UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO "STRICTU SENSU" EM BIOENERGIA – NÍVEL MESTRADO

ANÁLISE DA ESTABILIDADE TERMO-OXIDATIVA DO BIODIESEL DE SOJA NA PRESENÇA DE ANTIOXIDANTES NATURAIS OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

ANA CLAUDIA CABRAL DOS SANTOS

Toledo – Paraná
2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO “STRICTU SENSU” EM BIOENERGIA – NÍVEL MESTRADO
ANA CLAUDIA CABRAL DOS SANTOS

ANÁLISE DA ESTABILIDADE TERMO-OXIDATIVA DO BIODIESEL DE SOJA NA PRESENÇA DE ANTIOXIDANTES NATURAIS OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

Toledo – Paraná
Dezembro de 2014

ANA CLAUDIA CABRAL DOS SANTOS

ANÁLISE DA ESTABILIDADE TERMO-OXIDATIVA DO BIODIESEL DE SOJA NA PRESENÇA DE ANTIOXIDANTES NATURAIS OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Bioenergia, área de concentração em Biocombustíveis, para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Edson Antonio Da Silva

Orientador

Toledo – Paraná

Dezembro de 2014

Catalogação na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária
UNIOESTE/Campus de Toledo.
Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

Santos, Ana Claudia Cabral dos
S237a Análise da estabilidade termo-oxidativa do biodiesel de soja na presença de antioxidantes naturais obtidos por diferentes técnicas de extração / Ana Claudia Cabral dos Santos. -- Toledo, PR : [s. n.], 2014.
xiv ; 65 f. : il. (algumas color.), figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Edson Antonio da Silva
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Campus de Toledo. Centro de Engenharias e Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação "Stricto sensu" em Bioenergia, 2012.
Inclui Bibliografia

1. Bioenergia – Dissertações 2. Biodiesel de soja 3. Aditivos antioxidante 4. Estabilidade oxidativa 5. Acerola (Malpighia glabra L.) - Atividade antioxidante 6. Hortelã (Mentha spicata L.) - Atividade antioxidante 7. Extração supercrítica I. Silva, Edson Antonio da, Orient. II. T

CDD 20. ed. 662.6

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOENERGIA

Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por ANA CLAUDIA CABRAL DOS SANTOS a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Bioenergia em 05 de dezembro de 2014

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr.Edson Antonio da Silva
Orientador

Prof. Dr. Reinaldo Aparecido Bariccatti
Membro

Prof. Dr. Carlos Eduardo Borba
Membro

Dedico este trabalho ao meu amado esposo e aos meus queridos pais pelo incentivo e apoio em todas as minhas escolhas e decisões.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo Dom da vida e pela força concedida.

Aos meus pais, José Arino Cabral e Maria Odete Cabral, que me ensinaram os primeiros passos e as primeiras palavras, e que me dedicaram apoio incondicional.

Ao meu esposo, Evandro dos Reis, pelo carinho, companheirismo, apoio e dedicação em me auxiliar no que foi necessário tanto nos momentos difíceis quanto alegres.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Edson da Silva pela Paciência, pelos Ensinamentos e pela dedicação à Pesquisa.

A Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE pela oportunidade em realizar o Mestrado em Bioenergia.

Ao Prof. Dr. Marcos Corazza e à Universidade Federal do Paraná – UFPR ao espaço concedido para realização de parte de minha pesquisa.

Ao Prof. Dr. Paulo R. P. Rodrigues e à Universidade Estadual do Centro Oeste do Paraná ao equipamento concedido para realização dos testes de estabilidade oxidativa.

A Faculdade Assis Gurgacz – FAG aos equipamentos concedidos para realização de testes para Biodiesel da minha pesquisa.

A Fundação Araucária e CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

E a todos meus amigos e familiares que de alguma maneira, direta ou indiretamente, me ajudaram na realização deste trabalho.

“Só fazemos melhor
aquilo que repetidamente
insistimos em melhorar.

A busca da excelência
não deve ser um objetivo.
E, sim, um hábito".

ARISTÓTELES

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS x
LISTA DE TABELAS xi
NOMENCLATURA xii
RESUMO xiii
ABSTRACT xiv
1. INTRODUÇÃO 1
2. OBJETIVOS 4
2.1. Objetivo Geral 4
2.2. Objetivos Específicos 4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 5
3.1. Fontes convencionais de combustíveis e meio ambiente 5
3.2. Biodiesel 6
3.3. Oxidação do Biodiesel 8
3.4. Antioxidantes 10
3.4.1. Classificação dos antioxidantes 11
3.4.2. Compostos fenólicos como antioxidantes 12
3.4.3. Antioxidantes sintéticos e naturais 13
3.5. Extração de antioxidantes 16
3.5.1. Extração convencional 17
3.5.2. Extração supercrítica 17
3.6. Acerola (*Malpighia glabra L.*) 19
3.7. Hortelã (*Mentha spicata L.*) 20
3.8. Modelagem matemática da extração supercrítica 21
3.8.1. Solubilidade 21
3.9. Considerações Finais 22
4. MATERIAIS E MÉTODOS 24
4.1. Matéria-prima 24
4.2. Preparo da Matéria-prima 24
4.3. Obtenção dos extratos 25
4.3.1. Extração convencional 25
4.3.2. Extração supercrítica 26
4.4. Modelagem matemática da extração supercrítica 28

4.4.1. Densidade do CO_2 supercrítico 28
4.4.2. Solubilidade do extrato no CO_2 supercrítico 28
4.4.3. Rendimentos globais da extração supercrítica 29
4.4.4. Cinética da extração 29
4.5. Obtenção do Biodiesel 31
4.6. Caracterização do Biodiesel 32
4.7. Aditivação do Biodiesel 34
4.8. Teste de estabilidade oxidativa do Biodiesel 34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 37
5.1. Extração Convencional 37
5.1.1. Rendimento Global 37
5.2. Extração Supercrítica 38
5.2.1. Rendimento Global 38
5.2.2. Solubilidade 42
5.2.3. Curvas cinéticas da extração supercrítica 43
5.3. Preparo e Análise do Biodiesel 47
5.4. Análise da estabilidade oxidativa do Biodiesel 49
6. CONCLUSÕES 54
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 56
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Reação de Transesterificação de óleos vegetais 7
Figura 2: Esquema do mecanismo da oxidação lipídica 9
Figura 3: Estrutura típica dos compostos fenólicos 12
Figura 4: Mecanismos de Ressonância que estabiliza um composto fenólico 12
Figura 5: Estrutura Química dos principais antioxidantes sintéticos 13
Figura 6: Fluxograma da extração convencional 26
Figura 7: Módulo experimental utilizado nas extrações com fluídos supercríticos 27
Figura 8: Esquema da produção de biodiesel 32
Figura 9: Esquema do funcionamento do Rancimat 36
Figura 10: Rendimento global (%) dos extratos das folhas de Acerola obtidos utilizando CO_2 supercrítico 41
Figura 11: Rendimento global (%) dos extratos das folhas de Hortelã obtidos utilizando CO_2 supercrítico 41
Figura 12: Curva Cinética (Acerola) 150 bar e 40 °C 44
Figura 13: Curva Cinética (Acerola) 150 bar e 60 °C 44
Figura 14: Curva Cinética (Acerola) 250 bar e 40 °C 44
Figura 15: Curva Cinética (Acerola) 250 bar e 60 °C 44
Figura 16: Curva Cinética (Acerola) 200 bar e 50 °C 45
Figura 17: Curva Cinética (Hortelã) 150 bar e 40 °C 45
Figura 18: Curva Cinética (Hortelã) 150 bar e 60 °C 46
Figura 19: Curva Cinética (Hortelã) 250 bar e 40 °C 46
Figura 20: Curva Cinética (Hortelã) 250 bar e 60 °C 46
Figura 21: Curva Cinética (Hortelã) 200 bar e 50 °C 47
Figura 22: Espectro infravermelho para biodiesel e óleo de soja 49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estudos da estabilidade oxidativa do Biodiesel na presença de antioxidantes sintéticos e naturais 15
Tabela 2: Condições experimentais dos ensaios da extração supercrítica 26
Tabela 3: Extratos obtidos com CO_2 supercrítico 28
Tabela 4: Bandas de Absorção no espectro de infravermelho para biodiesel 33
Tabela 5: Biodiesel com os extratos das folhas de Acerola e Hortelã 34
Tabela 6: Amostras submetidas à estabilidade Oxidativa em Rancimat 35
Tabela 7: Rendimento das Extrações por método convencional 37
Tabela 8: Condições experimentais para a extração supercrítica e rendimento global das extrações 39
Tabela 9: Efeitos para as variáveis temperatura e pressão na obtenção do extrato das folhas de Acerola e Hortelã empregando CO_2 supercrítico 39
Tabela 10: Solubilidade experimental dos extratos de Acerola e Hortelã obtidos com CO_2 supercrítico 42
Tabela 11: Parâmetros dos modelos cinéticos 43
Tabela 12: Testes de caracterização do Biodiesel 47
Tabela 13: Tempo de indução para biodiesel de soja na presença de antioxidantes naturais e sintéticos 50
Tabela 14: Polaridade dos solventes 52

NOMENCLATURA

A•	Radical inerte
AH	Antioxidante
ANP	Agência Nacional do Petróleo
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
CA	Ácido cafeíco
CG/MS	Cromatografia gasosa acoplado com espectro de massa
CO	Monóxido de carbono
CO_2	Dióxido de Carbono
DPPH	2,2–Difenil–1–picril–hidrazila
DSC	Calorímetro exploratório diferencial
FA	Ácido felúrico
GP	Galato de propila
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
KOH	Hidróxido de Potássio
LCC	Líquido da casca da castanha
LTP	Chá lipídico-solúvel
NaOH	Hidróxido de Sódio
OBDA	Octilbutildifenilamina
PG	Propil galato
PY	Piragalol
R•	Radical lipídico
RH	Lipídio insaturado
RMN	Ressonância magnética nuclear
ROO•	Radical peróxido
ROOH	Hidroperóxido
SE	Sesamol
SO_x	Óxidos de enxofre
TBHQ	Terc-butil-hidróxi-quinona
TBP	Derivado terc-butilfenol
TGA	Análise termogravimétrica
THBP	Tri-hidróxi-butil-fenona
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UNIOESTE	Universidade Estadual do Oeste do Paraná
UNOP	Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná
WTP	Chá solúvel em água

RESUMO

SANTOS, Ana C. C. dos. **Análise da estabilidade termo-oxidativa do biodiesel de soja na presença de antioxidantes naturais obtidos por diferentes técnicas de extração.** Dissertação (Mestrado em Bioenergia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Toledo – Pr. 2014. Orientador: Prof. Dr. Edson Antonio da Silva.

Biodiesel é um combustível que pode ser obtido de fontes renováveis e devido sua composição química é sensível à oxidação. Para aumentar sua estabilidade oxidativa é necessário acrescentar antioxidantes, que são compostos capazes de evitar ou retardar reações de oxidação e podem ser sintéticos ou naturais, dentre os naturais, destacam-se uma variedade de plantas com atividade antioxidante, dentre elas a Hortelã (*Mentha spicata L.*) e Acerola (*Malpighia glabra L.*). O objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade oxidativa do Biodiesel na presença de antioxidantes naturais dos extratos das folhas de Acerola e Hortelã obtidos por extração convencional e com CO_2 supercrítico em condições de temperatura e pressão variadas, utilizando teste de estabilidade oxidativa em Rancimat, avaliou-se, também, o antioxidante sintético TBHQ, para comparar com os resultados obtidos com a utilização dos extratos das plantas. Foram avaliados os efeitos da Temperatura e Pressão no rendimento e da qualidade do extrato. Os melhores tempos de indução obtidos foram para o Biodiesel acrescido dos extratos supercríticos da Acerola nas condições 40 °C e 150 bar (1,38 h) e 60 °C e 250 bar (1,07 h) e os extratos supercríticos da Hortelã nas condições de 40 °C e 150 bar (1,08 h), 40 °C e 250 bar (1,71 h) e 60 °C e 250 bar (2,04 h) e os extratos soxhlet obtidos com hexano, tanto da Acerola (2,84 h) quanto da Hortelã (2,87 h), que apresentaram tempo de indução maior que o controle (1,04 h). O Biodiesel acrescido do antioxidante sintético TBHQ obteve tempo de indução superior ao controle e ao biodiesel acrescidos dos extratos, sendo de 36,95 horas. A estabilidade oxidativa do Biodiesel foi superior quando acrescido dos extratos obtidos por extração convencional utilizando Hexano como solvente, que, pode ter extraído uma maior quantidade de compostos com atividade antioxidante.

Palavras-chave: Extração Supercrítica, Soxhlet, Acerola (*Malpighia glabra L.*) e Hortelã (*Mentha spicata L.*)

ABSTRACT

SANTOS, Ana C. C. dos. **Analysis of the thermo-oxidative stability of soybean biodiesel in the presence of natural antioxidants obtained by different extraction techniques.** Dissertation (Master in Bioenergy) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Toledo – Pr. 2014. Adviser: Prof. Dr. Edson Antonio da Silva.

Biodiesel is a fuel that can be obtained from renewable sources and due to its chemical composition is sensitive to oxidation. To increase their oxidative stability is necessary to add antioxidants, which are compounds capable of avoiding or delaying oxidation reactions and can be synthetic or natural, from the natural, we highlight a variety of plants with antioxidant activity, among them the mint (Mentha spicata L.) and Acerola (Malpighia glabra L.). The objective of this study was to evaluate the oxidative stability of biodiesel in the presence of natural antioxidants from extracts of Acerola and mint leaves obtained by conventional extraction and supercritical CO_2 on temperature and various pressure using oxidative stability in Rancimat test, avaliou- is also the synthetic antioxidant TBHQ, to compare the results obtained with the use of the plant extracts. The effects of temperature and pressure on the yield and quality of the extract. The best induction times were obtained for biodiesel plus the supercritical extracts of Acerola 40 °C and 150 bar condition (1.38 h) and 60 °C and 250 bar (1.07 h) and the supercritical extract of mint conditions of 40 °C and 150 bar (1.08 h), 40 °C and 250 bar (1.71 h) and 60 °C and 250 bar (2.04 h) and soxhlet extract with hexane obtained from both acerola (2.84 h) and Mint (2.87 h), which showed greater induction time of the control (1.04 h). Biodiesel plus the synthetic antioxidant TBHQ got time higher induction to control and biodiesel plus extracts and from 36.95 hours. The oxidative stability of biodiesel was more increased when the extracts obtained by conventional extraction using Hexane as the solvent, which can be extracted from a larger quantity of compounds with antioxidant activity.

Keywords: Supercritical Fluid Extraction, Soxhlet, Acerola (*Malpighia glabra L.*) and Mint (*Mentha spicata L.*)

1. INTRODUÇÃO

O Biodiesel polui menos o ambiente quando comparado aos combustíveis de origem fóssil, é biodegradável e origina-se de matéria-prima renovável. Pode ser obtido de fontes renováveis, como óleos vegetais, principalmente a partir da reação de transesterificação, que converte um triacilglicerídeo em um éster de ácido graxo (Sarin *et al.*, 2010; Lomanoco *et al.,* 2012; Focke *et al,.* 2012). No Brasil, a principal fonte de produção de biodiesel é a partir do Soja (*Glicyne max L.*) (Borsato *et al.*, 2010).

Os ácidos graxos insaturados presentes em óleos e gorduras, matéria-prima para o biodiesel, favorecem o seu processo de oxidação, sendo assim, o biodiesel é mais sensível à degradação por oxidação que os combustíveis fósseis (Focke *et al.,* 2012), e devido à ação do ar, da luz, temperatura e umidade pode ter suas propriedades alteradas (Borsato *et al.,* 2010). Quando o biodiesel é exposto à luz, está sujeito a degradação por foto-oxidação, em que as duplas ligações presentes no óleo (ácidos graxos insaturados), produzem hidroperóxidos (Ferrari & Souza, 2009) e quando exposto ao ar ambiente pode sofrer autoxidação, afetando suas propriedades durante o armazenamento.

O óleo extraído dos grãos do Soja apresentam cerca de 76% de triacilglicerídeos formados por ácidos graxos insaturados que são incorporados pelo biodiesel acarretando em uma baixa estabilidade oxidativa (Borsato *et al.,* 2010). Ao se degradar, o biodiesel perde as qualidades de um biocombustível podendo acarretar danos ao motor, dessa forma, é necessário um controle de qualidade rigoroso na sua estabilidade à oxidação para evitar efeitos negativos em seu uso.

Com a finalidade de aumentar a estabilidade do biodiesel, se faz necessário a adição de antioxidantes, que são compostos capazes de inibir ou retardar reações de oxidação. Esses podem ser de ocorrência sintética ou natural. Antioxidantes naturais geralmente são encontrados em plantas que apresentam atividade antioxidante. Estes podem ser extraídos por diferentes técnicas como por meio de extração convencional, utilizando solventes orgânicos ou água e, extração utilizando fluídos supercríticos, como o CO_2.

A extração supercrítica é uma técnica de extração por alta pressão, quando utiliza baixas temperaturas previne a degradação dos compostos antioxidantes presentes nas plantas, o solvente (CO_2) pode ser reaproveitado e ainda apresenta a vantagem de obter um extrato livre de solvente o, que não ocorre na extração convencional.

Dentre os antioxidantes sintéticos, os comercialmente mais utilizados são TBHQ (Terc-butil-hidróxi-quinona), BHT (Butil-hidróxi-tolueno), BHA (Butil-hidróxi-anisol) e PG (Propil Galato). Os antioxidantes BHT e TBHQ são conhecidos por retardarem efeitos da oxidação na viscosidade, na acidez e no índice de peróxido do biodiesel (Dunn, 2002). A estabilidade oxidativa do biodiesel pode ser melhorada adicionando tanto antioxidante natural ou sintético, porém, antioxidantes de ocorrência natural mostraram ser menos eficientes quando comparados com os sintéticos na estabilidade à oxidação do biodiesel (Ball *et al.*, 2009). Ao que se refere ao biodiesel, os antioxidantes podem retardar as reações de polimerização que ocorrem durante a sua oxidação, porém, não inibí-las por completo (Graboskiet *et al.*, 1998).

Para avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel podem ser realizados diversos testes. A Norma EN 14112 determina o teste em equipamento Rancimat como método padrão para determinar o tempo de indução do biodiesel à 110 °C, que é o tempo em que o biodiesel se mantém estável até formar altas concentrações dos compostos originados nas reações de oxidação (Liang *et al.*, 2005).

Existem diversos trabalhos na literatura que avaliam o potencial antioxidante de extratos de plantas e as melhores condições para extração desses metabólitos, como, as melhores técnicas (Van Le & Man Le, 2012), quais os solventes mais adequados, qual a temperatura adequada para não degradar o extrato, tempo ótimo de extração e tipos diferentes de preparo da matriz vegetal (Caetano *et al*., 2011). Estudos comparam, ainda, os rendimentos e atividade antioxidante de extratos obtidos por técnica convencional com extratos obtidos por extração supercrítica, no entanto, pouco desses estudos, utilizam o poder antioxidante dos extratos para averiguar se poderiam aumentar a estabilidade oxidativa do Biodiesel.

