

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCOMBUSTÍVEIS

EFEITOS DE CONTAMINANTES METALICOS NA ESTABILIDADE  
OXIDATIVA E O USO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS EM BIODIESEL DE  
SOJA

Maíra Martins Franco

Uberlândia  
2016

MAÍRA MARTINS FRANCO

EFEITOS DE CONTAMINANTES METALICOS NA ESTABILIDADE  
OXIDATIVA E O USO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS EM BIODIESEL DE  
SOJA

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós Graduação em  
Biocombustíveis da Universidade  
Federal de Uberlândia em  
cumprimento parcial aos requisitos  
para obtenção do título de Mestre  
em Ciência e Tecnologia em  
Biocombustíveis.

Orientador: Prof. Dr. Douglas  
Queiroz Santos

Uberlândia  
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

F825e  
2016

Franco, Maíra Martins, 1987

Efeitos de contaminantes metalicos na estabilidade oxidativa e o uso  
de antioxidantes naturais em biodiesel de soja / Maíra Martins Franco. -  
2016.

72 p. : il.

Orientador: Douglas Queiroz Santos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis.

Inclui bibliografia.

1. Biocombustíveis - Teses. 2. Biodiesel - Teses. 3. Antioxidantes -  
Teses. I. Santos, Douglas Queiroz, 1980-. II. Universidade Federal de  
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis. III.  
Título.

---

CDU: 662.756

Às minhas queridas e amadas sobrinhas,  
Isabela e Melissa, por me inspirarem a  
querer ser uma pessoa melhor a cada dia...

Dedico

## AGRADECIMENTOS

- ✓ Primeiramente a Deus por sempre acalentar meu coração nos momentos difíceis e me proporcionar momentos magníficos na minha vida.
- ✓ Aos meus familiares e amigos que sempre me apoiam. Em especial ao meu marido, Leandro Oliveira do Prado, o qual está ao meu lado em todos os momentos.
- ✓ À Universidade Federal de Uberlândia – UFU e à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, por oferecerem o curso de Mestrado e Doutorado na área de biocombustíveis e proporcionar qualificação aos estudantes de diversos cursos.
- ✓ Ao Laboratório de Biocombustível e Tecnologia Ambiental – LABTA, à Escola Técnica de Saúde – ESTES, e ao Instituto de Química – IQ, pela infraestrutura e todos os equipamentos cedidos para o desenvolvimento desta pesquisa.
- ✓ Ao meu orientador, Prof. Dr. Douglas Queiroz Santos, por acreditar neste trabalho e ter a paciência de me ajudar a desenvolver. Pelo incentivo, orientação e dedicação.
- ✓ Aos colegas do laboratório que me ajudaram a concretizar todo o experimento.
- ✓ À minha querida amiga Laíce Souza Rabelo, por não medir esforços para me ajudar, principalmente na estatística.
- ✓ À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa de estudos, sem a qual não conseguiria dedicar a esta pesquisa.
- ✓ À Fundação de Amparo á Pesquisa - FAPEMIG, por todo material de apoio que fornece aos laboratórios.
- ✓ Ao Programa de Pós Graduação em Biocombustíveis – PPGB e todos os docentes, por colaborarem com todo aprendizado que obtive durante estes dois anos.
- ✓ Aos técnicos administrativos, os quais sempre me ajudaram na organização dos documentos durante este período.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	6
LISTA DE GRÁFICOS.....	9
LISTA DE SIGLAS E SIMBOLOS.....	11
RESUMO .....	13
ABSTRACT .....	14
1. INTRODUÇÃO .....	15
1.1. Aspectos relevantes do biodiesel em diferentes cenários .....	15
1.2. Destaque da produção do biodiesel .....	16
1.3. Características do óleo de soja.....	18
1.4. Controle de Qualidade .....	21
1.5. Estabilidade Oxidativa.....	22
1.6. Contaminação metálica.....	23
1.7. Antioxidantes .....	24
2. JUSTIFICATIVA.....	28
3. OBJETIVOS.....	28
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	32
5.1. Caracterização do Biodiesel.....	32
5.3. Efeito Positivo dos Antioxidantes Naturais na Estabilidade Oxidativa.....	60
5.4. Efeito positivo do aditivo de própolis no biodiesel dopado com íon cobalto ..	62
6. CONCLUSÃO .....	64
7. REFERÊNCIAS .....	65

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Percentual de ácidos graxos saturados e insaturados em alguns óleos (ADAPTADO) .....	20
Tabela 2: Métodos de ensaios para as propriedades físico-químicas analisadas conforme os parâmetros adotados pela ANP.....	32
Tabela 3: Valores de período de indução, em horas, para o biodiesel metílico de soja dopado com íons Ni, Fe, Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb, Cd e Mn no intervalo de 0,5 a 3,5 mg L <sup>-1</sup> .....	34
Tabela 4: Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Ni, Fe, Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb, Cd e Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja. ....	37
Tabela 5: Teste de Tukey para os dados da tabela 3 com o nível de confiança 95%, onde q= 4,65, QMR= 0,029, r= 8 e Δ= 0,278 .....	37
Tabela 6: Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Ni, Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb, Cd e Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja. ....	38
Tabela 7: Teste de Tukey para os dados da tabela 5 com o nível de confiança 95%, onde q= 4,55, QMR= 0,030, r= 8 e Δ= 0,281 .....	38
Tabela 8: Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Cu, K, Zn, Cr, Pb, Cd, Co e Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja. ....	39
Tabela 9: Teste de Tukey para os dados da tabela 8 com o nível de confiança 95%, onde q= 4,52 QMR= 0,0363 r= 8 e Δ= 0,305 .....	39
Tabela 10: Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb, Cd e Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja. ....	40
Tabela 11: Teste de Tukey para os dados da tabela 7 com o nível de confiança 95%, onde q= 4,31, QMR= 0,034, r= 8 e Δ= 0,283.....	40
Tabela 12: Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb e Cd. Dopados no biodiesel metílico de soja. ....	41

