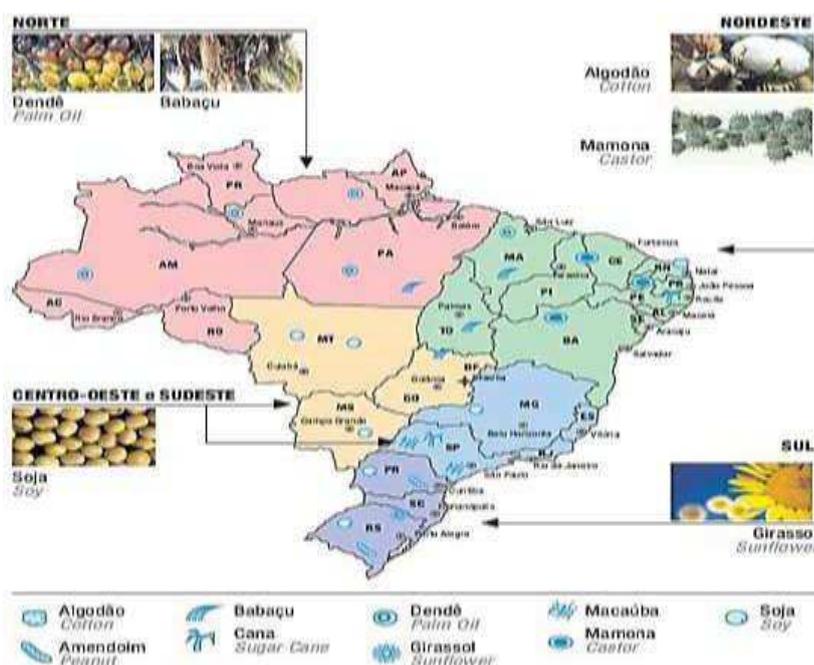
Geralmente se emprega na produção de biodiesel álcoois de cadeia curta, a exemplo do metanol e etanol, que são os mais utilizados (RASHEDUL et al., 2014). Apesar de ser tóxico, o metanol é o álcool mais usado na obtenção de biodiesel, principalmente devido ao seu baixo custo, propiciar reações menos demoradas, possibilitar uma separação espontânea entre a glicerina e a mistura de ésteres e elevar a taxa de conversão de triglicerídeos em ésteres (MAHESH et al., 2015). Por outro lado, apesar das limitações associadas a questões

técnicas e econômicas, o uso de etanol na obtenção de biodiesel torna o processo produtivo mais renovável, pois este álcool é proveniente da fermentação de biomassa (REIS et al., 2015).

3.1.2. Matérias-primas na produção de biodiesel

O Brasil possui uma grande diversidade de matérias-primas que podem ser utilizadas na produção de biodiesel (Figura 4). As matérias-primas usadas na obtenção de biodiesel podem ser óleos, gorduras e/ou produtos residuais, de origem vegetal ou animal, tais como: soja, girassol, canola, algodão, amendoim, mamona, pinhão-manso, palma, babaçu, sebo bovino e óleo residual de fritura (ZONIN et al., 2014).

Figura 4 - Potencialidade brasileira para produção e consumo de combustíveis vegetais por região.



Fonte: BIODIESELBR. (site)

A escolha da matéria-prima a ser usada na produção de biodiesel depende de alguns fatores, como custo, disponibilidade, localização geográfica, condições do solo e do clima regional (TAKASE et al., 2015). Além disso, a presença de ácidos graxos saturados e insaturados na composição química de óleos e gorduras também é outro fator importante na

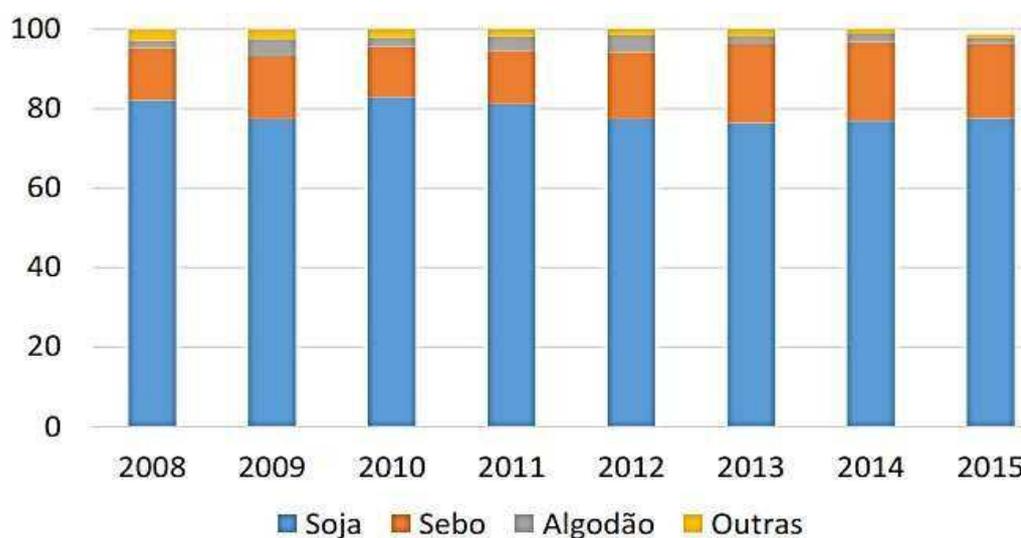
escolha da matéria-prima, pois estes influenciam no perfil dos ésteres alquílicos do biodiesel e em propriedades relevantes, a exemplo da estabilidade oxidativa (ABEDIN et al., 2015).

Os óleos e gorduras usados na obtenção do biodiesel apresentam predominantemente em sua composição ácidos graxos que se diferenciam pelas características da cadeia carbônica, levando-se em conta o tamanho, o número de carbono, e a existência e quantidade de insaturações presentes na cadeia carbônica do ácido graxo (ARNAUD et al., 2017).

3.1.3. Biodiesel de soja

Atualmente a matéria-prima mais usada na obtenção de biodiesel no Brasil é o óleo de soja. Segundo Oliveira (2015), em 2015, o óleo de soja representou cerca de 76,5% do total de matérias-primas utilizadas na produção de biodiesel, seguido da gordura animal com 19,4%, do óleo de algodão com 2% e outros tipos de matérias-primas com um percentual de 2,4%. A predominância da soja como principal matéria-prima na obtenção de biodiesel é destacada na Figura 5.

Figura 5 - Matriz energética do biodiesel nos anos de 2008 a 2015.

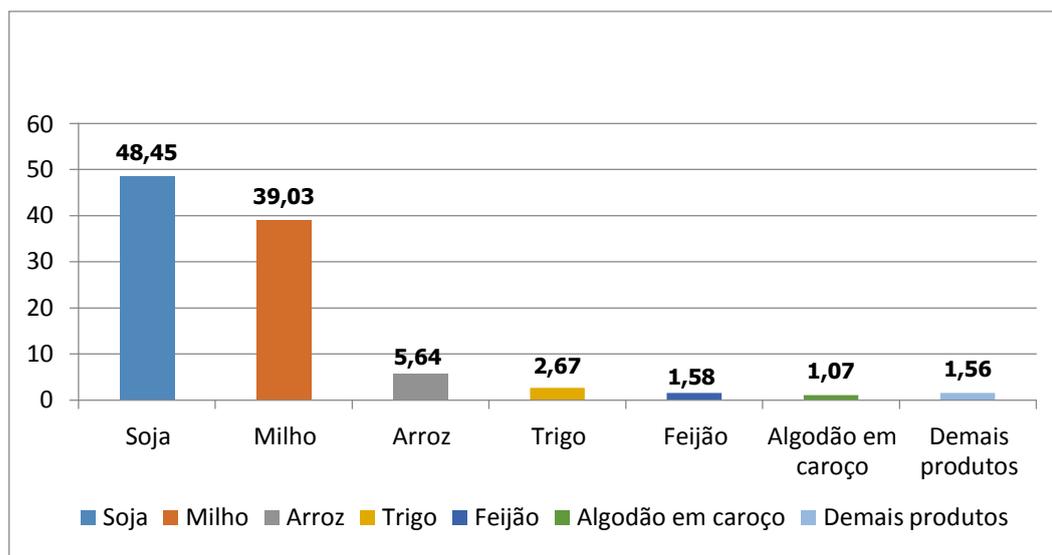


Fonte: LAVIOLA (2015).

A grande extensão territorial para o plantio, o potencial de água disponível, o clima propício, o uso intensificado da tecnologia e as condições de competitividade vêm contribuindo com o aumento da produção de grãos de soja no Brasil a cada ano, justificando assim a preferência pela soja em relação a outras matérias-primas na obtenção de biodiesel no Brasil.

Os dados divulgados pelo CONAB referentes à safra de 2015/2016 indicam claramente a elevada produtividade de soja frente a outras culturas agrícolas. A figura 6 destaca o potencial de produção de soja em relação à produção de milho, arroz, trigo, feijão, algodão e demais produtos no Brasil.

Figura 6 - Porcentagem (%) da produção total por produto no Brasil – safra 2015 / 2016.



Fonte: CONAB (Safra 2015/2016).

No cenário global o Brasil se encontra atualmente como um dos maiores produtores mundiais de grãos de soja, juntamente com os Estados Unidos e a Argentina. Segundo o CONAB as estimativas para safra de soja 2016/2017 é que o Brasil tenha uma produção em torno de 103 milhões de toneladas de soja em grãos, permanecendo assim como o segundo maior produtor de soja no mundo.

A Tabela 1 destaca os componentes presentes na composição química do óleo de soja.

Tabela 1 – Principais ácidos graxos presentes no óleo de soja.

Ácidos graxos	Estrutura	Quantidade (%)
-	< 14	< 0,1
Ácido Mirístico	C14:0	< 0,5
Ácido Palmítico	C16:0	7,0 – 14,0
Ácido Palmitoleico	C16:1	< 0,5
Ácido Esteárico	C18:0	1,4 – 5,5
Ácido Oleico	C18:1	19,0 – 30,0
Ácido Linoleico	C18:2	44,0 – 62,0
Ácido Linolênico	C18:3	4,0 – 11,0
Ácido Araquídico	C20:0	< 1,0
Ácido Eicosenoico	C20:1	< 1,0
Ácido Behênico	C22:0	< 0,5

Fonte: Adaptada de Meneghetti et al., (2013).

3.2. ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL

Diversos trabalhos existentes na literatura indicam que o biodiesel apresenta várias vantagens quando comparado ao diesel de petróleo, como a renovabilidade, não toxicidade, biodegradabilidade e a emissão de quantidades menores de gases poluentes durante a combustão (CHOONG et al., 2016). Contudo a sua baixa estabilidade oxidativa, que é definida como sendo um parâmetro que indica a capacidade do biodiesel em resistir às mudanças físicas e químicas decorrentes do processo oxidativo é considerada uma desvantagem técnica e limita seu uso comercial (KUMAR et al., 2017).

Em sua composição o biodiesel possui ácidos graxos insaturados de cadeia longa, o que o torna mais susceptível à oxidação do que o diesel de petróleo (FOCKER et al., 2016). Quando ocorre o contato entre o oxigênio do ar atmosférico e as insaturações dos ésteres dos ácidos graxos inicia-se o processo oxidativo do biodiesel por meio de várias reações radicalares, baixando sua estabilidade oxidativa (SILVA, 2015).

A estabilidade oxidativa do biodiesel também pode ser afetada durante o armazenamento, transporte e manuseio, se encontrando muitas vezes em condições que podem acelerar o processo oxidativo ao longo do tempo. Fatores como elevadas temperaturas,

absorção de umidade, presença de ar, contaminação por impurezas e o contato com superfícies metálicas também podem baixar a estabilidade oxidativa do biodiesel (FILHO et al., 2015).

A consequência da oxidação do biodiesel é a produção de hidroperóxidos, peróxidos, aldeídos, cetonas, ácidos e polímeros (BUOSI et al., 2016), os quais podem ocasionar a corrosão de diversas partes do motor, provocar o entupimento do pistão, bloquear a bomba de alimentação e gerar depósito de carbono no cabeçote, comprometendo assim o perfeito funcionamento do motor (PULLEN; SAEED, 2014).

O método mais usado para determinar a estabilidade oxidativa de biodiesel é o Rancimat (EN 14112) (SALUJA et al., 2016). O novo padrão europeu de biodiesel (EN 14214: 2014) especifica um método acelerado de ensaio de oxidação do biodiesel, que exige a determinação da estabilidade oxidativa do biodiesel a 110 °C com um período de indução mínimo de 8 h pelo método Rancimat (YANG et al., 2017). Nesse método a amostra é aquecida a 110 °C e exposta a um fluxo de ar, verificando-se no decorrer do tempo o aumento da condutividade da água deionizada à medida que as reações que geram compostos são intensificadas (WAZILEWSK et al., 2013).

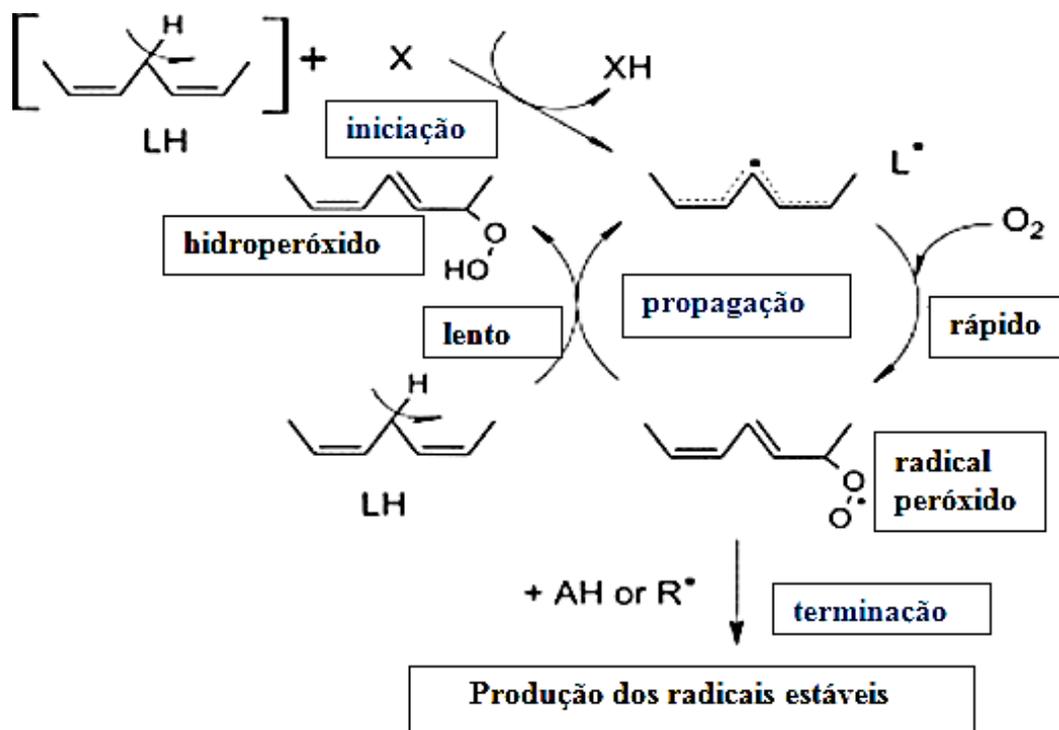
O monitoramento da estabilidade oxidativa do biodiesel também pode ser acompanhado pelos parâmetros físico-químicos de índice de acidez e viscosidade cinemática, pois a formação de compostos durante o processo oxidativo do biodiesel provoca como consequência um aumento nos valores de viscosidade e acidez (SANTOS et al., 2014).