Dos estudos avaliando a estabilidade do Biodiesel na presença de antioxidantes, a maioria avalia o potencial de antioxidantes sintéticos e avaliam variadas concentrações dos antioxidantes, diferentes temperaturas, diferentes técnicas para medição da estabilidade do biodiesel, misturas entre esses antioxidantes, tempo de estocagem, dentre outros (Cini *et al*., 2012; Focke *et al.*, 2012; Borsato *et al.*, 2012). Poucos estudos são encontrados da avaliação da estabilidade do biodiesel na presença de antioxidantes naturais.

Existem vários extratos de plantas com capacidade antioxidante que podem ser aplicados como aditivo antioxidante ao biodiesel no intuito de retardar as reações de

oxidação que causam a sua degradação. Algumas plantas apresentam trabalhos na literatura ressaltando sua atividade antioxidante, enquanto que várias, que apresentam compostos antioxidantes, não foram ainda avaliadas quanto sua possível atividade. Estudos podem ser realizados buscando os melhores métodos de extração para que se obtenha maiores rendimentos em compostos antioxidantes, a fim de se aumentar a durabilidade do biodiesel.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo principal avaliar a estabilidade termo-oxidativa empregando o teste de Oxidação Acelerada Rancimat do biodiesel metílico na presença de antioxidantes naturais extraídos das folhas de Hortelã (*Mentha spicata L.*) e Acerola (*Malpighia glabra L.*) empregando duas técnicas de extração: a técnica convencional de extração em solvente líquido e por extração supercrítica.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito dos extratos obtidos por extração convencional utilizando como solvente Etanol e Hexano das folhas das plantas: Acerola (*Malpighia glabra L.*), e Hortelã (*Mentha spicata L.*) na estabilidade termo-oxidativa do biodiesel de soja;
- Avaliar o efeito dos extratos das folhas das plantas Acerola (*Malpighia glabra L.*) e Hortelã (*Mentha spicata L.*) obtidos pela técnica de extração supercrítica utilizando como solvente o CO_2 na estabilidade termo-oxidativa do biodiesel de soja;
- Avaliar os efeitos da Temperatura e Pressão no rendimento das extrações supercríticas das folhas de Acerola (*Malpighia glabra L.*), e Hortelã (*Mentha spicata L.*).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Fontes convencionais de combustíveis e meio ambiente

A maior parte de toda energia consumida no mundo provém do petróleo, carvão e do gás natural. O Petróleo é uma mistura de hidrocarbonetos, originado da decomposição de matéria orgânica. Essas fontes são limitadas e com previsão de esgotamento no futuro, portanto, a busca por fontes alternativas de energia é de suma importância (Ferrari *et al.*, 2004).

Contudo, suprir a demanda energética mundial tem sido um grande desafio, uma vez que as principais fontes de energias são derivadas de fontes fósseis, não renováveis e com grandes impactos ambientais, assim como o Petróleo.

É nesse âmbito que os estudos para descobertas de novas fontes de energias se intensificaram pelo desenvolvimento de uma fonte que seja de origem renovável e sustentável. A fim de reduzir as emissões de CO_2 na atmosfera e por consequência neutralizar os danos causados pelo efeito estufa.

Com isso, percebe-se a necessidade de gerar energia para o bem-estar e o crescimento industrial reduzindo os impactos ambientais. A partir destes conceitos se inseriu em pesquisas o uso dos biocombustíveis, combustíveis sustentáveis, que derivam de fontes renováveis e que tem menor impacto no meio ambiente, como é o caso do biodiesel.

A substituição do uso do diesel pelo biodiesel é justificada principalmente por razões ambientais, uma vez que a utilização de combustíveis de origem fóssil aumenta os índices de dióxido de carbono (CO_2) na atmosfera agravando os danos causados pelo efeito estufa, já que um dos principais benefícios do uso de biocombustíveis está nas menores emissões de gases poluentes, como, monóxido de carbono (CO), hidrocarbonetos, aromáticos, óxidos de enxofre (SO_x) e dióxido de carbono (CO_2). Segundo estudos de Garcia (2006) o uso de biodiesel reduz de 78 a 100% as emissões de CO_2, 48% as emissões de CO e 99% as emissões de SO_x. Ainda é virtualmente livre

de enxofre e de compostos aromáticos, uma vez que a presença desses compostos acarreta na formação de SO_2 e material particulado que acelera a degradação do motor, apresenta alto número de cetano, diminuindo o desgaste no sistema de ignição do motor quando comparado ao diesel, e tem maior viscosidade e maior ponto de fulgor que, proporcionam ao motor uma maior lubricidade, além de apresentar caráter não tóxico e biodegradável, e ser proveniente de fontes renováveis (Ferrari *et al.*, 2004).

Garcia (2006) ressalta que a utilização do biodiesel permite o estabelecimento de um ciclo de carbono mais balanceado, já que o CO_2 liberado quando o biodiesel é queimado no motor é absorvido igualmente pela fotossíntese, durante o crescimento das próximas safras de biomassa das quais se produzirá o álcool e o óleo.

Assim, para minimizar os impactos ambientais causados pela queima do diesel e melhorar as propriedades do combustível utilizado diminuindo o desgaste do motor, estudos avaliam a produção e utilização do Biodiesel focando nos seus efeitos sob o ambiente e o motor.

3.2 Biodiesel

Biodiesel é um combustível alternativo derivado de fontes renováveis e limpas. É formado por uma mistura de ésteres de cadeias que variam de acordo com a composição da matriz vegetal que o originou e por se tratar de um biocombustível vem ganhando espaço na matriz energética mundial.

Entre 1970 e 1980 foram desenvolvidos no Brasil programas que incentivasse a produção e utilização de combustíveis derivados de biomassa, como por exemplo, o pró-álcool que visava substituir a gasolina por álcool combustível e o pró-óleo, que buscava substituir o diesel por derivados de triacilglicerídeos.

Em 1980 foi requerida a primeira patente no Brasil sobre transesterificação, intitulada como “Processos de produção de combustíveis a partir de frutos ou sementes de oleaginosas” sob registro PI- 8007957 (Dabdoub & Bronzel, 2009).

O Biodiesel é considerado um biocombustível por ser utilizado como combustível alternativo ao óleo diesel e "bio" por derivar de fontes renováveis e limpas. Segundo Lomonaco (2012), é um óleo diesel alternativo derivado da transesterificação de óleos vegetais e animais. É um combustível alternativo ao diesel que deriva de fontes renováveis. No Brasil, em sua maioria, é utilizado em uma mistura com o Diesel.

No Brasil, a principal matéria-prima para produção do biodiesel são sementes de oleaginosas, sendo a mais comum o Soja (*Glycine max*), porém, várias outras espécies estão sendo alvo de estudos para produção de biodiesel como Babaçu (Lima *et. al.*, 2007), Microalgas (Cruz *et. al.*, 2013), Mamona (Freitas & Fredo, 2005), Pinhão-manso (Araújo & Souza, 2008), Girassol (Ferrari & Souza, 2009) , dentre outras.

O Biodiesel é produzido em escala industrial por meio da reação de transesterificação, em que uma molécula de triacilglicerídeo, proveniente do óleo da matriz vegetal utilizada como matéria-prima, reage com três moléculas de álcool utilizando um catalisador para formação de uma mistura de ésteres, que se atender as especificação da ANP será considerado Biodiesel, e a glicerina como sub-produto da reação. Uma base pode ser utilizada como catalisador dessas reações, acelerando-as e diminuindo o tempo necessário para que esta ocorra.

Segundo Geris *et. al.* (2007), na transesterificação de óleos vegetais, representada na Figura 01, um triacilglicerídeo reage com um álcool na presença de um ácido ou base forte produzindo uma mistura de ésteres de ácidos graxos e glicerol. Ressalta ainda que, a proporção molar deve ser de 3:1 de álcool por triacilglicerídeo, porém, geralmente é acrescentado um excesso de álcool para aumentar o rendimento da reação e facilitar separação do glicerol, devido as interações que ocorrem entre as moléculas.

Figura 01: Reação de Transesterificação de Óleos Vegetais
(Fonte: Geris *et al.*, 2007)

O metanol e etanol são os alcoóis primários mais produzidos no Brasil. Para produção do biodiesel em escala industrial a preferência é pelo metanol, devido seu baixo valor e o fato do etanol dificultar a separação do glicerol. Já para o catalisador, a maioria dos trabalhos ressaltam o uso de hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de Potássio (KOH), que segundo Geris *et. al.* (2007), foram observados os maiores rendimentos e seletividade quando a reação é realizado por meio de catálise alcalina que para reações realizadas com os demais catalisadores.

O Biodiesel enquanto produto tem as seguintes características: é livre de enxofre e aromáticos, tem alto número de cetano, possui teor médio de oxigênio em 11%, e maior viscosidade e maior ponto de fulgor que o diesel, o que favorece sua produção e comércio, porém, ainda apresenta valor comercial maior ao diesel, que seria um ponto desfavorável, mas, se os co-produtos da produção forem comercializados seu valor se iguala ao do diesel, tornando viável seu comércio (Neto *et al.*, 1999).

3.3 Oxidação do biodiesel

Biodiesel é mais sensível à degradação oxidativa que combustíveis fósseis devido a sua composição química (Focke *et. al*., 2011), que depende dos ácidos graxos que compõe o óleo vegetal utilizado como matéria-prima na reação de transesterificação que podem alterar a qualidade e desempenho desse biocombustível (Focke *et. al*., 2011).

O óleo de soja contém altas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados, como os ácidos Linoléico e Linolênico (C18:2 e C 18:3), o que pode estar relacionado com a baixa estabilidade e alto número de cetano do Biodiesel derivado dessa matriz vegetal (Mittelbach *et. al.*, 2004).

Biodiesel é sensível à luz, pois, está sujeito à degradação por foto-oxidação e uma atenção recente tem sido focada para efeitos da oxidação causados pelo contato do biodiesel com o ar ambiente (autoxidação) (Ferrari & Souza, 2009). Pode-se destacar ainda outros variáveis externas, como, temperatura, exposição à luz, intensidade de radiação, etc. (Ball *et. al.*, 2009).

A autoxidação ou peroxidação lipídica ocorre quando um lipídio, em geral um ácido graxo, é atacado por um oxigênio alterando a sua estrutura química. A

autoxidação é uma cadeia de reações envolvendo três passos básicos: iniciação, propagação e terminação (Chen & Luo, 2011) e o mecanismo básico desse processo está bem estabelecido (Frankel, 1984).

Inicialmente, ocorre a retirada de um hidrogênio de um lipídio insaturado (RH) por meio da ação de íons metálicos, luz, radiação, calor, etc., acarretando na formação de radicais livres. O intermediário formado é um radical lipídico (R•), que apresenta um par de elétrons não emparelhados. Este intermediário é uma estrutura instável e tende a reagir rapidamente (Jadhav *et al.*, 1996).

Esse intermediário (R•) reage, na etapa de propagação, para formar um radical peróxido (ROO•) que reage com um outro lipídio insaturado (RH) resultando na formação de um hidroperóxido (ROOH), acarretando numa reação em cadeia, já que acaba por formar novos radicais livres (R•). Durante esta etapa, outros novos radicais são criados rapidamente a partir de um único radical (Chen & Luo, 2011). Os hidroperóxidos, podem ainda, reagir com um íon metálico e formar uma nova fonte de radicais livres promovendo a formação de produtos secundários (cetonas, alcoóis, etc.) que são responsáveis pela rancidez do composto (formação de odores indesejáveis e sabores quando trata-se de lipídeos em alimentos) (Jacobsen, 2010; Skibsted, 2010).

Por fim, na terminação, os radicais livres reagem entre si e formam compostos estáveis. O esquema do mecanismo de oxidação do Biodiesel está descrito na Figura 2.

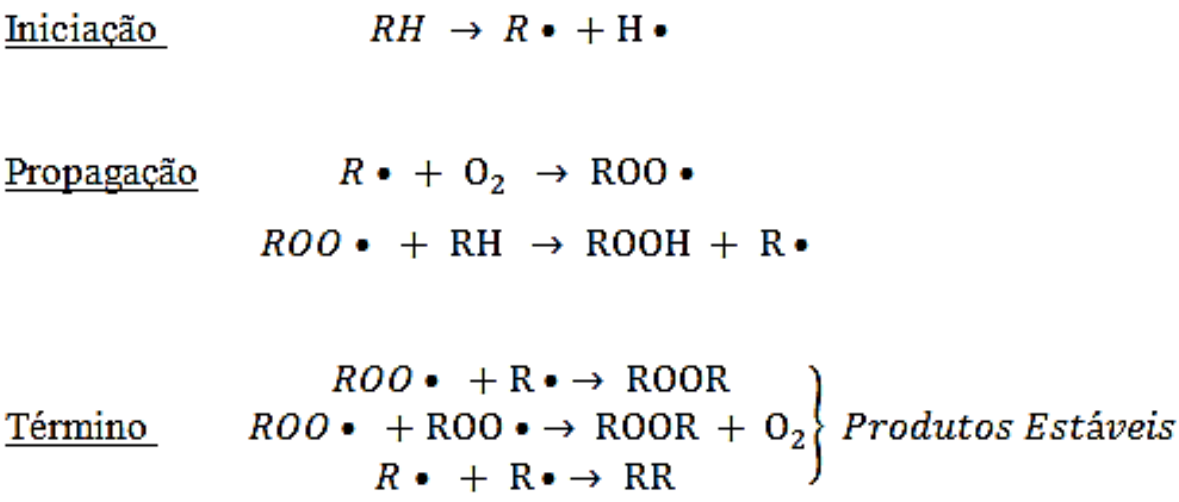

Figura 2: Esquema do mecanismo da oxidação lipídica.
(Adaptado de Ramalho *et al.*, 2006)

Técnicas empregadas para o monitoramento e avaliação da oxidação de óleos e gorduras incluem monitoramento de peróxido, dienos conjugados, valores de anisidina e carbonilas. Técnicas espectroscópicas incluem ressonância de elétrons, infravermelho, fluorescência, luminescência química e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (Shahidi *et al*., 1998) e ainda, tem-se técnicas que incluem medida da estabilidade do óleo (OSI), teste de Rancimat e análise termogravimétrica (TGA).

A estabilidade oxidativa é definida como a resistência da amostra à oxidação e é expressa pelo período de indução, tempo entre o início da medição e o momento em que ocorre um aumento brusco na formação de produtos da oxidação (Antoniassi, 2001). Estudo para biodiesel estabeleceu um limite de 6h como período mínimo para indução no Rancimat (Bockey, 2002). Com isso, foi estabelecido um método padrão de determinação da estabilidade oxidativa de ésteres de ácidos graxos metílicos usando o teste de oxidação acelerada Rancimat (EN 14112) (Liang *et al.,* 2005). Outras técnicas de avaliação também podem ser utizadas, como DSC (Calorímetro Exploratório Diferencial) e PetroOXY, está última é uma técnica nova para avaliar combustíveis líquidos que apresenta boa repetitividade nos resultados e menor tempo de análise, em comparação com o Rancimat.

A etapa de estabilização do biodiesel com o teste Rancimat pode ser quantificada por um fator de estabilização que é a razão entre os tempos de indução (tempo do início do teste até oxidação do biodiesel) do biodiesel contendo antioxidante e o biodiesel puro, este fator foi semelhante ao obtido por isotérmicas por DSC (Focke *et al.*, 2012).

3.4 Antioxidantes

Antioxidantes são compostos que inibem ou retardam o processo oxidativo (Haliwell & Gutteridge, 2007). Estes podem ser acrescentados ao biodiesel de modo a retardar as reações de oxidação indesejáveis. Já é de conhecimento que os antioxidantes podem prevenir oxidação de alimentos, óleos, plásticos, etc. (Luo *et al.,* 2012). Vários trabalhos estudam a influência de antioxidantes na estabilidade oxidativa do biodiesel (Domingos *et al.,* 2007; Liang *et al.,* 2006).

3.4.1 Classificação dos Antioxidantes

Os antioxidantes originalmente foram definidos como compostos que sequestram radicais livres, inativando-os, mas, atualmente é comum definirmos antioxidantes como qualquer composto capaz de inibir o processo de oxidação de lipídios. Assim, segundo Bailey *et al.* (1996) os antioxidantes podem ser classificados em:

a) Antioxidantes primários: compostos (AH) que removem ou inativam os radicais livres (ROO• e R•) formados durante a iniciação ou propagação da reação, por meio da doação de átomos de hidrogênio, formando um radical inerte (A•), cessando a reação em cadeia.

$$ROO\bullet + \mathrm{AH} \rightarrow \mathrm{ROOH} + \mathrm{A}\bullet$$

$$R\bullet + \mathrm{AH} \rightarrow \mathrm{RH} + \mathrm{A}\bullet$$

Os antioxidantes mais conhecidos deste grupo são os polifenóis, como BHA, BHT, TBHQ e PG, que são sintéticos, e tocoferóis, que são naturais (Namiki, 1990).

b) Antioxidantes sinergistas: são compostos com pouca ou nenhuma atividade antioxidante que podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usados em combinações adequadas.
c) Antioxidantes removedores de oxigênio: substâncias que capturam o oxigênio presente no meio reacional utilizando reações químicas, tornando-o indisponível para atuar como propagadores da autoxidação. Um exemplo é o ácido ascórbico.
d) Antioxidantes biológicos: incluem várias enzimas que podem remover oxigênio ou compostos reativos dos sistemas alimentícios (Bailey, 1996; Ramalho *et al*., 2005).
e) Agentes quelantes: complexam íons metálicos que catalisam a oxidação lipídica. Os mais comuns são ácido cítrico e seus sais, fosfatos e sais de ácido etileno diamino tetra acético (EDTA).
f) Antioxidantes mistos: incluem compostos de plantas e animais que têm sido amplamente estudados. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas,

flavonoides, derivados de ácido cinâmico (ácido caféico) e os extratos das plantas utilizadas nesse estudo.

3.4.2 Compostos Fenólicos como Antioxidantes

Os compostos fenólicos são moléculas orgânicas que apresentam em sua estrutura química ao menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas (Figura 3). Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como, fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (Naczk *et al*., 2004).

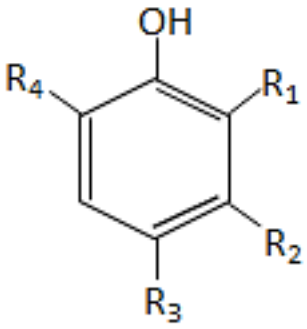

Figura 3: Estrutura típica dos Compostos Fenólicos
(Fonte: Naczk *et al.*, 2004)

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química (Souza *et al.*, 2007) e agem como antioxidantes não somente pela sua capacidade de doar hidrogênios ou elétrons, mas também devido aos seus radicais intermediários estáveis que impedem a oxidação de ácidos graxos e de óleos (Cuvelier *et al*., 1992; Maillard *et al*., 1996; Soares *et al.*, 2007). Os intermediários são substâncias estáveis devido à ressonância que ocorre no anel dessas substâncias (Figura 4) (Souza *et al*., 2007). O grupo hidroxila doa um hidrogênio ao radical livre e então, se estabiliza por meio da ressonância no anel.