Tabela 13: Teste de Tukey para os dados da tabela 9 com o nível de confiança 95%, onde $q= 4,23$ , $QMR= 0,031$ , $r= 8$ e $\Delta= 0,263$ .....	41
Tabela 14: Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Ni, Fe, Co, Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja.....	42
Tabela 15: Teste de Tukey para os dados da tabela 11 com o nível de confiança 95%, onde $q= 3,85$ , $QMR= 0,024$ , $r= 8$ e $\Delta= 0,212$ .....	43
Tabela 16: Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Ni, Co, Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja.....	43
Tabela 17: Teste de Tukey para os dados da tabela 13 com o nível de confiança 95%, onde $q= 3,53$ , $QMR= 0,032$ , $r= 8$ e $\Delta= 0,225$ .....	43
Tabela 18: Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Co, Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja.....	45
Tabela 19: Teste de Tukey para os dados da tabela 15 com o nível de confiança 95%, onde $q= 3,01$ , $QMR= 0,046$ , $r= 8$ e $\Delta= 0,228$ .....	45
Tabela 20: Período de indução para a estabilidade oxidativa da polen como antioxidante natural no biodiesel metílico de soja. ....	60
Tabela 21: Período de indução para a estabilidade oxidativa do própolis marrom como antioxidante natural no biodiesel metílico de soja.....	60
Tabela 22: Período de indução para a estabilidade oxidativa do própolis verde como antioxidante natural no biodiesel metílico de soja.....	61
Tabela 23: Resultados de período de indução para o biodiesel isento de antioxidante e metal (branco), biodiesel com cobalto ( $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) e biodiesel com cobalto e aditivo de própolis em diferentes concentrações.....	63

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1: Reação de transesterificação do óleo vegetal.....	17
Figura 2: Fluxograma do processo de obtenção de biodiesel a partir da transesterificação do óleo vegetal ou gordura animal (ADAPTADO).....	18
Figura 3: Matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel no Brasil.....	19
Figura 4: Esquema do mecanismo de oxidação do biodiesel .....	23
Figura 5: Mecanismo de ação para os antioxidantes primários.....	24
Figura 6: Estrutura química de alguns antioxidantes sintéticos .....	25
Figura 7: Estrutura química de alguns compostos isolados de própolis verde brasileira	27
Figura 8: Equipamento Rancimat utilizado para as análises de estabilidade oxidativa.	29
Figura 9: Esquema da análise da estabilidade oxidativa pelo método Rancimat .....	30
Figura 10: Período de indução dos íons Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Ni, Pb, Zn para cada concentração, no intervalo de 0,5 mg L <sup>-1</sup> a 3,5 mg L <sup>-1</sup> . ....	36

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Efeito dos íons metálicos K, Zn, Cr, Pb, Cd e Cu frente à estabilidade oxidativa, no intervalo de concentração de 0,50 a 3,5 mg L <sup>-1</sup> .....	42
Gráfico 2: Efeito negativo dos íons metálicos Ni e Fe frente a estabilidade oxidativa, em diferentes concentrações.....	44
Gráfico 3: Efeito dos íons metálicos Co e Mn frente a estabilidade oxidativa, em diferentes concentrações.....	46
Gráfico 4: Efeito negativo do tempo na estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de soja.....	47
Gráfico 5: Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração 0,5 mg L <sup>-1</sup> .....	49
Gráfico 6: Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração 1,0 mg L <sup>-1</sup> .....	50
Gráfico 7: Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração 1,5 mg L <sup>-1</sup> .....	51
Gráfico 8: Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração 2,0 mg L <sup>-1</sup> .....	52
Gráfico 9: Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração 2,5 mg L <sup>-1</sup> .....	53
Gráfico 10: Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração 3,0 mg L <sup>-1</sup> .....	54

Gráfico 11: Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração 3,5 mg L <sup>-1</sup> .....	55
Gráfico 12: Comportamento dos metais que obtiveram efeito oxidativo acima de 10% no biodiesel metílico de soja .....	57
Gráfico 13: Comportamento dos metais que obtiveram efeito oxidativo entre 5 e 10% no biodiesel metílico de soja. ....	58
Gráfico 14: Comportamento dos metais que obtiveram efeito oxidativo abaixo de 5% e no biodiesel metílico de soja .....	58
Gráfico 15: Comparação dos efeitos dos antioxidantes naturais no biodiesel metílico de soja.....	62
Gráfico 16: Representação dos valores de período de indução para o biodiesel isento de antioxidante e metal (branco), biodiesel com cobalto (3,5 mg L <sup>-1</sup> ) e biodiesel com cobalto e aditivo de própolis em diferentes concentrações. ....	64

## **LISTA DE SIGLAS E SIMBOLOS**

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

ACS - American Chemical Society

ASTM – American Society Testing and Materials

ANP – Agência Nacional do Petróleo Gás Natural e Biocombustível

B100 – Biodiesel puro

BHA – Butil-hidroxi-anisol

BHT – 2,6-di-terc-butil-hidroxutolueno

°C – Graus Celsius (unidade de temperatura)

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EN – European standard

EUA – Estados Unidos da América do Norte

F - Fisher-Snedecor

gl - graus de liberdade

h – Horas (unidade de tempo)

JCB – *Jatropha curcas* (pinhão-manso)

kg – Kilograma (unidade de massa)

MQ - Média dos quadrados

PG – Galato de propila

PI – Período de indução

PM – Material Particulado

ppm – Parte por milhão

q - valores da amplitude total estudentizada

QMR - Quadrado Médio dos Resíduos

r – número de tratamento

RPM – Rotações por minuto

R – Radical

SQ - Soma de quadrados

TBHQ – Terc-butil hidroquinona

THC – Hidrocarboneto total

## **RESUMO**

O biodiesel destaca-se por ser considerado um combustível de menor impacto ambiental, biodegradável, obtido a partir de fontes renováveis e menos poluente que o diesel. Apesar das muitas vantagens citadas, a natureza química do biodiesel torna-o mais suscetível à oxidação em comparação com diesel mineral durante a produção, o transporte e o armazenamento. Este biocombustível possui um elevado nível de reatividade com o oxigênio, principalmente quando colocado em contato com superfícies metálicas, presença de ar, umidade, luz e calor ou mesmo ambientes contaminados por microrganismos, comprometendo assim suas características. A qualidade do biodiesel é designada por três normas EN 14112, ASTM D – 6751 e ANP 45/2014, e a estabilidade oxidativa, está entre os parâmetros monitorados por estes regulamentos. O objetivo principal deste trabalho foi avaliar o efeito da estabilidade oxidativa do biodiesel B100, obtido a partir do óleo de soja (*Glycine max*) pela rota metílica, frente a alguns contaminantes metálicos e o efeito da concentração destes, além de avaliar os potenciais do pólen e da própolis como antioxidantes naturais no biodiesel. Para isso foram preparadas sete concentrações diferentes no intervalo de 0,5 a 3,5 mg L<sup>-1</sup> com incremento de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de diferentes tipos de íons (Fe, Cu, Co, Mn, Zn, Cd, Ni, K, Pb, Cr) e aplicou-se o teste estatístico de Anova com duplo fator e único fator. Analisou-se também o efeito de 3 tipos de antioxidantes naturais diferentes (pólen, própolis marrom e própolis verde) em 6 concentrações diferentes. As análises de estabilidade oxidativa foram realizadas conforme a norma EN 14112. A partir dessas análises pode-se observar que a qualidade do biodiesel diminui na presença de alguns metais. Em linhas gerais, os metais que atingiram pior resultado foram o Cu, Co, K e Cr, os quais obtiveram efeitos negativos acima de 10%. Em seguida o Pb, Zn, Mn e Ni com efeitos entre 5 a 10% e por último os metais Fe e Cd, os quais apresentaram menor efeito na estabilidade oxidativa do biodiesel, com resultados abaixo de 5%. Quanto aos antioxidantes naturais a própolis verde foi o aditivo que obteve o melhor resultado, ao chegar à concentração 0,5 % v/v sua eficiência foi para 23%, seguida pela própolis marrom e o pólen, ambos com efeito de 15%, nesta mesma condição. Para o biodiesel dopado com o íon cobalto a 0,5mg L<sup>-1</sup> juntamente com o antioxidante própolis na concentração 0,50%, apresentou um ganho na estabilidade na ordem de 30%.

