

# Avaliação de Aditivos Antioxidantes para Biodiesel: uso de Espectroscopias de EPR, UV-Vis e do Método de Rancimat (EN 14112)

## Evaluation of Antioxidant Additives for Biodiesel by EPR and UV-Vis Spectroscopies, and the Rancimat Method (EN 14112)

Priscila B. B. Ferrari,<sup>a</sup> Alessandro K. Jordão,<sup>b</sup> Anna C. Cunha,<sup>c</sup> Vitor F. Ferreira,<sup>c</sup> Juliana Schultz,<sup>d</sup> Carlos I. Yamamoto,<sup>a</sup> e Antônio S. Mangrich<sup>d,\*</sup>

<sup>a</sup>Universidade Federal do Paraná, Departamento de Engenharia Química, CEP 81531-980, Curitiba-PR, Brasil.

<sup>b</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Farmácia, CEP 59012-570, Natal-RN, Brasil.

<sup>c</sup>Universidade Federal Fluminense, Instituto de Química, CEP 24020-141, Niterói-RJ, Brasil.

<sup>d</sup>Universidade Federal do Paraná, Departamento de Química, CEP 81531-980, Curitiba-PR, Brasil.

\*E-mail: mangrich@ufpr.br

Recebido: 1 de Fevereiro de 2021

Aceito: 13 de Fevereiro de 2021

Publicado online: 19 de Abril de 2021

The aim of this study was to identify substances added to biodiesel capable of minimizing oxidation reactions, preventing the onset or anticipating the end of oxidation reactions, without affecting the other characteristics of biofuel. Electronic paramagnetic resonance spectroscopy (EPR) was used to qualitatively identify and characterize these possible antioxidant compounds. To compare and confirm the data obtained by EPR, the UV-VIS method was used, based on the extinction of the free radical DPPH• (2,2-diphenyl-1-picril-hydrazil) by antioxidants, which produces a decrease in absorbance at 515 nm. By the EPR method, all substances were efficient in the consumption DPPH•, but with variations in time and efficiency in consumption. The samples with greater efficiency in the consumption of DPPH• via the EPR method corroborated with substances that presented higher efficiency in antioxidant behavior via UV-VIS, confirming the efficiency of the method. The Rancimat Method (EN 14112), which determines the stability to fuel oxidation, was used to attest to the efficacy of antioxidants added to biodiesel. The sample that presented the best performance in increasing the oxidative stability time of the biodiesel sample was redoxoma 17 (R17), presenting as efficient as the known tempol (redoxoma R01 - 4-Hydroxi-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxil), already patented as an antioxidant of biodiesel.

**Keywords:** Biodiesel; oxidation; antioxidants; rancimat method, electron paramagnetic resonance.

## 1. Introdução

De acordo com a Lei nº 11.097 de 13 de janeiro de 2005,<sup>1</sup> o biodiesel é definido como um biocombustível derivado de biomassa renovável, de origem vegetal ou animal, para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil (derivados de petróleo, gás natural ou carvão mineral).<sup>2</sup> É fabricado através de três reações de transesterificações consecutivas entre triglicerídeos<sup>3</sup> e álcool metílico ou etílico na presença de catalisadores ácidos (ácidos sulfúrico e clorídrico), básicos (KOH e NaOH) e enzimáticos (lipases) (Figura 1). A catálise básica é largamente utilizada na produção de biodiesel em escala industrial, uma vez que ocorrem em condições reacionais mais brandas e menor tempo reacional.<sup>4</sup> Entretanto, reações indesejáveis, como a saponificação, podem ocorrer diminuindo o rendimento da reação. Por este motivo, é utilizada em reações que utilizam matérias-primas que não apresentam alto grau de acidez. A catálise enzimática necessita de tempos reacionais relativamente elevados e um alto custo para produção da enzima.

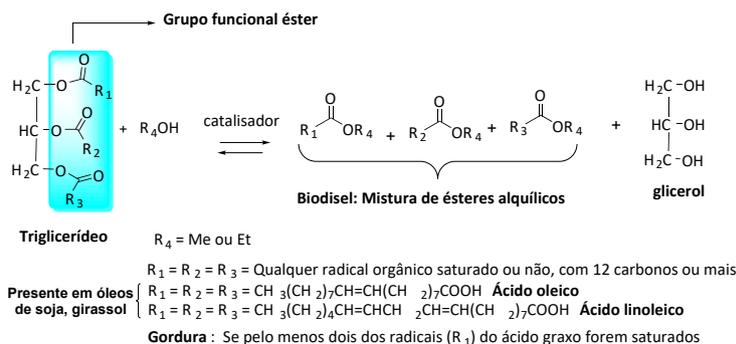


Figura 1. Síntese do biodiesel através da reação de transesterificação de óleos ou gorduras

A reação de transesterificação tem por objetivo converter os triglicerídeos dos óleos e gordura em um éster de menor massa, semelhante ao óleo diesel. Além da mistura de ésteres que compõe o biodiesel, forma-se também glicerina, ou glicerol.<sup>2</sup>

O glicerol puro tem diversas aplicações como na indústria de cosméticos, farmacêutica, detergentes, na fabricação de resinas, na indústria de alimentos, entre outras, porém é um excedente problemático quando se trata da produção de biodiesel.<sup>5,6</sup>

Este subproduto advindo da reação de transesterificação entre triglicerídeos e álcool contém certas impurezas, incluindo catalisador, álcool (etanol ou metanol), ácidos graxos, óleo residual, ésteres, água, sabões e sais, que diminuem seu valor agregado.<sup>7</sup> Exemplos de procedimentos utilizados para sua purificação do glicerol envolvem o processo de destilação à vácuo, seguido do tratamento com carvão ativo. Um produto mais refinado pode ser obtido a partir da utilização de processos por troca iônica.<sup>4</sup> A purificação do glicerol permite a viabilidade do processo produtivo de biodiesel, tornando-o competitivo no mercado.<sup>7</sup>

O caráter renovável do biodiesel deve-se a origem das matérias-primas utilizadas para a sua produção serem de fontes renováveis, isto é, de derivados da agropecuária, como por exemplo, óleos e caroços de soja, mamona, algodão, girassol, semente de uva, microalgas e sebo de boi.<sup>8-12</sup> A escolha do tipo de insumo para a produção de biodiesel depende, dentre outros fatores, das condições geográficas da região produtora. Em misturas com diesel de petróleo, o biodiesel, quando preservado – não oxidado –, faz aumentar a lubrificidade do combustível, melhora as propriedades antidessgaste, e reduz a emissão de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em emissões veiculares.<sup>13-15</sup> Entretanto, apesar de suas inúmeras vantagens, para que o biodiesel possa substituir o diesel de petróleo, é necessário que possa atender algumas características e propriedades físico-químicas, tais como: i) ser viavelmente técnico e