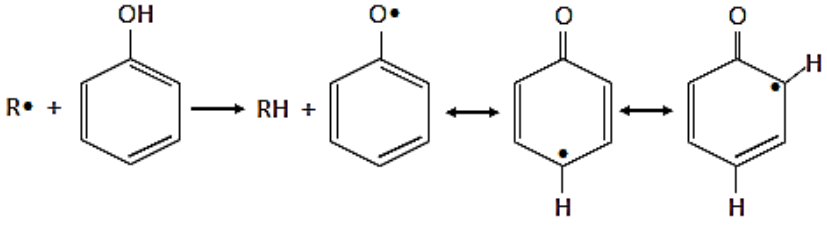

Figura 4: Mecanismo de Ressonância que estabiliza um composto fenólico
(Fonte: Souza *et al.*, 2007)

3.4.3 Antioxidantes Sintéticos e Naturais

Os antioxidantes podem ser classificados em dois tipos: sintéticos e naturais. Na indústria alimentícia os compostos antioxidantes sintéticos mais utilizados são: butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT), *terc*-butil-hidroxi-quinona (TBHQ), *tri*-hidroxi-butil-fenona (THBP) e galato de propila (GP) (Souza *et al.*, 2007). Estes compostos são principalmente fenólicos (Figura 5). Antioxidantes como TBHQ ou BHT são conhecidos por retardarem os efeitos da oxidação do biodiesel na suas propriedades, como, na viscosidade, acidez e índice de peróxido (Duun, 2005). Outros antioxidantes conhecidos por aumentar a resistência à oxidação de óleos vegetais incluem ascorbil palmitato, tocoferóis, BHA e propil galato (PG) .

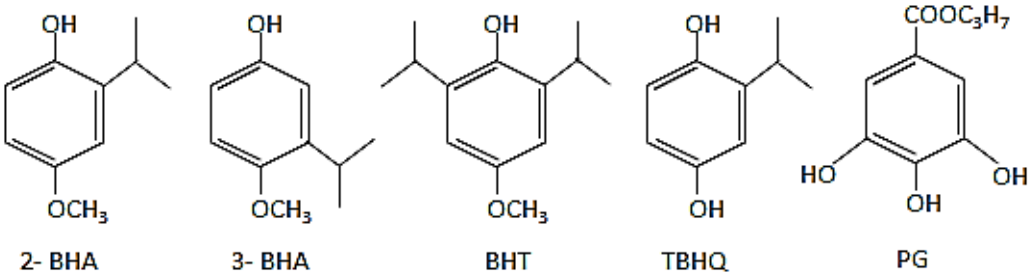

Figura 5: Estrutura Química dos principais antioxidantes sintéticos
(Fonte: Souza *et al.*, 2007)

Estudos têm demonstrado a possibilidade destes antioxidantes apresentarem alguns efeitos tóxicos (Souza *et al.*, 2007). Além disso, BHA e BHT são antioxidantes sintéticos derivados do Petróleo (fonte fóssil).

Dentre os antioxidantes naturais mais utilizados destacam-se: ácido ascórbico, vitamina E e β-Caroteno (Duarte-Almeida *et. al.*, 2006). Os compostos fenólicos também são potentes antioxidantes, podendo agir como redutores de oxigênio singleto, atuando nas reações de oxidação lipídica, assim como na quelação de metais (Duarte-Almeida *et. al*. 2006).

Ao que se refere a antioxidantes naturais, sua atividade antioxidante é influenciada por diversos fatores, dentre eles: concentração do fitoquímico antioxidante na planta, que dependem, das condições edafoclimáticas do cultivo, do solvente e a técnica de extração empregada (Caetano, 2009).

Embora existam muitas publicações a respeito do efeito de antioxidantes sintéticos e naturais na estabilidade de óleos e gorduras utilizados na alimentação, pouco está disponibilizado em relação ao efeito destes com ésteres metílicos de ácido graxos utilizados como biodiesel, quando comprado aos estudos relacionados à alimentação, farmácia e cosméticos (Ferrari & Souza, 2009).

Vários aditivos são adicionados à óleos com objetivo de inibir ou retardar reações indesejáveis (Lomonaco *et al.,* 2011). Os tratamentos do biodiesel com antioxidantes são promissores, uma vez que facilitam a estocagem em estrutura já existentes. A estabilidade oxidativa do biodiesel pode ser melhorada adicionando antioxidantes de ocorrência natural ou sintética (Focke *et al*., 2011), porém, antioxidantes de ocorrência natural mostraram serem menos eficientes quando comparados com os sintéticos na estabilidade à oxidação do biodiesel (Ball *et al*, 2010; Focke *et al*., 2011). Ao que se refere ao biodiesel, os antioxidantes podem retardar as reações de polimerização, porém, não inibi-las por completo (Graboski *et al*.,1998; Focke *et al*., 2011).

Dos estudos da estabilidade termo-oxidativa do Biodiesel, a maioria é realizada com a utilização de antioxidantes sintéticos, poucos estão utilizando antioxidantes de ocorrência natural. A Tabela 1 apresenta alguns estudos relacionados com a estabilidade do Biodiesel à oxidação utilizando antioxidantes sintéticos e naturais. A estabilidade oxidativa nos trabalhos abaixo foram determinadas por meio do Tempo de indução, que é o tempo em que o Biodiesel se mantém estável sem que ocorram a formação de compostos do processo oxidativo, todos realizados em equipamento Rancimat.

Tabela 1: Estudo da estabilidade oxidativa do Biodiesel na presença de Antioxidantes Sintéticos e Naturais

Fonte Oleaginosa	**Antioxidantes**	**Concentração**	**Tempo de indução (h)**	**Tempo de indução (h) Biodiesel Puro**	**Referências**
Biodiesel de garampara (*Dipteryx lacunifera*)	TBHQ	50 ppm	6,06	2,97	Araújo *et al.*, 2010
	BHT	50 ppm	8,08		
	LCC (Casca da Castanha de Caju)	2000 ppm	6,02		
Biodiesel de Girassol	BHT	0,5%	3,00	1,10	Ferrari & Souza, 2008
	TBHQ	0,5%	2,30		
	BHA	0,5%	6,30		
Biodiesel de Palma	α-tocoferol	1000 ppm	6,17	3,52	Liang *et al.*, 2005
	TBHQ	50 ppm	6,42		
	BHT	50 ppm	6,42		
Biodiesel de Soja	Extrato etanólico Buriti	3000 ppm	4,80	2,00	Bastos *et al.*, 2013
	Extrato etanólico Manjericão	3000 ppm	5,97		
Biodiesel de Soja	Extrato etanólico *Piper aduncun*	2000 ppm	6,26	2,27	Damasceno *et al.*, 2011
	Amida derivada do Ác Mirsinóico B (4C)	2000 ppm	1,34		
	Amida derivada do Ác Mirsinóico B (12C)	2000 ppm	3,15		

Como demonstrado na Tabela 1, vários antioxidantes naturais apresentam bons resultados como aditivos em biodiesel e, ainda, várias outras plantas apresentam elevadas concentrações de compostos antioxidantes com grande potencial para ser usado no biodiesel, dentre elas destacam-se a Hortelã (Almeida *et al.*, 2010; Bimakr *et al.*, 2011) e a Acerola (Vieira *et al.*, 2010; Andrade *et al.*, 2013), que em diversos estudos são relatados seu potencial antioxidante, porém, nesses trabalhos não são avaliados os efeitos antioxidantes dos extratos no biodiesel.

3.5 Extração de Antioxidantes

O principal objetivo de se extrair antioxidantes é obter extratos com alta atividade antioxidante. Os vegetais apresentam metabólitos primários e secundários. Os primários são responsáveis pela sobrevivência dos vegetais enquanto os secundários estão relacionados com as estratégias de defesa das plantas. Os principais metabólitos secundários estão classificados em: terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio.

Os compostos fenólicos antioxidantes estão presentes em pequena quantidade na matriz sólida da planta, assim, os extratos não concentrados deveriam ser utilizados em grandes quantidades para inibir a oxidação do Biodiesel, o que poderia acarretar em alterações nas propriedades do produto. Para tal, a escolha adequada do método de extração desses compostos e o solvente são extremamente importantes para aumentar o rendimento da extração dos antioxidantes.

A solubilidade do composto em um determinado solvente é uma característica peculiar do fitoquímico, o que explica a inexistência de um procedimento universal e aponta para a necessidade de seleção criteriosa do método de extração para cada fonte natural de antioxidante (Caetano, 2009).

Existem vários métodos de extrações bem estabelecidos, denominados métodos convencionais, como a hidrodestilação e extrações com solventes orgânicos, como, Soxhlet e a técnica da maceração (Almeida *et al.*, 2010), ainda tem-se a extração com auxílio de Ultra-som e com Fluído Supercrítico.

3.5.1 Extração Convencional

A extração convencional é o método de extração de compostos de plantas mais utilizados, se baseia na extração com utilização de solvente orgânico e/ou água. Os extratos obtidos são sempre uma mistura de diferentes classes de fenóis, pois a natureza química dos compostos encontrados em plantas é bastante heterogênea (Naczk & Shahidi, 2004). A solubilidade desses compostos depende diretamente da polaridade do solvente empregado. Água, metanol, etanol e acetona são os solventes mais utilizados. Considerando a diversidade de polifenóis existentes em vegetais, com polaridades distintas, a extração eficiente destes constituintes requer o uso de solventes com diferentes polaridades (Caetano, 2009).

Vários estudos ressaltam o método de extração com utilização de solventes e posteriores estudos da atividade antioxidante dos extratos obtidos. Delva & Schneider (2012) analisaram a atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato metanólico da fruta da Acerola e obtiveram valores significantes para atividade no teste DPPH. Vendramini & Trugo (2000) estudaram a composição química de extratos aquosos de Acerola em diferentes épocas de maturação identificando compostos diversos, alguns podendo atuar como antioxidantes naturais.

Rodriguez-Rojo *et al.* (2012) investigaram a utilização de água e etanol para obtenção de extratos da folha de alecrim (*Rosemarinus officinalis* L.) empregando técnicas de extração, como, extração convencional, extração assistida por micro-ondas e extração assistida por ultrassom. Os extratos aquosos mostraram melhor atividade antioxidante pelo método de inibição do radical livre DPPH•.

3.5.2 Extração Supercrítica

Dentre as várias técnicas utilizadas para extração o uso de fluídos supercríticos, em especial dióxido de carbono supercrítico (CO_2). Um fluído supercrítico é qualquer substância que foi pressurizada e aquecida de sua pressão e temperatura críticas (Ponto Crítico), passando a ter propriedades intermediárias entre um gás e um líquido, assim, difundem como um gás e dissolvem outros materiais como líquidos (Santos, 2012). No caso do CO_2 a temperatura crítica (aquela acima da qual um gás não pode mais ser

liquefeito mesmo elevando a pressão) e pressão crítica (aquela acima da qual o gás não pode ser mais liquefeito mesmo diminuindo a temperatura) do CO_2 são, respectivamente, 31,10ºC e 73,76 bar. Pode-se alterar a densidade de um fluído supercrítico alterando a pressão em que se encontra, em uma alta densidade pode dissolver uma variedade de materiais como fazem os líquidos mas com a penetração dos gases, sendo assim altamente seletiva na obtenção de componentes de alto valor agregado.

A extração com fluído supercrítico é uma alternativa interessante devido as várias vantagens que apresenta (Ganán & Brignole, 2011), pois possui algumas características ideais ao uso: é inerte, atóxico, não inflamável e de baixo custo (Pokorny & Korczak, 2001). A utilização de CO_2 supercrítico elimina a necessidade de evaporação do solvente do extrato, uma vez que o calor aplicado para evaporar o solvente nas extrações convencionais pode degradar os compostos antioxidantes que são sensíveis ao calor. Uma desvantagem é que substâncias polares podem ser pouco solúveis em CO_2 supercrítico acarretando em um rendimento baixo de extração devido à sua baixa polaridade (Shi *et al*., 2011).

A extração de uma matriz sólida ocorre tipicamente em leito fixo e regime transiente utilizando um fluído supercrítico. A matéria-prima permanece dentro de um leito cilíndrico e o solvente percorre o leito, dissolvendo os componentes solúveis do material. A etapa para separação do solvente requer apenas uma diminuição de pressão, o que torna o solvente insolúvel no soluto permitindo a separação (Williams, 1981; Santos, 2013).

Segundo Santos (2012) existem vários fatores que interferem no rendimento de uma extração supercrítica, como a matriz envolvida, mais especificamente o tipo de secagem onde o melhor rendimento é obtido por meio da secagem natural ao invés da estufa, o tamanho das partículas da matriz vegetal, onde uma redução no tamanho das partículas aumenta o rendimento já que facilita o acesso do solvente até o soluto reduzindo as limitações da transferência de massa, e também a quantidade de água presente nessa matriz, alto teor de umidade reduz o contato do substrato com o solvente atuando como uma barreira (Santos, 2012).

As variáveis a serem consideradas no processo de extração supercrítica são: pressão, temperatura, vazão de solvente, tempo de extração, tamanho de partícula e

conteúdo de umidade da matéria-prima e todas necessitam ser otimizadas de maneira a se atingir um processo eficiente (Galvão, 2009).

3.6 Acerola (*Malpighia glabra L.*)

A Acerola (*Malpighia glabra L.*) é uma planta originária da América Central, foi introduzida no Brasil na década de 50, devido à sua boa adaptação ao solo e clima (De Rosso & Mercadante, 2005). Pertence à família Malpighiaceae (Mezadri *et. al.*, 2008) e tem um pequeno fruto vermelho-cereja, sendo de grande importância nutricional por ser fonte natural de vitamina C e, além, deste composto, polifenóis fazem parte de sua composição (Caetano *et. al.*, 2008), esses compostos são importantes por apresentam atividades antioxidantes.

Compostos antioxidantes estão naturalmente presente em frutas, sendo que algumas apresentam altas concentrações de determinados grupos (Harborne *et. al*., 2000; Arabbi *et. al*., 2004; Duarte-Almeida *et. al*., 2006). A acerola apresenta grandes concentrações de ácido ascórbico (Assis *et. al*., 2001; Duarte-Almeida *et. al*., 2006). Em extrato metanólico de resíduo de acerola (pele), foi evidenciado a presença de quantidade significante de compostos fenólicos e forte capacidade antioxidante (Oliveira *et. al*., 2009).

A acerola *in natura* é excelente fonte de Vitamina C e de Carotenóides precursores da Vitamina A, além de conter quantidades consideráveis de Tiamina, Riboflavina, Niacina, Ácido Pantotênico, Cálcio, Ferro e Magnésio. Apresenta alto teor de ácido ascórbico e a presença de antocianinas do fruto são responsáveis pela habilidade desses compostos em capturar radicais livres no organismo humano. A vitamina C, o β-caroteno e outros carotenóides agem como antioxidantes no organismo humano (Freitas *et. al*., 2006).

Em teste de Radical livre DPPH dos extratos etanólicos da folhas de Acerola apresentaram atividade antioxidante de 51,97% na concentração de 8,57 µg/mL, que foi a máxima utilizada no experimento (Vieira *et al.*, 2010). Em outro estudo, analisou a presença de compostos fenólicos em extratos metanólicos e etanólicos obtidos a frio dos frutos e das folhas pelo teste Folin-Ciocalteau e a atividade antioxidante pelo método

DPPH obtendo melhores valores para os extratos etanólicos, seja fruto ou folha, e quando comparados aos antioxidantes sintéticos seu resultado foi inferior (Andrade *et al.*, 2013).

3.7 Hortelã (*Mentha spicata L.*)

A Hortelã (*Mentha spicata L.*) está entre os mais populares ingredientes de chás. A espécie também é fonte de um dos mais populares óleos essenciais, com diversas aplicações nas indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica (Costa *et. al*., 2012). É uma planta herbácea da família *Lamiaceae* com inúmeras variedades cultivadas (Junior & Lemos, 2012). Originária da Europa e Norte da Ásia e é uma planta perene com talos rasteiros e rizoma lenhoso, folhas opostas, providas de pocíolo curto, flores pequenas de coloração variada (Vaz & Jorge, 2005).

O óleo essencial da Hortelã é composto por mentol, mentona, mentofurona, pineno, limoneno, cânfora, flavonóides, apigenina, lutonina, betaína, heterosídeos e ácidos orgânicos (Vaz & Jorge, 2005). Atribui-se o efeito antioxidante das plantas aromáticas à presença de seus grupamentos hidroxilas em seus compostos fenólicos (Shahidi *et. al.*, 1992; Morais *et. al*., 2009). As atividades antioxidantes dos fenóis são devidas às suas propriedades de oxirredução, que permitem agirem como agentes redutores, doadores de hidrogênio e eliminadores de oxigênio singlete (Souza *et. al*., 2007; Morais *et. al*., 2009).

Alguns estudos realizados avaliaram a atividade antioxidante dos extratos da Hortelã obtidos por extração supercrítica. Almeida e colaboradores (2010) avaliaram a atividade antioxidante (DPPH) e os compostos fenólicos (CG-MS) presente nos extratos obtidos por extração supercrítica e convencional obtendo melhor rendimento de extração na condição de 50 ºC e 300 bar (2,38%) para os extratos supercríticos. A melhor atividade antioxidante foi para os extratos obtidos por extração soxhlet utilizando Etanol como solvente e concentração de 27,4 µg/mL apresentando 95,2% de atividade. Para os extratos supercríticos na condição de 40 ºC e 200 bar que obteve-se a melhor atividade antioxidante, sendo de 28,7% para concentração superior à 250 µg/mL.

Em comparação de extratos da Hortelã obtidos por extração supercrítica e por soxhlet, utilizando etanol 70% como solvente, foi identificado através de aparelho HPLC maior número de compostos flavonoides (7 bioativos) para o extrato supercrítico obtido nas condições de 60 ºC, 200 bar e 60 min. Já para o extrato etanólico foram identificados cinco compostos flavonoides bioativos (Bimakr *et al.,* 2010).

3.8 Modelagem Matemática da extração supercrítica

A modelagem matemática do processo de extração supercrítica permite que experimentos em escala laboratorial, responsáveis pela determinação de alguns parâmetros cinéticos, sejam aplicados no âmbito industrial (Santos, 2013). Assim, a principal vantagem da modelagem é a predição das curvas de extração (massa de soluto extraída *versus* tempo) num processo em larga escala, pois experimentos nesse nível são dispendiosos (Martinez & Martinez, 2008).

Os modelos das isotermas de solubilidade são de fundamental importância na otimização e no projeto de extratores em escala industrial, porém, a determinação dos modelos junto de seus parâmetros, englobam problemas de múltiplas soluções, e dessa forma, há a necessidade da aplicação de um algoritmo de otimização, permitindo o ajuste dos parâmetros dos modelos de forma a minimizar uma função objetivo.

Na literatura, há diversos modelos matemáticos de extração supercrítica em leito fixo que baseiam-se na resolução dos balanços de massa da fase sólida e fluida. Um exemplo é o modelo de segunda ordem que é comumente empregado para representar a dinâmica de adsorção em colunas de leito fixo. O modelo empírico de segunda ordem foi adaptado para escrever a cinética de extração do óleo de candeia, e o modelo se mostrou bastante apropriado (Souza *et al.,* 2008).

3.8.1 Solubilidade

A solubilidade das substâncias se dá em função da afinidade química existentes entre as espécies do sistema. Em geral, há dois tipos de modelos utilizados para

correlacionar e predizer a solubilidade: modelos teóricos baseados nas equações de estado e modelos semi-empíricos. A solubilidade de um fluído supercrítico é um dado de equilíbrio que representa a máxima concentração de soluto na fase solvente, sendo obtida experimentalmente pelo método dinâmico, a partir da inclinação da etapa de taxa constante de extração (Benelli, 2010).