**Palavras-chave:** contaminação metálica, biodiesel, estabilidade oxidativa, antioxidantes naturais

## ABSTRACT

Biodiesel stands out for being considered a lower environmental impact fuel, biodegradable, made from renewable sources and less polluting than diesel. Despite of many advantages cited, the biodiesel's chemical nature makes it more susceptible to oxidation when compared to mineral diesel fuel during production, transport and storage. This biofuel has a high level of reactivity with oxygen, especially when placed in contact with metal surfaces, the presence of air, moisture, light and heat or even environments contaminated by microorganisms, thereby undermining its features. The biodiesel quality is designated for three standards EN 14214, ASTM D - 6751 and ANP 45/2014, and oxidative stability is among the parameters monitored by these regulations. The aim of this study was to evaluate the oxidative stability effect of biodiesel B100, obtained from soybean oil (*Glycine max*) by methyl route, compared to some metal contaminants and the effect of the concentration of these, as well as evaluating the pollen potential and propolis as natural antioxidants in biodiesel. To do this seven different concentrations were prepared in the range of 0.5 to 3.5 mg L<sup>-1</sup> with an increment of 0.5 mg L<sup>-1</sup> of different types of ions (Fe, Cu, Co, Mn, Zn, Cd, Ni, K, Pb, Cr) and applied the statistical test ANOVA with two-factor and one factor. It also examined the effect of three different types of natural antioxidants (pollen, brown propolis and green propolis) in 6 different concentrations. The oxidative stability analyzes were performed according to EN 14112. From these tests it can be seen that the quality of biodiesel decreases in the presence of some metals. Generally, the metals that achieved worst results were Cu, Co, Cr and K, which effects obtained above 10%. Then Pb, Zn, Mn and Ni with effect from 5 to 10% and finally the metals Fe and Cd, which showed smaller effects on oxidative stability of biodiesel, with results below 5%. Related to the natural antioxidants green propolis was the additive that had the best result, upon reaching the 0.5 % v/v concentration efficiency was for 23%, followed by brown propolis and pollen, both with 15% effect, this same condition. For biodiesel doped with cobalt ion to 0.5 mg L<sup>-1</sup> propolis together with the antioxidant at a concentration 0.50%, showed a gain in stability on the order of 30%.

**Keywords:** Metal contamination, biodiesel, oxidative stability, natural antioxidants.

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. Aspectos relevantes do biodiesel em diferentes cenários**

O consumo de energia é um dos maiores impasses que tem-se enfrentado mundialmente, especialmente nos países em desenvolvimento, por exigir grandes investimentos em redes nacionais e capacidade de geração para atender à crescente demanda. De acordo com a BP Energy Outlook, a produção de energia do Brasil como parte do consumo sobe de 89% hoje para 111% em 2035, com o aumento na produção de petróleo e biocombustíveis, este tornar-se-á um exportador de energia e o maior produtor da América do Sul (BP ENERGY OUTLOOK, 2015).

O biodiesel destaca-se por ser considerado um combustível de menor impacto ambiental, biodegradável, obtido a partir de fontes renováveis e menos poluente que o diesel. Este combustível possui baixo teor de enxofre e compostos aromáticos, alto número de cetano; teor médio de oxigênio; maior ponto de fulgor; menor emissão de material particulado (PM), hidrocarboneto total (THC), monóxido de carbono (CO) e de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (KWANGSAM, 2015) (SHAHIR, 2015).

A cadeia de produção do biodiesel se destaca devido ao ciclo fechado de carbono no qual o CO<sub>2</sub> é absorvido quando a planta cresce e é liberado quando o mesmo é queimado na combustão do motor. O departamento de energia e de agricultura dos Estados Unidos mostrou que o biodiesel reduz em 78% as emissões líquidas de CO<sub>2</sub> (SANGALETTI-GERHARD *et al.*, 2014).

Devido aos benefícios ambientais e produção industrial simples, o biodiesel é considerado como um importante combustível alternativo feito a partir do processo de transesterificação de óleos vegetais ou de gorduras animais. Por causa da grande diversidade de espécies vegetais no Brasil, este país é considerado privilegiado quanto à riqueza em plantas oleaginosas que possuem amplo potencial para produção de óleo. Dezenas dessas espécies podem ser utilizadas na produção do biodiesel, entre elas soja, dendê, girassol, babaçu, amendoim, mamona e pinhão-manso (DUNN, 2005) (JAIN *et al.*, 2010).

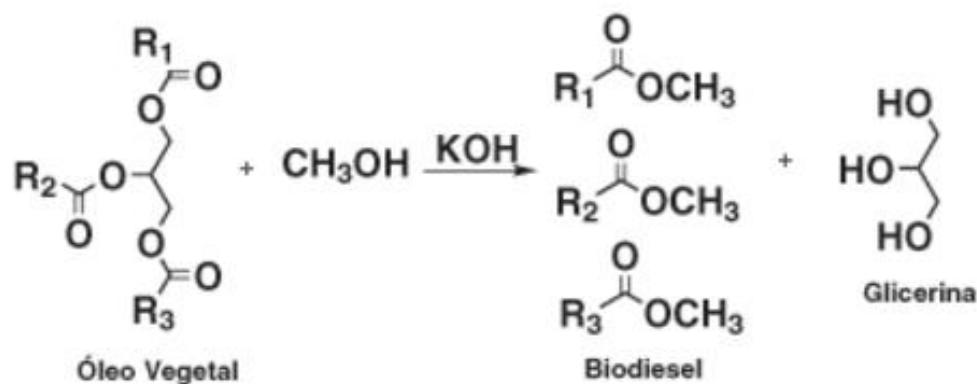
Em virtude da abundância em matéria-prima, o valor de produção do biocombustível pode variar bastante, considerando também o processo utilizado e o

local onde este é produzido. A maior demanda estimula a produção de plantas oleaginosas, aumenta a escala de produção e oferta de grãos, o que pode resultar na diminuição do custo. Porém, o uso da biomassa para a produção de biocombustíveis pode causar grandes impasses no que se refere a um possível impacto sobre a oferta de alimentos. Com a competição entre a produção de alimentos e a produção de combustível, resulta-se em maior valor agregado aos grãos, elevando assim o custo de produção deste biocombustível (ZHANG *et al.*, 2003) (CREMONEZ, 2015).