3. 3. PROCESSO OXIDATIVO DO BIODIESEL

Os óleos e gorduras usados na obtenção de biodiesel apresentam na composição química ácidos graxos saturados e/ou insaturados. Os ácidos graxos que contêm dupla ligação são facilmente susceptíveis a oxidação, fazendo com que o biodiesel proveniente desses materiais tenham baixa estabilidade oxidativa (SANTOS et al., 2014).

Entre os processos naturais por meio do qual o biodiesel oxida pode-se destacar a auto-oxidação, onde ocorre uma série de reações radicalares, as quais se propagam nas insaturações dos ésteres na presença de oxigênio e em três estágios: iniciação, propagação e terminação, conforme se ilustra na Figura 7.

Figura 7 - Mecanismo de auto-oxidação.



Fonte: adaptada de Fattah et al., (2014).

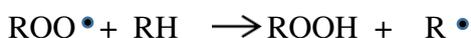
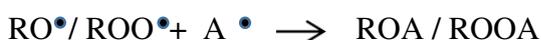
Na etapa de iniciação ocorre a remoção do hidrogênio bis-alílico do átomo de carbono adjacente à dupla ligação, formando assim uma base de carbono altamente reativa chamada de radical livre. Na propagação o radical livre formado anteriormente reage com o oxigênio diatômico produzindo hidroperóxidos e, subsequentemente, em um processo secundário ocorre a formação de outros compostos, como ácidos orgânicos de baixo peso molecular e cadeia curta, cetonas, aldeídos. Na etapa de terminação os radicais se estabilizam entre si por combinação forma-se um composto estável, como um polímero (YAAKOB et al., 2014).

3.4. ANTIOXIDANTES

A adição de antioxidantes no biodiesel é uma forma de se buscar inibir ou retardar sua oxidação, possibilitando assim uma melhora em suas propriedades e o prolongamento do seu tempo de vida útil (ROVEDA et al., 2016). A adição de antioxidantes é também uma forma de fazer com que o limite mínimo de estabilidade oxidativa para biodiesel estabelecido pelas normas de qualidade seja atingido, incentivando assim sua comercialização (AGUILAR et al., 2015).

De uma forma geral o que ocorre durante a ação de um antioxidante é a ruptura homolítica da ligação O–H e a transferência do átomo de hidrogênio da hidroxila para os radicais livres, possibilitando a formação de espécies inativas (RH, ROH e ROOH) e de radicais inertes (A) que se estabilizam por ressonância, inibindo assim as etapas de iniciação ou propagação do processo oxidativo (Figura 8).

Figura 8 - Mecanismo geral de ação de um antioxidante fenólico.



Fonte: Shahidi e Ambigaipalan (2015).

Onde: R^\bullet , RO^\bullet e ROO^\bullet são radicais livres; AH é o antioxidante com o átomo de hidrogênio; RH, ROH e ROOH são as espécies inativas e A o radical inerte.

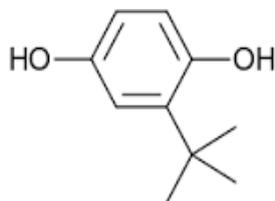
A classificação dos antioxidantes é feita com base no local em que estes atuam e no mecanismo de inibição frente aos radicais livres. De uma forma geral são classificados em primários, sinergistas, removedores de hidrogênio, agentes biológicos, quelantes e mistos (RAWAT et al., 2015). Entre os antioxidantes citados na classificação se destacam os primários, os quais apresentam uma estrutura fenólica que permite a doação de átomos de hidrogênio aos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da auto-oxidação, regenerando a molécula do éster e interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres (BORSATO et al., 2012). Outra forma de classificar os antioxidantes é de acordo com a origem, em sintéticos (citando como exemplo o TBHQ, BHT, BHA e PG) e naturais (citando como exemplo os tocoferóis e ácidos fenólicos).

3.4.1. Antioxidantes sintéticos

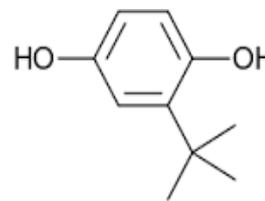
Na literatura se encontra vários trabalhos que descrevem o uso de antioxidantes sintéticos aditivados no biodiesel com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação, sendo que os mais utilizados são: tert-butil hidroquinona (TBHQ), hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisole butilado (BHA) e o galato de propilo (PG) (GARCIA et al., 2017), conforme se ilustra na Figura 9.

Figura 9 - Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos.

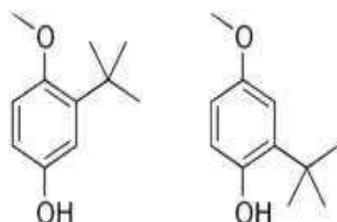
Terc-butil-hidroquinona (TBHQ)



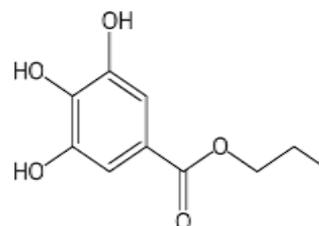
Hidroxitolueno butilado (BHT)



2 e 3-terc-butil-4-hidroxianisol (BHA)



Gallato de propilo (PG)



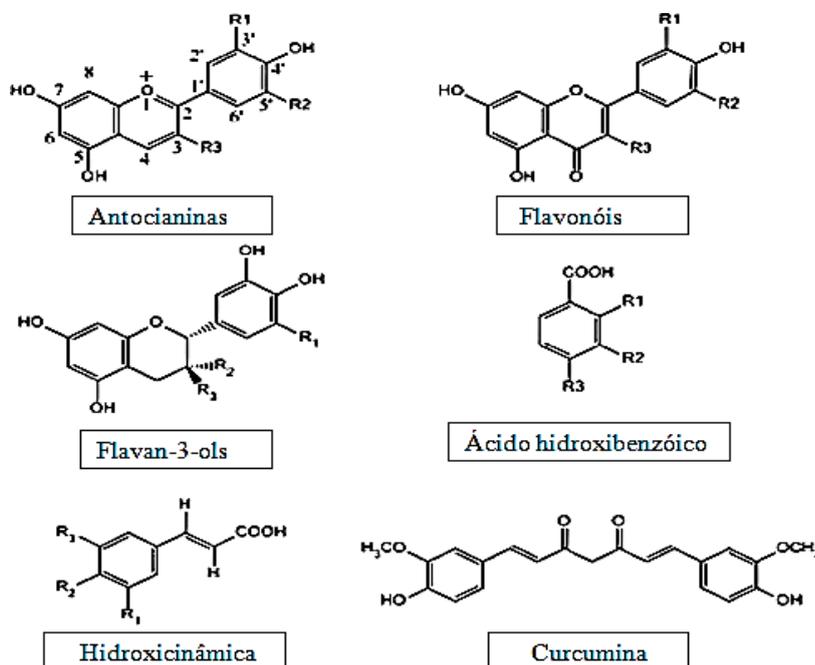
Fonte: Adaptada de Verma et al., (2015).

Zhou et al. (2017) analisou a eficácia dos antioxidantes sintéticos TBHQ, BHA, BHT, PY e PG na estabilidade à oxidação do biodiesel de óleo de cozinha, sendo o TBHQ o mais eficiente, pois foi o que exibiu o período de indução mais longo no método Rancimat. Buosi et al. (2016) estudaram em seu trabalho o efeito de antioxidantes sintéticos e naturais na estabilidade oxidativa do biodiesel de soja, onde constatou-se que o TBHQ se mostrou mais eficiente do que o BHT e BHA.

3.4.2. Antioxidantes naturais

Além dos antioxidantes sintéticos, outro tipo de antioxidante que vem ganhando destaque atualmente são os de origem natural, pois são renováveis e menos poluentes (SUVEGES; SILVA, 2014). Nas plantas já foram identificados mais de 8000 compostos fenólicos, os quais podem ser organizados em dois grandes grupos, os flavonóides (polifenóis) e não-flavonóides (fenóis simples ou ácidos), citando-se como exemplo de flavonóides os flavonóis, as flavonas, antocianinas e catequinas, e como exemplo de não-flavonóides os ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico (SILVA et al., 2010). A Figura 10 ilustra alguns destes compostos fenólicos encontrados na natureza.

Figura 10 - Estrutura química de alguns compostos fenólicos presentes nas plantas: antocianinas, flavonóis, flavan-3-ols, ácido hidroxibenzoico, hidroxicinâmica e curcumina.



Fonte: adaptada de Jia et al., (2016).

Os antioxidantes de origem natural apresentam em sua constituição compostos fenólicos, que são metabolitos secundários libertados sob a influência de estresses bióticos e abióticos múltiplos (CHEYNIER, 2012).

3.5. Maracujá (*Passiflora edulis*)

O maracujá é um fruto com aproximadamente 450 espécies de regiões tropicais e temperadas da América do Sul (SOARES et al., 2015). A espécie *Passiflora edulis*, pertencente à família das *Passifloraceae* e do gênero *Passiflora*, conhecida popularmente como maracujá amarelo, é uma das espécies mais cultivadas e consumidas no Brasil (CAZARIN et al., 2014).

Cerca de 120 espécies de *Passiflora* são nativas do Brasil, as quais são usadas como fonte de alimento de forma direta ou indireta (PERTUZATI et al., 2015). A boa adaptação do maracujá às condições do meio, a exemplo do clima, relevo, temperatura, tipo de solo e umidade do ar, vem colocando o Brasil como um dos maiores produtores de maracujá do mundo, possibilitando a geração de renda para os agricultores familiares em várias regiões do país (LIMA et al., 2017).

Em seu estudo Cazarin et al. (2015), destacaram vários trabalhos que indicam que o extrato obtido das folhas de maracujá da espécie *Passiflora edulis* possui atividade antioxidante contra danos oxidativo, apresentando também propriedades anti-inflamatórias. Investigando o potencial antioxidante *in vitro e in vivo* do extrato das folhas de maracujá Silva et al., (2013) destacou que o maracujá é uma fonte repleta de compostos bioativos, observando a presença de compostos antioxidantes, a exemplo dos polifenóis, os quais são capazes de retardar o processo oxidativo.

3.6. Nim (*Azadirachta indica*)

O nim é uma planta de origem asiática, identificada cientificamente como *Azadirachta indica*, pertencente à família das meliáceas, resistente, de rápido crescimento, e bastante conhecida pela sabedoria popular devido ao seu poder medicinal e repelente (PAES et al., 2015). A árvore do nim pode obter maturidade total em apenas 10 anos e ser cultivada em diversos tipos de solos, sendo capaz de tolerar condições climáticas extremas com elevadas temperaturas e podendo atingir uma altura de até 20 metros (BALAJI; CHERALATHAN, 2015). As folhas do nim são verde-escuras, as flores são de coloração branca e aromática, o fruto tem o formato de uma elipsóide com um comprimento entre 1,5 e 2,0 cm, o qual quando amadurece tem polpa amarelada e casca branca, contendo um óleo marrom dentro da sua semente (BENÍCIO et al., 2010).

A árvore do nim apresenta diferentes aplicabilidades, onde se destaca a possibilidade de reaproveitar a madeira, cascas, folhas e o óleo extraído das sementes. O óleo do nim tem múltiplos usos, como na produção de pesticidas e até mesmo cosméticos (NDE et al., 2015). Além disso, a planta do nim possui em suas diversas partes metabólitos secundários de natureza fenólica, como polifenóis, flavonóides e taninos (LORES et al., 2014).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. LOCAL DE EXECUÇÃO

A parte experimental deste trabalho foi realizada em duas universidades: Na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Educação e Saúde (CES), Cuité - PB realizaram-se os experimentos no Laboratório de Biocombustíveis e Química Ambiental e no Laboratório de Biotecnologia. Na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), localizada na cidade de João Pessoa – PB os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM).

4.2. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Os extratos naturais foram obtidos das espécies *Passiflora edulis* (maracujá) e *Azadirachta indica* (nim). As folhas de maracujá e nim foram coletadas em plantios localizados no município de Cuité-PB. Após a coleta as folhas de maracujá e nim foram secas em estufa de circulação de ar, marca New Lab NL 82-480, na temperatura de 50 °C durante 24 horas, trituradas em moinho de facas, marca Solab SL – 31 e tamisadas a 60 mesh. Em seguida, foram preparados oito extratos na razão de 1:10 (m/v), variando-se o material vegetal e o tipo de solvente (Tabela 2).

Tabela 2 - Identificação dos extratos obtidos das folhas de maracujá e nim.

Extrato	Folhas	Solvente	Código
1	Maracujá	Etanol	EEM
2	Maracujá	Acetona	EAM
3	Maracujá	Etanol/água (80:20)	EHM
4	Maracujá	Etanol/Acetona (1:1)	EEAM
5	Nim	Etanol	EEN
6	Nim	Acetona	EAN
7	Nim	Etanol/água (80:20)	EHN
8	Nim	Etanol/Acetona (1:1)	EEAN

*Extrato etanólico das folhas de maracujá (EEM), extrato acetônico das folhas de maracujá (EAM), extrato hidroalcolico das folhas de maracujá (EHM), extrato das folhas de maracujá obtido da mistura entre os solventes etanol e acetona (EEAM), extrato etanólico das folhas de nim (EEN), extrato acetônico das folhas de nim (EAN), extrato hidroalcolico das folhas de nim (EHN) e extrato das folhas de nim obtido da mistura entre os solventes etanol e acetona (EEAN).

Fonte: Própria.

Os extratos foram obtidos por maceração, deixando-se a mistura extrativa sob agitação em um Shaker por 3 horas a 150 rpm e a temperatura ambiente. Tanto para as folhas de maracujá quanto para as folhas de nim foram obtidos extratos etanólicos, acetônicos, da mistura etanol/acetona na razão 1:1 (v/v) e da mistura etanol/água na razão de 80:20 (v/v). A extração dos antioxidantes foi realizada em erlenmeyer de 250 mL, pesando-se inicialmente a massa de cada material vegetal e adicionando-se o volume de solvente necessário na extração.