A solubilidade é um parâmetro importante na extração, pois determina a quantidade máxima de soluto que pode ser solubilizada em determinadas condições. Assim, quanto maior a solubilidade maior a quantidade de produto extraído e, por se tratar de uma propriedade termodinâmica, depende de fatores, como, pressão, temperatura, natureza e composição do solvente (Silva, 2012).

A solubilidade do substrato no fluido supercrítico é função da densidade do solvente e da pressão de vapor de soluto. Ao se percorrer uma isoterma com o aumento de pressão, a densidade do solvente aumenta enquanto a pressão de vapor diminui. Por outro lado, se aumentar a temperatura isobaricamente ocorre diminuição da densidade do solvente e aumento da pressão de vapor do soluto. Com isso, a inversão das curvas de solubilidade é resultado da predominância de um dos fatores acima (Michielin, 2002).

3.9 Considerações Finais

Biodiesel é um combustível alternativo que tem recebido considerável atenção nos últimos anos devido à falta de reservas de petróleo e aumento mundial na demanda de energia (Gerpen, 2005; Knothe, 2007; Borsato *et. al.,* 2014). O Brasil reúne condições ideais para se tornar um grande produtor mundial de Biodiesel, que ainda destaca o papel do Brasil como referência mundial no uso de fontes renováveis. Além destes e dos benefícios ambientais, a adoção de um programa de biodiesel apresenta importantes benefícios sociais para o Brasil, tais como a geração de emprego e renda (Oliveira *et al.*, 2007).

No entanto, o biodiesel apresenta menor estabilidade à oxidação quando comparado com os combustíveis derivados do Petroléo. A instabilidade oxidativa do biodiesel é atribuída principalmente ao fato deste ter um alto teor de ésteres insaturados os quais podem ser facilmente oxidados (Borsato *et al.,* 2010; Souza *et al.,* 2014; Chen

& Luo, 2011). Com a finalidade de inibir ou retardar as reações de oxidação lipídica no biodiesel são empregados compostos químicos conhecidos como antioxidantes (Borsato *et al.,* 2012; Ferrari & Souza, 2009). Estes antioxidantes podem ser de ocorrência natural ou sintética, embora, existam muitas publicações a respeito do efeito destes compostos em óleos vegetais para fins alimentícios, pouco está disponibilizado com relação ao efeito destes em adição ao biodiesel (Mittelbach & Schober, 2003).

Diferentes antioxidantes têm sido testado para aumentar a vida útil de óleos e biodiesel (Damasceno *et al.,* 2011). Como ácido cafeíco e feluríco (Damasceno *et al.,* 2013), antioxidantes sintéticos como BHA, BHT e TBHQ (Borsato *et al.,* 2014; Domingos *et al.,* 2007), Curcumina e β-caroteno (Souza *et al.,* 2014), α-tocoferol, BHT, TBHQ, derivado terc-butilfenol (TBP) e octilbutildifenilamina (OBPA) (Sarin *et al.,* 2010).

Existem várias plantas com compostos que apresentam atividade antioxidante e podem ser utilizados como aditivo para retardar reações de oxidação em biodiesel, como, Acerola e Hortelã. Esses compostos de ocorrência natural não poluem o ambiente e são facilmente obtidos.

Estes compostos antioxidantes podem ser extraídos por diversos meio, como extração convencional, utilizando solvente e extração com fluído supercrítico. Nesse trabalho utilizou-se duas técnicas diferentes de extração (Soxhlet e Supercrítica) a fim de se avaliar o efeito do método de extração na ação antioxidante dos extratos no biodiesel.

Os trabalhos encontrados na literatura avaliam a atividade antioxidante de plantas, porém, não aplicam esses antioxidantes naturais na estabilidade oxidativa do Biodiesel e, os trabalhos que tratam da oxidação do Biodiesel utilizam, em sua maioria, antioxidantes sintéticos, para tal, esse trabalho visa avaliar o potencial antioxidante de compostos naturais na estabilidade oxidativa do biodiesel avaliando diferentes técnicas de extração.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Matéria-prima

As folhas de acerola (*Malpighia glabra L.*) e hortelã (*Mentha spicata L.*) foram coletadas na zona rural de Cascavel/Pr em setembro de 2012. As folhas foram coletadas e armazenadas, inicialmente, em sacos plásticos e transportadas ao laboratório LPS (Laboratório de Processos de Separação – Engenharia Química – Unioeste).

Uma amostra da matéria-prima (Folhas) foi levada para identificação no Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNOP), a fim de confirmar a espécie e gênero das plantas em estudo.

4.2 Preparo da Matéria-prima

As folhas foram desidratadas por meio da secagem natural (em temperatura ambiente) por oito dias e, então foram trituradas em um liquidificador comercial. As folhas já trituradas foram armazenadas em sacos plásticos e em um refrigerador à -15ºC.

O material triturado foi classificado de acordo com a série padrão de peneiras Tyler de 9 a 80 mesh utilizando um agitador de peneiras. O material retido entre as peneiras de 12 e 48 mesh foram utilizadas nas extrações para padronizar os tamanhos das partículas utilizadas nas extrações convencionais e com fluído supercrítico.

4.3 Obtenção dos Extratos

Os extratos das folhas de acerola (*Malpighia glabra L.*) e hortelã (*Mentha spicata L.*) foram obtidos por extração convencional com solventes líquidos (etanol e hexano) e com dióxido de carbono supercrítico.

4.3.1 Extração convencional

As extrações convencionais com etanol e hexano foram realizadas no Laboratório do Curso de Engenharia Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Campus Toledo/Pr.

Os extratos foram obtidos com auxílio de um extrator Soxhlet que permite a extração do extrato das folhas por meio da passagem contínua do solvente através da amostra. Para a realização deste trabalho utilizou-se 150 mL de etanol (Nuclear, P.A), como solvente. A matéria sólida foi pesada (10 gramas) e, então, acondicionada em cartuchos de papel filtro e colocada no extrator Soxhlet. Iniciou-se o aquecimento e gotejamento do solvente. O início da extração foi contabilizado a partir do início do gotejamento do solvente na amostra. O tempo das extrações foram de 6 horas. O mesmo procedimento foi repetido com o solvente apolar Hexano (F Maia, P.A). Após a extração, os extratos foram levados a um evaporador rotativo à vácuo até evaporação total do solvente. Nesta etapa foram obtidos quatro extratos: Acerola/Etanol (AcEt), Acerola/Hexano (AcHex), Hortelã/Etanol (HorEt) e Hortelã/Hexano (HorHex). A Figura 6 mostra o fluxograma geral no qual foram obtidos os extratos etanólicos e hexanicos.

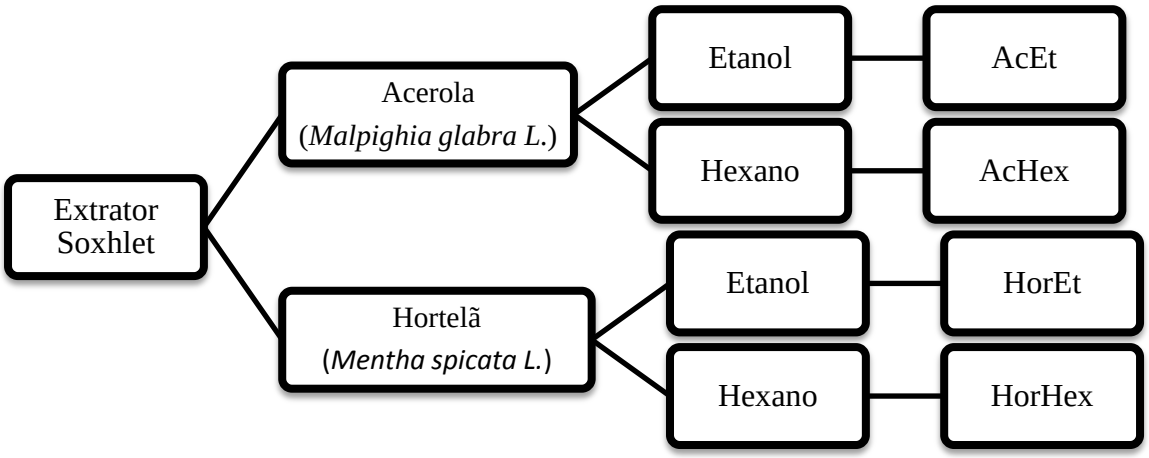

Figura 6: Fluxograma da Extração Convencional

4.3.2 Extração Supercrítica

Os experimentos para obtenção do extrato das folhas da Acerola (*Malpighia glabra L.*) e Hortelã (*Mentha spicata L.*) utilizando dióxido de carbono supercrítico foram realizados no Laboratório da Usina A no Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Centro Politécnico, Curitiba/Pr. Foi realizado planejamento fatorial com ponto central do tipo 2^2, cujos níveis são apresentados na Tabela 2. Este planejamento teve como objetivo avaliar os efeitos de temperatura e pressão sobre o rendimento da extração.

Tabela 2: Condições experimentais dos ensaios da extração supercrítica

Ensaio	Temperatura (ºC)	Pressão (bar)
1	40	150
2	40	150
3	60	250
4	60	250
5	50	200
6	50	200
7	50	200

O módulo experimental é constituído por um reservatório para solvente, uma bomba seringa (Isco, modelo 500D) e dois banhos termostáticos, sendo o primeiro para resfriar o solvente antes de entrar na bomba seringa e o segundo utilizado para manter o aquecimento na temperatura do delineamento, apresentado na Figura 7.

Para obtenção dos extratos cerca de 20 gramas de folhas de Acerola (*Malpighia glabra L.*) e 10 gramas para a Hortelã (*Mentha spicata L.*), foram introduzidas no extrator de 2,52 cm de diâmetro interno e 16 cm de altura, com capacidade de 79,80 mL. Antes de entrar na bomba o solvente era resfriado a 10ºC, assim, resfriado e na fase líquida, o solvente é bombeado e introduzido no extrator. Inicialmente o sistema era pressurizado até alcançar a pressão do delineamento com a válvula de expansão fechada. Ao atingir a temperatura desejada, o sistema é pressurizado para aumentar a solubilidade da matéria sólida no CO_2 supercrítico por 3 horas, então, iniciou-se a extração pelo acionamento da bomba seringa e abertura das válvulas de expansão. A vazão do CO_2 foi controlada por meio do ajuste da válvula micrométrica em 2 mL/min. A temperatura na saída do extrator foi mantida em 120 ºC por um termorregulador (Tholz, modelo MSC-04E) e, com a despressurização ocorria a separação entre o extrato e o solvente. O extrato foi coletado em um frasco de vidro âmbar, sendo pesado a cada 10 minutos durante três horas.

Figura 7: Módulo experimental utilizado nas extrações com fluídos supercríticos.
(Fonte: Próprio autor)

Nesta etapa foram obtidos quatorze (14) extratos, sendo que para o ponto central (50 °C e 200 bar) a extração foi realizada em triplicata, obtendo assim três extratos para essa condição. Os extratos obtidos encontram-se detalhados na Tabela 3.

Tabela 3: Extratos obtidos com CO_2 Supercrítico

Extrato Supercrítico	**Planta**	**Condição (Temp./Pressão) (ºC/bar)**
AcSC1	Acerola	40/150
AcSC2		40/250
AcSC3		50/200
AcSC4		60/150
AcSC5		60/250
HoSC1	Hortelã	40/150
HoSC2		40/250
HoSC3		50/200
HoSC4		60/150
HoSC5		60/250

4.4 Modelagem matemática da extração supercrítica

4.4.1. Densidade do CO_2 supercrítico

Foi obtida a partir das tabelas termodinâmicas internacionais do dióxido de carbono adotadas pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*).

4.4.2. Solubilidade do extrato no CO_2 supercrítico

A solubilidade dos extratos das folhas de Acerola e Hortelã em CO_2 supercrítico foi obtida empregando o método dinâmico da curva cinética de extração. Pressurizou-se o solvente no leito e aguardou até que o sistema atingisse o equilíbrio (10 min). Assim,

na parte inicial da extração o solvente estava saturado, a concentração da saída era igual a concentração de equilíbrio, podendo ser calculada pela Equação 1:

$$Y_r = \frac{m_{extrato}}{m_{solvente}} (\frac{g}{g}) \quad (1)$$

Em que, $m_{extrato}$ é a massa total de extrato obtido apenas na parte inicial (linear) da curva de extração e $m_{solvente}$ é a massa de solvente gasto apenas na parte inicial (linear) da curva de extração.

4.4.3. Rendimentos globais da extração supercrítica

Relaciona a quantidade de extrato final obtido pela quantidade de matéria-prima utilizada. Não foi contabilizado o extrato remanescente no extrator. O rendimento global pode ser calculado pela Equação 2:

$$R(\%) = \frac{m_{extrato}}{m_{planta}} x100 \quad (2)$$

Em que, $m_{extrato}$ é a massa total de extrato obtida e m_{planta} é a massa de planta confinada no leito de extração.

4.4.4. Cinética da extração

Os modelos matemáticos para descrever a cinética de extração são fundamentais importância na otimização e no projeto de extratores em escala industrial, porém, alguns dos seus parâmetros não podem ser estimados com precisão por correlações, sendo assim, necessário a aplicação de um algoritmo de otimização. Neste trabalho utilizou-se o modelo de segunda ordem. Este modelo descreveu com precisão a cinética de extração do óleo da candeia (Souza *et al.*, 2008).

O modelo assume que a taxa de extração é proporcional à capacidade residual de extração do óleo pelo solvente ($C_{eq} - C$) e a concentração do óleo na matriz sólida. As taxas de transferência de massa obedecem às equações 3 e 4 (Santos, 2013):

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\rho_{bed}}{\varepsilon}\frac{\partial q}{\partial t} + u\frac{\partial C}{\partial z} = 0 \quad (3)$$

$$\frac{\partial q}{\partial t} = -Kq(C_{eq} - C) \quad (4)$$

Em que:

K = Constante cinética (cm^3 g min^{-1})

C_{eq} = solubilidade do extrato no solvente (g óleo cm^{-3})

u = velocidade intersticial (cm min^{-1})

q = concentração de extrato na matriz sólida (g óleo g sólido^{-1})

C = Concentração do extrato no solvente (g cm^{-1})

ρ_{bed} = densidade do leito (g cm^{-1})

ε = porosidade do leito

z = coordenada na direção axial do leito (cm)

As condições iniciais e de contorno são:

$$C(0, z) = C_{eq} \quad (5)$$

$$q(0, z) = q_0 \quad (6)$$

$$C(t, 0) = \begin{cases} C_{eq} & t = 0 \\ C_0 & t > 0 \end{cases} \quad (7)$$

A solução analítica deste modelo é dada pela Equação 8:

$$\frac{C_{OUT}}{C_{eq}} = \begin{cases} 1 & t < t_r \\ \frac{1}{(e^A + e^{-b} - 1)e^B} & t > t_r \end{cases} \quad (8)$$

Em que: t_r o tempo de residência do CO_2 no leito.

$$A = \frac{z}{u}\beta \quad (9)$$

$$B = \frac{(-tu + z)\beta}{\alpha u} \quad (10)$$

$$\beta = kC_{eq}\alpha \quad (11)$$

$$\alpha = \frac{\rho_{bed} q_0}{\varepsilon C_{eq}} \quad (12)$$

A massa de óleo extraída em função do tempo foi calculada pela Equação 13:

$$m_{óleo} = \int_0^{te} C_{OUT} w dt = \begin{cases} C_{eq} w dt & t < t_r \\ C_{eq} w dt - \frac{C_{eq} w \alpha}{\beta} \ln(\exp\left(\frac{z\beta}{u}\right) + \exp(z - tv)\,\beta)/\alpha u) - 1) & t > t_r \end{cases} \quad (13)$$

Sendo: w a vazão volumétrica do solvente e C_{OUT} a concentração de óleo na fase fluida na saída da coluna.

O parâmetro k foi calculado minimizando a função objetivo dada pela equação 14, empregando o método da otimização dos dados experimentais das curvas cinéticas (Himmelblau, 2001).

$$F_{OBJ} = \sum_{J=1}^{n_exp} (m_{oilJ}^{MOD} - m_{oilJ}^{EXP})^2 \quad (14)$$

Onde: m_{oilJ}^{MOD} representa amassa de óleo que foi extraída pelo modelo, m_{oilJ}^{EXP}, é a massa de óleo extraída experimentalmente e n_exp é o número de dados experimentais da curva cinética.

4.5 Obtenção do Biodiesel

Primeiramente acrescentou-se 60 mL de Metanol à aproximadamente 1,9 g de Hidróxido de Potássio (KOH), utilizado como catalisador. Aqueceu-se essa mistura à 40 °C até completa dissolução do catalisador no álcool. Após, adicionou-se esta mistura a 200 mL de óleo de soja comercial (Cocamar®), que foi antes aquecido a uma temperatura de aproximadamente 80 ºC. A reação de transesterificação ocorreu durante 60 minutos em sistema fechado com agitação magnética constante à Temperatura variando entre 40 e 60 ºC.

Realizada a reação, a solução foi transferida para um funil de decantação por 24 horas, a fim de separar a glicerina (sub-produto obtido) do biodiesel produzido. Após 24 h, houve a formação de duas fases, uma a glicerina (fase inferior) e a segunda o

biodiesel a fase superior. A fase superior é então lavada, várias vezes, com água à aproximadamente 60 ºC, para retirada de impurezas e resíduos da reação. A mistura foi separada, novamente, por decantação e a fase orgânica foi seca e armazenada. A Figura 8 mostra o esquema da obtenção do biodiesel.

Figura 8: Esquema da Produção de Biodiesel

4.6 Caracterização do Biodiesel

Para determinar as características físico-químicas do Biodiesel realizou as análises de cor e aspecto, índice de acidez, teor de água e espectroscopia na região do infravermelho.

A determinação para a cor visual e aspecto do Biodiesel foram realizadas em recipiente transparente com a amostra contra a luz, observando a presença de impurezas e/ou água no fundo do recipiente e a coloração do produto. Em que o aspecto deve ser:

I. Límpido e isento de impurezas;
II. Límpido e com impurezas;
III. Turvo e isento de impurezas, ou
IV. Turvo e com impurezas (Gallina *et. al.*, 2011).

O índice de acidez foi determinado segundo metodologia estabelecida pela ANP. Em equipamento de Titulação eletrônico (848 Titrino plus, marca Metrohm). Pesou-se 30 g do biodiesel e adicionou-se uma solução de 80 mL de álcool isopropílico e 20 mL de água destilada, levou-se a solução ao equipamento que determina a quantidade de miligramas de KOH que são necessários para neutralizar cada grama do Biodiesel.

Para determinação do teor de água presente no biodiesel, que acelera seu processo de degradação, foi utilizada metodologia estabelecida pela ANP, em equipamento Karl Fischer (831 KF Coulometer, marca Metrohm). Com auxilio de uma

seringa, acrescentou-se 1 mL do biodiesel, com massa conhecida, no equipamento que fez a leitura da umidade contida no biodiesel.