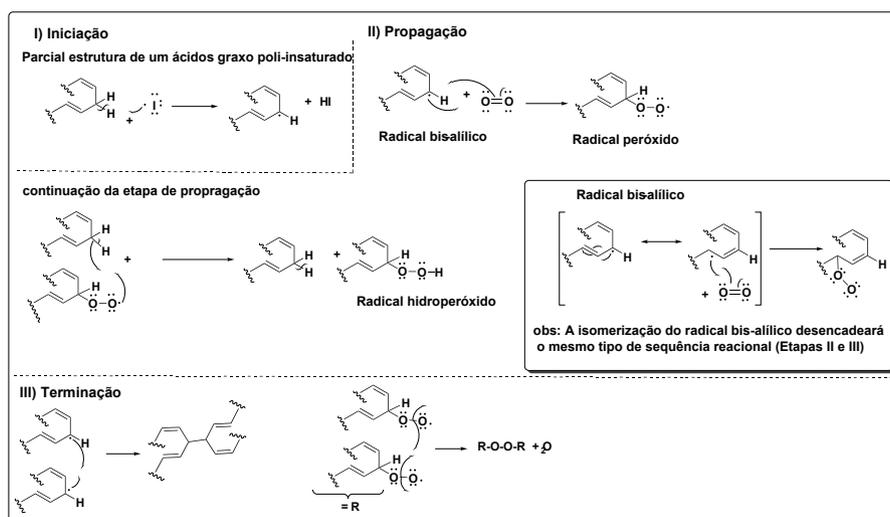
econômico a produção agrícola do óleo e sua transformação em biodiesel; ii) ter qualidade de biocombustível compatível com o seu uso em motores veiculares; iii) estabilidade à oxidação; iv) índice de acidez – revela o estado de conservação; v) teor de glicerol total baixo; vi) ponto de fulgor; vii) teor de ésteres; e viii) ponto de entupimento de filtro a frio e ponto de fluidez. Várias dessas características já são inclusive exigidas pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP).<sup>16</sup>

Devido à presença de ácidos graxos insaturados poli-insaturados presentes nos óleos e gorduras utilizados como matéria prima, o biodiesel está sujeito a sofrer reações de oxidação e polimerização.<sup>17,18</sup>

Vários são os fatores que podem desencadear a oxidação no biodiesel, entre os mais importantes estão a oxidação térmica, caracterizada pela rápida redução na quantidade de insaturações totais, a presença de alguns íons metálicos como os de cobre, ferro, níquel e estanho que catalisam a oxidação de radicais livres de ácidos graxos insaturados e dos ésteres metílicos destes ácidos, contato com o oxigênio (auto-oxidação) e com a luz (foto-oxidação), no qual o oxigênio ataca diretamente os carbonos olefínicos. Os dois últimos fatores são os mais comuns.<sup>8,9,15,17</sup>

A reação de oxidação de uma molécula orgânica pode ser realizada através da adição de oxigênio, ou remoção de hidrogênio ou elétrons. O mecanismo mais comum de oxidação de ácidos graxos baseia-se em três etapas denominadas iniciação, propagação e terminação (Figura 2).

A reação inicial envolve a remoção de um átomo de hidrogênio por um iniciador radicalar,  $I\cdot$ , para formar o produto  $IH$  e um radical livre no átomo de carbono,  $R\cdot$ . Se o oxigênio diatômico estiver presente (atmosfera oxidante), a reação de propagação para formar o radical peróxido,  $ROO\cdot$ , ocorrerá de forma extremamente rápida. Os radicais livres peróxidos não são tão reativos como os de carbono, mesmo assim são suficientemente reativos para extrair um outro hidrogênio para formar mais um radical livre de



**Figura 2.** Reações de “Iniciação”, com um iniciador  $I\cdot$  de radicais livres, “Propagação”, com oxigênio, e “Terminação”, com formação dos produtos estáveis de alto peso molecular<sup>19</sup>

carbono e um hidroperóxido (ROOH).<sup>19</sup> O novo radical livre de carbono pode reagir com o oxigênio diatômico para continuar a propagação do ciclo. Essa reação em cadeia termina quando dois radicais livres reagem entre si, numa etapa de terminação, gerando produtos estáveis pesados.<sup>20</sup> Durante o período inicial de oxidação, a concentração de ROOH permanece bem baixa por um determinado intervalo de tempo. Esse período de tempo é chamado período de indução, e é determinado pela estabilidade de oxidação dos ácidos graxos presentes. Ao término do período de indução, o nível de ROOH aumenta rapidamente, sinalizando o início do processo de oxidação global. Na fase de oxidação secundária do biodiesel, são gerados compostos orgânicos de baixo peso molecular, principalmente aldeídos como, por exemplo, hexenal, heptenal e propanal. Além dos aldeídos são formados álcoois alifáticos, ácido fórmico e ésteres formiatos. O aumento da acidez é resultado da oxidação de lipídeos (que são os triglicerídeos que não foram esterificados e, portanto, impurezas) e biodiesel, devido à formação de ácidos graxos de cadeia mais curta.<sup>19,21</sup>

As consequências dessa oxidação são o aumento da viscosidade do biodiesel (devido ao aumento de compostos com altos pesos moleculares), formação de borras e entupimento de dutos (devido à formação de compostos insolúveis), e danos aos tanques de armazenamento e motores por meio de corrosão (devido à formação de compostos ácidos). Essas mudanças também podem causar o entupimento de bombas, assim como problemas nos sistemas de indicação de volumes na injeção do combustível na câmara de combustão.<sup>8,9,17,18,22-24</sup>

Assim, o estudo da estabilidade oxidativa é extremamente importante para o controle de qualidade do biodiesel e de suas misturas com combustíveis destilados do petróleo, particularmente em relação ao armazenamento; sendo de grande interesse para produtores, fornecedores e usuários do combustível.<sup>17,25</sup>

Para minimizar o problema da oxidação, algumas substâncias inibidoras de oxidação são adicionadas ao biodiesel: os aditivos antioxidantes.<sup>26,27</sup> A linha de alguns exemplos de agentes oxidantes tradicionais incluem terc-butil hidroquinona (1, TBHQ), terc-butil hidroxitolueno (2, BHT), palmitato de ascorbila (3, AsP) e o BHA (4 e 5), que é uma mistura de 2 isômeros, o 2 e o 3-terc-butil-4-hidroxianisol (Figura 3).

Esses compostos atuam como inibidores dos radicais livres e podem ser utilizados sozinhos ou em combinação, o que pode ser mais econômico e eficaz no aumento da estabilidade oxidativa e, conseqüentemente, melhor para o armazenamento do biodiesel.<sup>13</sup> Os antioxidantes são capazes de retardar ou diminuir a oxidação do biodiesel, mesmo

que em baixa concentração.<sup>28</sup> Os diferentes antioxidantes podem atuar em níveis e com modos de ação distintos. Eles podem, teoricamente, prolongar a fase de iniciação ou então inibir a fase de propagação, mas não podem prevenir completamente a oxidação.