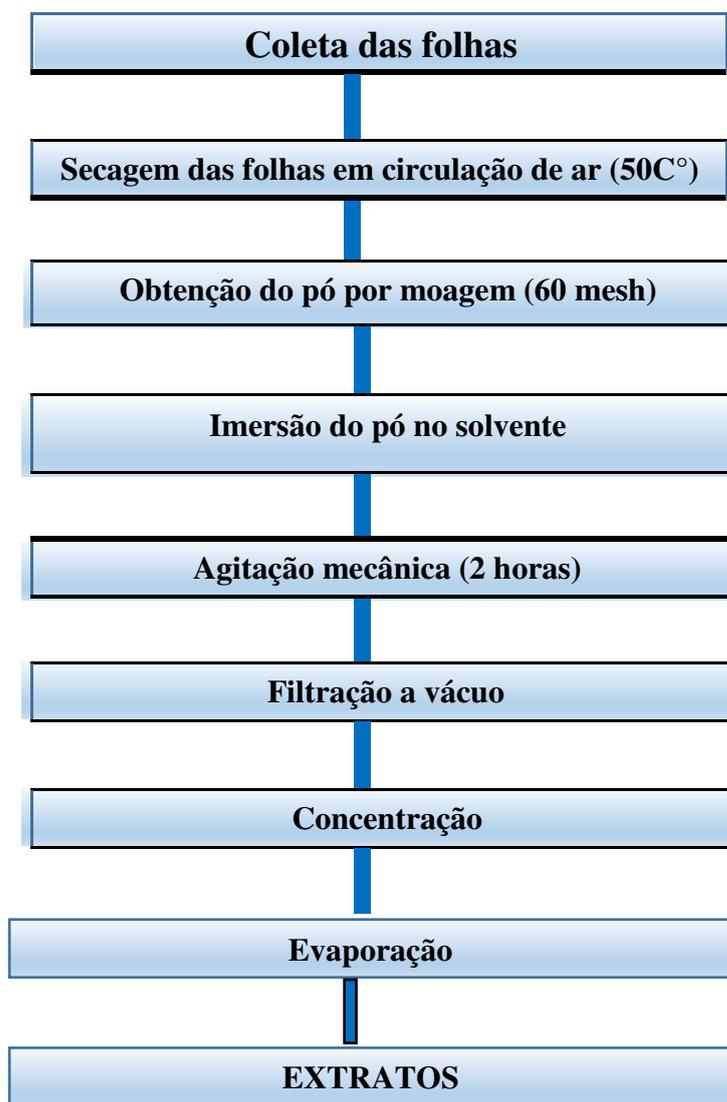
Em seguida, os extratos foram armazenados em frascos âmbar individuais e agitados manualmente uma vez por dia durante 48 horas, na ausência de luz e a temperatura ambiente (25°C). Os extratos obtidos foram filtrados a vácuo, concentrados sob pressão reduzida em evaporador rotativo na temperatura de 45°C. O líquido extrativo restante foi transferido para béqueres de 250 mL, os quais ficaram em repouso em local escuro até a completa evaporação do solvente, obtendo-se um extrato pastoso de coloração escura (Figura 11).

Figura 11 - Extratos obtidos após a evaporação dos solventes.



Fonte: Própria.

As etapas realizadas desde a coleta até a obtenção dos extratos estão ilustradas no fluxograma representado na Figura 12.

Figura 12 - Fluxograma geral de obtenção dos extratos.

Fonte: Própria.

4.3. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

A caracterização dos extratos foi realizada em três etapas: Na primeira etapa, objetivando definir os dois extratos naturais de maior potencial antioxidante foram determinados o conteúdo de fenólicos totais e a atividade antioxidante pelo método de DPPH• dos oito extratos. Na segunda etapa, os dois extratos de maior potencial antioxidante foram caracterizados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com o objetivo identificar e quantificar os compostos bioativos, que possivelmente, de forma isolada ou pelo sinergismo entre eles, são os responsáveis por suas atividades antioxidantes. Na última etapa,

os dois extratos de maior potencial antioxidante foram caracterizados pelas técnicas de Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho e Análise Termogravimétrica.

4.3.1. Determinação do conteúdo de fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais presente nos extratos das folhas de maracujá e nim foi determinado pelo método espectrofotométrico empregando o reagente de Folin-Ciocalteu (ROSSI; SINGLETON, 1965) com adaptações, em triplicata. Cada extrato foi diluído em etanol em uma concentração de 1,0 mg/mL. Os extratos foram transferidos para tubos de ensaios, adicionando-se em seguida uma alíquota de 300 µL de cada extrato e 60µL do reagente Folin-Ciocalteu, os quais foram agitados por 60 segundos. Posteriormente, acrescentou-se aos tubos de ensaio uma alíquota de 2460 µL de água destilada e 180 µL de uma solução de Na₂CO₃ a 15%, sendo novamente agitados por mais 30 segundos, resultando na concentração final de 100 µg/mL. As misturas obtidas nos tubos de ensaio foram deixadas em repouso a temperatura ambiente por 2 horas, na ausência de luz. Logo em seguida, para quantificar o teor de compostos fenólicos presentes nos extratos, realizou-se a leitura a 760 nm em Espectrofotômetro UV-Vis, marca Shimadzu, modelo UV 2550. O ácido gálico foi usado na curva padrão (0,001-0,020 mg/mL em etanol) e os resultados foram expressos em miligrama de equivalente de ácido gálico por grama do extrato seco (mg EAG/g).

4.3.2. Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada segundo a metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com adaptações. Inicialmente fez-se uma triagem preliminar adicionando-se às amostras dos extratos das folhas de maracujá e nim quantidades apropriadas da solução de DPPH• (23,6 µL/mL em EtOH), obtendo-se concentrações finais que variaram de 40 µg/mL a 100 µg/mL. Em seguida, alíquotas da amostra (1,0 mg/mL) foram misturadas com etanol e 2700 µL da solução de DPPH•. Para calibrar o espectrofotômetro UV-Vis a 517 nm foi utilizado como branco o álcool etílico. Para efeito comparativo com os antioxidantes obtidos a partir das folhas de maracujá e nim preparou-se também uma solução controle com o sintético TBHQ na concentração de 1,0 mg/mL e avaliou-se sua atividade antioxidante. As amostras dos extratos e o controle foram colocados em ambiente escuro por 30 minutos e, logo depois, em um espectrofotômetro UV-

Vis, marca Shimadzu, modelo UV2550, foi efetuada a leitura a 517 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Uma curva controle utilizando ácido ascórbico foi preparada (0,5 a 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Os resultados foram expressos através da determinação da % AAT atividade antioxidante total (Equação 1) e do valor da EC_{50} , construindo-se com os valores obtidos um gráfico da % AAT versus a concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

$$\% \text{ AAT} = 100 \times \left(\frac{\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}}{\text{Abs controle}} \right) \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que:

- Abs controle = é a absorbância da solução etanólica do radical DPPH•
- Abs amostra = é a absorbância do radical na presença do extrato ou do padrão ácido ascórbico.
- % AAT = atividade antioxidante total

A partir da equação da reta calculou-se o EC_{50} (concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% o radical DPPH• inicial da reação) e substituiu-se o valor de y por 50 para obtenção da concentração da amostra com capacidade de reduzir 50% do DPPH•. Quando uma amostra de um antioxidante apresenta um elevado consumo DPPH•, tem-se um baixo valor de EC_{50} e, conseqüentemente, uma maior atividade antioxidante na amostra.

4.3.3. Identificação e quantificação dos compostos fenólicos por CLAE

As análises cromatográficas foram realizadas em um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE) Shimadzu (Kyoto, Japão), equipado com um injetor automático Rheodyne 7125i e um detector UV/VIS. As colunas utilizadas foram uma coluna Shimadzu LC-18 (25 cm x 4,6 mm, 5 μm , da Supelco, Bellefonte, PA) e uma pré-coluna C-18 ODS Shimadzu. Para a identificação dos compostos fenólicos, as amostras foram eluídas com um sistema gradiente que consiste em solvente A (2% ácido acético, v/v) e solvente B (acetonitrila:metanol, 2:1, v/v), utilizados como fases móveis, com um fluxo de 1 mL/min. A temperatura da coluna foi

mantida a 25 °C e o volume de injeção foi de 20 µL. O sistema de gradiente iniciou-se a partir de 90% A a 0 min, 88% A em 3 min, 85% A em 6 min, 82% A em 10 min, 80% A em 12 min, 70% A em 15 min, 65% A em 20 min, 60% A em 25 min, 50% A em 30-40 min, 75% A em 42 min e 90% A em 44 min. A corrida cromatográfica total foi de 50 minutos. Os picos dos compostos fenólicos foram monitorizados a 280 nm. O software LabSolutions (Shimadzu) foi usado para controlar o sistema de LC-UV e de processamento de dados.

Os compostos fenólicos foram identificados por meio da comparação dos tempos de retenção com os padrões de ácidos fenólicos e flavonoides, sendo quantificados a partir de curvas de calibração e os cromatogramas foram registrados no software LabSolutions Data System.

4.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

A análise foi realizada em Espectrofotômetro Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), marca Shimadzu, modelo Prestige 21, na região de 4000 a 400 cm^{-1} utilizando o Método de Reflectância Atenuada (ATR).

4.5. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

As curvas termogravimétricas foram obtidas em Analisador Térmico Shimadzu, modelo DTG 60H, utilizando cadinho de alumina, 10 mg da amostra, razão de aquecimento de 10 °C min^{-1} , no intervalo de temperatura de 25 °C a 700 °C, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min.

4.6. OBTENÇÃO DO BIODIESEL METÍLICO DE SOJA

O biodiesel foi obtido a partir do óleo de soja comercial, o qual foi adquirido no comércio local. Em seguida, o óleo de soja foi submetido à medida do índice de acidez (conforme descrito no item 4.7.1.1) objetivando verificar se sua acidez estava adequada para a síntese do biodiesel.

O biodiesel foi sintetizado a partir da reação de transesterificação na rota metílica, utilizando-se um sistema com agitador mecânico, chapa de aquecimento, um béquer com capacidade de 1000 mL e um termômetro para monitorar a temperatura, conforme Figura 13.

Figura 13 – Sistema utilizado na síntese do biodiesel via transesterificação.



Fonte: Própria.

Objetivando deslocar o equilíbrio no sentido dos produtos e elevar o rendimento reacional da síntese foi utilizado um excesso de álcool metílico, preparando-se uma solução de metóxido de potássio (KOH + metanol) em uma proporção de 1:6 (óleo de soja/metanol) e 1% (m/m) de KOH como catalisador.

Inicialmente o óleo de soja foi aquecido até 45 °C sob agitação constante de 500 rpm. Em seguida, adicionou-se ao óleo a solução de metóxido de potássio (KOH + metanol) previamente homogeneizada, mantendo-se a temperatura de 45 C° e agitação constante por 1 hora. Após o tempo reacional a mistura foi deixada em repouso em funil de decantação por 24 horas para a separação (Figura 14) entre a fase mais densa (glicerina) e mais leve (biodiesel).

Figura 14 – Separação das fases mais leve (biodiesel) e mais densa (glicerina).



Fonte: Própria.

Após a completa separação das fases removeu-se a glicerina e iniciou-se o processo de purificação do biodiesel. A primeira etapa da purificação do biodiesel foi a realização da lavagem com uma solução de HCl ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) objetivando neutralizar o KOH usado na síntese e, posteriormente, lavou-se o biodiesel por três vezes com água destilada previamente aquecida até 40°C . Para evaporar a água presente no biodiesel realizou-se uma secagem à vácuo em temperatura de 80°C e depois para remover os traços de água persistentes no biodiesel adicionou-se Na_2SO_4 anidro e filtrou-se à vácuo. Na Figura 15 é ilustrada a etapa de purificação do biodiesel por lavagem.

Figura 15 – Representação da purificação do biodiesel por lavagem.

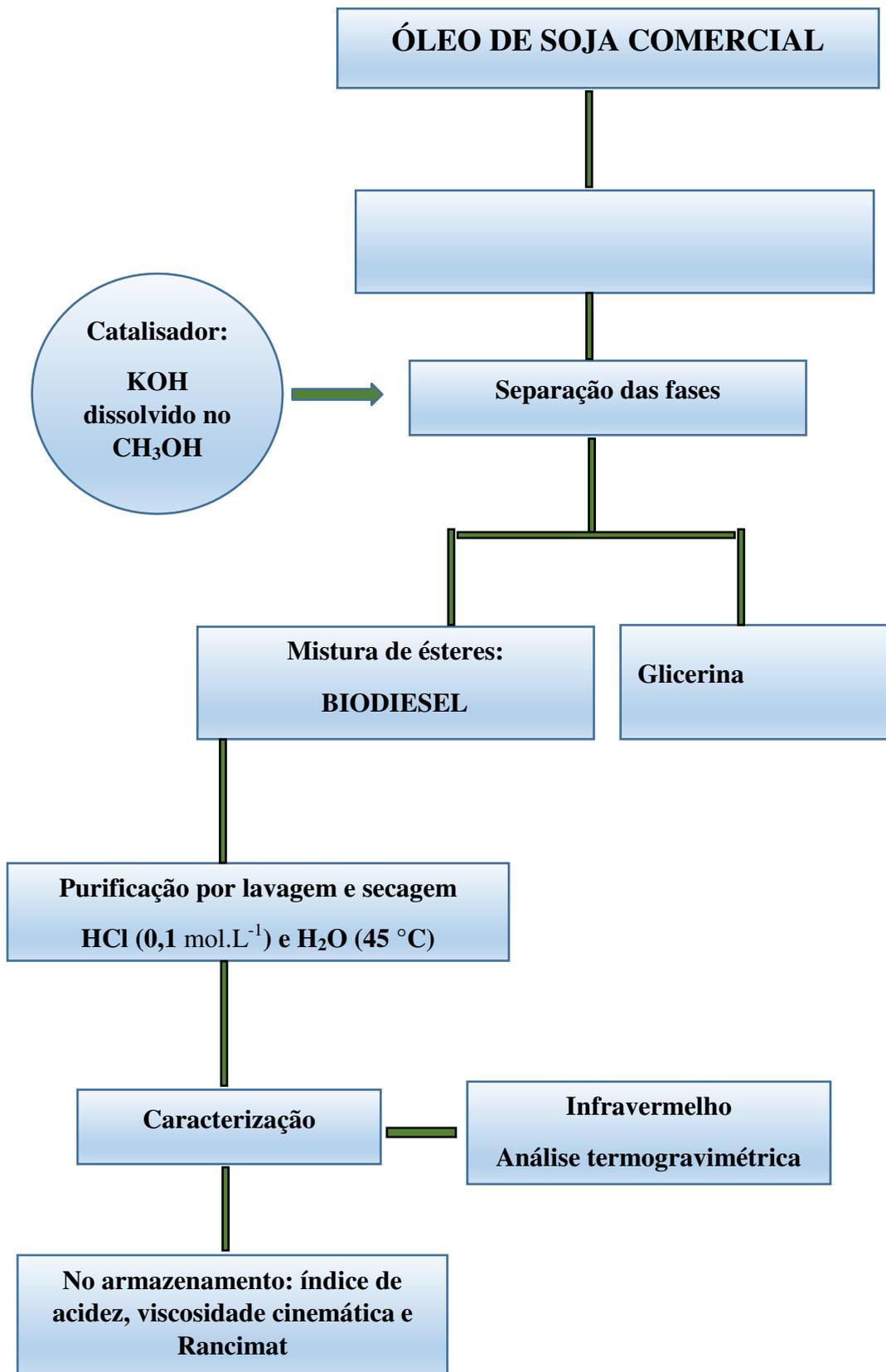


Fonte: Própria.