O teor de ésteres metílicos das amostras produzidas foi realizado em um cromatógrafo a gás (Clarus 480), nas condições: Coluna Elite-WAX (30m x 0,25 mm X 0,5 μm), Temperatura do forno era de 160 °C, aumentando para 230 °C, a uma taxa de 5 °C/min, permanecendo por 2 minutos, a vazão do gás de arraste foi de 2 mL/min, a Temperatura do injetor e detector foi de 250 °C e o volume de injeção da amostra de 2 μL. A amostra foi previamente preparada, primeiramente pesou-se cerca de 300 mg da amostra em balão de 10 mL completando o volume com n-heptano, após, 100 μL da solução foram transferidos para um balão de 1 m, acrescentando 100 μL do padrão interno (heptadecanoato de metila) e então completou-se o volume com heptano. As amostras foram preparadas em duplicatas e após realizou-se a análise no cromatógrafo e cálculo para rendimento em ésteres do biodiesel.

Por fim, realizou-se o ensaio de espectroscopia na região do infravermelho. Espectroscopia é o estudo da interação da matéria com a radiação. A região do infravermelho compreende a faixa de ondas de 400 a 4000 cm^{-1} de radiação no espectro eletromagnético. Quando essa radiação é absorvida por uma molécula, esta converte-se em energia de vibração molecular e origina bandas de absorção no espectro obtido, que são apresentadas em número ou comprimento de onda. A espectroscopia na região do infravermelho pode ser utilizada para caracterizar o biodiesel, uma vez que este apresenta bandas caracteristicas no espectro, demonstradas na Tabela 4.

Tabela 4: Bandas de absorção no espectro de infravermelho para Biodiesel (Souza & Rodriguez, 2005)

Ligação	**Número de onda (cm^{-1})**
C – H	3200 – 2800
C = O	1750 – 1715
C = C	1500
C – O	1320 – 1230
O – H	3700 – 3200

4.7 Aditivação do Biodiesel

Para analisar a influencia de antioxidantes naturais presentes nos extratos das folhas de Acerola (*Malpighia glabra L.*) e Hortelã (*Mentha spicata L.*) na estabilidade termo-oxidativa do biodiesel foram pesados 10 gramas de biodiesel e aquecendo-o por três minutos à 40 ºC, à fim de facilitar a solubilização do extrato, após adicionou-se os extratos (0,03 gramas), obtendo amostras de 3000 ppm. A Tabela 5 mostra os diferentes tipos de extratos avaliados no biodiesel. A fim de comparação, foi utilizado um antioxidante sintético (TBHQ).

Tabela 5: Biodiesel com os extratos das folhas de Acerola e Hortelã

Mistura Inicial	Solução Final	Mistura Inicial	Solução Final
AcSC1 + Biodiesel	Bio01	HoSC4 + Biodiesel	Bio09
AcSC2 + Biodiesel	Bio02	HoSC5 + Biodiesel	Bio010
AcSC3 + Biodiesel	Bio03	AcEt + Biodiesel	Bio11
AcSC4 + Biodiesel	Bio04	AcHex + Biodiesel	Bio12
AcSC5 + Biodiesel	Bio05	HorEt + Biodiesel	Bio13
HoSC1 + Biodiesel	Bio06	HorHex + Biodiesel	Bio14
HoSC2 + Biodiesel	Bio07	TBHQ + Biodiesel	BioTBHQ
HoSC3 + Biodiesel	Bio08	Biodiesel Puro	Branco

4.8 Teste de Estabilidade Oxidativa do Biodiesel

Foram preparadas amostras de 3g de Biodiesel aditivado com 3000 ppm dos antioxidantes obtidos das folhas de acerola e hortelã, conforme mostrado na Tabela 6. Foram, então, levadas a aquecimento acelerado a 110 ºC, com taxa de insuflação de ar de 10 $L.h^{-1}$, para determinação do período de indução. O teste foi realizado utilizando o Rancimat 873, a fim de atender a norma oficial de determinação da estabilidade em teste acelerado (EN 14112, 2003). Todas as análises foram realizadas em duplicatas.

Tabela 6: Amostras submetidas à estabilidade Oxidativa em Rancimat

Amostra	**Extrato**
Bio01	Acerola Supercrítico 40 °C e 150 bar
Bio02	Acerola Supercrítico 40 °C e 250 bar
Bio03	Acerola Supercrítico 50 °C e 200 bar
Bio04	Acerola Supercrítico 60 °C e 150 bar
Bio05	Acerola Supercrítico 60 °C e 250 bar
Bio06	Hortelã Supercrítico 40 °C e 150 bar
Bio07	Hortelã Supercrítico 40 °C e 250 bar
Bio08	Hortelã Supercrítico 50 °C e 200 bar
Bio09	Hortelã Supercrítico 60 °C e 150 bar
Bio010	Hortelã Supercrítico 60 °C e 250 bar
Bio11	Acerola obtido com Etanol por extração convencional
Bio12	Acerola obtido com Hexano por extração convencional
Bio13	Hortelã obtido com Etanol por extração convencional
Bio14	Hortelã obtido com Hexano por extração convencional
BioTBHQ	Antioxidante Sintético TBHQ
Branco	Biodiesel Puro

No teste de oxidação acelerada, a amostra é depositada em um tubo de reação, que está contida em um bloco de aquecimento. Na amostra, então, é borbulhado ar, a uma velocidade de 10 $L.h^{-1}$, neste processo de oxidação são liberados ácidos graxos voláteis os quais são borbulhados na água da célula de medida, a qual varia a condutividade (Gallina, 2011). Enquanto o processo de oxidação ocorre lentamente a condutividade não varia de maneira significativa, mas, assim que ocorre a oxidação a condutividade aumenta e o ponto de inflexão é o tempo no qual o biodiesel ficou estável até oxidar-se (Maia *et. al.*, 2011; Gallina, 2011). A Figura 9 mostra o esquema de funcionamento do Rancimat.

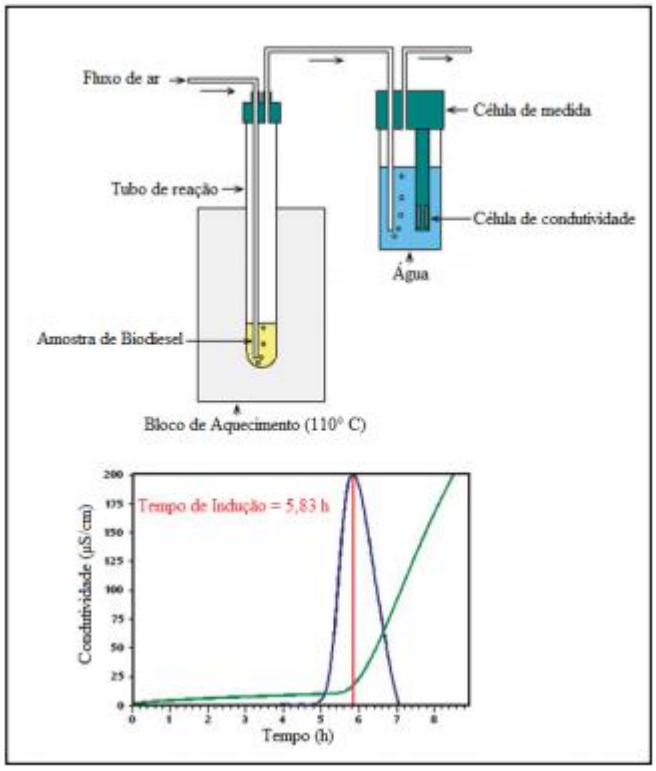

Figura 9: Esquema do funcionamento do Rancimat
(Fonte: Gallina, 2011)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Extração Convencional

5.1.1 Rendimento Global

Após evaporação do solvente utilizado, realizou-se o cálculo de rendimento dos extratos obtidos por extração convencional. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 7. Observa-se maior rendimento com o etanol e menor com o hexano. Como os solventes apresentam diferentes polaridades extraem diferentes compostos e em diferentes quantidades.

Tabela 7: Rendimentos das extrações por método convencional

Matéria-prima	Solvente	Tempo de Extração (min)	Rendimento (%)
Acerola	Etanol	360	15,87
	Hexano	360	1,80
Hortelã	Etanol	360	13,25
	Hexano	360	2,59

Almeida (2006) realizou extração supercrítica e extração convencional (Soxhlet) das folhas de Hortelã obtendo maior rendimento de extrato na extração soxhlet utilizando etanol como solvente. O rendimento para essa extração foi de 23,33%. Para a extração soxhlet utilizando hexano o rendimento foi de 5,21%. Observa-se que o autor também obteve maior rendimento com o solvente polar (Etanol) utilizado e menor rendimento com o solvente apolar (Hexano). Neste mesmo trabalho, o rendimento da extração supercrítica foi menor que para a extração convencional, sendo o maior rendimento de 2,38% na condição de 50 °C e 300 bar, maior condição empregada. Os rendimentos para o trabalho analisado foram maiores que para este trabalho devido a fatores que interferem nas extrações e por consequência nos rendimentos, como, tempo de extração, preparo da matriz vegetal, quantidade de solvente, dentre outros.

Aguiar e colaboradores (2014) avaliaram extratos supercríticos e convencionais da planta *Capsicum chinense* obtendo maiores rendimento para os extratos obtidos por

extração soxhlet utilizando solventes que para a extração com CO_2 supercrítico. Dos extratos convencionais, o maior rendimento foi obtido na extração utilizando etanol como solvente (40,6%). O rendimento utilizando hexano foi de 2,6%. E para a extração supercrítica, o maior rendimento foi de 1,34% na condição de 40 °C e 200 bar.

A polaridade não é o único fator que influencia no rendimento da extração, é importante também compreender o tipo de interação que ocorre entre o solvente e o soluto e sua influencia no rendimento (Almeida, 2006). Observa-se que neste trabalho a polaridade teve influencia no rendimento da extração, uma vez que o maior rendimento, tanto para acerola quanto hortelã, foi obtido utilizando o solvente polar (Etanol). Na extração soxhlet com etanol, a temperatura elevada do solvente utilizado, o ciclo do solvente passando pela amostra vegetal e as interações solvente/soluto contribuem para a alta solubilização dos compostos da amostra vegetal, porém, apresentam baixa seletividade, levando o extrato à uma vasta variedade de compostos (Aguiar *et al.*, 2014).

5.2 Extração Supercrítica

Neste tópico são apresentados os resultados experimentais obtidos na etapa de obtenção dos extratos das folhas de acerola e hortelã utilizando CO_2 supercrítico. Também foi realizado o planejamento fatorial 2^2 das extrações supercríticas a fim de determinar a influência das condições experimentais (temperatura e pressão) da extração em seu rendimento, na solubilidade e na atividade antioxidante no biodiesel.

Também foi realizada a modelagem matemática das curvas cinéticas da extração com intuito de verificar a capacidade em predizer os modelos experimentais.

5.2.1 Rendimento Global

O rendimento global das extrações supercríticas foi obtido pela relação entre a massa do extrato obtido no final da extração e a massa das folhas de acerola ou hortelã empacotada no extrator de leito fixo. Os efeitos da temperatura e pressão no rendimento

global da extração foram avaliados a partir de um planejamento fatorial 2^2 com triplicata no ponto central.

As condições experimentais de temperatura e pressão permitiram uma ampla variedade na densidade do dióxido de carbono supercrítico o que acarreta em uma ampla solvatação do mesmo. A Tabela 8 mostra apresenta as condições experimentais e os resultados dos rendimentos globais da extração supercrítica da Acerola e Hortelã.

Tabela 8: Condições experimentais para a extração supercrítica e rendimento global da extração

Ensaio	**Temperatura (ºC)**	**Pressão (bar)**	**Densidade do CO_2 ($g.cm^{-3}$)**	**Rendimento (%)**		**Tempo (min)**
				Acerola	**Hortelã**	
1	40	150	0,781	0,47	0,30	170
2	40	250	0,911	0,62	0,43	170
3	60	150	0,607	0,41	0,36	170
4	60	250	0,831	0,82	0,56	170
5	50	200	0,785	0,60	0,46	170

Foram avaliados por análise de variância ANOVA os efeitos das variáveis temperatura e pressão com o nível de significância de 5% empregando o Software, cujos resultados são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Efeitos para as variáveis temperatura e pressão na obtenção do extrato das folhas de Acerola e Hortelã empregando CO_2 supercrítico.

Extrato	**Variável**	**Média/Intercepto**	**T**	**P**	**TxP**
Acerola	Efeito	0,587	0,070	0,280	0,130
	p-valor[a]	0,000	0,050	**0,003**	**0,015**
	Coeficiente	0,587	0,035	0,140	0,065
	Erro padrão	0,007	0,008	0,008	0,008
Hortelã	Efeito	0,427	0,095	0,165	0,035
	p-valor[a]	0,001	0,127	**0,048**	0,450
	Coeficiente	0,427	0,047	0,082	0,017
	Erro padrão	0,015	0,018	0,018	0,018

[a] significância estatística p-valor<0,05

O valor de p é o nível de significância da variável independente sobre a resposta estudada. Geralmente o intervalo de confiança escolhido é de 95%, com esse intervalo pode-se afirmar que, para valores de $p \leq 0,05$, a variável é considerada estatisticamente

significativa (Pedersseti, 2008).

Para a Acerola o maior rendimento foi de 0,82% obtido na condição de maior temperatura e pressão (60 ºC e 250 bar). Para as condições utilizadas no planejamento fatorial as interações das variáveis temperatura e pressão apresentaram efeito significativo sobre o rendimento da extração, bem como a pressão que teve uma maior influência sobre a variável resposta.

O mesmo comportamento foi observado para a Hortelã, que também teve seu rendimento máximo (0,56%) na condição de maior temperatura e pressão. Neste caso a pressão teve influência nas condições experimentais avaliadas.

Assim, observa-se que o aumento da pressão em temperatura inalterada, acarreta no aumento do rendimento. O que pode ser explicado pelo aumento da densidade do solvente, o qual eleva o seu poder de solvatação. Outros autores também obtiveram o mesmo resultado quando avaliaram o efeito destas variáveis na extração de óleos essenciais (Santos, 2013; Campos *et. al*., 2008; Mantell *et. al*., 2002; Ribeiro *et. al.*, 2007).

Em relação a temperatura seu efeito na extração é mais complexo, já que em pressão mais baixa o rendimento diminui com o aumento da temperatura e, em pressão maior o contrário é observado (Almeida & Ferreira, 2007). Este comportamento foi observado nos experimentos com as folhas da acerola, uma vez que em pressão mais baixa o aumento da temperatura acarretou em um aumento no rendimento. Um acréscimo na temperatura aumenta a pressão de vapor do solvente, resultando um poder de solvatação maior, porém, com isso ocorre uma diminuição na densidade do CO_2 e, por consequência no poder de solvatação (Santos, 2013). A Figura 10 mostra os rendimentos obtidos nas extrações com CO_2 supercrítico para a Acerola e a Figura 11 mostra os rendimentos obtidos nas extrações com CO_2 supercrítico para a Hortelã.

Este comportamento é comum em extratos vegetais, Silva (2012) estudou a extração do óleo de Pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa com dióxido de carbono e n-propano supercríticos testando diferentes temperaturas e pressões, obtendo o maior rendimento (1,74% vermelha e 1,48% roxa com CO_2 supercrítico) nas condições mais elevadas de temperatura e pressão (60 ºC/250 bar).

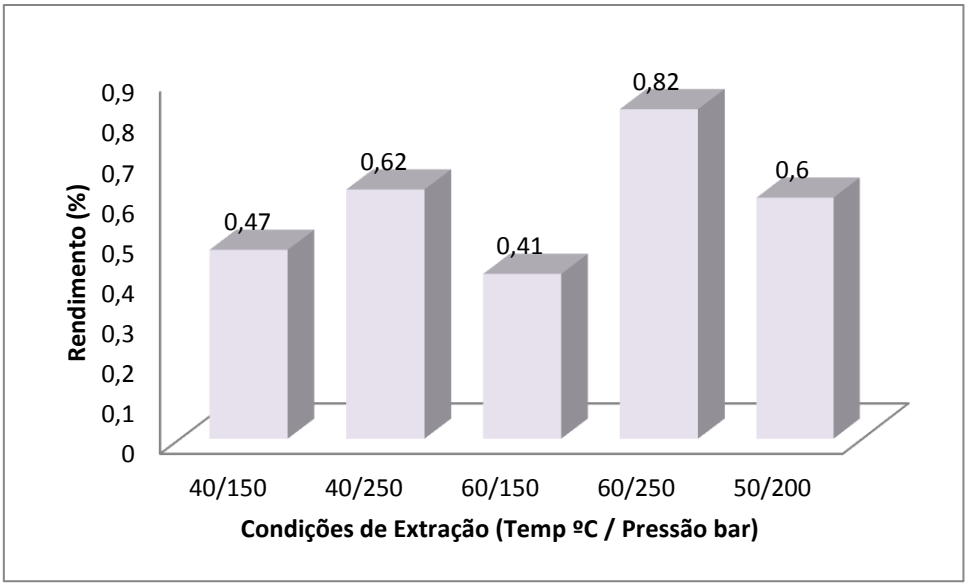

Figura 10: Rendimento Global (%) dos extratos das folhas de Acerola obtidos utilizando CO_2 supercrítico

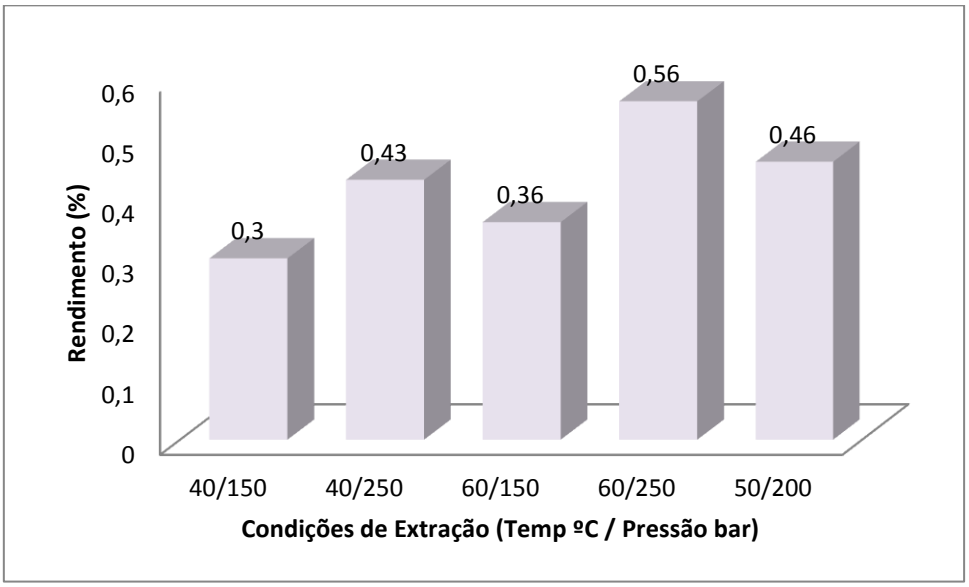

Figura 11: Rendimento Global (%) dos extratos das folhas de Hortelã obtidos utilizando CO_2 supercrítico

Quando compara-se os rendimentos das extrações soxhlet (Tabela 11) com a supercrítica (Tabela 7) observa-se que a extração convencional obteve rendimentos superiores aos rendimentos obtidos com CO_2 supercrítico. Isso se deve ao fato do caráter do polar do solvente (etanol) utilizado na extração convencional que, geralmente, extraem compostos que não são extraídos na extração com CO_2 supercrítico, visto que o CO_2 é apolar (Almeida, 2006). No que se refere ao hexano, que também é apolar, pode-se ressaltar o fato de o volume utilizado na extração ser maior que na extração supercrítica e o tempo da extração convencional ser o dobro da extração

supercrítica, acarretando em um rendimento maior dos extratos convencionais com hexano em comparação com os extratos supercríticos.