Alguns países em desenvolvimento como a Índia não são auto-suficiente na produção de óleos comestíveis, isso significa que o uso de óleo comestível como matéria-prima na produção de biocombustíveis não seria viável por causa da pouca oferta e o preço elevado (KARMAKAR, 2010) (LI *et al.*, 2012). O Brasil tem demonstrado o seu diferencial para aderir a esta prática, dada a sua alta produtividade de grãos que lhe permite obter grandes quantidades de óleo vegetal (CREMONEZ, 2015).

## **1.2. Detalhe da produção do biodiesel**

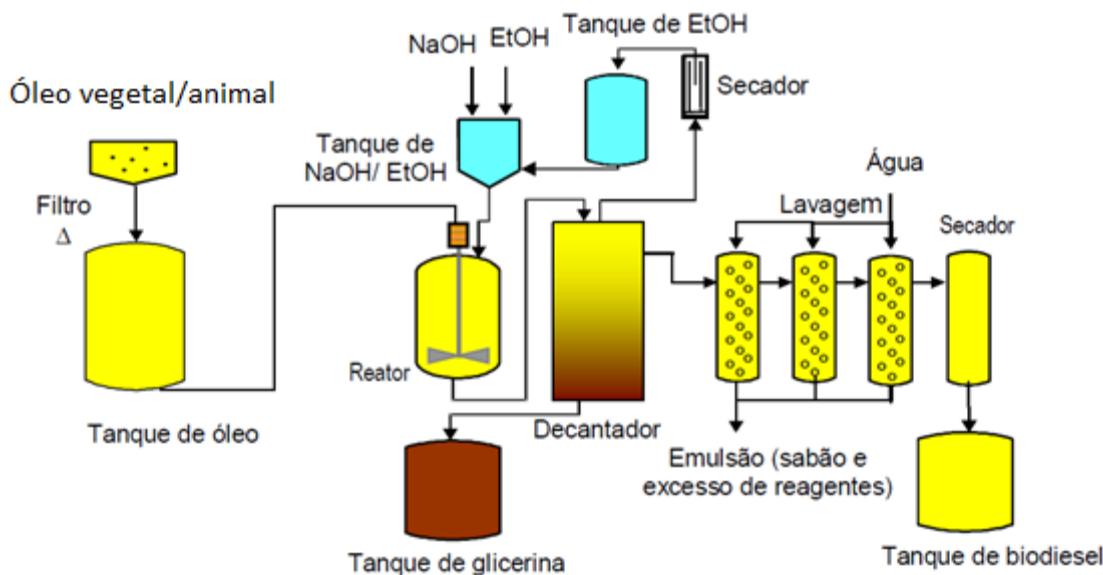
O biodiesel pode ser sintetizado através das reações de esterificação e transesterificação, sendo esta última reação o processo mais utilizado para a fabricação de biodiesel em escala industrial (Figura 1). Esta reação pode ser realizada com álcool metílico ou etílico, tanto em meio ácido quanto em meio básico. Na catálise ácida utiliza-se o ácido sulfônico ou sulfúrico. Porém, o processo de produção de biodiesel por catálise básica é mais rápido do que o processo por catálise ácida. Outra vantagem dos catalisadores alcalinos (hidróxido de potássio ou hidróxido de sódio) é que estes apresentam menor corrosividade que os ácidos, tornando os processos de catálise básica mais atrativa do ponto de vista industrial (KNOTHE, G.,2008) (SHEEHAM *et al.*, 1998).



**Figura 1:** Reação de transesterificação do óleo vegetal

A produção do biodiesel baseia-se na conversão de triglicerídeos em ésteres. Para tanto, inicialmente obtém-se o metóxido de potássio ou sódio (*in situ*) e em seguida mistura-se este ao óleo vegetal ou animal. Dessa forma, com a utilização desses catalizadores, o tempo da reação é reduzido por cerca de 30 a 50 minutos de reação (FELIZARDO, 2006) (VEGA-LIZAMA, 2015).

Após o tempo de reação a massa final é constituída por duas fases, as quais são separadas por decantação ou centrifugação. A mais densa é rica em glicerol contendo ainda álcool, água, resíduo do catalisador e impurezas da matéria-prima. A fase menos densa é rica na mistura de ésteres metílico apresentando ainda excesso de álcool, catalisador e também impurezas do óleo. O biodiesel retirado passa por um processo de lavagem e em seguida secagem. Todo esse processo é sintetizado no fluxograma apresentado na Figura 2.



FONTE: CHRISTOFF (2006)

**Figura 2:** Fluxograma do processo de obtenção de biodiesel a partir da transesterificação do óleo vegetal ou gordura animal (ADAPTADO).

Sob o ponto de vista técnico, a produção de biodiesel pela rota metílica é mais frequentemente utilizado, devido ao domínio na técnica e por razões de natureza física e química (cadeia curta e polaridade). Alguns autores mostram que o rendimento da reação na produção de biodiesel utilizando o álcool metílico é maior comparado ao uso do etanol; além disso, este precisaria estar condicionado a uma temperatura maior para ter o mesmo rendimento que o biodiesel em metanol (GOEMBIRA, 2013) (FAROBIE, 2015).