O processo de auto-oxidação normalmente apresenta um tempo de indução durante o qual a reação global é lenta, seguida por uma fase mais rápida. A utilização de antioxidantes atrasa o início da oxidação, isto é, prolonga o chamado período de indução, que é o tempo, em horas, no teste de Rancimat (EN 14112), para que a oxidação se inicie, resultando no aumento da vida útil do biodiesel.<sup>14</sup>

Diante deste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o poder antioxidante do tempol (6) (4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil) e do análogo relacionado 7 como aditivos de biodiesel. Para isso foram utilizadas três técnicas de análise, duas para a verificação da capacidade antioxidante dos compostos testados, via extinção do radical livre do DPPH<sup>•</sup> (EPR e UV-Vis), e uma para a avaliação do comportamento antioxidante desses materiais em biodiesel (Rancimat).

## 2. Materiais

### 2.1. Biodiesel

O biodiesel utilizado neste trabalho foi adquirido da empresa BSBios, fabricado a partir de metanol e óleo de soja. Sua caracterização foi realizada pelo Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos (LACAUTets/UFPR), de acordo com a resolução da ANP N° 7, de 19.3.2008 (Tabela 1).<sup>16</sup>

### 2.2. Compostos Antioxidantes

Os compostos utilizados nesse estudo foram sintetizados dentro das atividades do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Processos Redox em Biomedicina (INCT Redoxoma). A síntese do Tempol (6, Redoxoma 01) foi iniciada com a preparação do 2,2,6,6-tetrametil-4-piperidinol (9) via redução química do 2,2,6,6-tetrametil-4-piperidona (8) com hidreto de sódio e boro, na presença do etanol 95 % (v/v) como solvente (Figura 4).<sup>29,30</sup>

As substâncias 8 e 9, foram submetidas a reação de oxidação com tungstato de sódio na presença de peróxido de hidrogênio transformando-se em compostos 6 e 10, respectivamente. O derivado 7 (Redoxoma 17) foi sintetizado via reação de 10 com cloreto de fenilmagnésio em meio de solvente polar aprótico (Figura 4).

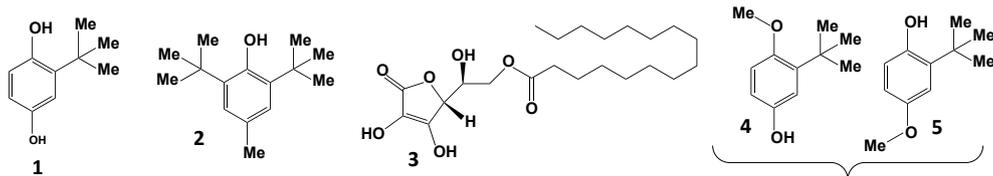
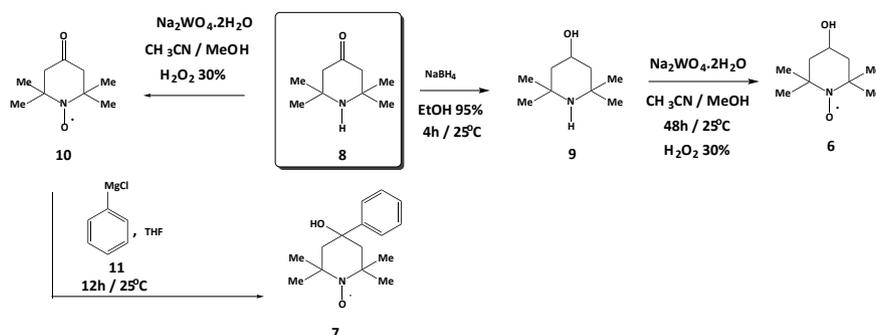


Figura 3. Alguns exemplos de aditivos antioxidantes

**Tabela 1.** Resultado de análise físico-química do biodiesel utilizado

Parâmetros	Resultado	Límite	Unidade	Métodos
Aspecto	Límpido e isento de impurezas	-	-	Visual
Cor	Amarelo	-	-	Visual
Massa específica a 20 °C	880,7	850 a 900	kg/m <sup>3</sup>	ASTM D 4052
Viscosidade	4,3332	3,0 a 6,0	mm <sup>2</sup> /s	ASTM D 445
Teor de água, máx.	347,3	500 máx.	mg/kg	ASTM D 6304
Contaminação total, máx.	0,112	24 máx.	mg/kg	EN/ISO 12662
Ponto de fulgor	153,5	100,0 mín.	°C	ASTM D 93
Teor de éster	96,8	96,5 mín.	% massa	EN 14103
Resíduo de carbono (Método micro)	0,035	0,050 máx.	% massa	ASTM D 4530
Traços de enxofre por fluorescência	8,191	50 máx.	mg/kg	ASTM D 5453
Sódio	1,8324	5 máx.	mg/kg	NBR 15556
Potássio	0	5 máx.	mg/kg	NBR 15556
Cálcio	0,0799	5 máx.	mg/kg	NBR 15556
Corrosividade ao cobre	1a	1 máx.	-	ASTM D 130
Número Cetano Derivado	53,8	-	DCN	ASTM D 6890
Ponto de entupimento de filtro a frio	-2,0	19 máx.	°C	NBR 14747
Índice de acidez	0,41	0,50 máx.	mg KOH/g	NBR 14448
Glicerol livre	0,02	0,02 máx.	% massa	EN 14105
Glicerol total	0,25	0,25 máx.	% massa	EN 14105
Monoacilglicerol	1,12	Anotar	% massa	EN 14105
Triacilglicerol	0,07	Anotar	% massa	EN 14105
Metanol e/ou Etanol	0,06	0,20 máx.	% massa	EN 14110
Índice de Iodo	0,1400	Anotar	g/100g	EN 14111
Estabilidade à oxidação	13,09	6 mín.	horas	EN 14112
Diacilglicerol	0,42	Anotar	% massa	EN 14105

**Figura 4.** Preparação do tempol (6) e do derivado 7

### 2.3. Atividade antioxidante em sistema de varredura de radicais livres

A atividade antioxidante do tempol (6) e do derivado 7 foi avaliada pelo ensaio DPPH• (10, 2,2-difenil-1-picril-hidrazil). Esse método baseia-se na captura da espécie radicalar 10 por agentes antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorvância a 515 nm. Esta reação oxirredução leva à formação da espécie reduzida DPPH-H 11 e pode ser facilmente visualizada pela mudança de coloração da mistura de roxo para amarelo (Figura 5).

O DPPH é muito conhecido como substância padrão em espectroscopia de EPR e largamente aplicado em estudos de atividade antioxidante. O DPPH utilizado nesse estudo foi adquirido da Sigma-Aldrich.