5.2.2 Solubilidade

O processo de extração supercrítica é dependente da temperatura, pressão, tamanho da partícula, velocidade superficial do fluído, densidade e natureza do solvente (Silva, 2012). A solubilidade é de extrema importância para a extração porque determina a quantidade máxima de soluto que pode ser solubilizada em determinadas condições (Silva, 2012). Assim, quanto maior a solubilidade do soluto no solvente maior será a quantidade de produto a ser extraído.

A solubilidade foi determinada pelo método dinâmico por meio do coeficiente angular da parte linear da curva de extração, representando a quantidade de extrato obtida em função da quantidade de CO_2 consumida durante o processo de extração. A Tabela 10 mostra as solubilidades obtidas.

Tabela 10: Solubilidade experimental dos extratos de Acerola e Hortelã

Temperatura (ºC)	**Pressão (bar)**	**Densidade CO_2 (g.cm^{-3})**	**Solubilidade (g extrato g sólido^{-1})**	
			Acerola	**Hortelã**
40	150	0,781	0,000631	0,000283
40	250	0,911	0,001240	0,000507
60	150	0,607	0,000377	0,000293
60	250	0,831	0,000692	0,000881
50	200	0,785	0,000898	0,000429

Um aumento na pressão acarreta o aumenta da densidade do solvente, aumentando as interações moleculares entre soluto e solvente devido a redução nas distâncias moleculares (Pereira *et. al.*, 2004; Santos, 2013), assim aumentando a solubilidade do soluto no solvente. No que se refere à temperatura, a sua influência depende de dois fatores: aumentar a temperatura diminui a densidade do CO_2 e aumenta a sua pressão de vapor. Estes efeitos ocasionam o fenômeno *cross-over*, onde, acima deste a solubilidade diminui com a diminuição da temperatura e, abaixo, a solubilidade aumenta com o decréscimo da temperatura (Johnston & Eckert, 1981; Foster *et al.*, 1991; Santos, 2013).

5.2.3 Curvas cinéticas da extração supercrítica

O valor da função objetivo é de grande importância já que indica o erro para cada modelo, assim quanto menor o valor da função objetivo, menor o erro entre valores do modelo e os dados experimentais. Os valores de *K* e função objetivo são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Parâmetros dos modelos cinéticos

Temperatura (°C)	**Pressão (bar)**	***K* (cm² g min^{-1})**		**Solubilidade (g extrato g sólido^{-1})**		**Função objetivo**	
		Acerola	**Hortelã**	**Acerola**	**Hortelã**	**Acerola**	**Hortelã**
40	150	37,81	49,33	0,000631	0,000283	0,0005300	0,0000487
40	250	15,00	23,25	0,001240	0,000507	0,0000968	0,0002038
50	200	23,88	41,07	0,000898	0,000428	0,0005781	0,0000874
60	150	136,04	60,04	0,000377	0,000293	0,0005373	0,0001651
60	250	421,39	43,12	0,000692	0,000881	0,0004950	0,0000626

Como pode ser observado na tabela acima, os valores da função objetivo são baixos o que representa uma boa aproximação dos dados do modelo com os experimentais, sendo assim, possível a determinação das curvas cinéticas das extrações experimentais e simuladas usando o modelo proposto.

As curvas cinéticas para as extrações da Acerola estão representadas pelas Figuras 12, 13, 14, 15 e 16.

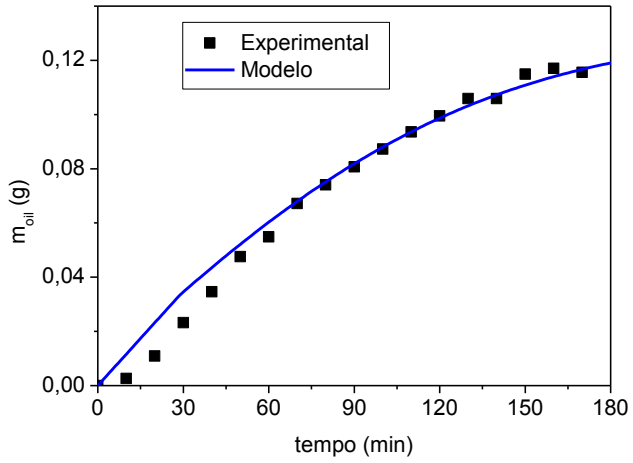

Figura 12: Curva cinética (Acerola) 150 bar e 40 °C

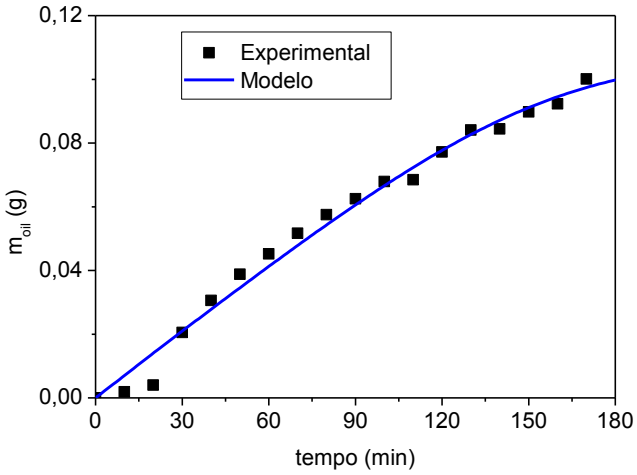

Figura 13: Curva cinética (Acerola) 150 bar e 60 °C

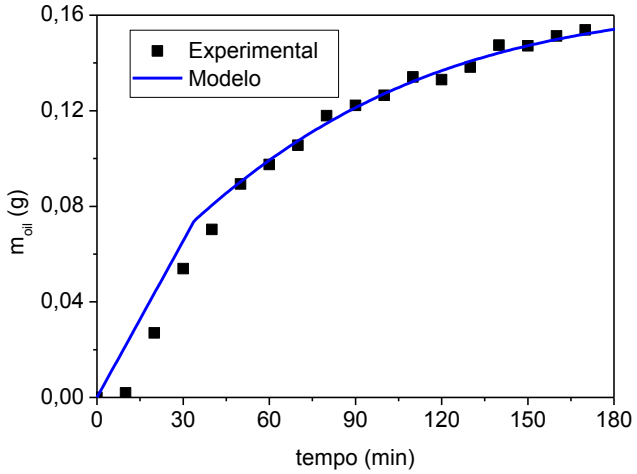

Figura 14: Curva cinética (Acerola) 250 bar e 40 °C

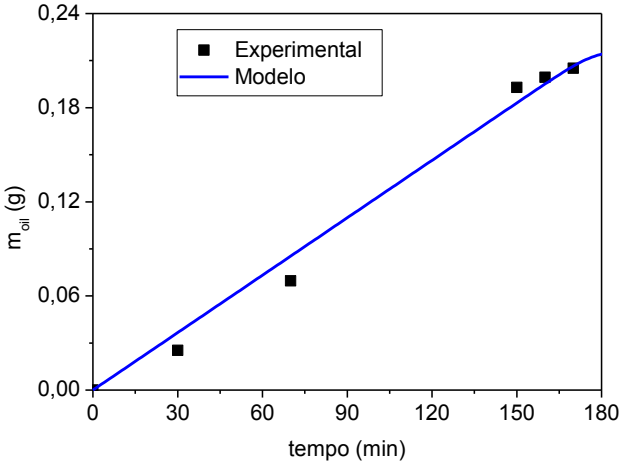

Figura 15: Curva cinética (Acerola) 250 bar e 40 °C

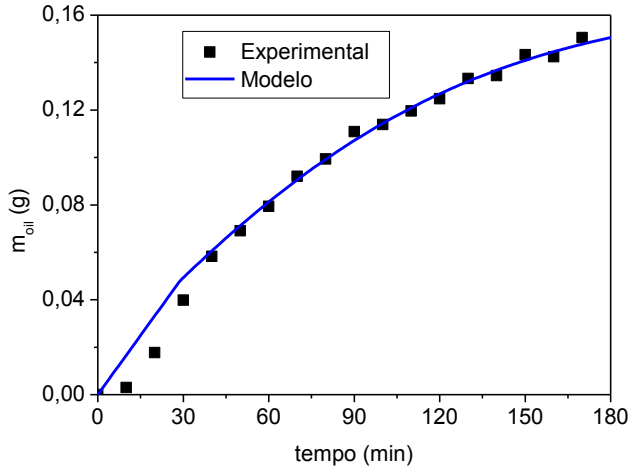

Figura 16: Curva cinética (Acerola) 200 bar e 50 °C

Pela análise das curvas da Acerola, observa-se que a massa de óleo extraída nos tempos iniciais foram muito próxima para as condições 40 °C e 150 bar e 60 °C e 150 bar, porém, a cinética da condição 40 °C e 150 bar foi mais rápida devido a maior solubilidade do óleo.

Ao comparar-se as cinco condições, a condição 40 °C e 250 bar foi a mais rápida, devido ao seu maior valor de solubilidade. Assim, nos casos estudados a velocidade da extração mostrou-se estar correlacionada com a solubilidade, a taxa de extração cresceu com o aumento da solubilidade.

As Figuras 17, 18, 19, 20 e 21 demonstram as curvas cinéticas para as extrações realizadas com a Hortelã.

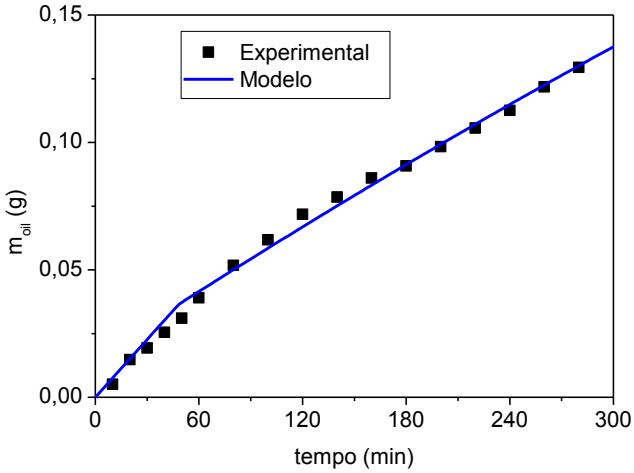

Figura 17: Curva cinética (Hortelã) 150 bar e 40 °C

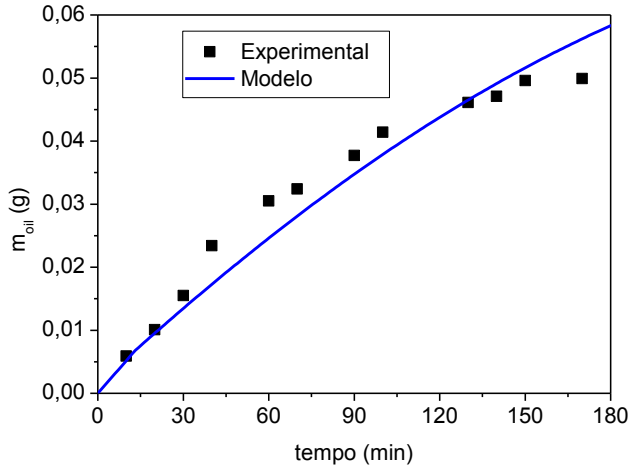

Figura 18: Curva cinética (Hortelã) 150 bar e 60 °C

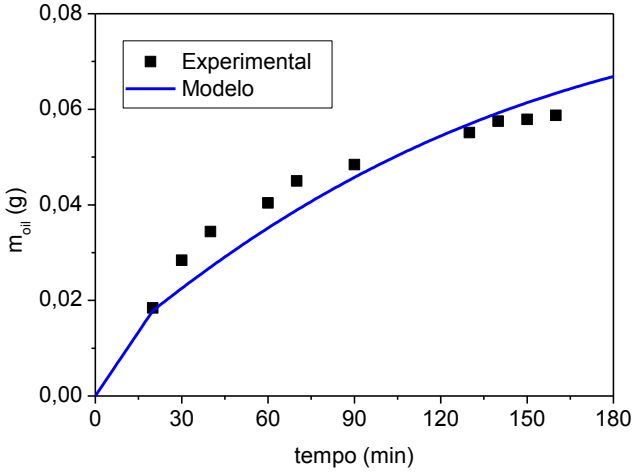

Figura 19: Curva cinética (Hortelã) 250 bar e 40 °C

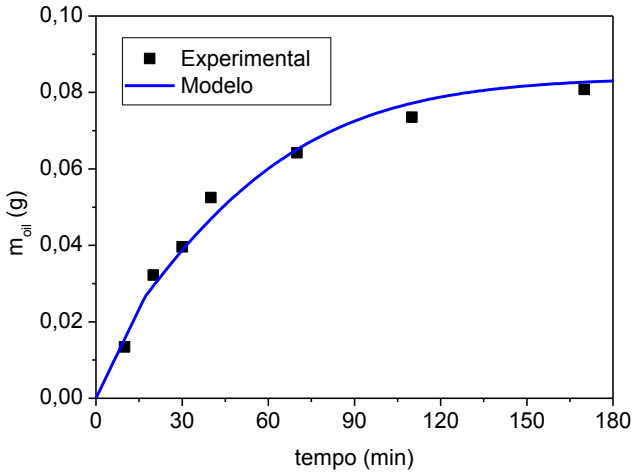

Figura 20: Curva cinética (Hortelã) 250 bar e 60 °C

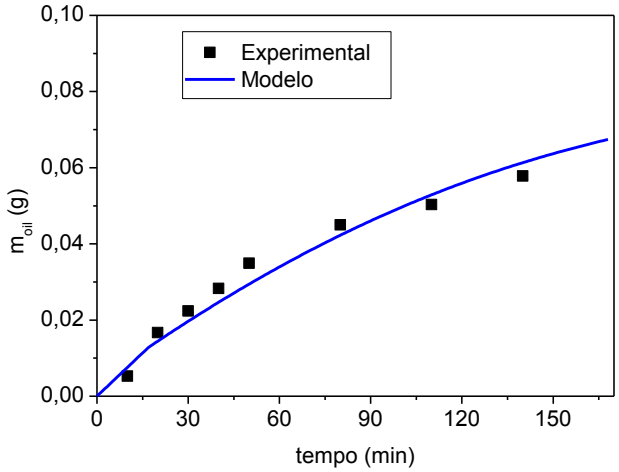

Figura 21: Curva cinética (Hortelã) 200 bar e 50 °C

Pela análise dos gráficos das cinco condições empregadas observa-se que a condição 60 °C e 250 bar foi a mais rápida, podendo justificar por seu maior valor de solubilidade. Constatando o mesmo resultado obtido para a Acerola que na condição de maior solubilidade obteve a cinética mais rápida, sendo assim, a velocidade da extração aumentou com o aumento da solubilidade.

5.3 Preparo e análise do Biodiesel

O óleo de soja foi transesterificado obtendo como produto final o Biodiesel utilizado nesse trabalho que então analisou-se cor e aspecto visual, índice de acidez, umidade e espectroscopia de infravermelho. Os resultados estão expostos na Tabela 12. Quanto à cor e aspecto visual, o Biodiesel estava límpido de coloração amarelo claro e isento de impurezas sólidas.

Tabela 12: Testes de Caracterização do Biodiesel

Teste	**Unidade**	**Limites (ANP)**	**Biodiesel**
Índice de Neutralização	mg de KOH / g de óleo	Máx. 0,80*	0,25
Umidade	ppm	Até 500*	370,0
Teor de ésteres	%	> 96,5	96,8

*(Ferrari & Souza, 2008)

A presença de água no Biodiesel age promovendo o aumento na acidez e consequentemente a formação de sabão. Uma elevada umidade promove a hidrólise do Biodiesel resultando em ácidos graxos livres, favorece proliferação de micro-organismos e corrosão de tanques com deposição de sedimentos (Martins, 2012). Observa-se que o teor de água presente no biodiesel está de acordo com o estabelecido pela ANP, pois, apresentou um teor médio de 370 ppm enquanto que o limite é de 500 ppm.

O controle da acidez do Biodiesel também é de extrema importância, pois, valores altos podem indicar a presença de água que acaba por acelera seu processo de degradação e, quando no motor, causar corrosão do mesmo. O limite máximo aceitável para manter a segurança do biocombustível é de 0,80 mg de KOH / g de óleo. A acidez presente no Biodiesel sintetizado atendeu o valor estabelecido pela ANP, sendo o valor médio de 0,25 mg de KOH / g de óleo.

O rendimento de estéres para a reação de transesterificação do Biodiesel atendeu os valores exigidos pela ANP sendo superior a 96,5%.

A espectroscopia estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria, sendo um dos seus principais objetivos o estudo dos níveis de energia de átomos ou moléculas. Em relação ao espectro do infravermelho, as regiões de maior interesse para o biodiesel são basicamente as referentes às ligações carbono e hidrogênio (3000 a 2840 cm^{-1}), carbono dupla oxigênio (1750 a 1715 cm^{-1}) e carbono simples oxigênio (1320 a 1230 cm^{-1}) (Gallina, et al., 2011).

Nos espectros de infravermelho da amostra de biodiesel, apresentados na Figura 21, verifica-se picos característicos de amostras de Biodiesel B100, que são 1750 cm^{-1} para C=O e de 1100 a 1300 cm^{-1} para C—O e 3000 cm^{-1} de cadeias alifáticas (Focke *et al.*, 2012).

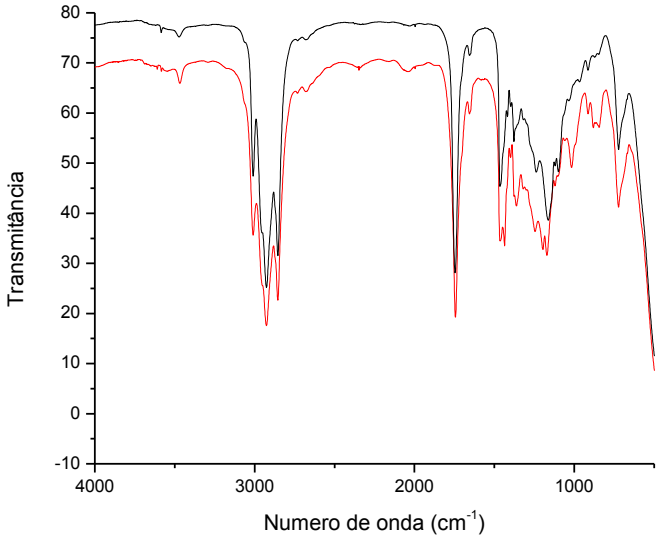

Figura 22: Espectro Infravermelho para Biodiesel (——) e Óleo de Soja (——)

Focke e colaboradores (2012) analisaram o espectro infravermelho do biodiesel derivado de soja e canola obtendo os mesmos picos que caracterizam o biodiesel.

.

5.4 Análise da estabilidade Oxidativa do Biodiesel

A composição de ácidos graxos dos óleos e gorduras favorece o desenvolvimento da rancidez oxidativa devido à quantidade de ácidos graxos insaturados (Ferrari & Souza, 2008; Ferrari *et al.*, 2005). Para tal, faz-se necessário acrescer ao biodiesel substâncias capazes de inibir ou retardar as reações de oxidação, compostos chamados de antioxidantes.