O rendimento do biodiesel metílico de soja foi calculado de acordo com a massa inicial do óleo de soja (M_i), e da massa final do biodiesel (M_f), conforme se destaca em Moura (2010). Assim, o valor do rendimento do processo reacional foi obtido pela Equação 2:

$$R = \frac{M_f}{M_i} \times 100\% \quad (\text{Eq. 2})$$

A Figura 16 ilustra as etapas realizadas durante o processo de síntese do biodiesel.

Figura 16 - Fluxograma da síntese do biodiesel.

Fonte: Própria.

4.7. CARACTERIZAÇÃO DO BIODIESEL

As amostras de BMS sem aditivo e aditivado com o antioxidante sintético TBHQ e extratos naturais foram inicialmente caracterizadas por técnicas espectroscópicas e termogravimétricas. Já o processo oxidativo do BMS sem aditivo e aditivado foi monitorado durante 60 dias de armazenamento pelas análises físico-químicas de índice de acidez e viscosidade cinemática, assim como pela medida do período de indução (PI) determinado através do método Rancimat. As propriedades do biodiesel foram determinadas de acordo com o Regulamento Técnico N° 03/2014 da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (ANP).

4.7.1. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.7.1.1. Índice de acidez

O Teor de ácidos graxos livres presente no biodiesel metílico de soja foi determinado pela medida do índice de acidez, conforme o método da ABNT NBR 14448. O índice de acidez se refere à quantidade de base (KOH ou NaOH) necessária para neutralizar os ácidos graxos livres em 2 g da amostra. Na medida do índice de acidez pesou-se 2 g da amostra em um erlenmeyer e adicionou-se 25 mL de solução éter - álcool na proporção de 2:1 previamente neutralizada com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 N. Logo depois, adicionou-se 2 gotas de fenolftaleína e titulou-se com uma solução de NaOH 0,1 N até a total neutralização, que é indicada pela coloração rósea da mistura (MORETTO; FETT, 1988). O índice de acidez foi então calculado pela Equação 3:

$$IA \text{ mg KOH por g} = \frac{v \times f \times 5,61}{m} \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que:

IA = índice de acidez em mg KOH por g de óleo

V = volume (mL) da solução de NaOH gasto na titulação;

f = fator de correção da solução de NaOH;

m = massa da amostra (g);

5, 61 = Equivalente grama do NaOH (solução 0,1 mol.L⁻¹)

4.7.1.2. Viscosidade cinemática

A viscosidade cinemática foi determinada conforme o método ABNT NBR10441, utilizando um viscosímetro Cannon-Fensk, onde se coloca a amostra em um tubo capilar de 100, imerso em um banho térmico Julabo modelo EQ-007 a 40 °C. Para haver o equilíbrio térmico entre o banho e amostra deixou-se a amostra em repouso durante 30 min. Após se atingir o equilíbrio térmico a amostra flui sob ação da gravidade e marca-se o tempo necessário para o escoamento completo da amostra. A viscosidade cinemática é calculada segundo a Equação 4.

$$v = t \times c \quad (\text{Eq. 4})$$

Em que: “v” representa a viscosidade cinemática (mm²/s); “t” o tempo de escoamento (s) e “c” a constante do viscosímetro.

4.8. MONITORAMENTO DO PROCESSO OXIDATIVO DO BIODIESEL PELO RANCIMAT

A técnica padrão usada para avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de soja sem aditivo e aditivado com os extratos obtidos das folhas de maracujá e nim e com o antioxidante sintético TBHQ durante 60 dias de armazenamento foi o Rancimat.

4.8.1. Rancimat

A estabilidade oxidativa do biodiesel foi determinada pelo método Rancimat, que consiste em um teste acelerado que expressa o resultado em período de indução (PI). As análises foram realizadas em equipamento Rancimat, modelo 873, marca Metrohm, sob fluxo constante de 20 mL de ar/h na temperatura de 110°C.

Amostras de 2 gramas de biodiesel sem aditivo e aditivado com os extratos naturais e sintético foram pesadas e colocadas em um vaso de reação sob fluxo constante de 20 mL de ar/h na temperatura de 110°C. O aquecimento acelerado das amostras provoca a formação de produtos voláteis oriundos da oxidação, os quais são arrastados para um recipiente contendo água deionizada e, através de uma célula, a condutividade elétrica da água é medida. Quando ocorre um aumento súbito na condutividade, em consequência da presença dos compostos

voláteis de baixo peso molecular, tem-se a indicação do período de indução (PI), o qual segundo as especificações do Regulamento Técnico ANP nº 03/2014 deve ser no mínimo de 8 horas.

4.9. ADITIVAÇÃO DAS AMOSTRAS DE BIODIESEL PARA ARMAZENAMENTO

As amostras de biodiesel metílico de soja (BMS) foram aditivadas com os extratos naturais das folhas de maracujá (etanol/acetona 1:1) e das folhas de nim (etanol/acetona 1:1) na concentração de 2000 ppm e 3000 ppm, bem como com o antioxidante sintético TBHQ na concentração de 2000 ppm (Tabela 3).

Tabela 3 - Código das amostras do BMS sem aditivo e aditivadas.

AMOSTRAS	CONCENTRAÇÃO (ppm)	CÓDIGOS
BMS sem aditivo	-	BSA
BMS aditivado com o extrato EEAM	2000	BAM-2
BMS aditivado com o extrato EEAM	3000	BAM-3
BMS aditivado com o extrato EEAN	2000	BAN-2
BMS aditivado com o extrato EEAN	3000	BAN-3
BMS aditivado com o TBHQ	2000	BAT-2

Fonte: Própria.

Após a aditivação das amostras de biodiesel determinou-se o período de indução (PI) no tempo zero através do equipamento Rancimat. O monitoramento do processo oxidativo do biodiesel sem aditivo e aditivado foi realizado durante 60 dias armazenado em cilindros de aço carbono grau C ASTM A 283 com capacidade de 1 L (Figura 17).

Figura 17 - Armazenamento das amostras de biodiesel.



Fonte: Própria.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A avaliação dos dados foi realizada pela aplicação da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey visando identificar diferenças significativas entre as médias, para isto foi utilizado o programa Sigma Stat. O nível de significância considerado para a diferença entre as médias foi de 5% ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

5.1.1. Conteúdo de fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais (expresso em equivalente de ácido gálico por g de extrato) dos extratos etanólicos, acetônicos, das misturas de solventes etanol/acetona na razão 1:1 (v/v) e das misturas de solventes etanol/água na razão de 80:20 (v/v) obtidos a partir das folhas de maracujá e nim estão indicados na Tabela 4.

Tabela 4 - Conteúdo de fenólicos totais dos extratos obtidos das folhas de maracujá e nim.

Extrato	mg GAE/g extrato
EEM	51,46 ±0,54 ^{ED}
EAM	35,12 ±0,41 ^H
EHM	58,92 ±0,83 ^{CB}
EEAM	61,94 ±0,65 ^A
EEN	49,05 ±0,31 ^F
EAN	40,09 ±0,82 ^G
EHN	52,68 ±0,61 ^D
EEAN	60,22 ±0,20 ^B

*Resultados expressos em média ± desvio padrão (n=3). ^{A-H}Média ±desvio-padrão com letras maiúsculas na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), entre as amostras.

Extrato etanólico das folhas de maracujá (EEM), extrato acetônico das folhas de maracujá (EAM), extrato hidroalcolico das folhas de maracujá (EHM), extrato das folhas de maracujá obtido da mistura entre os solventes etanol e acetona (EEAM), extrato etanólico das folhas de nim (EEN), extrato acetônico das folhas de nim (EAN), extrato hidroalcolico das folhas de nim (EHN) e extrato das folhas de nim obtido da mistura entre os solventes etanol e acetona (EEAN).

Fonte: Própria.

A análise dos dados da Tabela 4 indica que os valores de fenólicos totais dos oito extratos variaram de 35,12 ($\pm 0,41$) a 61,94 ($\pm 0,65$) mg GAE/g de extrato. O extrato obtido das folhas de maracujá usando a mistura etanol:acetona na proporção de 1:1 (EEAM) foi o que apresentou o maior conteúdo de fenólicos totais 61,94 ($\pm 0,65$) mg GAE/g, enquanto que o extrato obtido das folhas de maracujá utilizando acetona como solvente (EAM) foi o que apresentou o menor conteúdo fenólicos totais 35,12 ($\pm 0,41$) mg GAE/g. Os demais extratos obtidos das folhas de maracujá e nim apresentaram valores de fenólicos totais que ficaram entre os valores dos extratos EEAM e EEAN.

Muitos estudos existentes na literatura mostram que a polaridade do solvente pode afetar a extração de antioxidantes (CAMARGO et al., 2017; ZLOTEK et al., 2016; CHUEN et al. 2016). Os fenólicos totais (Tabela 4) dos extratos EAM e EAN apresentaram os menores conteúdos, indicando que a acetona usada isoladamente na extração foi menos eficiente. Já os extratos EHM e EHN apresentaram conteúdos de fenólicos totais maiores que os extratos EEM e EEN, indicando que ao se misturar água e etanol aumentou a polaridade do meio, tornando a extração mais eficiente. A mistura do etanol com a acetona pode ter facilitado à extração de antioxidantes que apresentam maior afinidade por meios apolares, como é o caso dos flavonóides, justificando assim o maior conteúdo de fenólicos totais encontrado nos extratos EEAM e EEAN.

Em um estudo realizado por Silva et al. (2013) o conteúdo de fenólicos totais encontrado no extrato aquoso das folhas de maracujá (*Passiflora edulis*) foi de 8,3 ($\pm 0,22$) mg GAE/g de extrato. Já Silva et al. (2014) investigaram o extrato aquoso das cascas da *Passiflora edulis*, encontrando conteúdo de fenólicos totais de 4,67 ($\pm 0,38$) mg GAE/g de extrato. Valores bem inferiores ao obtido neste trabalho.

Al-Jadidi e Hossain (2015) demonstraram que os extratos obtidos das folhas de nim (*Azadiractha indica*) por maceração e usando solventes de diferentes polaridades apresentaram conteúdo de fenólicos totais que variaram de 20,80-107,29 mg GAE/g de extratos.

5.1.2. Atividade antioxidante pelo método de DPPH•

A atividade antioxidante dos extratos obtidos das folhas de maracujá e nim foi expressa em EC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$), concentração de um antioxidante necessária para reduzir a

quantidade inicial do radical DPPH• em 50%. A eficiência da atividade antioxidante da amostra esta associada ao valor EC₅₀, pois quanto menor for este valor maior será a atividade antioxidante.

Todos os extratos obtidos das folhas de maracujá e nim apresentaram atividade antioxidante capaz de reduzir o radical DPPH•, porém com valores de EC₅₀ maiores que o valor de EC₅₀ do antioxidante sintético TBHQ usado como controle positivo, que foi de 3,47 µg mL⁻¹ (Tabela 5).

Tabela 5 - Atividade antioxidante dos extratos obtidos das folhas maracujá e nim pelo método de DPPH•.

Extrato	DPPH• EC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
EEM	46,04 ±0,04 ^{DE}
EAM	61,89 ±0,49 ^A
EHM	41,00 ±0,22 ^F
EEAM	37,52 ±0,09 ^H
EEN	47,96 ±0,27 ^C
EAN	57,93 ±0,35 ^B
EHN	45,23 ±0,38 ^E
EEAN	39,58 ±0,10 ^G
TBHQ	3,47

*Resultados expressos em média ± desvio padrão (n=3). ^{A-H} Média ±desvio-padrão com letras maiúsculas na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05), entre as amostras.

Extrato etanólico das folhas de maracujá (EEM), extrato acetônico das folhas de maracujá (EAM), extrato hidroalcolico das folhas de maracujá (EHM), extrato das folhas de maracujá obtido da mistura entre os solventes etanol e acetona (EEAM), extrato etanólico das folhas de nim (EEN), extrato acetônico das folhas de nim (EAN), extrato hidroalcolico das folhas de nim (EHN) e extrato das folhas de nim obtido da mistura entre os solventes etanol e acetona (EEAN).

Fonte: Própria.

Os valores de EC₅₀ determinados pelo método de DPPH• indicam que os dois extratos que apresentaram maior atividade antioxidante foram o extrato EEAM com valor de EC₅₀ de 37,52 (±0,09) µg mL⁻¹ e o extrato EEAN com valor de EC₅₀ 39,58 (±0,10) µg mL⁻¹. Como os extratos EEAM e EEAN foram os que apresentaram maior potencial antioxidante pelo método DPPH• foram escolhidos para aditivar o biodiesel metílico de soja e, assim, avaliar o efeito da sua adição na estabilidade oxidativa do biodiesel.

Recentemente Dhakal et al. (2016) estudaram a atividade antioxidante de extratos obtidos a partir das folhas de nim (*Azadirachta indica*), relataram valores de EC₅₀ de 80,28

$\mu\text{g mL}^{-1}$ para o extrato de metanol e $439,60 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o extrato de clorofórmio. Em outro estudo, Ekaluo et al. (2015) encontraram um valor de EC_{50} de $77,94 \mu\text{g mL}^{-1}$ nos extratos etanólicos das folhas de nim. Observa-se então que os valores de EC_{50} dos extratos das folhas de nim determinados neste estudo (Tabela 5) corroboram com os valores de EC_{50} relatados na literatura.

Objetivando avaliar a capacidade antioxidante de vegetais Komatsuna, Mizuna, Pok choi, Mitsuba, Salada de espinafre, Alface, Amarantho Vermelho e Amarantho Verde, Khanam et al. (2012) encontraram valores de EC_{50} que variaram de $33,07 (\pm 6,52) \mu\text{g mL}^{-1}$ (Salada de espinafre) a $72,16 (\pm 8,35) \mu\text{g mL}^{-1}$ (Pok choi), que são próximos dos valores de EC_{50} encontrados para os extratos das folhas de maracujá e nim deste trabalho.