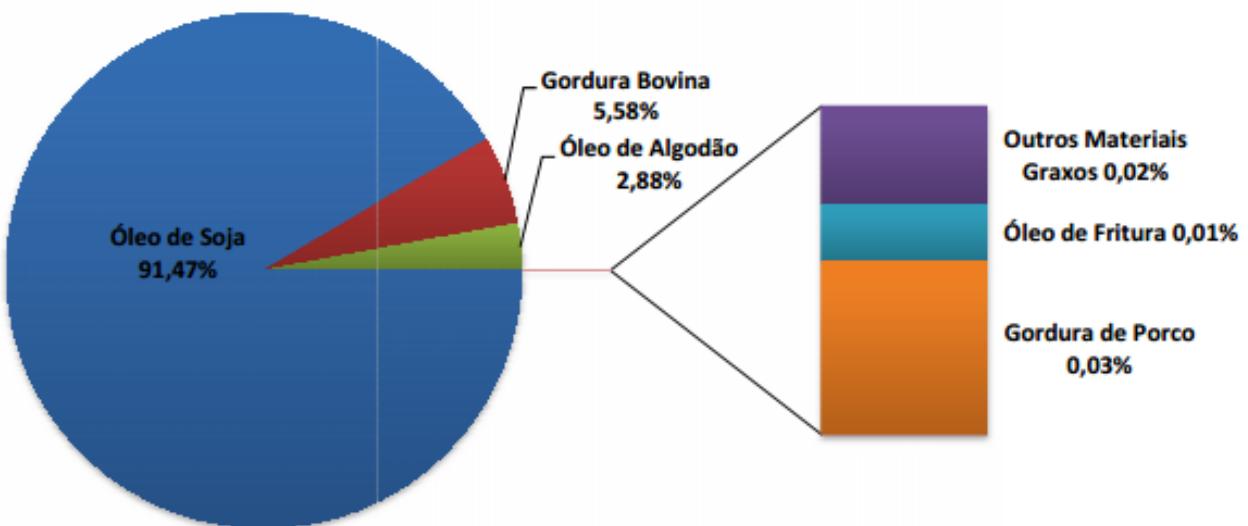
Contudo, o metanol tem uma toxicidade muito elevada, podendo trazer malefícios à saúde, causar, inclusive, cegueira e câncer. Dessa forma o etanol vem se tornando mais popular, por ser um produto biodegradável e produzido a partir de fontes renováveis, este torna-se menos tóxico que o metanol (LIMA, 2005).

### 1.3. Características do óleo de soja

A soja (*Glycine max*) é considerada uma das principais matérias-primas utilizadas na produção de biodiesel. Esta oleaginosa é amplamente cultivada no Brasil e vários outros países como Estados Unidos, Argentina e China (SANTOS *et al*, 2013)

(EMBRAPA, 2015). A Figura 3 faz referência aos últimos dados coletados pela ANP de dezembro de 2015, o qual menciona que 91,47% do substrato utilizado para produzir biodiesel no Brasil são a partir do óleo de soja, em seguida pela gordura bovina com 5,58% e o óleo de algodão com 2,88%. Menos de 1% são utilizados outras fontes como óleo de fritura e gordura de porco (ANP, 2016).

### Dezembro/ 2015



FONTE: ANP, 2016

**Figura 3:** Matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel no Brasil

A proporção de ácidos graxos pode variar em função do genótipo da soja, bem como das condições agroclimáticas. O óleo de soja possui grande quantidade de ácidos graxos insaturados como ácido linoleico (48 a 59%), ácido oleico (17 a 30%) e ácido linolênico (3,5 a 8%) (Tabela 1). Desta forma, o biodiesel produzido a partir deste óleo possui uma elevada tendência à sofrer oxidação, o que torna um produto difícil de armazenagem e consequentemente afeta a qualidade do combustível, por isso existe a necessidade de utilizar alguns aditivos ao final da produção (DUNN, 2005) (RAMOS, 2009).

**Tabela 1:** Percentual de ácidos graxos saturados e insaturados em alguns óleos (ADAPTADO)

Óleos	% Ácidos graxos	
	Saturado	Insaturado
Colza ( <i>Brassica napus</i> )	4,34	95,19
Girassol ( <i>Helianthus annuus</i> )	9,34	90,66
Soja ( <i>Glycine max L.</i> )	15,34	83,05
Amendoim ( <i>Arachis hypogaea</i> )	17,20	82,70
Palma (Arecáceas)	48,30	50,80
Babaçu ( <i>Orbignya oleifera</i> )	84,00	16,00
Óleo de coco ( <i>Cocos nucifera</i> )	78,50	9,10

FONTE: SHARMA & KUMAR, 2016

Apesar do óleo de coco e o babaçu possuírem baixa proporção de ácidos graxos insaturados em sua composição, o custo na produção dessa matéria prima ainda é alto devido às técnicas de plantação, extração e mecanização, encarecendo assim o processo final de produção. Além disso, por serem óleos insaturados, o ponto de congelamento destes é menor que o da soja, o qual influencia diretamente com o ponto de entupimento (LÔBO, 2009).

No Brasil temos vários incentivos para a produção e comercialização do óleo de soja que pode ser produzido nas seguintes qualidades: bruto, refinado comestível, refinado industrial, lecitina. As razões pela qual a soja corresponde a maior parcela do óleo vegetal brasileiro como principal produto na produção de biodiesel justifica-se por possuir uma cadeia produtiva e tecnologias de produção bem estruturadas, por ser um cultivo tradicional e adaptado para produzir com igual eficiência em todo território nacional, oferece rápido retorno de investimento (ciclo de 4 a 5 meses), o grão pode ser armazenado por longos períodos e, além disso, é considerada uma *commodity* (produtos primários produzidos em larga escala e destinada ao comércio externo) (DALL'AGNOL, 2007).

Com a finalidade de resolver os problemas relacionados, principalmente, à baixa estabilidade oxidativa do óleo de soja, programas de melhoramento genético têm-se

dedicado a estudos relacionados na melhoraria da qualidade do óleo. Para tanto, aumenta-se o teor de ácido oleico e reduz-se o teor dos ácidos linolênico e linoleico, afim de melhorar este parâmetro (BUENO, 2012).

De acordo com o trabalho realizado por Santos *et al* 2013, os resultados obtidos com o óleo de soja apresentaram características importantes que são vantajosas na utilização para produção de biodiesel. Como por exemplo, a medição da estabilidade oxidativa do biodiesel, sem adição de qualquer aditivo ou antioxidante, mostrou um valor superior ao mínimo exigido pena ANP, ASTM e EN. Além disso, os biodieseis produzidos a partir do óleo de pinhão-manso, girassol e rícino apresentaram valores menores do que o biodiesel de soja.

#### **1.4. Controle de Qualidade**

A qualidade do biodiesel é designada por três normas, a europeia - EN 14214, a americana - ASTM D – 6751 e a brasileira - ANP 45/2014, e a estabilidade oxidativa está entre os parâmetros monitorados (ANP). As condições a que o combustível é exposto durante o armazenamento, transporte e manuseio, pode acelerar sua degradação, provocando mudanças em sua composição e consequentemente altera as suas propriedades e, consequentemente, a sua qualidade (FOCKE, 2012) (FAZAL, 2013).

Devido à estrutura química do biodiesel, este possui um elevado nível de reatividade com o oxigênio, principalmente quando colocado em contato com superfícies metálicas, presença de ar, umidade, luz e calor ou mesmo ambientes contaminados por microrganismos. Portanto, existe a possibilidade de comprometer a qualidade do biodiesel quando armazenado por grande período de tempo, sendo os tanques de estocagens, as tubulações e o transporte por caminhões, as principais fontes de contaminação (CLARK, 2007) (KNOTHE, 2008) (FOCKE, 2012).