Para este trabalho a técnica utilizada para avaliar o efeito antioxidantes dos extratos das folhas de Acerola e Hortelã no Biodiesel, foi realizada em equipamento Rancimat e temperatura de 110 °C, de acordo com a Norma EN 14112. O ensaio de oxidação acelerada pode ser feito em várias temperaturas de 80° - 140° C, pois quando os tempos de indução são conhecidos para várias temperaturas, pode-se fazer estimativas relacionadas ao tempo que o biodiesel, ou seja, uma previsão de quanto tempo o biodiesel pode ser armazenado a temperaturas mais baixas (20º C), sem que sofra oxidação (Maia *et al.*, 2011).

Após aditivação do biodiesel com os extratos das folhas de Acerola e Hortelã obtidos por meio de extração com solvente orgânico e fluído supercrítico, amostras de 3 g foram colocadas no equipamento de modo à determinar o tempo de indução na presença destes antioxidantes naturais. A oxidação foi induzida pela passagem de ar pela amostra, mantida à temperatura constante, os produtos voláteis da reação, foram coletados em água destilada e determinados pela mudança na condutividade elétrica desta (Ferrari & Souza, 2008).

O teste Rancimat é um teste específico para testar a estabilidade oxidativa de amostras de Biodiesel (Liang *et al.,* 2005). Podendo ser analisado o Biodiesel puro ou então, com a presença de antioxidantes buscando aumentar o tempo de indução desse biocombustível.

O tempo de indução de um óleo é o tempo para se atingir nível de rancidez detectável ou surpreendente mudança na taxa de oxidação (Frankel, 1984; Antoniassi, 2001). Os tempos de indução obtidos para as amostras de biodiesel com os antioxidantes estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Tempo de Indução para Biodiesel de Soja na presença de antioxidantes naturais e sintéticos

Amostra	**Tempo de indução (h)**	**Amostra**	**Tempo de indução (h)**
Bio01	1,38	Bio09	0,30
Bio02	0,90	Bio010	2,04
Bio03	0,17	Bio11	0,22
Bio04	0,77	Bio12	2,84
Bio05	1,07	Bio13	0,07
Bio06	1,08	Bio14	2,87
Bio07	1,71	BioTBHQ	36,95
Bio08	0,07	Branco	1,04

Pelos valores da Tabela 13 observa-se que em temperatura menor (40 °C) o tempo de indução para o biodiesel diminui com o aumento da pressão quando aditivado com extrato de Acerola Supercrítico, já o contrário é observado para a Hortelã e, em temperatura maior (60 °C) o tempo de indução aumenta com o aumento da pressão tanto para Acerola quanto para Hortelã. O que pode ser explicado pela variação de densidade do solvente e seu poder de solvatação que, em condições diferentes, extrai

compostos diferentes, por isso algumas condições apresentaram maior atividade antioxidante elevando o período de indução para o biodiesel.

Ferrari e Souza (2009) obtiveram, em estudo da estabilidade oxidativa do biodiesel aditivado com antioxidantes sintéticos (TBHQ, BHT e BHA) utilizando Rancimat, tempo de indução de 1,10 horas para o controle, biodiesel puro, sem adição dos antioxidantes sintéticos.

Para avaliar a estabilidade oxidativa ou a susceptibilidade à oxidação, o biodiesel (B100), acrescidos de antioxidantes foi submetido ao teste de oxidação acelerada. A especificação estabelecida pela Norma EN 14112 indica que o período de indução mínimo deve ser de 6 horas, à 110 °C. Analisando os valores para o tempo de indução obtidos, presentes na tabela 11, pode-se perceber que apenas o biodiesel na presença de antioxidantes sintético (TBHQ) obteve um tempo de indução satisfatório. Para os demais o tempo de indução foi inferior às 6 horas, porém, para as amostras de Biodiesel: Bio1 (Biodiesel + Extrato de Acerola Supercrítico 40 °C e 150 bar), Bio5 (Biodiesel + Extrato de Acerola Supercrítico 60 °C e 250 bar), Bio6 (Biodiesel + Extrato de Hortelã Supercrítico 40 °C e 150 bar), Bio7 (Biodiesel + Extrato de Hortelã Supercrítico 40 °C e 250 bar), Bio10 (Biodiesel + Extrato de Hortelã Supercrítico 60 °C e 250 bar), Bio12 (Biodiesel + Extrato de Acerola Soxhlet com Hexano) e Bio14 (Biodiesel + Extrato de Hortelã Soxhlet com Hexano) o tempo de indução obtido foi superior ao tempo do Biodiesel teste Branco, ou seja, biodiesel sem adição de antioxidantes, demonstrando uma possível atividade antioxidante dos extratos.

Observa-se, ainda, que os extratos obtidos na extração soxhlet utilizando hexano como solvente, tanto para Acerola quanto para Hortelã, obteveram resultado mais significativos da atividade antioxidante no Biodiesel que os extratos obtidos pelo mesmo método, mas utilizando etanol como solvente. Uma possível justificativa seria a temperatura que precisa ser mais elevada na extração com etanol para que este evapore e inicie a extração, temperatura essa que pode ser responsável pela degradação dos compostos antioxidantes que são sensíveis ao aquecimento. A temperatura de ebulição para o etanol e hexano são, respectivamente, 78,37 e 68 °C. E a diferença de polaridade nesses solventes, sendo, o hexano apolar e o etanol polar. O índice de polaridade (P) dos solventes encontra-se na Tabela 14.

Tabela 14: Polaridade dos solventes (Skoog, Holer e Nieman, 2002)

Solvente	P	Polaridade
Hexano	0,1	Apolar
Etanol	4,3	Polar

A polaridade desempenha um papel importante na solubilidade de compostos fenólicos (Naczk; Shahidi, 2006). A solubilidade desses compostos depende das suas características fitoquímicas, o que explica a inexistência de um processo universal para extraí-los, variando para cada fonte natural. Normalmente, os solventes menos polares são considerados como sendo os mais adequados para polifenóis lipofílicos (Caetano *et al.*, 2011).

No que se refere aos extratos supercríticos, observa-se uma maior atividade antioxidante para os extratos de Hortelã que Acerola, já que mais de seus extratos, quando acrescidos ao biodiesel, obtiveram tempo de indução maior que o controle e, pelo tempo de indução ser, em duas condições (Bio7 e Bio10), consideravelmente maior que nos extratos de Acerola e controle.

Muitos estudos têm demonstrado a eficiência do TBHQ frente a outros antioxidantes existentes. Ferrari & Souza (2008), avaliaram a estabilidade oxidativa do biodiesel de óleo de girassol na presença de antioxidantes sintéticos (BHA, BHT e TBHQ) na proporção de 0,5%, obtendo tempos de indução inferiores às 6 horas, exceto para o TBHQ que o tempo foi superior (6h30min), o controle para esse trabalho obteve tempo de indução de 1h10min.

Mittelbach & Schober (2003) estudaram a influência de antioxidantes naturais e sintéticos na estabilidade oxidativa do biodiesel, utilizando teste Rancimat para medição. Foram analisados biodiesel de canola, girassol, fritura e sebo animal, acrescidos de 100 ppm dos antioxidantes piragalol (PY), propilgalato (PG), TBHQ, BHT e BHA. Os melhores valores obtidos foram para PY, PG e TBHQ.

O efeito da concentração do antioxidante sobre a taxa de auto-oxidação do biodiesel depende de muitos fatores, dentre os quais, estrutura do antioxidante, condições de armazenamento, bem como, a natureza/composição da amostra a ser oxidada (Fattahet *et al.*, 2014). Como exemplo, Mittelbach & Schober (2003) obtiveram a menor estabilidade oxidativa para o biodiesel obtido de óleo de girassol em comparação com os demais, isto deve-se ao fato desse óleo apresentar maior concentração de ácido linoleico, que é menos estável à oxidação que o ácido oleico.

Luo e colaboradores (2012) analisaram a estabilidade do biodiesel de soja na presença de cinco aditivos naturais como antioxidantes (ácido felúrico (FA), polifenol de chá lipídico-solúvel (LTP), polifenol de chá solúvel em água (WTP), sesamol (SE) e ácido cafeico (CA)), os resultados obtidos para os antioxidantes naturais WTP, LTP, SE e CA foram melhores que para os antioxidantes sintéticos (α-TBHQ e BHA), uma possível explicação, segundo os autores, seria a estrutura molecular dos antioxidantes.

Lomanoco e colabores (2012) analisaram os efeitos do antioxidante natural derivado do Cardanol na temperatura limite para degradação do biodiesel e confirmaram que este antioxidante, na concentração de 1000 ppm, aumenta a temperatura de degradação do Biodiesel. Observaram também, que um acréscimo na concentração desse antioxidante não acarreta no aumento da temperatura e concluíram que os antioxidantes naturais utilizados obtiveram excelentes valores, mesmo quando comparados com o antioxidante sintético (BHT) utilizado.

Serrano e colaboradores (2013) estudaram o efeito de três antioxidantes sintéticos comerciais (AO1 (derivado do fanol), AO2 (derivado fenol/amina) e AO3 (propil galato)) e um natural (AO4 (mistura de tocoferóis)) na estabilidade oxidativa de biodiesel derivados de diversas fontes oleaginosas, dentre elas o soja, concluindo que diferentes matérias-primas para biodiesel acarretam em diferentes estabilidade e que um aumento na concentração do antioxidante acarreta no aumento da estabilidade do biodiesel.

Em estudo avaliando a atividade antioxidante do TBHQ no biodiesel de soja em diferentes temperaturas pelo método Rancimat, Borsato e colaboradores (2012) obtiveram, para concentração de 0,10%, um tempo de indução maior para o biodiesel aditivado com TBHQ que para o controle. Concluíram que o aumento na temperatura do teste acarreta em uma menor diferença nos tempos quando comparado biodiesel aditivado e puro (controle), porém, ainda assim, o TBHQ se mostrou eficiente para aumentar a estabilidade oxidativa do Biodiesel (B100) de óleo de soja.

Como demonstram os estudos, as pesquisas estão mais voltadas para avaliar biodiesel na presença de antioxidantes sintéticos e pouco se encontra para a estabilidade oxidativa com antioxidantes naturais. Vários estudos ressaltam o melhor desempenho do biodiesel acrescido de TBHQ. Cabe ressaltar das inúmeras plantas com potencial antioxidante que podem ser avaliados como antioxidantes naturais ao biodiesel.

6 CONCLUSÕES

Analisando os resultados pode-se afirmar a possibilidade do uso das folhas de Acerola e Hortelã para obtenção de extrato por meio da extração com CO_2 supercrítico. Os maiores rendimentos obtidos foram 0,82% para a Acerola e 0,56% para a Hortelã, ambas nas condições de 60 °C e 250 bar, condições de maior solubilidade do extrato no solvente.

Ao avaliar a influência das variáveis Temperatura e Pressão no Rendimento das extrações e comparando com os demais valores observa-se uma maior influência da Pressão no rendimento das extrações, tanto para a Acerola quanto para a Hortelã. A pressão apresentou um efeito positivo no rendimento global das extrações ($p < 0,05$) enquanto que os efeitos da temperatura e da interação temperatura/pressão foram insignificantes considerando um valor de p de 0,05.

Pode-se concluir, pelos valores de indução do biodiesel acrescidos dos extratos supercríticos, que o CO_2 é bastante seletivo na extração dos compostos antioxidantes presentes nas folhas de Acerola e Hortelã e, que a temperatura e pressão interferem na extração desses compostos, pois, apenas algumas condições apresentaram atividade antioxidante significativa desses extratos.

Comparando-se os rendimentos da extração supercrítica com da extração convencional, percebe-se que a convencional apresenta maior rendimento. E que os extratos convencionais obtidos com hexano como solvente, obtiveram maior extração de compostos antioxidantes, uma vez que, foram os extratos que mais aumentaram o tempo de indução do biodiesel, portanto, apresentando uma maior atividade antioxidante.

O modelo de segunda ordem representou satisfatoriamente os dados experimentais em todas as condições empregadas. Demonstrando uma cinética mais rápida para a condição 40 °C e 250 bar para a Acerola e 60 °C e 250 bar para a Hortelã, condições de maior solubilidade, concluindo que a cinética da extração aumenta conforme aumenta a solubilidade.

O Biodiesel produzido para realização deste trabalho apresentou valores, nas análises realizadas, dentro dos padrões exigidos pela ANP e pela análise do espectro infravermelho, obteve as bandas características para o biodiesel.

Na avaliação da estabilidade oxidativa pelo método Rancimat, o biodiesel obteve maior tempo de indução com a adição do antioxidante sintético TBHQ, como observado em vários outros estudos disponíveis na literatura. Os extratos supercríticos da Acerola nas condições 40 °C e 150 bar e 60 °C e 250 bar e da Hortelã nas condições 40 °C e 150 bar, 40 °C e 250 bar e 60 °C e 250 bar e os extratos convencionais obtidos com hexano como solvente, tanto Acerola como Hortelã, obtiveram, quando acrescidos ao biodiesel, tempo de indução, medidos pelo Rancimat, superior ao tempo obtido para o testes Branco (Biodiesel puro, sem adição de antioxidantes) indicando uma possível atividade antioxidante dos extratos com relação ao Biodiesel. Porém, o tempo não foi superior ao exigido pela ANP que determina tempo mínimo de 6 horas.

Os extratos convencionais hexanicos da Acerola e Hortelã foram os que obtiveram melhor atividade antioxidante para o Biodiesel, sendo os que mais elevaram o tempo de indução à 110 °C.

Finalmente, conclui-se que as folhas da Acerola e Hortelã podem ser utilizados para obtenção de extratos com atividade antioxidante, porém, necessita-se de concentrações maiores, desde que não cause alteração nas características do Biodiesel, para que haja atividade antioxidante suficiente para atender as especificações da ANP.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Sugere-se:

- Teste para caracterizar os extratos quanto a composição química para identificação dos compostos com atividade antioxidantes que foram extraídos.

- Avaliar diferentes concentrações dos extratos em adição ao biodiesel para analisar a influência da sua concentração na estabilidade oxidativa do biodiesel.

- Realizar estudo de viabilidade econômica para utilização de extratos naturais na estabilidade oxidativa do biodiesel.

- Realizar testes de espectroscopia na região do infravermelho ou UV-VIS para identificar bandas de absorção características de compostos fenólicos no extratos obtidos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, A., C.; SANTOS, P.; COUTINHO, J., P.; BARBERO, G., F.; GODOY, H., T.; MARTÍNEZ, J.; ***Supercritical fluid extraction and low pressure extraction of Biquinho pepper (Capsicum chinense).*** LWT – Food Scienc and Technology. Vol. 59. 1239-1246, 2014.

ALMEIDA, P., P.; ***Extração de óleo essencial de Hortelã (Mentha spicata L.) com misturas de Solventes a alta pressão.*** Dissertação. (Mestrado em Engenharia de Alimentos). UFSC. Florianópolis, 2006.

ALMEIDA, P. P.; FERREIRA, S. R. S. ***Crossover pressure for supercritical fluid extraction of spearmint (Mentha spicat L,) essential oil with pure CO_2 and CO_2 plus ethanol.*** In: I Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids (PROSCIBA), Foz do Iguaçu, Paraná, Caderno de Resumos do PROSCIBA, 2007.

ALMEIDA, P. P.; MEZZOMO, N.; FERREIRA, S. R. S.; ***Extraction of Mentha spicata L. volatile compounds: Evaluation of process parameters and extract composition.*** Food Bioprocess Technol. Vol. 5. 548-559, 2012.

ANDRADE, J.; CARDOSO, M., G.; SOUZA, P., E.; TEIXEIRA, M., L.; GOMES, M., S.; SILVA, L., F.; MIRANDA, C., A., S., F.; ***Quantificação fenólica, atividade antifúngica e antioxidante de extratos provenientes da aceroleira (Malpighia emarginata DC.).*** Magistra. Vol. 25. No. 3/4. 276-284, 2013.

ANSARI, K.; GOODARZNIA, I.; ***Optimization of supercritical carbono dioxide extraction of essential oil from spearmint (Mentha spicata L.) leaves by using Taguchi methodology.*** Journal of Supercritical Fluids. Vol. 67, 123-130, 2012.

ANTONIASSI, R. ***Métodos de avaliaçãoda estabilidade oxidativa de óleos e gorduras.*** B.CEPPA. Vol. 19. No. 2. 353-380, 2001.

ARABBI, P.R.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. ***Flavonoids in vegetable foods commuly consumed in Brazil end estimated by the brazilian population.*** Journal of Agricultural and *Food Chemistry*, Vol. 52, 1.124-1.131, 2004.

ARAÚJO, F., D., S.; MOURA, C., V., R.; CHAVES, M., H.; ***Biodiesel metílico de Dipteryx lacunifera: preparação, caracterização e efeito de antioxidantes na estabilidade à oxidação.*** *Química Nova.* Vol. 33. No. 8, 1671-1676, 2010.

ARAÚJO, L., G.; SOUZA, K., C., I.; ***Pinhão manso para produção de biodiesel.*** Revista Anhangüera. Vol. .9. No. 1. .95-119, 2008.

ASSIS, S.A.; LIMA, D.C.; OLIVEIRA, O.M.M.F. ***Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development.*** Food Chemistry, v. 74, p. 133-137, 2001.

BAILEY, A. E.; ***Bailey's Industrial Oil and Fat Products***. Vol. 3. 5ª ed., John Wiley: New York. 1996.

BALL, J., SHAH, R., MAHAJAN, D., PATEL, S., COLANTUONI, V., MARAJ, R.; ***Oxidation stability in biodiesel: a brief review of current technology.*** <(http://www.biodieselmagazine.com/article-print.jsp?article_id=3541>; 2009. Acesso 03.09.14.

BASTOS, R., R., C.; MONTEIRO, O., V., Jr.; THOMAZ, K., T., C.; PONTES, R., G.; BITTENCOURT, J., A.; CONCEIÇÃO, L., R., V.; CAVALCANTE, M., S.; FILHO, G., N., R.; ZAMIANI, J., R.; ***Comportamento antioxidante de extratos etanólicos na estabilidade oxidativa de biodiesel de soja.*** In: *5º Congresso norte-nordeste de química, 2013.*

BENELLI, P., ***Agregação de valor ao bagaço de laranja (Citrus sinensis L. Osbeck) mediante obtenção de Extratos bioativos através de diferentes Técnicas de extração.*** Dissertação. (Mestrado Em Engenharia De Alimentos). Universidade Federal De Santa Catarina. 2010.

BIMAKR, M.; RAHMAN, R., A.; TAIP, F., S.; GANJLOO, A.; SALLEH, L., M.; SELAMAT, J.; ZAIDUL. I., S., M.; ***Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (Mentha spicata L.) leaves.*** Food and Bioproducts Processing. Vol. 89. 67-72, 2011.

BOCKEY, D.; ***Biodiesel production and marketing in Germany: The situation and Perspective.*** Union Zur Fuderung Von oel-und Photeinpflanzen B. V. 2002.

BORSATO, D.; CINI, J., R., M.; SILVA, H., C.; COPPO, R., L.; ANGILELLI, K., G.; MOREIRA, I.; MAIA, E., C., R.; ***Oxidation kinetics of biodiesel from soybean mixed with synthetic antioxidants BHA, BHT and TBHQ: Determination of activation energy.*** Fuel Processing Technology. Vol. 127, 111–116, 2014.