5.1.3. Identificação dos compostos bioativos nos extratos EEAM e EEAN por CLAE

Os compostos bioativos majoritários identificados nos extratos obtidos das folhas de maracujá (EEAM) e nim (EEAN) estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Compostos bioativos presentes nos extratos das folhas de maracujá e nim (expressos em mg do composto fenólico por 100g de extrato).

Compostos bioativos	Extrato das folhas de maracujá (EEAM)	Extrato das folhas de nim (EEAN)
Ácidos fenólicos		
Ác. 3,4 diroxibenzoico	12,49	9,43
Ác. 4 Hidroxibenzoico	74,98	n. d.
Ác P Cumarico	512,37	47,14
Ác. Salicilico	n. d.	122,57
Ác. Siringico	162,46	n. d.
Ác. Sinapico	287,43	n. d.
Ác. Trans cinamico	87,45	9,43
Ác. Vanilico	n. d.	103,71
Ác. Cafeico	174,96	n. d.
Ác. Elagico	n. d.	622,28
Ác. 2,5 diidroxibenzoico	2624,34	858,00
Flavonóides		
Rutina	1512,12	1395,43

Miricetina	224,94	386,57
Quercetina	n. d.	28,28
Catequina	149,96	18,86
Total	5823,5	3601,7

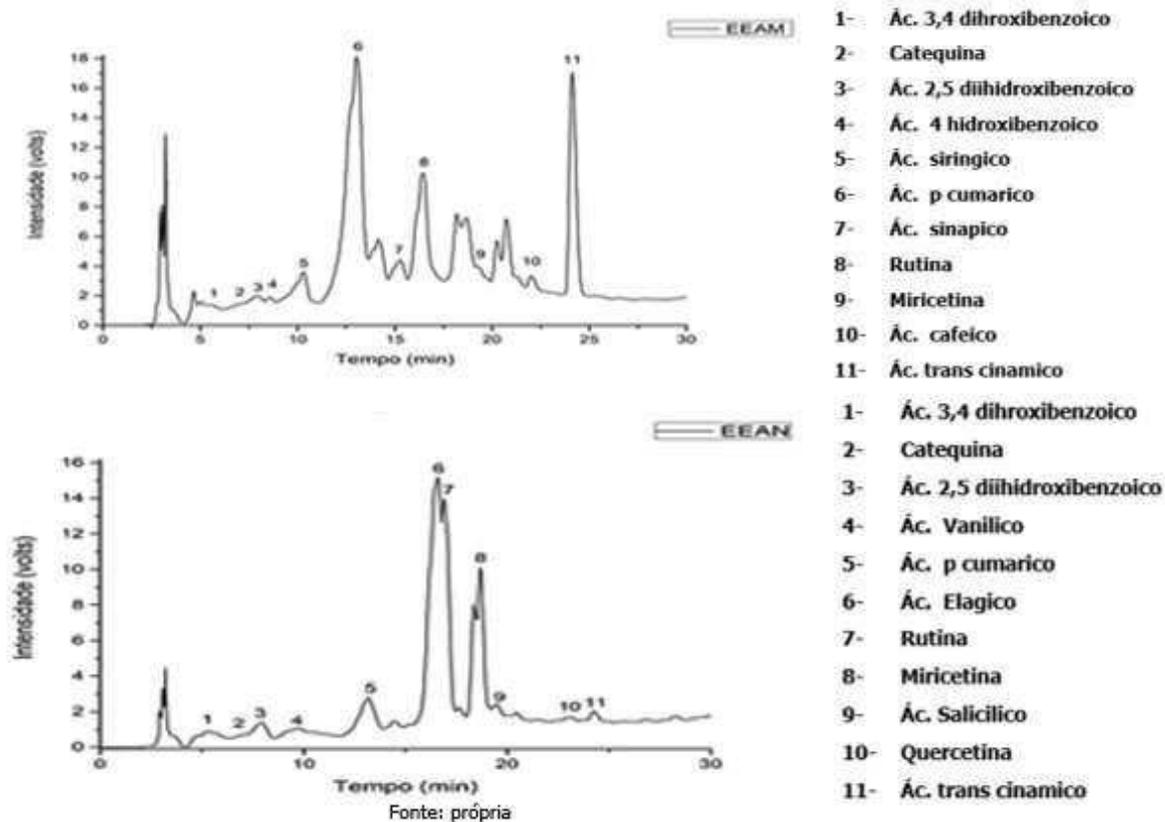
n. d. - não detectado. Fonte: Própria

Os dados destacados na Tabela 6 mostram que os extratos EEAM e EEAN obtidos das folhas maracujá e nim, respectivamente, apresentam quantidades significativas de ácidos fenólicos e flavonóides. Os compostos bioativos presentes na composição das plantas apresentam ação antioxidante (JIA et al., 2016).

Tanto no extrato EEAM quanto no EEAN identificou-se a presença dos seguintes ácidos fenólicos: 3,4 diroxibenzoico, p cumarico, Trans cinamico e 2,5 diidroxibenzoico. Os ácidos fenólicos salicilico, vanilico e elagico não foram identificados no extrato EEAM. Já no extrato EEAN não foram identificados os ácidos fenólicos 4 hidroxibenzoico, sinapico, siringico e cafeico.

Nos extratos EEAM e EEAN foram identificados os seguintes flavonóides: quercetina, rutina, miricetina e catequina. Todos esses quatro flavonóides foram identificados no extrato EEAN, enquanto que o extrato EEAM não apresentou a quercetina. É importante destacar que a identificação dos flavonóides rutina, miricetina e catequina no extrato EEAM é um dado relevante, pois não foi identificado na literatura trabalhos que relatem a presença desses flavonóides nos extratos das folhas de *Passiflora edulis*. A Figura 18 apresenta os cromatogramas obtidos para os extratos EEAM e EEAN, respectivamente.

Figura 18. Cromatogramas do perfil dos compostos bioativos presentes nos extratos EEAM e EEAN.



Em um estudo recente realizado por Gomes et al. (2017), observou-se no extrato etanólico das folhas de maracujá amarelo a presença da rutina, flavonóide que também foi identificado neste trabalho. Já Ayres et al. (2015) identificaram no extrato aquoso das folhas de maracujá amarelo (*Passiflora edulis*) a presença dos compostos bioativos vicianin-2, isoorientina, isovitexina, orientina, vitexina, espinosina e 6,8-di-C-glicosilcrisina, não identificados neste trabalho.

Um estudo realizado por Cristo et al. (2016) com o extrato etanólico obtido a partir das folhas de nim (*Azadiracht indica*) identificou a presença dos flavonóides rutina, quercetina e catequina. Em nosso estudo também foram identificados nos extratos das folhas de nim esses três flavonóides, corroborando assim com os resultados relatados na literatura.

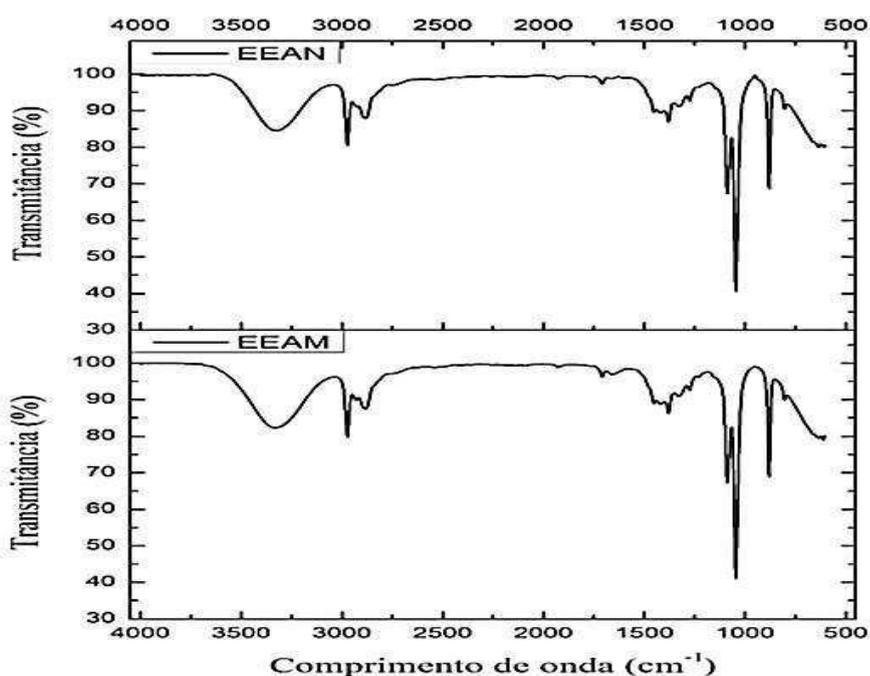
Através dos dados destacados na Tabela 6 observa-se que os compostos majoritários identificados e quantificados nos extratos EEAM e EEAN foram o ácido fenólico 2,5

diidroxibenzoico e o flavonóide rutina. A atividade antioxidante observada para ambos os extratos pode ser atribuída à presença significativa desses dois compostos bioativos e/ou ao sinergismo entre os diferentes compostos. No extrato EEAM a concentração de 2,5 diidroxibenzoico e rutina foram 2624,34 e 1512,12 mg 100⁻¹ g extrato. Já no extrato EEAN a concentração de 2,5 diidroxibenzoico e rutina foram 858,00 e 1395,43 100⁻¹ g extrato.

5.1.4. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de infravermelho referentes aos extratos obtidos das folhas de maracujá e nim (EEAN e EEAM), Figura 19, apresentaram as seguintes bandas de absorção: Banda larga atribuída à deformação axial da hidroxila O-H em 3345 cm⁻¹, que pode ser uma indicação da presença de compostos fenólicos; banda estreita em 885 cm⁻¹ referente a H isolado que pode estar presente em compostos aromáticos; em 2870 cm⁻¹ e 2970 cm⁻¹ atribuídas a deformação axial dos grupos CH₂ e CH₃; bandas de absorção em 1050 cm⁻¹ e 1090 cm⁻¹ referentes a álcoois primários e secundários; em 1273 cm⁻¹ banda característica de fenóis; em 1645 cm⁻¹ deformação axial fraca referente ao grupo C=C de alceno e banda de absorção em 1450 cm⁻¹ atribuída a deformação axial do anel aromático (SILVERSTEIN; WEBSTER; DAVID, 2012).

Figura 19- Espectros de infravermelhos dos extratos EEAN e EEAM.



Fonte: Própria.

5.1.5. Análise termogravimétrica

Os dados referentes ao comportamento térmico dos extratos EEAM e EEAN, com suas etapas de perda de massa, assim como o perfil das curvas termogravimétricas, estão apresentados na Tabela 7 e na Figura 20. Ambos os extratos apresentaram três etapas de perda de massa, no intervalo de temperatura de 23-699 °C.

Tabela 7 - Dados termogravimétricos dos extratos EEAM e EEAN.

Amostras	Etapa	Intervalo de temperatura (°C)	Perda de massa (%)
EEAM	1	23-58	87
	2	58-402	10
	3	402-699	0,8
EEAN	1	23-57	90
	2	57-425	8,5
	3	425-699	1

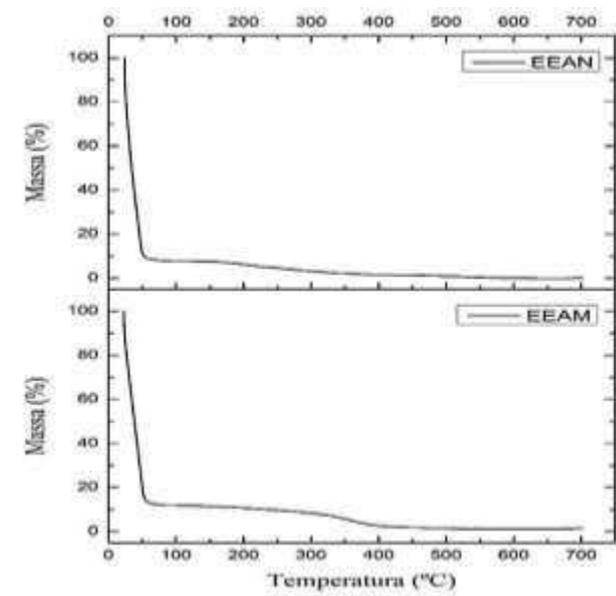
**Extrato das folhas de maracujá obtido da mistura entre os solventes etanol e acetona (EEAM) e extrato das folhas de nim obtido da mistura entre os solventes etanol e acetona (EEAN).*

Fonte: Própria.

Para o extrato EEAM a primeira etapa de perda de massa ocorreu no intervalo de temperatura de 23-58 °C com perda de massa de 87% e foi atribuída a volatilização de solvente e/ou decomposição da amostra. A segunda etapa de perda de massa, no intervalo de temperatura de 58-402 °C apresentou perda de massa de 10%, atribuída a volatilização de solvente e/ou decomposição da amostra. A terceira etapa de perda de massa ocorreu no intervalo de temperatura de 402-699 °C com perda de massa de 0,8%, atribuída à decomposição da amostra.

Para o extrato EEAN a primeira etapa de perda de massa ocorreu no intervalo de temperatura de 23-57 °C, com perda de massa de 90%, atribuída a volatilização de solvente e/ou decomposição da amostra. A segunda etapa ocorreu no intervalo de temperatura de 57-425 °C, com perda de massa de 8,5%, atribuída a volatilização de solvente e/ou decomposição da amostra. Já a terceira etapa de perda de massa ocorreu no intervalo de temperatura de 425-699 °C, com perda de massa de 1%, atribuída à decomposição da amostra.

Figura 20 – Curvas termogravimétricas dos extratos EEAM e EEAN.



Fonte: Própria.

Ambos os extratos (EEAM e EEAN) iniciaram perda de massa em temperaturas muito baixas.

5.2. SÍNTESE DO BIODIESEL

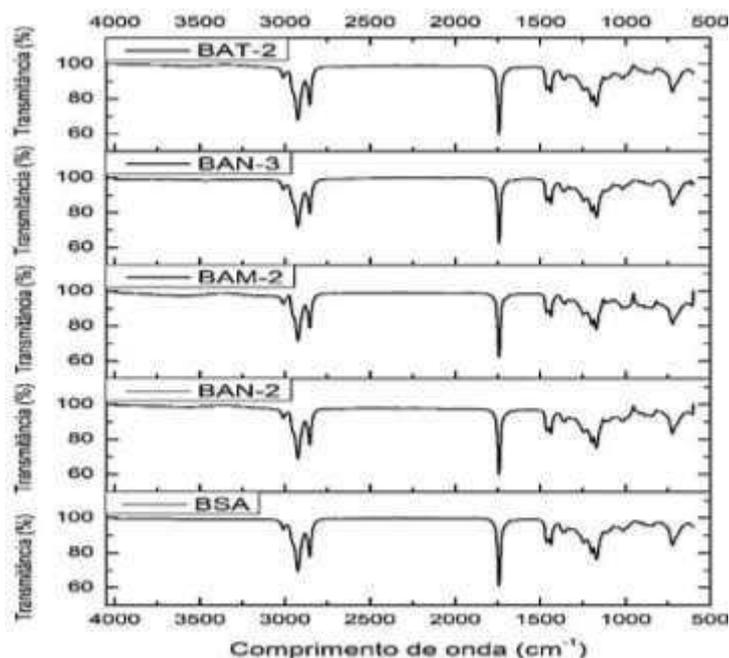
Antes da síntese do biodiesel verificou-se o índice de acidez do óleo de soja, que foi de 0,6 mg KOH/g, estando assim abaixo do valor usual de 1 mg KOH/g para óleo ou gordura. Desta forma não foi necessário submeter o óleo a processos de degomagem e neutralização, partindo para a síntese do biodiesel.