## 3. Metodologia

### 3.1. Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR)

A espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) é uma das técnicas mais importantes e

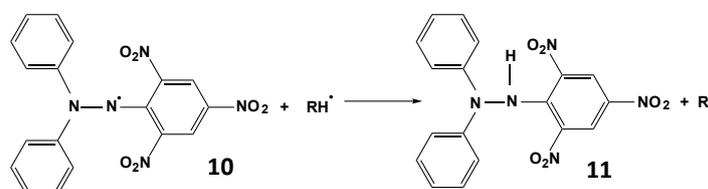


Figura 5. Reação de redução do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil por um agente antioxidante do tipo RH•

confiáveis para a detecção, bem como a caracterização qualitativa e quantitativa, de radicais livres.<sup>26</sup> Através da técnica de EPR estuda-se o tempo e a capacidade de redução do espectro do DPPH• pelo agente antioxidante.<sup>27</sup> Em capilar de vidro isento de impurezas, principalmente sais de ferro trivalentes, mistura-se solução do DPPH• com a solução do composto em estudo e registra-se o espectro de EPR de tempos em tempos. Assim, levanta-se a curva da concentração (decaimento) do DPPH• com relação ao tempo.

Para as medidas de EPR foram feitas soluções metflicas dos compostos testados e do padrão, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), nas concentrações 0,1 mg mL<sup>-1</sup> e 1 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. A partir dessas soluções foram feitas misturas das soluções de DPPH com o composto antioxidante em estudo, todas nas proporções de 1:1 em volume. Cada mistura foi colocada em capilar Hirschmann com volume de 50 µL, cujas extremidades foram adequadamente fechadas com chama fina de maçarico. Esses capilares fechados foram inseridos, um por vez, em tubo de quartzo de 3 mm de diâmetro interno, colocado em altura padrão na cavidade de amostras do espectrômetro de EPR para a análise. Para cada teste foram feitas 10 medidas no período de um mês. As análises foram feitas em espectrômetro Bruker EMX operando em banda-X (~ 9,5 GHz).

### 3.2. Espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-Vis)

Os testes por espectroscopia de UV-VIS foram realizados para efeitos de comparação e verificação da velocidade de reação entre as redoxomas e o DPPH•. Em um estudo comparativo sobre a determinação da capacidade antioxidante por duas técnicas diferentes: espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e espectroscopia do ultravioleta visível (UV-vis), usando a mesma metodologia, verificou-se que no caso de amostras de cor clara, como é o caso do biodiesel, há uma forte correspondência para os valores obtidos entre ambas as técnicas.<sup>31</sup>

O método de análise de radical livre por espectroscopia de ultravioleta-visível foi desenvolvido por Brand-Williams *et al.*<sup>32</sup> e é baseado na redução da absorvância na região do espectro visível do radical DPPH• por antioxidantes, no comprimento de onda de 515 nm. Este radical, em solução, possui cor violeta, mas ao ser reduzido muda para amarelo claro, quase incolor. Quanto mais eficiente for a substância antioxidante, mais rápida e acentuada será essa mudança de cor. Esse é um dos métodos mais utilizados para avaliar a atividade antioxidante de compostos através da redução do radical livre DPPH•. O resultado pode ser expresso em EC<sub>50</sub>, que é a concentração do antioxidante necessária para

reduzir em 50 % a absorvância do radical livre DPPH•. Assim, quanto menor o EC<sub>50</sub>, maior a atividade antioxidante ou poder antirradicalar do material em estudo.

Para as análises em UV-VIS foram adicionados 0,1 mL da solução metflica de cada composto em 3,9 mL de solução metflica de DPPH a 60 µmol L<sup>-1</sup>. As amostras homogeneizadas foram submetidas a leituras no instante em que foram colocadas no porta-cubetas do espectrofotômetro, após 10 minutos, a cada 30 minutos, até a terceira hora, e a cada 60 minutos até a estabilização das medidas. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu UV-2401 PC, em comprimento de onda de 515 nm.<sup>33</sup>

### 3.3. Ensaio de estabilidade oxidativa - Rancimat

De acordo com as normas da ANP, a determinação da estabilidade oxidativa do biodiesel baseia-se no teste *Oil Stability Index* (OSI),<sup>16</sup> no qual são avaliados os produtos secundários de oxidação (ácidos orgânicos e outros produtos de oxidação voláteis),<sup>34</sup> sendo realizado segundo a norma EN 14112 que determina o equipamento Rancimat para a análise e estabelece um tempo de indução mínimo de 6 h (resistência a oxidação), à 110 °C.<sup>13,17,18,25,35,36</sup>

Os ensaios de estabilidade oxidativa foram realizados no equipamento de Rancimat, modelo 873, marca Metrohm, feitos em duplicata, no Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos (LACAUT/UFPR). O aparelho de Rancimat tem a capacidade de realização de 8 testes ao mesmo tempo, sendo que dois tubos reacionais foram reservados para o biodiesel puro, utilizado como um controle (branco). Para serem adicionadas ao biodiesel, as redoxomas foram primeiramente diluídas em *N*-Butildietanolamina (BDEA), a ≥ 98,6 % (Sigma Aldrich) e, após a homogeneização, a mistura foi adicionada ao biocombustível. As concentrações utilizadas estão descritas na Tabela 2.

Segundo a Resolução da ANP nº 45, de 25/08/2014,<sup>16</sup> que estabelece a especificação do biodiesel e as obrigações quanto ao controle da qualidade a serem atendidas pelos diversos agentes econômicos que comercializam o produto em todo o território nacional, o teor do aditivo no combustível não pode exceder a 5.000 ppm.

Waynick *et al.*<sup>19</sup> comentam que as concentrações eficazes para aditivos antioxidantes geralmente estão dentro do intervalo de 200 ppm a 1.000 ppm, mas dependem do substrato e do tipo de ensaio de estabilidade utilizado para avaliar o desempenho dos aditivos. Na literatura é possível encontrar muitos trabalhos utilizando valores médios de 500 ppm, tanto para aditivos antioxidantes sintéticos quanto naturais, e mostrando que

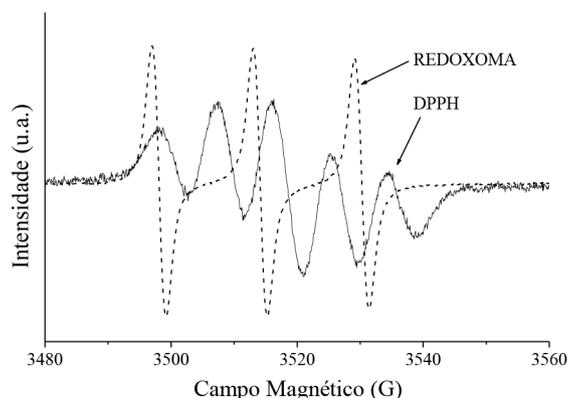
quantidades superiores a 500 ppm não apresentam melhora significativa na estabilidade oxidativa e, por vezes, até uma piora.<sup>13,32,35,37,38</sup> Desta forma, decidiu-se não ultrapassar a concentração total de 500 ppm, baseando-se nas concentrações utilizadas por Martyak *et al.*<sup>40</sup> que trabalharam com substâncias semelhantes às utilizadas neste estudo.