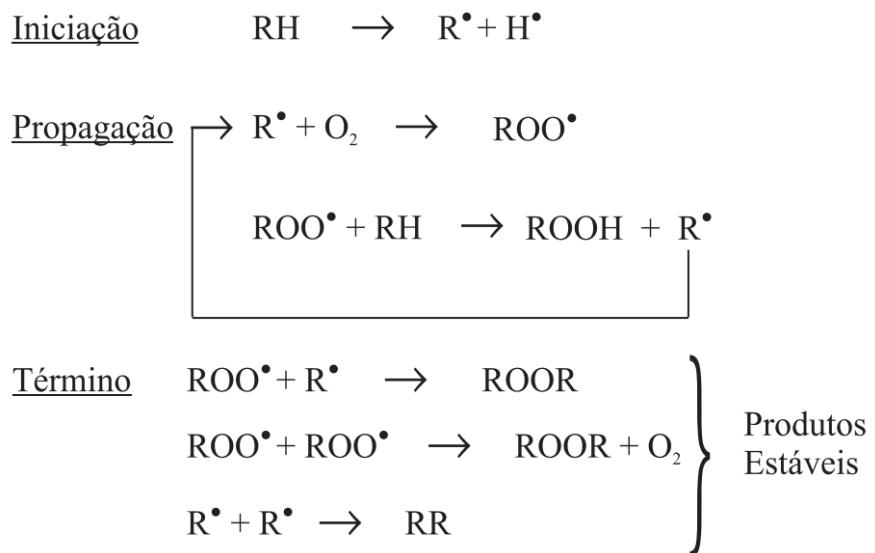
## **1.5. Estabilidade Oxidativa**

O biodiesel apresenta melhor lubricidade e biodegradabilidade, baixa toxicidade, menor teor de enxofre e maior ponto de fulgor, bem como outras vantagens sobre o diesel mineral, porém, uma desvantagem elementar deste biocombustível é a sua baixa estabilidade oxidativa, característica que torna-se muito importante, considerando que o biodiesel pode levar alguns meses após a sua produção, até chegar ao consumidor final (MOSER, 2011) (FOCKE, 2012).

O estudo da estabilidade oxidativa do biodiesel apresenta fundamental importância para seu controle de qualidade, principalmente relacionado ao seu armazenamento. O Rancimat é um dos equipamentos automáticos mais conhecidos para determinar essa estabilidade (KNOTHE, 2008).

A reação de oxidação do combustível pode ocorrer de forma hidrolítica ou oxidativa. A degradação hidrolítica pode ser cometida através da oxidação enzimática, por fotooxidação ou mesmo pela autoxidação. Para evitar a oxidação do biodiesel, torna-se necessário impedir os fatores que favorecem a mesma, ou seja, presença de luz e temperatura, de alguns metais no processo de produção, assim como o contato com o oxigênio (SILVA, 2010).

O processo de autoxidação é o principal mecanismo de oxidação dos lipídios, o qual está associado com a reação em cadeia do oxigênio com ácidos graxos insaturados. Em 1942 Farmer *et al* sugere uma sequencia de reações para explicar este processo, que ocorre em três etapas. Na fase de iniciação ocorre a formação dos radicais livres do ácido graxo devido à retirada do hidrogênio desta molécula. A segunda fase é classificada como propagação, na qual os radicais livres reagem facilmente ao oxigênio atmosférico formando assim um radical peróxido. Este radical peróxido pode reagir com o biodiesel formando um hidroperóxido e outro radical livre, o qual irá reagir com outra molécula de ácido graxo do biodiesel, constituindo assim uma reação em cadeia. O término ocorre quando houver a reação entre dois radicais, seja o radical livre, peróxido ou hidroperóxido (Figura 4).



Onde: RH - ácido graxo insaturado,  $R\cdot$  - radical livre,  $ROO\cdot$  - radical peróxido e  $ROOH$  - Hidroperóxido

FONTE: RAMALHO, 2006

**Figura 4:** Esquema do mecanismo de oxidação do biodiesel

## **1.6. Contaminação metálica**

Os metais são considerados um dos principais fatores que aceleram a perda de estabilidade do biodiesel, e estes metais estão presentes nos tanques de estocagem que podem ser de aço inox ou aço-carbono. A sua atuação se dá pelo contato direto do combustível com a superfície do tanque ou mesmo a presença de sedimentos metálicos na massa líquida. Estes últimos são provenientes do processo de oxidação das paredes do tanque, da unidade de produção do biodiesel ou da etapa de transporte e manipulação do produto (SILVA, 2010).

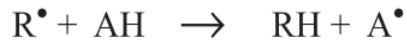
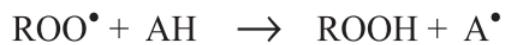
Dependendo das condições impróprias que o biodiesel é submetido aos tanques de armazenamento, os sedimentos metálicos presentes nestes podem acelerar consideravelmente a degradação do combustível assim como a composição dos aços utilizados na construção dos reservatórios. Outros fatores que também contribuem para este processo são a contaminação por água, a formação de microrganismos e a

temperatura de estocagem. Desse modo, utilizam-se antioxidantes como aditivos para diminuir os efeitos negativos destes fatores (SILVA, 2010) (MATOS, 2013).

### 1.7. Antioxidantes

Compostos típicos que possuem atividade antioxidant incluem a classe de fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados, flavonóides, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido fítico, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis. Antioxidantes fenólicos são antioxidantes primários que agem como terminais para os radicais livres (XING & WHITE, 1996).

A figura 5 mostra o mecanismo de ação destes antioxidantes primários, os quais removem ou inativam a propagação dos radicais livres formados durante o processo de oxidação, interrompendo assim a reação em cadeia através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas (FRANKEL, 1980).



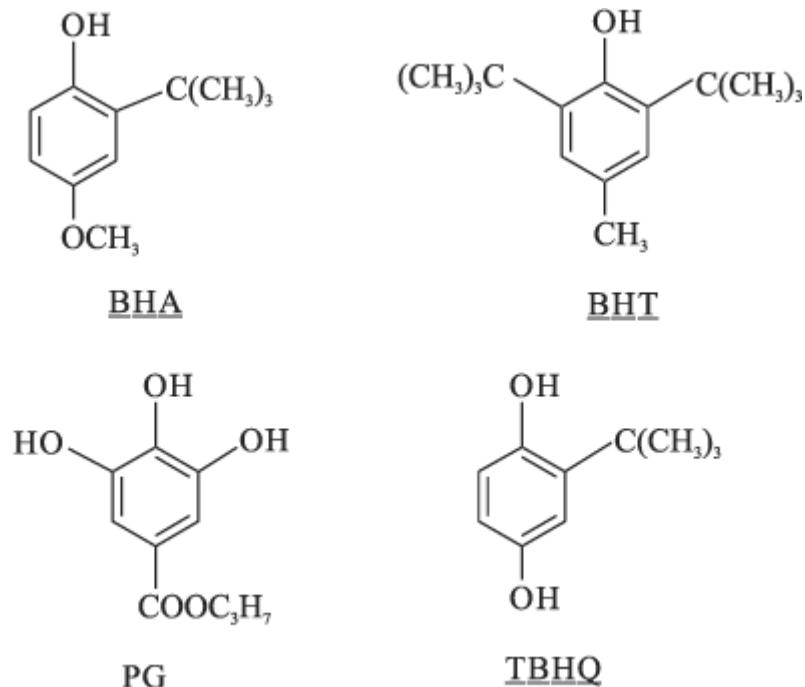
Onde:  $\text{ROO}^\bullet$  e  $\text{R}^\bullet$  - radicais livres, AH - antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e  $\text{A}^\bullet$  - radical inerte.