O biodiesel metílico de soja foi sintetizado adicionando-se ao óleo de soja o catalisador, preparado com 1% de hidróxido de potássio dissolvido no álcool metílico, na razão molar de 1:6 óleo/álcool, sob agitação durante 1 hora a temperatura de 45 °C. Após a síntese verificou-se que houve a separação de duas fases, uma mais leve referente ao biodiesel e outra mais densa correspondente a glicerina. O biodiesel apresentou rendimento de 83,20%, o qual foi determinado por pesagem do óleo de soja (antes da reação) e do produto final.

5.3. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho das amostras de biodiesel BAT-2, BAN-3, BAM-2, BAN-2 e BSA (Figura 21) indicam os grupos funcionais mais relevantes.

Figura 21 – Espectros de absorção na região do infravermelho das amostras de biodiesel.



Fonte: Própria.

Os espectros identificaram grupos funcionais que caracterizam a formação dos ésteres metílicos como produto da reação de transesterificação. Os espectros das cinco amostras apresentaram praticamente os mesmos picos, o que é justificado pelo fato dos biodieseis terem sido obtidos a partir do mesmo tipo de matéria-prima, o óleo de soja.

Os principais grupos funcionais destacados nos espectros das amostras de biodiesel foram: Deformação axial da ligação dupla C=O do éster em 1745 cm^{-1} , bandas intensas na região de 2928 cm^{-1} e 2952 cm^{-1} atribuídas a deformação axial assimétrica e simétrica da ligação C-H; banda média em 1460 cm^{-1} e uma banda discreta em 754 cm^{-1} , as quais indicam e confirmam a presença do grupo metileno, CH_2 ; bandas características de ligação C-O de ésteres saturados e insaturados na faixa de 1050 cm^{-1} a 1300 cm^{-1} (SILVERSTEIN; WEBSTER; DAVID, 2012).

5.4. Análise termogravimétrica

Os dados termogravimétricos das amostras de biodiesel BSA, BAM-2, BAN-2, BAT-2 e BAN-3 (Tabela 8) indicaram seu comportamento térmico. As curvas termogravimétricas de todas as amostras (Figura 22) apresentaram uma única etapa de perda de massa, atribuída à decomposição e/ou volatilização dos ésteres metílicos.

A adição dos extratos EEAM, EEAN e do antioxidante sintético TBHQ no biodiesel fez com que todas as amostras aditivadas iniciassem a decomposição térmica em temperaturas superiores a 110 °C, indicando assim que os extratos EEAM, EEAN e o TBHQ melhoraram a estabilidade térmica do biodiesel de soja, atuando no sentido de retardar o processo oxidativo.

Tabela 8 - Dados termogravimétricos das amostras de biodiesel sem aditivo e aditivadas

Amostras	Etapa	Intervalo de temperatura (°C)	Perda de massa (%)
BSA	1	110-250	99
BAM-2	1	118-250	98,3
BAN-2	1	115-245	98,5
BAT-2	1	126-264	99
BAN-3	1	120-255	98,1

**Biodiesel metílico de soja sem aditivo (BSA), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de maracujá a 2000 ppm (BAM-2), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de nim a 2000 ppm (BAN-2), biodiesel metílico de soja aditivado com o antioxidante sintético TBHQ a 2000 ppm (BAT-2), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de nim a 3000 ppm (BAN-3).*

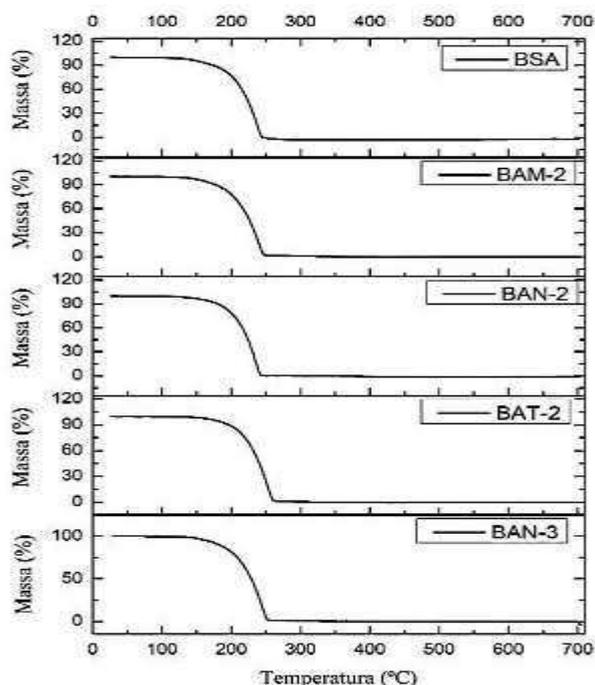
Fonte: Própria.

Os dados termogravimétricos mostram que de todas as amostras analisadas a amostra BSA foi a menos estável, com perda de massa de 99%, no intervalo de temperatura de 110-250 °C, atribuída à decomposição e/ou volatilização dos ésteres metílicos. A baixa estabilidade térmica da amostra BSA pode ser atribuída ao fato dessa ser a amostra de biodiesel sem aditivo, o que o torna mais susceptível a degradação em temperaturas menores.

Já a amostra mais estável foi a BAT-2, apresentando perda de massa de 99% no intervalo de temperatura de 126-264 °C, atribuída a decomposição e/ou volatilização dos ésteres metílicos. A grande capacidade do TBHQ em retardar a decomposição do biodiesel de soja também foi observada no estudo realizado por Rial (2014), associado a sua estrutura química.

Para a amostra BAM-2 a perda de massa foi de 98,3%, no intervalo de temperatura de 118-250 °C, enquanto que para a amostra BAN-2 constatou-se perda de massa de 98,5%, no intervalo de temperatura de 115-245 °C. Já a amostra BAN-3 apresentou perda de massa de 98,1%, no intervalo de temperatura de 120-250 °C e foi mais estável termicamente que as amostras BAM-2 e BAN-2.

Figura 22 - Curvas termogravimétricas das amostras de biodiesel.



Fonte: Própria.

5.5. MONITORAMENTO DO PROCESSO OXIDATIVO DO BIODIESEL SEM ADITIVO E ADITIVADO DURANTE O ARMAZENAMENTO

O processo oxidativo do biodiesel metílico de soja sem aditivo e aditivado com os extratos de maracujá e nim e com o antioxidante sintético TBHQ a 2000 ppm, foi monitorado por 60 dias através das seguintes análises: índice de acidez, viscosidade cinemática e estabilidade oxidativa no Rancimat. Os resultados das análises realizadas foram comparados com os valores estabelecidos pelo Regulamento Técnico N° 03/2014 da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP).

O biodiesel metílico de soja aditivado com os extratos de maracujá e nim a 2000 ppm não alcançaram o valor mínimo de estabilidade oxidativa da norma ANP, desta

forma foi analisada a concentração de 3000 ppm.

5.5.1. Índice de acidez

O Índice de acidez das amostras de biodiesel de soja sem aditivo e aditivadas com os extratos EEAM, EEAN e com o antioxidante sintético TBHQ (Tabela 9) foi obtido nos pontos 1 (tempo zero), 2 (após 30 dias) e 3 (após 60 dias).

Tabela 9 - Índice de acidez (mg KOH/g) do biodiesel de soja sem aditivo e aditivado.

Amostras	Período das análises		
	Tempo zero	Após 30 dias	Após 60 dias
BSA	0,34 ±0,00 ^{Ac}	0,39 ±0,01 ^{Ab}	0,56 ±0,00 ^{Aa}
BAT-2	0,30 ±0,00 ^{Bc}	0,31 ±0,00 ^{Db}	0,33 ±0,01 ^{Ea}
BAM-2	0,31 ±0,00 ^{CDc}	0,35 ±0,00 ^{Bb}	0,37 ±0,01 ^{Da}
BAN-2	0,32 ±0,01 ^{ECc}	0,35 ±0,00 ^{Bb}	0,47 ±0,00 ^{Ca}
BAN-3	0,31 ±0,00 ^{Dc}	0,32 ±0,00 ^{Cb}	0,54 ±0,00 ^{Ba}

*Resultados expressos em média ± desvio padrão (n=3). ^{A-E} Média ±desvio-padrão com letras maiúsculas na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05), entre as amostras. ^{a-c} média ±desvio padrão com letras minúsculas na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05), entre os tempos.

Biodiesel metílico de soja sem aditivo (BSA), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de maracujá a 2000 ppm (BAM-2), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de nim a 2000 ppm (BAN-2, biodiesel metílico de soja aditivado com o antioxidante sintético TBHQ a 2000 ppm (BAT-2), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de nim a 3000 ppm (BAN-3).

Fonte: Própria.

No tempo zero o índice de acidez de todas as amostras de biodiesel ficaram dentro do limite estabelecido pela norma da ANP, cujo valor máximo permitido é de 0,50 mg KOH/g.

Observa-se que após 60 dias de armazenamento o índice de acidez da amostra sem aditivo foi de 0,56 (±0,00) mg KOH/g, ultrapassando o valor máximo estabelecido pela norma. A amostra sem aditivo torna-se mais susceptível a degradação e facilita a produção de compostos que podem provocar a elevação do índice de acidez, a exemplo de peróxidos e hidroperóxidos.

A amostra BAT-2, por sua vez, foi a que apresentou o menor aumento no índice de acidez de 0,30 (±0,00) mg KOH/g para 0,33 (±0,01) mg KOH/g durante todo o período de armazenamento, devido o antioxidante sintético TBHQ ser considerado um dos mais eficientes no retardo do processo oxidativo do biodiesel.

As amostras de biodiesel BAM-2 e BAN-2 aditivadas a 2000 ppm apresentaram valores de acidez dentro da norma da ANP durante os 60 dias de armazenamento.

A elevação dos valores de índice de acidez das amostras está associada à formação dos produtos primários (peróxidos e hidroperóxidos) provenientes do processo oxidativo, que por sua vez reagem entre si por cisão e/ou rearranjo para formar produtos que aumentam a acidez do meio, como aldeídos e cetonas (YAAKOB et al., 2014; BALAJI; CHERALATHAN, 2015).

5.5.2. Viscosidade cinemática

A viscosidade cinemática das amostras de biodiesel de soja sem aditivo e aditivadas com os extratos EEAM, EEAN e com o antioxidante sintético TBHQ (Tabela 10) foi determinada nos pontos 1 (tempo zero), 2 (após 30 dias) e 3 (após 60 dias).

Tabela 10 – Viscosidade cinemática a 40 °C (mm²/s) das amostras de biodiesel de soja sem aditivo e aditivadas.

Amostras	Período das análises		
	Tempo zero	Após 30 dias	Após 60 dias
BSA	4,55 ±0,06	4,86 ±0,07 ^A	4,91 ±0,04 ^A
BAT-2	4,49 ±0,02 ^c	4,55 ±0,03 ^{Bb}	4,60 ±0,02 ^{Dab}
BAM-2	4,52 ±0,02 ^c	4,59 ±0,02 ^{Bbc}	4,66 ±0,05 ^{CBab}
BAN-2	4,53 ±0,03 ^c	4,62 ±0,00 ^{Bb}	4,69 ±0,01 ^{BCa}
BAN-3	4,50 ±0,02 ^c	4,61 ±0,02 ^{Bb}	4,88 ±0,01 ^{Aa}

*Resultados expressos em média ± desvio padrão (n=3). ^{A-D} Média ±desvio-padrão com letras maiúsculas na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05), entre as amostras. ^{a-c} média ±desvio padrão com letras minúsculas na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05), entre os tempos.

Biodiesel metílico de soja sem aditivo (BSA), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de maracujá a 2000 ppm (BAM-2), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de nim a 2000 ppm (BAN-2, biodiesel metílico de soja aditivado com o antioxidante sintético TBHQ a 2000 ppm (BAT-2), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de nim a 3000 ppm (BAN-3).

Fonte: própria

Todas as amostras de biodiesel apresentaram viscosidade cinemática dentro do limite estabelecido pela ANP (3,0-6,0 mm²/s) durante todo o período de armazenamento. No tempo zero todas as amostras foram iguais estatisticamente.

Os resultados indicam a eficiência dos extratos naturais de nim e maracujá e do antioxidante sintético na proteção do biodiesel, ocorrendo apenas uma pequena elevação

nos valores de viscosidade cinemática de todas as amostras após 60 dias de armazenamento. Ao longo do tempo a ação dos antioxidantes presentes nos extratos tende a diminuir.

5.5.3. Estabilidade oxidativa no Rancimat

Os dados de estabilidade oxidativa do biodiesel de soja sem aditivo e aditivado com extratos naturais e TBHQ no tempo zero foram obtidos no Rancimat (Tabela 11).

Tabela 11 - Estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de soja no tempo zero.

Período das análises	BSA	BAT-2	BAM-2	BAM-3	BAN-2	BAN-3
Tempo zero	2,82 h	12,38 h	5,39 h	7,03 h	5,72 h	8,00 h

**Biodiesel metílico de soja sem aditivo (BSA), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de maracujá a 2000 ppm (BAM-2), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de nim a 2000 ppm (BAN-2), biodiesel metílico de soja aditivado com o antioxidante sintético TBHQ a 2000 ppm (BAT-2), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de nim a 3000 ppm (BAN-3).*

Fonte: Própria.

No tempo zero a amostra de biodiesel sem aditivo apresentou estabilidade oxidativa bem abaixo da norma da ANP (8 horas), com período de indução de 2,82 h. A baixa estabilidade oxidativa da amostra BSA pode ser explicada pela presença de ácidos graxos poli-insaturados na composição do biodiesel de soja.

As amostras de biodiesel BAM-2, BAM-3 e BAN-2 apresentaram períodos de indução fora da norma. Já a amostra BAN-3 aditivada com o extrato de nim a 3000 ppm atingiu a norma da ANP, com período de indução de 8 h, melhorando assim a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja e indicando a atividade antioxidante do extrato de nim. Esta atividade antioxidante está relacionada à sua composição de ácidos fenólicos e flavonóides que agem em diferentes mecanismos podendo doar hidrogênios do grupo hidroxila.