#### 4. Resultados e Discussão

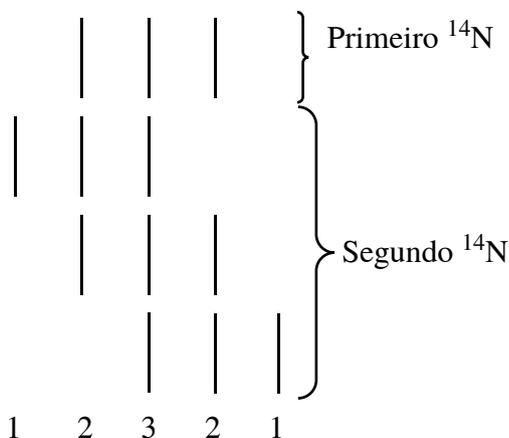
Antes de analisar os espectros de EPR das soluções mistura redoxoma/DPPH foi necessário identificar os espectros de cada um (redoxoma e DPPH) separadamente. Na Figura 6 são apresentados apenas um espectro de uma das redoxomas e um do DPPH, pois ambas as redoxomas apresentaram espectros semelhantes, variando apenas a intensidade do sinal.

O número de linhas,  $N$ , de um espectro de EPR pode indicar de qual átomo o elétron desemparelhado está mais próximo, sendo que o número de linhas pode ser calculado através da equação 1,<sup>39</sup> dependendo apenas do número do spin nuclear, representada por  $I$ .

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



**Figura 6.** Espectro característico das redoxomas com 3 linhas (linha interrompida), devido à proximidade do radical livre a um átomo de  $^{14}\text{N}$  ( $I = 1$ ) e do DPPH com 5 linhas (linha cheia), devido à proximidade do radical livre a dois átomos de  $^{14}\text{N}$  (Figura 5).



**Figura 7.** Desdobramento das linhas do DPPH•, representadas por barras verticais, para o elétron desemparelhado a igual distância dos dois núcleos de  $^{14}\text{N}$ . Os números representam as intensidades relativas das linhas do espectro de EPR para o DPPH•

Tomando como exemplo o  $^{14}\text{N}$ , que possui  $I = 1$ , o espectro irá apresentar 3 linhas correspondentes à interação do momento magnético eletrônico,  $S = 1/2$ , com o momento magnético nuclear,  $I = 1$ . Para átomos com spin nuclear igual a zero, como é o caso do  $^{12}\text{C}$ , o espectro de EPR apresentará uma única linha de absorção.

Como se vê no espectro característico das redoxomas representado na Figura 6, as três linhas possuem praticamente a mesma intensidade, pois o elétron desemparelhado está próximo de um núcleo de  $^{14}\text{N}$ ,  $I = 1$ . Já no caso do DPPH, tem-se o elétron desemparelhado próximo, a igual distância, de dois núcleos de  $^{14}\text{N}$  (Figura 6). Esses dois núcleos vão interagir com o elétron desemparelhado, causando um desdobramento nas linhas (Figura 7).

A interação com um dos átomos de nitrogênio resulta em três linhas de mesma intensidade. O primeiro conjunto de três barras, de cima para baixo, representa as três linhas do espectro para a interação com o primeiro átomo de  $^{14}\text{N}$ . Os outros três conjuntos, de três linhas cada um, representam a interação magnética do segundo  $^{14}\text{N}$  com cada uma das linhas do primeiro  $^{14}\text{N}$ . Os números na base da figura representam as intensidades das linhas, umas em relação às outras. Isto pode ser constatado no espectro do DPPH da Figura 6.<sup>40</sup> É válido ressaltar que o estudo foi feito com base na variação do sinal do DPPH.

A perturbação que há nas linhas dos espectros referentes às redoxomas, (três linhas estreitas e mais intensas) é devida ao espectro do DPPH presente. As modificações dos espectros são mostradas na Figura 8, para os radicais livres, R01\* e R17\*, com o DPPH\*, em solução de álcool metílico. Em ambos os espectros, nota-se que um dia após a mistura das soluções das redoxomas com o DPPH\* (Figura 8a e 8d, respectivamente) ainda é possível ver as modificações dos espectros, nas quais os ombros e depressões vistos sobre as segunda e terceira linhas do espectro das redoxomas são o que restou do espectro do radical DPPH\*.

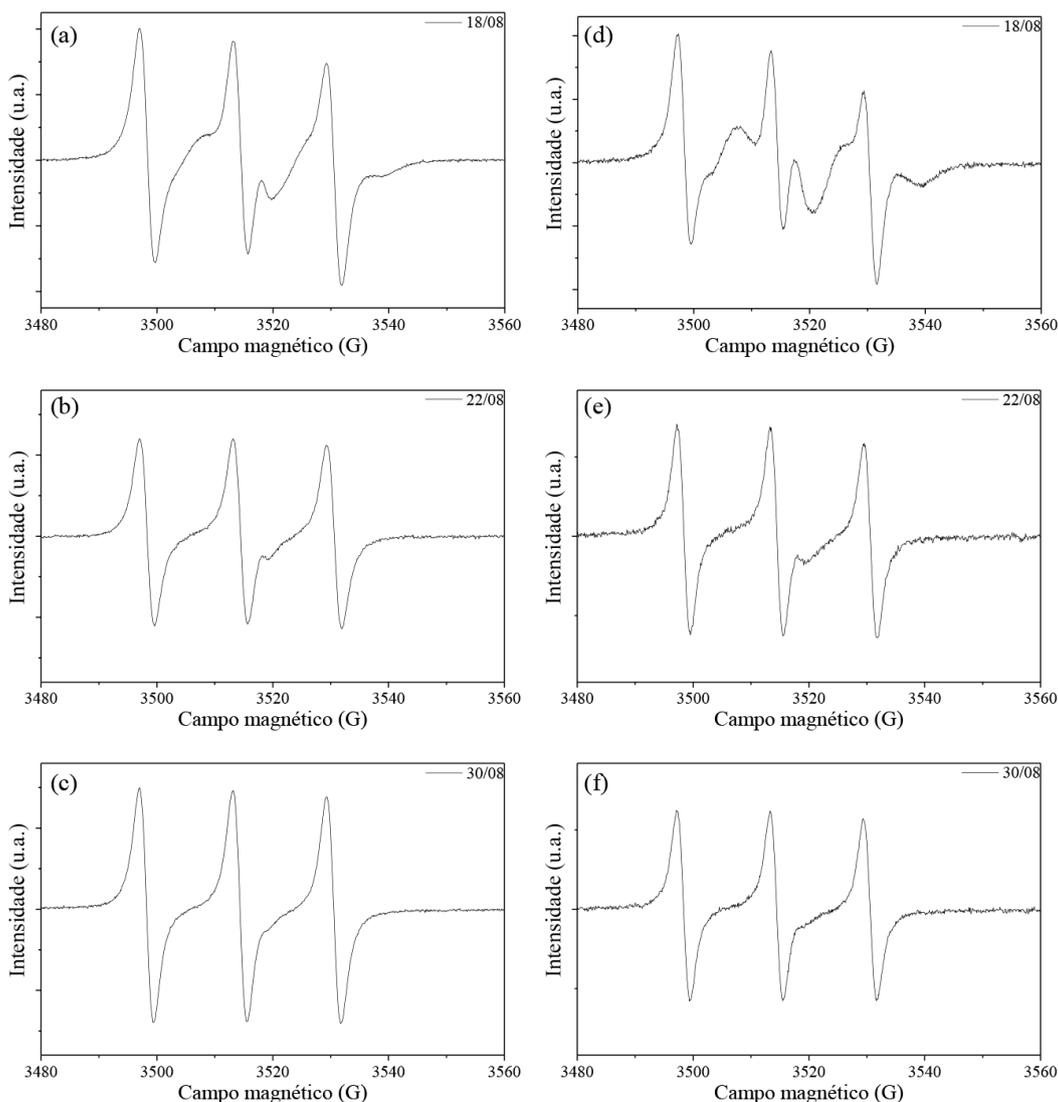
Após quatro dias de reação (Figura 8b e 8e), em ambos os espectros se vê um pequeno sinal do DPPH\*, indicando que as redoxomas, em suas atividades antioxidantes, consumiram grande parte do DPPH\* disponível na solução. Apenas após doze dias de reação, é possível ver o completo desaparecimento do espectro do DPPH\*, sendo visto