FONTE: RAMALHO, 2006

**Figura 5:** Mecanismo de ação para os antioxidantes primários

Os antioxidantes são utilizados amplamente pelas indústrias de alimentos, produtos farmacêuticos, combustíveis, lubrificantes e outros produtos petroquímicos. Estes são classificados em naturais ou sintéticos dependendo de sua origem (RODRIGUES *et al.*, 2009) (DANTAS *et al.*, 2011).

Os principais antioxidantes sintéticos e mais conhecidos na indústria de alimentos e usinas de biodiesel são o butil-hidroxi-anisol (BHA), 2,6-di-terc-butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e 3,4,5-trihidroxi benzeno-1-propil carboxilato (PG) (Figura 6) (FLEMMING, 2011).



FONTE: FLEMMING, 2011

**Figura 6:** Estrutura química de alguns antioxidantes sintéticos

Para evitar a oxidação em biodiesel e outros combustíveis tem-se usado antioxidantes sintéticos. Infelizmente, a maioria desses antioxidantes apresenta uma baixa biodegradabilidade, são tóxicos, e possuem valores comerciais elevados (DE SOUSA *et al.*, 2014).

Uma alternativa seria o uso de antioxidantes naturais, mas ainda não é uma realidade para as usinas de biodiesel, devido à falta de estudos científicos que comprovam essa eficiência. Outro ponto de relevância é a possibilidade de um produto natural ser um aditivo multifuncional atuando na melhoria de mais de uma propriedade físico-química do biodiesel (RASHEDUL *et al.*, 2014).

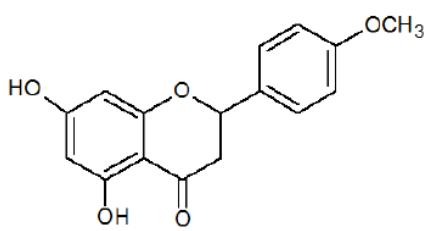
Segundo um estudo realizado por Oliveira (2012), foi avaliado os potenciais antioxidantes de diferentes extratos como candeia, hortelã, alecrim, erva mate. Entre esses, o polen da abelha jataí (*Tetragonisca angustula*), que após processado, apresentou o melhor resultado, inclusive em relação ao antioxidante sintético comercial 2,6-di-terc-butil-hidroxitolueno (BHT).

As abelhas realizam voos diários para colher o polen das flores e consequentemente promover a polinização das diversas espécies de plantas. Este alimento é coletado e armazenado na colmeia para ser utilizado na colônia como fonte energética de proteínas e vitaminas (PASCOAL *et al.*, 2014). A composição físico-química dos grãos de polen varia de acordo com o tipo polínico coletado e de acordo com a espécie de abelhas que coletou (HERBERT Jr. & SHIMANUKI, 1978) (KOSTIĆ, 2015).

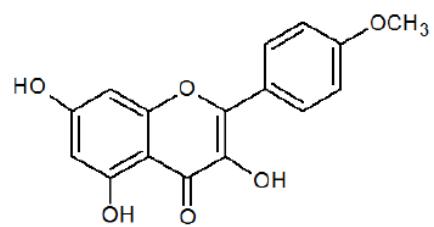
Daoud *et al.* (2015) mostrou que o pólen de palma é rico em compostos fenólicos e de flavonóides, o que poderia ser o principal contribuinte para as suas propriedades antioxidantes. Estes resultados sugerem que as duas variedades deste polen (coletado em Kerkennah e Tozeur) oferecem fontes promissoras de compostos bioativos benéficos para a saúde humana e nutrição.

A própolis é outro subproduto das abelhas, material resinoso produzido pelas mesmas, a partir da coleta de exsudatos (secreções da seiva) e brotos das plantas e misturado com as secreções produzidas em seu organismo, dando origem a um material de coloração e consistência variada. Esta mistura é utilizada na colmeia para fechar frestas e proteger a colônia de invasões de insetos, microrganismos e possíveis doenças. Este material não é importante apenas para as abelhas, mas também é muito utilizada por seres humanos como alimento terapêutico. Os compostos químicos presentes na própolis conferem várias atividades farmacológicas como antinflamatória, antitumoral, bactericida, fungicida, antioxidante, dentre várias outras (GHISALBERTI, 1979) (PAGANOTTI, 2013).

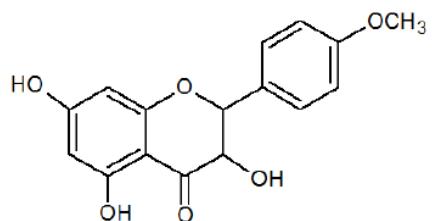
A composição química da própolis é complexa e variada, sendo por isso uma grande quantidade de compostos são identificados, tais como: os álcoois, aldeídos, ácidos fenólicos, aminoácidos, chalconas, flavonóides, linhanos, triterpenos, esteróides e açúcares, entre outros. No entanto, compostos fenólicos são os mais abundantes (Figura 7) (TEIXEIRA *et al.*, 2010) (RIGHI *et al.*, 2013).