A amostra aditivada com o antioxidante sintético TBHQ a 2000 ppm aumentou muito a estabilidade oxidativa do biodiesel, apresentando período de indução de 12,38 h. Este aumento foi atribuído a capacidade do TBHQ de doação dos hidrogênios fenólicos e estabilização do radical formado (Medeiros, 2013).

Os dados referentes aos períodos de indução observados durante o armazenamento das amostras de biodiesel foram destacados na Tabela 12.

Tabela 12 - Estabilidade oxidativa das amostras de biodiesel durante armazenamento.

Período das análises	BSA	BAT-2	BAN-2	BAM-2	BAN-3
Tempo zero	2,82 h	12,38 h	5,72 h	5,39 h	8,00 h
Após 30 dias	2,01 h	12,08 h	5,59 h	5,11 h	5,82 h
Após 60 dias	1,03 h	11,45 h	5,52 h	5,07 h	4,95 h

**Biodiesel metílico de soja sem aditivo (BSA), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de maracujá a 2000 ppm (BAM-2), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de nim a 2000 ppm (BAN-2), biodiesel metílico de soja aditivado com o antioxidante sintético TBHQ a 2000 ppm (BAT-2), biodiesel metílico de soja aditivado com extrato das folhas de nim a 3000 ppm (BAN-3).*

Fonte: Própria.

Observa-se que a estabilidade oxidativa do biodiesel sem aditivo diminuiu ao longo do armazenamento, com os seguintes períodos de indução: 2,82 h (tempo zero), 2,01 h (após 30 dias) e 1,03 h (após 60 dias). A diminuição da estabilidade oxidativa pode ser atribuída principalmente ao processo de auto-oxidação que ocorre ao longo do tempo.

A amostra BAT-2 aditivada com o antioxidante sintético TBHQ a 2000 ppm foi a que apresentou os maiores períodos de indução durante os 60 dias de armazenamento, o que indica a elevada eficiência do TBHQ em inibir o processo oxidativo do biodiesel de soja. A eficiência do antioxidante sintético TBHQ pode ser justificada pelas suas características estruturais, o que o torna capaz de inibir reações radicalares que ocorrem nos processos de oxidação e, assim, proteger o biodiesel durante longos períodos de armazenamento.

As amostras BAM-2 e BAN-2 aditivadas a 2000 ppm com os extratos naturais de maracujá e nim apresentaram períodos de indução durante armazenamento fora da norma da ANP. Já a amostra de biodiesel BAN-3 aditivada com o extrato de nim a 3000 ppm apresentou período de indução no tempo zero dentro da norma (8,00 h). No entanto após 30 e 60 dias de armazenamento a amostra BAN-3 não obedeceu à norma, o que pode ser atribuído a fatores como: absorção de água pela amostra, formação de borras dentro do cilindro ou algum tipo de contaminação.

Muitos estudos têm avaliado o efeito da adição de antioxidantes sintéticos e naturais no biodiesel de soja. Luo et al. (2012) relataram o efeito de cinco antioxidantes

naturais (polifenol de chá solúvel em água, polifenol de chá lipossolúvel, ácido ferúlico, sesamol e ácido cafeico) em biodiesel de soja. A maioria dos extratos naturais estudados atingiu o limite mínimo especificado na antiga norma (PI = 6 h) quando aditivados a 2000 ppm, com exceção do ácido ferúlico.

Santos et al. (2014), avaliaram o efeito dos antioxidantes naturais presentes nos extratos das folhas de acerola (*Malpighia glabra*) aditivados a 3000 ppm na estabilidade oxidativa do biodiesel de soja pelo teste de Rancimat, obtendo para os extratos naturais períodos de indução que variaram de 0,17 a 1,38 h, abaixo do limite mínimo especificado pela norma da ANP e bem inferior aos valores obtidos neste trabalho.

Medeiros (2013) avaliou a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja na presença dos antioxidantes sintéticos (TBHQ e BHT) e dos extratos naturais etanólico e clorofórmico do alecrim nas concentrações de 2000, 2500 e 3000 ppm. Os resultados mostraram que a 2000 ppm os antioxidantes sintéticos (TBHQ e BHT) apresentaram, respectivamente, períodos de indução de 6,01 e 3,98 h e os extratos etanólico e clorofórmico de alecrim apresentaram períodos de indução de 7,06 e 4,82 h a 2000 ppm. Já para 3000 ppm os períodos de indução dos extratos etanólico e clorofórmico de alecrim foram de 8,15 e 5,34 h, respectivamente. Indicando a necessidade de utilização de concentrações maiores de extratos naturais como 3000 ppm para atingir a norma, como verificado neste trabalho.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos os extratos obtidos das folhas de maracujá e nim apresentaram atividade antioxidante. Contudo, dos oito extratos os que apresentaram maior atividade antioxidante foram os da mistura de etanol e acetona (EEAM e EEAN).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência indicou a presença de compostos bioativos nos extratos naturais de maracujá e nim (EEAM e EEAN), destacando-se como componentes majoritários o ácido 2,5 diidroxibenzoico e o flavonóide rutina.

As curvas termogravimétricas de todas as amostras de biodiesel de soja apresentaram uma única etapa de perda de massa, atribuída à decomposição e/ou volatilização dos ésteres metílicos, cuja adição dos antioxidantes naturais aumentou a estabilidade térmica do biodiesel.

Durante o armazenamento do biodiesel os valores de índice de acidez e viscosidade cinemática das amostras aditivadas com extrato de nim e maracujá se mantiveram dentro da norma estabelecida pela ANP.

O monitoramento do processo oxidativo do biodiesel metílico de soja durante armazenamento indicou que as amostras aditivadas com os extratos naturais de maracujá e nim a 2000 ppm aumentaram os períodos de indução, mas ficaram fora da norma da ANP. Já a amostra de biodiesel aditivada com o extrato de nim a 3000 ppm (BAN-3) apresentou período de indução no tempo zero dentro da norma. No entanto após 30 e 60 dias de armazenamento a amostra BAN-3 não manteve a estabilidade dentro da norma, o que pode ser atribuído a fatores como: absorção de água pela amostra, formação de borras dentro do cilindro ou algum tipo de contaminação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEDIN M. J., KALAM M. A., MASJUSKI H. H., SABRI M. F. M., ASHRAFUR R., SANJID A., FATTAH I. M. R. Production of biodiesel from a non-edible source and study of its combustion, and emission characteristics: A comparative study with B5. **Renewable Energy**, v. 88, p. 20-29, 2016.

AGHEL B., RAHIMI M., SEPAHVAND A., ALITABAR M., GHASEMPOUR H.R. Using a wire coil insert for biodiesel production enhancement in a microreactor. **Energy Convers Manage**, v. 84, p. 541–549, 2014.

AGUILAR C. A., RODRIGUEZ K., GONZÁLEZ S. C., RIOS L. A. Avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.), utilizando Biodiesel antioxidantes sintéticos e Palma. **Información Tecnológica**, v. 26, n. 2, p. 51-60, 2015.

AL-JADIDI, H. S. K., HOSSAIN M. A. Studies on total phenolics, total flavonoids and antimicrobial activity from the leaves crude extracts of neem traditionally used for the treatment of cough and nausea. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**. v. 4, p. 93-98, 2015.

ANP - Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Resolução N° 45/2014 e Regulamento Técnico N° 03/2014**. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br> > Acesso em 30 de agosto de 2016.

ARANSIOLA, E. F.; BETIKU, E.; IKHUOMOREGBE, D.; OJUMUT. Production of biodiesel from crude neem oil feedstock and its emissions from internal combustion engines. **African Journal of Biotechnology**. v. 11, p. 6178-6186, 2012.

ARNAUD W. G., TAMBA S., SYLVIE H., DORRA H. ALAIN T. Fast non-aqueous reversed-phase liquid chromatography separation of triacylglycerol regioisomers with isocratic mobile phase. Application to different oils and fats. **Journal of chromatography B**. v. 1041-1042, p. 151-157, 2017.

AVHAD M. R., MARCHETTI J. M. A review on recent advancement in catalytic materials for biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy**. v. 50, p. 696-718, 2015.

AYRES A. F. S. J., ARAÚJO L. L. S., SOARES T. C., COSTA G. M., REGINATTO F. H., RAMOS F. A., CASTELLANOS L., SCHENKEL E. P., RACHETTI V. P. S., ZUCOLOTTO S. M., GAVIOLI E. C. Comparative central effects of the aqueous leaf extract of two populations of *Passiflora edulis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 499-505, 2015.

BALAJI G., CHERALATHAN M. Experimental investigation of antioxidant effect on oxidation stability and emissions in a methyl ester of neem oil fueled DI diesel engine. **Renewable Energy**, v. 74, p. 910-916, 2015.

BENÍCIO D. A., NETO V. Q., SOUZA J. G. Avaliação das propriedades físico-químicas e da composição química parcial do óleo de sementes de nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss),

cultivado no município de Patos-Paraíba. **BioFar: Revista de Biologia e Farmácia**. v. 4, n. 2, p. 22-33, 2010.

BERNARDO, J. R. M. Catalisadores heterogêneos básicos para a produção de biodiesel. **Dissertação** (mestrado em engenharia química), Departamento de Engenharia Química, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, 2010.

Biodiesel no Brasil. Disponível em: www.biodieselbr.com/biodiesel/brasil/biodiesel-brasil.htm. Acesso em: 20 de maio de 2017.

BORSATO D., MAIA E. C. R., ANTONIA L. H. D., SILVA H. C., PEREIRA J. L. Cinética da oxidação de biodiesel de óleos de soja em mistura com TBHQ: Determinação do tempo de estocagem. **Química Nova**, v. 35, n. 4, p. 733-737, 2012.

BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M. E., BERSET C. O uso de um método de radical livre para avaliar a atividade antioxidante. **LWT - Food Sci. Technol.** V. 28, p. 25-30, 1995.

BUDŽAKI S., MILJIĆ G., TIŠMA M., SUNDARAM S., HESSEL V. Is there a future for enzymatic biodiesel industrial production in microreactors? **Applied Energy**, v. 201, p. 124-134, 2017.

BUOSI G. M., SILVA E. T., SPACINO K., SILVA L. R. C., FERREIRA B. A. D., BORSATO D. Oxidative stability of biodiesel from soybean oil: Comparasion between synthetic and natural antioxidants. **Fuel**, v. 181, p. 759-764, 2016.

CALIXTO C. D. Óleo de quiabo como fonte alternativa para produção de biodiesel e avaliação de antioxidantes naturais em biodiesel etílico de soja. **Dissertação** (mestrado em química), Programa de Pós-Graduação em Química, do Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2011.

CAMARGO A. D. P. S., PLEITE N., HERRERO M., CIFUENTES A., IBÁÑEZ E., LÓPEZ B. G. New approaches for the selective extraction of bioactive compounds employing bio-based solvents and pressurized green processes. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 112-120, 2017.

CAN Ö., ÖZTÜRK E., SOLMAZ H., AKSOY F., ÇINAR C., YÜCESU H. S. Combined effects of soybean biodiesel fuel addition and EGR application on the combustion and exhaust emissions in a diesel engine. **Applied Thermal Engineering**, v. 95, p.115-124, 2016.

CAZARIN C. B. B., SILVA J. K., COLOMEU T. C., BATISTA A. G., MELETTI L. M. M., PASCHOAL J. A. R., JUNIOR S. B., BRAGA P. A. C., REYES F. G. R., AUGUSTO F. Intake of *Passiflora edulis* leaf extract improves antioxidant and anti-inflammatory status in rats with 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid induced colitis. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 575-586, 2015.

CAZARIN C. B. B., SILVA J. K., COLOMEU T. C., ZOLLNER R. L., JUNIOR M. R. M. Antioxidant capacity and chemical composition of passion fruit peel (*Passiflora edulis*). **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p. 1699-1704, 2014.

CÉSAR A. S., BATALHA M. O., ZOPELARI A. L. M. S. Oil palm biodiesel: Brazil`s main challenges. **Energy**, v. 60, p. 485-491, 2013.

CHEYNIER V. Phenolic compounds, from plants to foods. **Phytochem Rev**, v. 11, p. 153-177, 2012.

CHOONG W. P., TAN C. H., SHOW P. L., LAM H. L., ANNUAR M. S. B. M., JUAN J. C., CHANG J. S., LING T. C. Efficient enzyme-catalysed transesterification of microalgal biomass from *Chlamydomonas* sp. **Energy**, v. 116, p. 1370-1373, 2016.

CHUEN T.L.K., VUONG Q. V., HIRUNS., BOWYER M. C., PREDEBON M. J., GOLDSMITH C. D., SAKOFF J. A., SCARLETT C. J., Antioxidant and anti-proliferative properties of Davidson`s plum (*Davidsonia pruriens* F. Muell) phenolic-enriched extracts as affected by different extraction solvents. **Journal of Herbal Medicine**, v. 6, p. 187-192, 2016.

Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v. 4, Safra 2015/16, Quarto levantamento, Brasília-DF, p. 1-154, 2016.

CREMONEZ P. A., FEROLDI M., OLIVEIRA C. J., TELEKEN J. G., MEIER T. W., DIETER J., SAMPAIO S. C., BORSATO D. Oxidative stability of biodiesel blends derived from different fatty materials. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 135-140, 2016.

CRISTO J. S., MATIAS E. F. F., FIGUEREDO F. G., SANTOS J. F. S., PEREIRA N. L. F., JUNIOR J. G. A. S., AQUINO P. E. A., NOGUEIRA M. N. F., FILHO J. R., CUNHA F. A. B., COSTA M. S. C., CAMPINA F. F., TINTINO S. R., SALGUEIRO C. C. M., COUTINHO H. D. M. HPLC profile and antibiotic-modifying activity of *Azadirachta indica* A. Juss. (*Meliaceae*). **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 903-908, 2016.

DHAKAL S., ARYAL S., BASHYA D., KHADKA D. Phytochemical and antioxidant studies os methanol and chloroform extract leaves of *Azadirachta indica* A. Juss. In Tropical region of Nepal. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**. v. 8, n. 12, p. 203-208, 2016.

DIAS J. M., SANTOS F., SANTO F., CARVALHO F., ALVIN-FERRAZ M. C. M., ALMEIDA M. F. Study of an ethylic biodiesel integrated process: Raw-materials, reaction optimization and purification methods. **Fuel Processing Technology**, v. 124, p. 198-205, 2014.

EKALUO U. B., IKPEME E. V., UDENSI O. U., EKERETTE E. E., USEN S. O., USOROH S. F. Comparative *in vitro* Assessment of Drumstick (*Moringa oleifera*) and Neem (*Azadirachta indica*) Leaf extracts for Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities. **Research Journal of Medicinal Plants**, v. 9, p. 24-33, 2015.