exclusivamente o espectro das redoxomas R01\* e R17\* (Figura 8c e 8f, respectivamente).

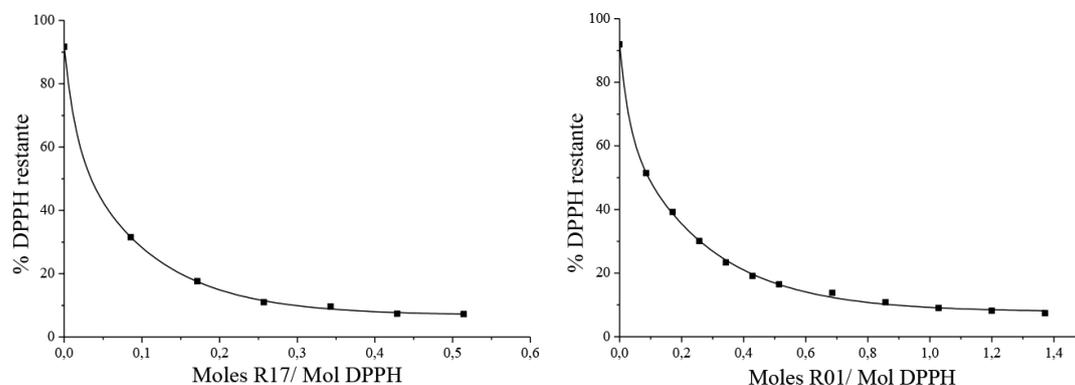
Nos testes em EPR o intervalo entre as medidas foi de dias, e nos testes em UV-Vis foram utilizados intervalos menores entre as medidas, de minutos, a fim de investigar melhor o comportamento cinético da reação entre estes compostos.

A partir dos testes em UV-Vis foram construídos gráficos da cinética da reação de cada concentração testada, para ambos os compostos (Figura 9). A atividade antirradicalar foi definida como a quantidade de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH em 50% (*efficient concentration* =  $EC_{50}$ ). O poder antirradicalar (PAR) é definido como o inverso do  $EC_{50}$ ; quanto maior o PAR, mais eficiente o antioxidante.

A concentração eficiente ( $EC_{50}$ ) foi obtida através dos gráficos do consumo do DPPH em função do número de mols do antioxidante/mol de DPPH (Figura 9). Os valores



**Figura 8.** Espectros de EPR da solução de DPPH\* com a Redoxoma R01 (a, mistura inicial; b, quatro dias após; c, 12 dias após) e a Redoxoma R17 (d, mistura inicial; e, quatro dias após; f, 12 dias após). Condições do equipamento: temperatura ambiente operando a banda-X (~ 9,5 GHz).



**Figura 9.** Gráficos para o cálculo do valor de  $EC_{50}$  da R01 (à esquerda) e da R17 (à direita) em relação ao radical livre de DPPH. Os experimentos foram conduzidos à temperatura ambiente utilizando o espectrofotômetro de UV-Vis. A R01 estabilizou-se com 90 minutos de reação, enquanto que a R17 com 70 minutos.

de  $EC_{50}$  encontrados foram 0,09 e 0,03 para a R01 e a R17, respectivamente. A partir desses valores, podem-se calcular os valores do poder antirradicalar ( $1/EC_{50}$ ), que para a R01 foi de 11,06 e 28,97 para a R17, 2,5 vezes maior. Com esses dados, pode-se dizer que a redoxoma R17 é um antioxidante mais eficiente que a R01, tanto com relação à velocidade de redução do DPPH, quanto à eficiência, visto que, para reduzir a concentração do DPPH a 50 % é necessária uma menor quantidade de R17 do que de R01.

Essa maior eficiência da redoxoma R17 com relação a R01, como aditivo antioxidante, pode estar relacionada às interações intermoleculares que estes possam fazer. Há, por exemplo, a possibilidade de que o anel aromático (R17) possa fazer interações de  $\pi$ -stacking, com os grupos aromáticos do DPPH, organizando-se melhor e facilitando a interação entre as moléculas e a transferência do  $H^{\bullet}$  agindo como antioxidante.

Entretanto, para confirmar o motivo da diferença no comportamento antioxidante entre redoxomas, outros derivados estão sendo sintetizados, os quais poderão dar visão mais adequada dessa diferença.

A adição dos compostos ao biodiesel foi feita de acordo com a Tabela 2 e os resultados são mostrados na Tabela 3.

Nota-se que nas amostras aditivadas apenas com as redoxomas (50 ppm), houve uma diminuição do tempo de estabilidade oxidativa (EO) comparado ao biodiesel puro, em torno de 19 a 23 % de redução, diferentemente do que foi obtido por Martyak *et al.*<sup>40</sup>, que obteve um aumento de quase 8 % com o biodiesel de óleo de soja, aditivado apenas com o tempol. Nos casos que houve a redução da EO, pode-se dizer que a redoxoma atuou como agente pró-oxidante. Comparando-se com outros antioxidantes, verifica-se que o tempo de estabilidade oxidativa do biodiesel contendo a amostra de R17 e BDEA é superior. Os exemplos apresentados utilizam quantidades maiores de antioxidante e tempo de estabilidade menor, conforme mostrado na Tabela 4.