BORSATO, D.; DALL'ANRONLA, L. H.; GUEDES, C. L. B.; MAIA, E. C. R.; FREITAS, H. R. de.; MOREIRA, I.; SPACINO, K. R.; ***Aplicação do delineamento simplex-centroide no estudo da cinética da oxidação de biodiesel B100 em misturas com antioxidantes sintéticos.*** Química Nova. Vol. 33. No. 8. 1726-1731, 2010.

CAETANO, A. C. S.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; ARAUJO, C. R. ***Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de acerola.*** Brazilian Journal of Food Technology. Vol. 12. No. 2, 155-160, 2009.

CAETANO, A., C., S.; ARAUJO, C., R.; LIMA, V., V., A., G.; MACIEL, M., I., S.; MELO, E., A.; ***Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola (Malpighia emarginata D.C.) fruit extracts.*** Ciência e Tecnologia de Alimentos. Vol. 3. No. 1. 769-775, 2011.

CAETANO, A., C., S.; MELO, E., A.; LIMA, V., L., A., G.; MACIEL, M., I., S.; ARAÚJO, C., R.; ***Compostos fenólicos e atividade antioxidante em resíduo de acerola (Malpighia emarginata D.C).*** 2008.

CAMPOS, L.M.A.S., LEIMANN, F.V., PEDROSA, R.C., FERREIRA, S.R.S**.,** ***Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvingnon (Vitis vinifera).*** Bioresource Technology, 2008.

CHEN, Y.; LUO, Y.; ***Oxidation stability of biodiesel derived from free fatty acids associated with kinects of antioxidants.*** Fuel Processing Technology. Vol. 92. 1387-1393, 2011.

CINI, J., R., M.; BORSATO, D.; GUEDES, C., L., B.; SILVA, H., C.; COPPO, R., L.; ***Comparação dos métodos de determinação da estabilidade oxidativa de Bioediesel B100, em mistura com antioxidantes sintéticos, aplicação do delineamento implex-centroide com variável de processo.*** Química Nova. Vol. 36. No. 1. 79-84, 2013

COSTA, A., G.; CHAGAS, J., H.; PINTO, J., E., B., P.; BERTOLUCCI, S., K., V.; ***Crescimento vegetativo e produção de óleo essencial de hortela-pimenta cultivada sob malhas.*** Pesquisa agropecuária brasileira. Vol. 47. No. 4, 534-540, 2012.

CRUZ, R., S.; FRANCO, A., L., C.; LÔBO, I., P.; TEIXEIRA, C., M., L., L.; NETO, J., A., A.; MENEZES, R., S.; ***Biodiesel de microalgas: Avanços e desafios.*** Química Nova. Vol. 36. No. 3. 437-448, 2013.

CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSET, C. ***Comparison of the antioxidant activity of some acid phenols: structure-activity relationship. Bioscience Biotechnology and Biochemistry.*** Benkyoku, Vol. 59, 324-325, 1992.

DABDOUB, M., J.; BRONZEL, J., L.; RAMPIN, M., A.; ***Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria.*** Química Nova. Vol. 32. No. 3. 776-792, 2009.

DAMASCENO, S., S.; CALIXTO, C., D.; SANTOS, I., M., G.; SOUZA, A., L.; SOUZA, A., G.; QUEIROZ, N.; LEONI, P.; DALLA VECCHIA, R.; MALHEIROS, A.; ***Aplicação de Antioxidantes Naturais como Bioaditivos em Biodiesel.*** In: *34a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 2011.

DE ROSSO, V., V.; MERCADANTE, A., Z;. ***Carotenoid composition of two Brazilian genotypes of acerola (Malpighia punicifolia L.) from two harvests.*** Food Research International. Vol. 38, 1073–1077, 2005.

DELVA, L.; SCHNEIDER, G.; ***Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (Malpighia emarginata DC) fruit.*** International Journal of Food Science and Technology. Vol.48, 1048–1056, 2013.

DOMINGOS, A., K.; SAAD, E., B.; VECHIATTO, W., W., D.; WILHELM, H., M.; RAMOS, R., L.; ***The Influence of BHA, BHT and TBHQ on the Oxidation Stability of Soybean Oil Ethyl Esters (Biodiesel).*** *Journal Brazilian Chemistry Society*. Vol. 18. No. 2, 416-423, 2007.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J. dos.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M.; ***Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β-caroteno/Ácido linoleico***

e método de sequestro de radicais DPPH. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Vol. 26. No. 2, 446-452, 2006.

DUUN, R. O.; ***Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel).*** Fuel Process Technol. Vol. 86, 1071-1085, 2005.

EN 14112, ***Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test).*** European Committee for Standardization. Berlin, 2003.

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. Vol. 30, 356–370, 2014.

FERRARI, A. R.; SOUZA, W. L. de.; ***Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes.*** Química Nova, Vol. 32, No. 1, 106-111, 2009.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. da S.; SCABIO, A.; ***Biodiesel de soja – taxa de conversão em éteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia.*** Química Nova. Vol. 28. No. 1. 19-23, 2005.

FOCKE, W. W.; WESTHUIZEN, I. V. der.; GROBLER, A. B. L.; NSHOANE, K. T.; REDDY, J. K.; LUYT, A. S.; ***The effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel.*** Fuel. Vol. 94, 227–233, 2012.

FOSTER, N. R.; GURDIAL, G. S.; YUN, J. S. L.; LIONG, K. K.; TILLY, K. D.; TING, S. S. T.; SINGH, H.; LEE, J. H. ***Significance of the crossover pressure in solid supercritical fluid phase-equilibria.*** Industrial & Engineering Chemistry Research, Vol. 30, No. 8, 1955-1964, 1991.

FRANKEL, E. N. Lipid Oxidation. ***Lipid oxidation - mechanisms, products and biological significance.*** Journal of the American Oil Chemists Society. Vol. 61. No. 12, 1908-1917, 1984.

FREITAS, C., A., S.; MAIA, G., A.; COSTA, J., M., C.; FIGUEIREDO, R., W.; SOUZA, P., H., M.; ***Acerola: produção, composição, aspectos nutricionais e Produtos.*** Revista Brasileira de Agrociência. Vol. 12. No. 4, 395-400, 2006.

FREITAS, S., M.; FREDO, C., E.; ***Biodiesel à base de óleo de mamona: algumas considerações.*** Informações econômicas. Vol. 35. No. 1. 2005.

GALLINA, A., L., U***ma alternativa sustentável para a produção de biodiesel: Cyperus esculentus.*** Dissertação. (Mestrado em Bioenergia). UNICENTRO. 2011.

GALLINA, A., L.; FOLQUENIN, E., K., F.; BANCZEK, E., P.; CUNHA, M., T.; BORGES, C., P., F.; ***Obtenção e Caracterização Físico-química do Biodiesel B100 e de Misturas Biodiesel/Diesel.*** Revista Ciências Exatas e Naturais, Vol.13. No. 2. 2011.

GALVÃO, E., L.; ***Extração supercrítica do óleo de linhaça: construção do extrator, parâmetros de processo, avaliação química e antioxidante do produto.*** Tese.

(Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2009.

GANÁN, N., BRIGNOLE, E.A., Journal of Supercritical Fluids, Vol. 58, 2011, p. 58.

GARCIA, C., M.; ***Transesterificação de óleos vegetais.*** (Dissertação) – Mestrado em Química. UNICAMP, 2006.

GERIS, R.; SANTOS, N., A., C.; AMARAL, B., A.; MAIA, I., S.; CASTRO, V., D.; CARVALHO, J., R., M.; ***Biodiesel de soja – reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica.*** *Química Nova.* Vol. 30. No. 5, 1369-1373, 2007.

GERPEN, J., V.; ***Biodiesel processing and production.*** Fuel Processing Technology. Vol. 86, 1097–1107, 2005.

GRABOSKI, M. S.; McCORMICK, R. L.; ***Combustion of fat and vegetable oil derived fuels in diesel engines.*** Progress in Energy and Combustion Science. Vol. 24, 126-128, 1998.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. ***Free radicals in biology and medicine***. 4. New York, NY: Oxford University Press, 2007.

HARBORNE, J.B.; WILLIANS, C.A. ***Advances in flavonoid research since 992.*** *Phytochemistry*, Vol. 55, No. 6, 481-504. 2000.

HIMMELBLAU, D., M.; ***Engenharia Química. Princípios e Cálculos.*** Prentice-Hall do Brasil, 2001.

JACOBSEN, C. ***Understanding and reducing oxidative flavour deterioration in foods.*** In: DECKER, E. A.;ELIAS, R. J., *et al* (Ed.). Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications. Philadelphia, PA: Woodhead Publishing, v.1, 2010. p.408.

JADHAV, S. J.; NIMBALKAR, S. S.; KULKARNI, A. D.; MADHAVI, D. L. ***Lipid Oxidation in Biological and Food Systems.*** In: MADHAVI, D. L.;DESHPANDE, S. S., *et al* (Ed.). Food Antioxidants. New York, NY: Marcel Bekker, 1996. p.487.

JOHNSTON, K. P.; ECKERT, C. A. ***An analytical carnahan-starling-van der waals model for solubility of hydrocarbon solids in supercritical fluids.*** Aiche Journal**,** Vol. 27, No. 5, 773-779, 1981.

JUNIOR, H., P., L.; LEMOS, A., L., A.; ***Hortelã***. Diagnóstico e Tratamento. Vol. 3, 115-117, 2012.

KNOTHE, G.; ***Some aspects of biodiesel oxidative stability.*** Fuel Processing Technology. Vol. 88, 669–677, 2007.

LIANG, Y. C.; MAY, C. Y.; FOON, C. S.; NGAN, M. A.; HOCK, C. C.; BASIRON, Y.; ***The effect os natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm diesel.*** Fuel. Vol. 85, 867-870, 2005.

LIMA, J., R., de O.; SILVA, R., B., da.; SILVA, C., C., M., da.; SANTOS, L., S., dos S.; SANTOS, J., R., JR.; MOURA, E., M., M.; MOURA, C., V., R., de.; ***Biodiesel de babaçu (Orbignya sp.) obtido por via etanólica.*** Química Nova. Vol. 30. No. 3. 600-603, 2007.

LOMANOCO, D.; MAIA, F. J. N.; CLEMENTE, C. S.; MOTA, J. P. F.; COSTA Jr, A. E.; MAZZETTO, S. E.; ***Thermal studies of new biodiesel antioxidants synthesized from a natural occurring phenolic lipid.*** Fuel. Vol. 97, 552–559, 2011.

LUO, M.; ZHANG, R.; ZHENG, Z.; WANG, J.; JI, J.; ***Impact of Some Natural Derivatives on the Oxidative Stability of Soybean Oil Based Biodiesel.*** *Journal Brazilian. Chemistry Soiety.*, Vol. 23. No. 2, 241-246, 2012.

MAIA. E. C. R.; ***Study of the biodiesel B100 oxidative stability in mixture with antioxidants.*** Fuel Processing Technology. Vol. 92, 1750-1755, 2011.

MAILLARD, M.N.; SOUM, M. H.; BOIVIA, P.; BERSET, C. ***Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content.*** Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie. Vol. 3, 238-244,1996.

MANTELL, C.; RODRÍGUES, M.; MARTÍNEZ DE LA OSSA, E. ***Semi-Batch extraction of anthocyanins form red grape pomace in packed beds: experimental results and process modeling.*** Chemical Engineering Science, Vol. 57, 3831-3838, 2002.

MARTINEZ, J.; MARTINEZ, J. M. ***Fitting the Sovova's supercritical fluid extraction model by means of a global optimization tool.*** Computers & Chemical Engineering. Vol. 32. No. 8, 1735-1745, 2008.

MEZADRI, T.; VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M.; ***Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (Malpighia emarginata DC.) fruits and derivatives.*** Journal of Food Composition and Analysis. Vol. 21, 282– 290, 2008.

MICHIELIN, E. M. Z.; ***Avaliação do processo de extração com fluido supercrítico da oleoresina deCavalinha (Equisetum arvense.*** Dissertação. Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Florianópolis, Maio, 2002.

MITTELBACH, M,; SCHOBER, S.; ***The Influence of Antioxidants on the Oxidation Stability of Biodiesel.*** *Journal of the American Oil Chemists' Society***,** Vol. 80, No. 8, 2003.

MORAIS, S., M.; CAVALCANTI, E., S., B.; COSTA, S., M., O.; AGRUIAR, L., A.; ***Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil.*** Revista Brasileira de Farmacognosia. Vol. 19. 315-320, 2009.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. ***Extractions and analysis of phenolics in food*****.** Journal of Chromatography A . Vol. 1054. No. 1-2, 95-111, 2004.

NACZK, M.; SHAHIDI, F.; ***Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis***. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Vol. 41. No. 5. 1523-1542, 2006.

Namiki, M.; ***Food Science and Nutrition***. Vol 29. 273 - 300. 1990.
NETO, P., R., C.; ROSSI, L., F., S.; ZAGONEL, G., F.; RAMOS, L., P.; ***Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras.*** Química Nova. Vol. 23. No. 4, 2000.

OLIVEIRA, A.C.;VALENTIM, I.B.; SILVA, C.A., HENRIQUES BECHARA, E.J.; DE BARROS, M.P.; MANO, C.M.; FONSECA GOULART, L. O.; ***Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues.*** Food Chemistry, London. Vol. 115. No 2. 469-475. 2009.

OLIVEIRA, F., C., C.; SUAREZ, P., A., Z.; SANTOS, W., L., P.; ***Biodiesel: Possibilidades e desafios.*** Química na escola. Vol. 28, 3-8, 2007.

PEREIRA, P. J.; COTO, B.; MENDUIÑA, C.; GOMES DE AZEVEDO, E.; NUNES DA PONTE, M. ***High pressure phase equilibrium for δ-tocopherol + CO2.*** Fluid Phase Equilibria, Vol. 216, No. 1, 53-57, 2004.

POKORNY, J.; KORCZAK, J. ***Preparation of natural antioxidant.*** In: POKORNY, J.;YANISHLIEVA, N., *et al* (Ed.). Antioxidants in Food: practical applications. Abington, Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, 2001.

RAMALHO, V., C.; JORGE, N.; ***Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos.*** Química Nova. Vol. 29. No. 4, 755-760, 2006.

RIBEIRO, É. T. S.; FETT, R.; FERREIRA, S.R. S. ***Supercritical fluid extraction of apple pomace: phenolics compounds and in vitro antioxidant activity.*** In: I Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids (PROSCIBA), Foz do Iguaçu, Paraná. Caderno de Resumos do PROSCIBA, 2007.

RODRÍGUEZ-ROJO, S.; VISENTIN, A.; MAESTRI, D.; COCERO, M. J. ***Assisted extraction of rosemary antioxidants with green solvents.*** Journal of Food Engineering, Vol. 109. No. 1, 98-103, 2012.

SANTOS, D., N.; ***Extração com dióxido supercrítico e estudo da composição dos extratos das sementes de Pitanga (Eugenia uniflora L.).*** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). USP. Pirassununga, 2012.

SANTOS, W.; ***Extração de compostos antioxidantes da folha de mangueira (Mangifera indica L.) utilizando CO_2 supercrítico, água e etanol.*** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). UNICAMP. Campinas, 2013.

SARIN, A.; SINGH, N. P.; SARIN, R.; MALHOTRA, R. K.; ***Natural and synthetic antioxidants: Influence on the oxidative stability of biodiesel synthesized from non-edible oil.*** Energy. Vol. 35, 46-48, 2010.

SCHAHIDI F.; JANITHA P., K.; WANASUNDRA P., D.; ***Phenolic antioxidants***. Critical Reviews in Food Science and Nutrition . Vol. *32*, 67-103, 1992.

SERRANO M, BOUAID A, MARTÍNEZ M, ARACIL J. ***Oxidation stability of biodiesel from different feedstocks: influence of commercial additives and purification step.*** Fuel. Vol 113, 50-58, 2013.

SHI, L.-E.; ZHANG, Z.-L.; XING, L.-Y.; YANG, D.-D.; GUO, Y.-P.; GUO, X.-F.; ZHAO, L.-M.; TANG, Z.-X. ***Antioxidants extraction by supercritical CO2.*** Journal of Medicinal Plants Research. Vol. 5. No. 3, 300-308, 2011.

SILVA, S., B.; ***Estudo da extração do óleo de Pitanga (Eugenia uniflora L.) vermella e roxa empregando os solventes CO2 e n-propano em altas pressões.*** Dissertação. (Mestrado em Engenharia Química). 2012.

SKIBSTED, L. H. ***Understanding oxidation process in foods.*** In: DECKER, E. A.;ELIAS, R. J., *et al* (Ed.). Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications. Philadelphia, PA: Woodhead Publishing, v.1, 2010. p.408.

SKOOG, D., A.; HOLLER, F., J.; NIEMAN, T., A.; ***Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.*** In: Princípios de Análise Instrumental. 5. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. p. 657.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E., M.; GONZAGA, L.; FETT, R.; ***Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de Uvas niágara e isabel.*** Revista Brasileira de Fruticultura. Vol. 30. No. 1. 059-064, 2008.

SOUZA, A. T.; BENAZZI, T. L.; GRINGS, M. B.; CABRAL, V.; SILVA, E. A.; CARDOZO FILHO, L.; ANTUNES, O. A. C. ***Supercritical extraction process and phase equilibrium of Candeia (Eremanthus erithropappus) oil using 92 supercritical carbon dioxide.*** The Journal of Supercritical Fluids. Vol. 47, 182-187, 2008.

SOUZA, C., M., M.; SILVA, H., R.; VIEIRA, G., M., Jr.; AYRES, M., C., C.; COSTA, C., L., S.; ARAÚJO, D., S.; CAVALCANTE, L., C., D.; BARROS, D., S.; ARAÚJO, P., B., M.; BRANDÃO, M., S.; CHAVES, M., H.; ***Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais.*** Química Nova. Vol. 30. No. 2, 351-355, 2007.

SOUZA, L., F.; RODRIGUES, P., R., P.; ***Análise do Biodiesel por espectroscopia no infravermelho por reflexão total atenuada horizontal.*** In: XIII Encontro de Química da Região Sul. Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, DC, 2005.

SOUZA, L., S.; MOURA, C., V., R.; OLIVEIRA, J., E.; MOURA, E., M.; ***Use of natural antioxidants in soybean biodiesel.*** Fuel. Vol. 134, 420-428, 2014.

VAZ, A., P., A.; JORGE, M., H., A.; ***Hortelã***. In: Embrapa. 2005.

VAN LE, H.; MAN LE, V., V.; ***Comparison of enzyme-assisted and ultrasound-assisted extraction of vitamin C and phenolic compounds from acerola (Malpighia***

emarginata DC.) fruit. International Journal of Food Science and Technology. Vol. 47. 1206–1214, 2012.

VENDRAMIN, A., L.; TRUGO, L., C.; ***Chemical composition of acerola fruit (Malpighia punicifolia L.) at three stages of maturity.*** Food Chemistry. Vol. 71.) 195-198, 2000.

VIEIRA, D., A.; SANTOS, P., S.; HAMINIUK, C., W., I.; PLATA-OVIEDO, M., S., V.; ***Avaliação da atividade antioxidante das folhas de Acerola, Guabiroba e Ora-pro-nobis.*** Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos. Vol. 1. No. 2. 129-134, 2010.

WILLIAMS, D. F. ***Extraction with supercritical gases***. Chemical Engineering Science. Vol. 36. No. 11, 1769-1788, 1981.