FATTAH I. M. R., MASJUKI H. H., KALAM M. A., HAZRAT M. A., MASUM B. M., IMTENAN S., ASHRAFUL A. M. Effect of antioxidants on oxidation stability of biodiesel derived from vegetable and animal based feedstocks. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 30, p. 356-370, 2014.

FILHO A. O. B., BARROS A. K. D., LABIDI S., VIEGAS I. M. A., MARQUES D. B., ALEXANDRE R.S. R., SOUSA R. M., MARQUES A. L. B., MARQUES E. P. Application of artificial neural networks to predict viscosity, iodine value and induction period of biodiesel focused on the study of oxidative stability. **Fuel**, v. 145, p. 127-135, 2015.

FOCKER W. W., WESTHUIZEN I. V., OOSTHUYSEN X. Biodiesel oxidativ estabily from Rancimat data. **Thermochimica Acta**, v. 633, p. 116-121, 2016.

GARCÍA M., LALAGUNA B. N. G., ARAUZO J., GONZALO A., SÁNCHEZ J. L. Antiodants for biodiesel: Additives prepared from extracted feactions of bio-oil. **Fuel Processing Technology**, v. 156, p. 407-414, 2017.

GOMES S. V. F., PORTUGAL L. A., ANJOS J. P., JESUS O. N., OLIVEIRA E. J., DAVID J. P., DAVID J. M. Accelerated solvente extraction of phenolic compounds exploiting a Box-Behnken desing and quantification of five flavonoids by HPLC-DAD in *Passiflora* espécies. **Microchemical Journal**, v. 132, p. 28-35, 2017.

HAJJARI M., TABATABAEI M., AGHBASHLO M., GHANAVATI H. A review on the prospects of sustainable biodiesel production: A global scenario with an emphasis on wast-oil biodiesel utilization. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 72, p. 445-464, 2017.

HONG I. K., LEE J. R., LEE S. B. Fuel properties of canola oil and lard biodiesel blends: Higher heating value, oxidative stability, and kinematic viscosity. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 22, p. 335-340, 2015.

ISSARIYAKUL T., DALAI A. K. Biodiesel from vegetables oils. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 31, p. 446-471, 2014.

JIA Z., DUMONT M. J., ORSAT V. Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices. **Food Bioscience**, v. 15, p. 87-104, 2016.

JÚNIOR M. R. M., ZOLLNER R. L. Antioxidant activity of aqueous extraction of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: In vitro end in vivo study. **Food Research International**, 53 (2013) 882-890.

KHANAM U. K. S., OBA S., YANASE E. MURAKAMI Y. Phenolic acids, flavonoids and total antioxidante capacity of selected leafy vegetables. **Journal of Functional Foods**. v. 4, p. 979-987, 2012.

KUMAR N. Oxidative stability of biodiesel: Causes, effects and prevention. **Fuel**, v. 190, p. 328-350, 2017.

LAVIOLA B. G. Disponibilidade e Oportunidade de Diversificação de Matérias Primas Biodiesel. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), **Boletim Mensal de Biodiesel**, Brasília – DF, 2015.

LIMA L. K. S., SOARES T. L., SOUZA E. H., JESUS O. N., GIRAEDI E. A. Initial vegetative growth and graft region anatomy of yellow passion fruit on *Passiflora spp.* rootstocks. **Scientia Horticulturae**, v. 215, p. 134-141, 2017.

LORES O. F., RIVAS C. B., ACOSTA J. V., DÍAZ N. W., ZAPATA E. P. Potencial antioxidante de um extracto acuoso de folhas del NIM (*Azadirachta Índica A. Juss*). **Revista Cubana de Plantas Medicinai**s, v. 19, n. 2, p. 205-207, 2014.

LUO M., ZHANG R., ZHENG Z., WANG J., JI J. B. Impact of some natural derivatives on the oxidative stability of soybean oil based biodiesel. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 241-246, 2012.

MAHESH S. E., RAMANATHAN A., BEGUM K. M. M. S., NARAYANAN A. Biodiesel production from waste cooking oil using KBr impregnated CaO as catalysr. **Energy Conversion and Management**, v. 91, p. 422-450, 2015.

MANEERUNG T., KAWI S., DAI Y., WANG C. H. Sustainable biodiesel production via transesterification of waste cooking oil by using CaO catalysts prepared from chicken manure. **Energy Conversion and Management**, v. 123, p. 487-497, 2016.

MATTEI L. **Programa Nacional para Produção e Uso do Biodiesel no Brasil (PNPB): Trajetória, Situação atual e Desafios**. v. 41, n. 4. p. 731-740, 2010.

MEDEIROS M. L. Extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*): um antioxidante eficiente para uso no biodiesel. **Tese** (doutorado em química), Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), 2013.

MENEGHETTI S. M. P., MENEGHETTI M. R., BRITO Y. C. A reação de Transesterificação, Algumas Aplicações e Obtenção de Biodiesel. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 1, p. 63-73, 2013.

MORETTO E., FETT R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na indústria de Alimentos**. Volume único. Ed. 1. Livraria Varela: São Paulo, 1998.

MOURA, B. S. **Transesterificação Alcalina de Óleos Vegetais para Produção de Biodiesel: Avaliação Técnica e Econômica**. Dissertação (mestrado em engenharia química), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

NDE D. B., BOLDOR D., ASTETE C. optimization of microwave assisted extraction parameters of neem (*Azadirachta indica A. Juss*) oil using the Doehlert's experimental design. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 233-240, 2015.

OLIVEIRA D. M., ONGARATTO D. P., FONTOURA L. A. M., NACIUK F. F., SANTOS V. O. B., KUNZ J. D., MARQUES M. V. Obtenção de biodiesel por transesterificação em dois estágios e sua caracterização por cromatografia gasosa: óleos e gorduras em laboratório de química orgânica. **Química Nova**, v. 36, n. 5, p. 734-737, 2013.

OLIVEIRA M. Óleo para o biodiesel. *Revista Pesquisa FAPESP*, ed. 245, p. 68-71, 2016. PAES J. B., SOUZA A. D., LIMA C. R., SANTANA G. M. Rendimento e Características Físicas dos Óleos de Nim (*Azadirachta indica*) e Mamona (*Ricinus communis*). **Floresta e Ambiente**, v. 22, n. 1, p. 134-139, 2015.

O QUE É BIODIESEL?. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/biodiesel.htm>>. Acesso em: 25 de janeiro de 2016.

PAES R. B., SOUZA A. D., LIMA C. R., SANTANA G. M. S. Rendimento e Características Físicas dos óleos de Nim (*Azadirachta indica*) e Mamona (*Ricinus communis*). **Floresta e Ambiente**, v. 22, n. 1, p. 134-139, 2015.

PERTUZATTI P. B., SGANZERLA M., JACQUES A. C., BARCIA M. T., ZAMBIAZI R. C. Carotenoids, tocopherols and ascorbic acid content in yellow systems. **LWT – Food Science and Technology**, v. 64, p. 259-263, 2015.

PULLEN J., SAEED K. Experimental study of the factors affecting the oxidation stability of biodiesel FAME fuels. **Fuel Processing Technology**, v. 125, p. 223-235, 2014.

RAMOS L. P., SILVA F. R., MANGRICH A. S., CORDEIRO C. S. Tecnologia de Produção de Biodiesel. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 5, p. 385-405, 2011.

RASCHEDUL H. K., MASJUKI H. H., KALAM M. A., TEOH Y. H., HOW H. G., FATTAH I.M. R. Effect of antioxidant on the oxidation stability and combustion-performance-emission characteristics of a diesel engine fueled with diesel-biodiesel blend. **Energy Conversion and Management**, v. 106, p. 849-858, 2015.

RASHEDUL H. K., MASJUKI H.H., KALAM M.A., ASHRAFUL A.M., ASHRAFUR RAHMAN S.M., SHAHIR S.A. The effect of additives on properties, performance and emission of biodiesel fuelled compression ignition engine. **Energy Conversion and Management**, v. 88, p. 348–364, 2014.

RAWAT D. S., JOSHI G., LAMBA B. Y., TIWARI A. K. KUMAR P. The effect of binary antioxidant proportions on antioxidant synergy and oxidation stability of Jatropha and Karanja biodiesels. **Energy**, v. 84, p. 643-655, 2015.

REIS M. C., FREITAS F. A., LACHTER E. R., GIL R. A. S. S., NASCIMENTO R. S. V., POIBEL R. L., BORRÉ L. B. Produção de biodiesel a partir de ácidos graxos provenientes do refino de óleos vegetais via catálise ácida heterogênea e micro-ondas. **Química Nova**, v. 38, n. 10, 1307-1312, 2015.

RIAL R. C. Avaliação da ação dos extratos de gengibre em biodiesel de soja: comparação com antioxidantes comerciais. **Dissertação** (mestre em química), Programa de Pós-graduação em química, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), 2014.

ROSSI, J. A. J.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

ROVEDA A. C., COMIN M., CAIRES A. R. L., FERREIRA V. S., TRINDADE M. A. G. Thermal stability enhancement of biodiesel induced by a synergistic effect between conventional antioxidants and an alternative additive. **Energy**, n. 109, p. 260-265, 2016.

SALES R. F., VITALE R., LIMA S. M., PIMENTEL M. F., STRAGEVITCH L., FERRER A. Multivariate statistical process control charts for batch monitoring of transesterification

reactions for biodiesel production based on near-infrared spectroscopy. **Computers & Chemical Engineering**, v. 94, p. 343–353, 2016.

SALUJA R. K., KUMAR V., SHAM R. Stability of biodiesel. **A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 62, p. 866–881, 2016.

SANTOS A. S., SOUZA L. D., CALDEIRA V. P. S., FARIAS M. F., FERNANDES Jr. V. J., ARAÚJO A. S. Kinetic study and thermoxidative degradation of palmoil and biodiesel. **Thermochimica Acta**, v. 592, p. 18-22, 2014.

SANTOS C. M., ABREU C. M. P., FREIRE J. M., CORRÊA A. D. Atividade antioxidante de frutos de quatro cultivares de pessegueiro. **Rev. Bras. Frutic**, v. 35, n. 2, p. 339-344, 2013.

SANTOS A. C., SANTOS K. A., SILVA E., CORAZZA. Avaliação da Estabilidade Oxidativa do Biodiesel de Soja (*Glycine max L.*) na Presença de Antioxidantes Naturais Obtidos das Folhas de Acelora (*Malpighia globra L.*) Utilizando CO₂ Supercrítico. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 3, p. 197-2010, 2014.

SAYDUT A., ERDOGAN S., KAFADAR A. B., KAYA C., AYDIN F., HAMAMCI C. Process optimization for production of biodiesel from hazelnut oil, sunflower oil and their hybrid feedstock. **Fuel**, v. 183, p. 512-517, 2016.

SHAHIDI F., AMBIGAIPALAN P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p.820-897, 2015.

SILVA G. B. Estudo da influência de antioxidantes na avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel pelo método PetroOXY. **Dissertação** (mestre em química), Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), 2015.

SILVA J. K., CAZARIN C. B. B., COLOMEU T. C., BATISTA A. G., MELETTI L. M. M., PASCHOAL J. A. R., JUNIOR S. B., FURLAN M. F., REYES F. G. R., AUGUSTO F., JÚNIOR R. M. R., ZOLLNER R. L. Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: in vitro and in vivo study. **Food research international**, v. 53, p. 882-890, 2013.

SILVA J. K., CAZARIN C. B. B., BATISTA A. G., JR. M. M. Effects of passion fruit (*Passiflora edulis*) byproduct intake in antioxidant status of wistar rats tissues. **LWT – Food Science and Technology**. v. 59, p. 1231-1219, 2014.

SILVA M. L. C., COSTA R. S., SANTANA A. S., KOBLITZ M. G. B. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Seminário: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVERSTEIN R. M., WEBSTER F. X., DAVID J. K. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

SOARES T. L., JESUS O. N., SOUZA E. H., OLIVEIRA E. J. Reproductive biology and pollen-pistil interactions in *Passiflora* espécies with ornamental potential. **Science Horticulturae**, v. 197, p. 339-349, 2015.

SOUZA V. H. A., SANTOS L. T., PAGEL U. R., SCARPATI C. B. L., CAMPOS A. F. Aspectos sustentáveis da biomassa como recurso energético. **Rer. Augustus**, v. 20, n, 40, p. 105-123, 2015.

SPACINO K. R., SILVA E. T., ANGILELLI K. G., MOREIRA I., GALÃO O. F., BORSATO D. Relative protection factor optimization of natural antioxidants in biodiesel B100. **Industrial Crops and Products**, v. 80, p. 109-114, 2016.

SUVEGES N. S., SILVA M. L. C. P. Avaliação da estabilidade termo-oxidativa do biodiesel de canola aditivado com extratos naturais. **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, Florianópolis – SC, 2014, p. 1-8.

TAKASE M., ZHAO T., ZHANG M., CHEN Y., LIU H., YANG L., WU X. An expatiate review of neem, jatropha, rubber and karanja as multipurpose non-edible biodiesel resources and comparison of their fuel, engine and emission properties. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 43, p. 495-520, 2015.

VERMA P., SHARMA M. P., DWIVEDI G. Investigation of Metals and Antioxidants on Stability Characteristics of Biodiesel. **Materials Today: Proceedings**, v. 2, p. 3196-3202, 2015.

WAZILEWSKI W. T., BARICCATTI R. A., MARTINS G. I., SECCO D., SOUZA S. N. M., ROSA H. A., CHAVES L. I. Study of the methyl crambe (*Crambe abyssinica Hochst*) and soybean biodiesel oxidative stability. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 207-212, 2013.

WU S., SONG L., SOMMERFELD M., HU Q., CHEN W. Optimization of an effective method for the conversion of crude algal lipids into biodiesel. **Fuel**, v. 197, p. 467-473, 2017.

YAAKOB Z., NARAYANAN B. N., PADIKKAPARAMBIL S., UNNI S. K., AKBAR M. P. A review on the oxidation stability of biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 136-153, 2014.

YANG J., HE Q. S., CORSCADDEN K., CALDWELL C. Improvement on oxidation and storage stability of biodiesel derived from an emerging feedstock camelina. **Fuel Processing Technology**, v. 157, p. 90-98, 2017.

ZHOU J., XIONG Y., LIU X. Evaluation of the oxidation stability of biodiesel stabilized with antioxidants using the Rancimat and PDSC methods. **Fuel**, v. 188, p. 61-68, 2017.

ZŁOTEK U., MIKULSKA A. S., NAGAJEK M., WIECA M. The effect of different solvents and number of extraction steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. **Saudi Journal of Biological Sciences** v. 23, p. 628–633, 2016.

ZONIN V. J., ANTUNES JR. J. A. V., LEIS R. P. Multicriteria analysis of agricultural raw materials: A case study of BSBIOS and PETROBRAS BIOFUELS in Brazil. **Energy Policy**, v. 67, p. 255-263, 2014.