Nas amostras aditivadas apenas com o BDEA houve um aumento da EO, evidenciando o caráter antioxidante desse composto. Entretanto, ao misturá-lo com a redoxoma R17, antes de adicioná-los ao biodiesel, percebe-se um aumento muito mais significativo da EO, o que provavelmente se deve ao fato do BDEA atuar como melhorador da solubilidade dessa redoxoma no biodiesel, aumentando, conseqüentemente, a capacidade antioxidante da mistura.

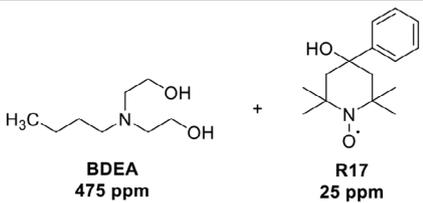
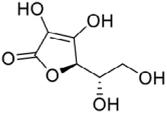
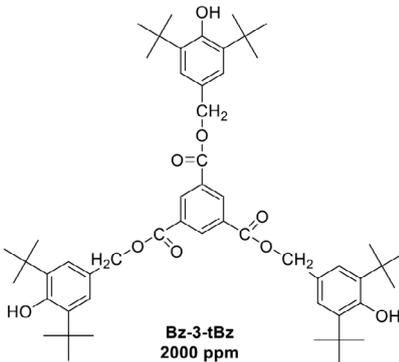
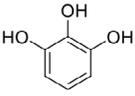
**Tabela 2.** Misturas Redoxoma/BDEA para adição ao biodiesel e teste no Rancimat

Mistura	Biodiesel (g)	Redoxoma (ppm)	BDEA (ppm)
1	100	50	0
2	100	25	475
3	100	0	450

**Tabela 3.** Estabilidade à oxidação (EO) de biodiesel do material em estudo em termos do período de indução (OSI IP)

Amostras	R01		R17	
	EO (h)	Aumento %	EO (h)	Aumento %
Biodiesel Puro (BP)	10,8 ± 0,8	0,0	11,3 ± 0,8	0,0
BP + 50 ppm Redoxoma	8,7 ± 0,8	-19,4	8,7 ± 0,8	-23,0
BP + 450 ppm BDEA	13,0 ± 0,8	20,4	13,5 ± 0,8	19,5
BP + 475 ppm BDEA + 25 ppm Redoxoma	12,0 ± 0,8	11,1	15,9 ± 0,8	40,7

**Tabela 4.** Comparação entre o R17 e estudos anteriores da literatura que utilizam outros antioxidantes utilizados para o aumento da estabilidade oxidativa do biodiesel

Amostra	EO (h)
 <p><b>BDEA</b> 475 ppm</p> <p><b>R17</b> 25 ppm</p>	15,9
 <p><b>Ácido Ascórbico</b> 27531 ppm</p>	7,8 <sup>42</sup>
 <p><b>Bz-3-tBz</b> 2000 ppm</p>	3,1 <sup>43</sup>
 <p><b>Pirogalol</b> 1000 ppm</p>	4,6 <sup>44</sup>

Nesse caso, o BDEA e a redoxoma R17 atuam com sinergismo.

## 5. Conclusão

Os resultados obtidos com o método da espectroscopia de EPR corroboraram os resultados obtidos através do método tipicamente utilizado para esse fim, a espectroscopia de UV-Vis, mostrando-se um método eficiente para a determinação de compostos antioxidantes.

Os espectros de EPR indicaram que as redoxomas não perdem a sua atividade antioxidante após reagirem com o DPPH, uma vez que o sinal do seu espectro não some, ao contrário do sinal do DPPH que é totalmente eliminado após um período.

Os testes realizados no equipamento Rancimat evidenciaram o potencial antioxidante da redoxoma (R17), mostrando que é possível utilizá-la para o aumento da estabilidade oxidativa do biodiesel. Entretanto, a presença de um composto capaz de dissolver adequadamente as redoxomas, como o BDEA,

mostrou-se de fundamental importância, uma vez que ele é responsável por melhorar a solubilidade da redoxoma no biodiesel, atuando com efeito sinérgico.

## Agradecimentos

Ao CNPq, à CAPES, à FINEP, ao INCT E&A e às Universidades envolvidas. O autor Alessandro Kappel Jordão agradece também à FAPERJ (Projeto E-26/111.319/2013) pelo auxílio à pesquisa.

## Referências Bibliográficas

- Lei Nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2005/Lei/L11097.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2005/Lei/L11097.htm)>. Acesso em: 10 outubro 2018.
- He, Q. S.; McNutt, J.; Yang, J.; Utilization of the residual glycerol from biodiesel production for renewable energy generation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2017**, *71*, 63. [CrossRef]
- Rinaldi, R.; Garcia, C.; Marciniuk, L. L.; Rossi, A. V.; Schuchardt, U.; Síntese de biodiesel: uma proposta contextualizada de experimento para laboratório de química geral. *Química Nova* **2007**, *30*, 1374. [CrossRef]
- Suarez, P. A. Z.; Meneghetti, S. M. P.; Meneghetti, M. R.; Wolf, C. R.; Transformação de triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: algumas aplicações da catálise na oleoquímica. *Química Nova* **2007**, *30*, 667. [CrossRef]
- Cornejo, A.; Barrio, I.; Campoy, M.; Lázaro, J.; Navarrete, B.; Oxygenated fuel additives from glycerol valorization. Main production pathways and effects on fuel properties and engine performance: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2017**, *79*, 1400. [CrossRef]
- Monteiro, M. R.; Kugelmeier, C. L.; Pinheiro, R. S.; Batalha, M. O.; César, A. S.; Glycerol from biodiesel production: Technological paths for sustainability. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2018**, *88*, 109. [CrossRef]
- Lopes, A. P.; Canesin, E. A.; Suzuki, R. M.; Tonin, L. T. D.; Palioto, G. F.; Seixas, F. L.; Purificação de glicerina residual obtida na produção de biodiesel a partir de óleos residuais. *Revista Virtual de Química* **2014**, *6*, 1564 [CrossRef].
- Ma, F.; Hanna, M. A.; Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology* **1999**, *70*, 1. [CrossRef]
- Lapueta, M.; Rodríguez-Fernández, J.; Ramos, Á.; Álvarez, B.; Effect of the test temperature and anti-oxidant addition on the oxidation stability of comercial biodiesel fuels. *Fuel* **2012**, *93*, 391. [CrossRef]
- Faried, M.; Samer, M.; Abdelsalam, E.; Yousef, R. S.; Attia, Y. A.; Ali, A. S.; Biodiesel production from microalgae: Processes, technologies and recent advancements. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2017**, *79*, 893. [CrossRef]
- Bolonio, D.; García-Martínez, M.-J.; Ortega, M. F.; Lapuerta, M.; Rodríguez-Fernández, J.; Canoira, L.; Fatty acid ethyl esters (FAEEs) obtained from grapessed oil: A fully renewable biofuel. *Renewable Energy* **2019**, *132*, 278. [CrossRef]

12. van der Westhuizen, I.; Focke, W. W.; Stabilizing sunflower biodiesel with synthetic antioxidant blends. *Fuel* **2018**, *219*, 126. [CrossRef]
13. Rawat, D. S.; Joshi, G.; Pandey, J. K.; Lamba, B. Y.; Kumar, P.; Algal biodiesel stabilization with lower concentration of 1:3 ratios of binary antioxidants – Key factors to achieve the best synergy for maximum stabilization. *Fuel* **2018**, *214*, 471. [CrossRef]
14. Knothe, G.; Some aspects of biodiesel oxidative stability. *Fuel Processing Technology* **2007**, *88*, 669. [CrossRef]
15. Varatharajan, K.; Pushparani, D. S.; Screening of antioxidant additives for biodiesel fuels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2018**, *82*, 2017. [CrossRef]
16. Resolução ANP nº 45, de 25.8.2014 - DOU 26.8.2014. Disponível em: <<http://legislacao.anp.gov.br/?path=legislacao-anp/resol-anp/2014/agosto&item=rnp-45-2014>>. Acesso em: 30 março 2020.
17. Dunn, R. O.; Antioxidants for improving storage stability of biodiesel. *Biofuels, Bioproducts & Biorefining* **2008**, *2*, 304. [CrossRef]
18. Knothe, G.; Em *The biodiesel handbook*; eds. Knothe, G.; Van Gerpen, J.; Krahl, J., Illinois, **2010**, cap. 6.
19. Characterization of biodiesel oxidation and oxidation products. Disponível em: <<https://www.nrel.gov/docs/fy06osti/39096.pdf>>. Acesso em: 10 outubro 2018.
20. Das, L. M.; Bora, D. K.; Pradhan, S.; Naik, M. K.; Naik, S. N.; Long-term storage stability of biodiesel produced from Karanja oil. *Fuel* **2009**, *88*, 2315. [CrossRef]
21. Christensen, E.; McCormick, R. L.; Long-term storage stability of biodiesel and biodiesel blends. *Fuel Processing Technology* **2014**, *128*, 339. [CrossRef]
22. Karavalakis, G.; Stournas, S.; Karonis, D.; Evaluation of the oxidation stability of diesel/biodiesel blends. *Fuel* **2010**, *89*, 2483. [CrossRef]
23. dos Santos, V. M. L.; da Silva, J. A. B.; Stragevitch, L.; Longo, R. L.; Thermochemistry of biodiesel oxidation reactions: A DFT study. *Fuel* **2011**, *90*, 811. [CrossRef]
24. Kumar, N.; Oxidative stability of biodiesel: Causes, effects and prevention. *Fuel* **2017**, *190*, 328. [CrossRef]
25. 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* **2014**, *30*, 356. [CrossRef]
26. Jerzykiewicz, M.; Ćwieląg-Piasecka, I.; Witwicki, M.; Jezierski, A.; EPR spin trapping and DFT studies on structure of active antioxidants in bioglycerol. *Chemical Physics Letters* **2010**, *497*, 135. [CrossRef]
27. Jerzykiewicz, M.; Cwieląg, I.; Jerzykiewicz, M.; The antioxidant and anticorrosive properties of crude glycerol fraction from biodiesel production. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **2009**, *84*, 1196. [CrossRef]
28. Rodrigues Filho, M. G.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal da Paraíba, 2010
29. Harper, N. J.; Beckett, A. H.; Balon, A. D. J.; 540. Some isomeric hydroxypiperidines. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1960**, 2704. [CrossRef]
30. Rauckman, E. J.; Rosen, G. M.; Abou-Donia, M. B.; Improved methods for the oxidation of secondary amines to nitroxides. *Synthetic Communications* **1975**, *5*, 409. [CrossRef]
31. Bartoszek, M.; Polak, J.; A comparison of antioxidative capacities of fruit juices, drinks and nectars, as determined by EPR and UV-vis spectroscopies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2016**, *153*, 546. [CrossRef]
32. Brand-Williams, W.; Curvelier, M. E.; Berset, C.; Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology* **1995**, *28*, 25. [CrossRef]
33. Ferrari, R. A.; de Souza, W. L.; Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. *Química Nova* **2009**, *32*, 106. [CrossRef]
34. Lôbo, I. P.; Ferreira, S. L. C.; da Cruz, R. S.; Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Química Nova* **2009**, *32*, 1596. [CrossRef]
35. Kivevele, T. T.; Mbarawa, M. M.; Bereczky, A.; Laza, T.; Madarasz, J.; Impact of antioxidant additives on the oxidation stability of biodiesel produced from Croton *Megalocarpus* oil. *Fuel Processing Technology* **2011**, *92*, 1244. [CrossRef]
36. Xin, J.; Imahara, H.; Saka, S.; Kinetics on the oxidation of biodiesel stabilized with antioxidant. *Fuel* **2009**, *88*, 282. [CrossRef]
37. Lomonaco, D.; Maia, F. J. N.; Clemente, C. S.; Mota, J. P. F.; Costa Junior, A. E.; Mazzetto, S. E.; Thermal studies of new biodiesel antioxidants synthesized from a natural occurring phenolic lipid. *Fuel* **2012**, *97*, 552. [CrossRef]
38. Moser, B. R.; Efficacy of gossypol as an antioxidant additive in biodiesel. *Renewable Energy* **2012**, *40*, 65. [CrossRef]
39. Barberis, G. E.; Donoso, J. P.; Descrição quântica de espectros de ressonância paramagnética eletrônica. *Revista Brasileira de Ensino de Física* **1997**, *19*, 125. [Link]
40. Martyak, N.; Dowling, C.; Gernon, M.; *US pat. 7,582,126* **2010**.
41. dos Santos, A. B.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, 2006. [Link]
42. Schuster, G.; do Amaral, A. A.; Wzykowski, J.; Valenga, M. G. P.; Boschen, N. L.; Maia, G. A. R.; Rodrigues, P. R. P.; Gallina, A. L.; Ascorbic acid as antioxidant for soybean biodiesel. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry* **2018**, *10*, 183. [CrossRef]
43. Singh, R. K.; Kukrety, A.; Sharma, O. P.; Poddar, M. K.; Atray, N.; Ray, S. S.; Synthesis of a novel efficient antioxidant for use in lubes and biodiesel. *Petroleum Chemistry* **2017**, *57*, 100. [CrossRef]
44. Zhou, J.; Xiong, Y.; Liu, X.; Evaluation of the oxidation stability of biodiesel stabilized with antioxidants using the Rancimat and PDSC methods. *Fuel* **2017**, *188*, 61. [CrossRef]