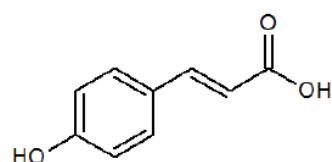
Isosakuranetina



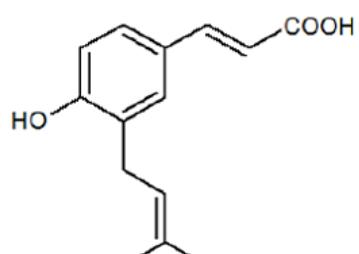
Kaempferida



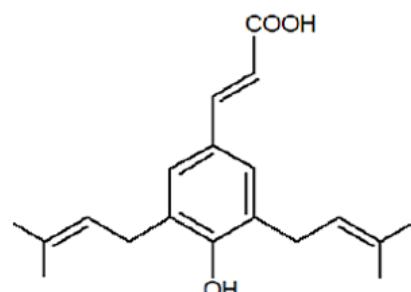
Aromadendrina-4'-metil-éter



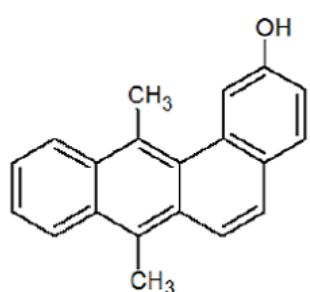
Ácido *p*-cumárico



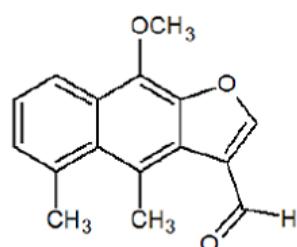
Ácido 3-prenil-*p*-cumárico



Ácido 3,5-diprenil-*p*-cumárico  
(artepillin C)



2-hidroxi-7,12-dimetilbenzantraceno



Isomatumina

**Figura 7:** Estrutura química de alguns compostos isolados de própolis verde brasileira

## **2. JUSTIFICATIVA**

Em virtude dos problemas logísticos de armazenagem dos biocombustíveis, destaca-se o interesse por estudos que abrangem os fatores influenciáveis à oxidação do biodiesel e formulação de antioxidantes específicos para melhorar os parâmetros deste combustível. Para tanto torna-se necessário o conhecimento dos possíveis contaminantes metálicos e o efeito de sua concentração no biodiesel. Além de avaliar a possibilidade do uso de antioxidante natural na matriz biodiesel.

## **3. OBJETIVOS**

O objetivo principal deste estudo foi avaliar o efeito da estabilidade oxidativa do biodiesel B100, obtido a partir do óleo de soja (*Glycine max*) pela rota metílica, frente a alguns contaminantes metálicos, como também avaliar a influência na estabilidade oxidativa e determinar a concentração limite de cada contaminante metálico no biodiesel metílico de soja. Por fim, avaliar e quantificar os potenciais do pólen e da própolis verde e marrom como antioxidantes naturais para o biodiesel.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

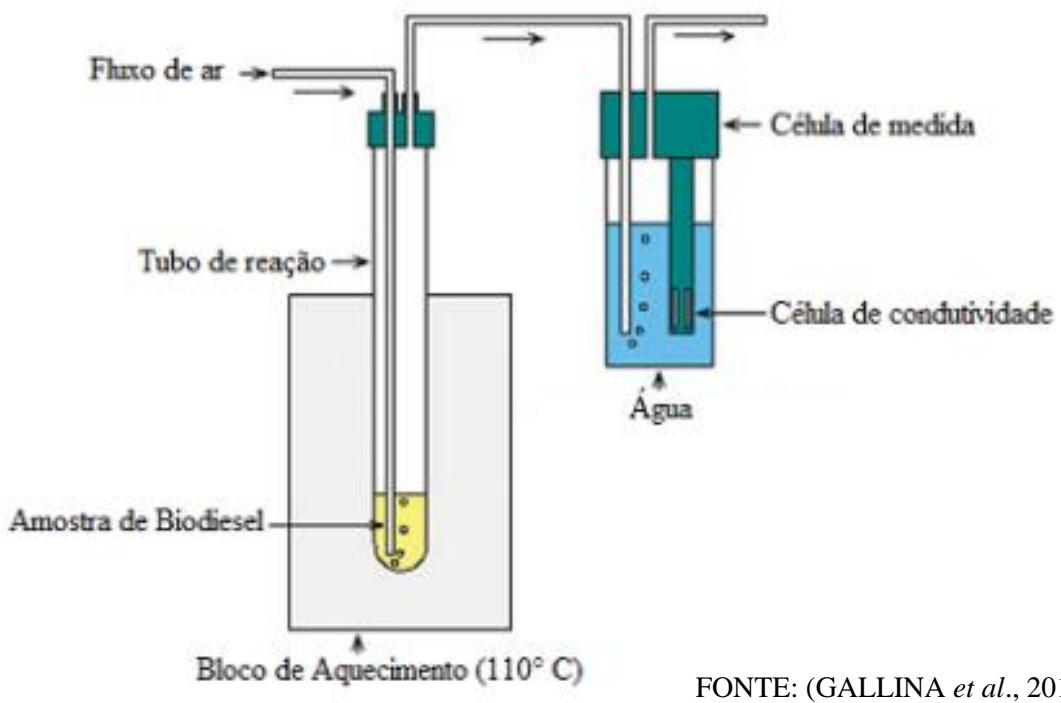
O biodiesel utilizado neste experimento foi obtido a partir do óleo de soja, produzido através da rota metílica e sem nenhum uso de aditivos; cedido pela empresa Caramuru Alimentos S/A, São Simão, GO. A análise de estabilidade oxidativa foi realizada conforme a norma EN 14112 no equipamento Rancimat 873 da Metrohm e operado com o auxílio do software Rancimat 873 Control (Figura 8).



FONTE: (METROHM PENSALAB, 2012).

**Figura 8:** Equipamento Rancimat utilizado para as análises de estabilidade oxidativa.

Um fluxo de ar purificado passa através da amostra que tem sua temperatura elevada a 110°C. Os vapores liberados durante o processo de oxidação, em conjunto com o ar, são passados para um frasco contendo água destilada, a qual contém um eletrodo para a medição da condutividade. O eletrodo está ligado a um dispositivo de medição e gravação. Ele indica o fim do período de indução quando a condutividade começa a aumentar rapidamente. Este aumento acelerado é causado pela dissociação de ácidos carboxílicos voláteis produzidos durante o processo de oxidação e absorvido na água (Figura 9).



FONTE: (GALLINA *et al.*, 2011)

**Figura 9:** Esquema da análise da estabilidade oxidativa pelo método Rancimat

As amostras foram contaminadas com 10 diferentes metais (cádmio, manganês, zinco, ferro, cromo, cobre, chumbo, cobalto, níquel e potássio) em 7 concentrações diferentes ( $0,5\text{mg L}^{-1}$ ;  $1,0\text{ mg L}^{-1}$ ;  $1,5\text{ mg L}^{-1}$ ;  $2,00\text{ mg L}^{-1}$ ;  $2,50\text{ mg L}^{-1}$ ;  $3,00\text{ mg L}^{-1}$  e  $3,5\text{ mg L}^{-1}$ ). Os sais utilizados foram Nitrato de Cádmio II P.A. - ACS (teor 99% / lote: 57397 ), Dióxido de Manganês IV (ICO) P.A. (teor 90% / lote: 60082), Nitrato de Zinco II P.A. (teor 96 – 103% / lote: 56575), Nitrato de Cromo III P.A. (teor 97% / lote: 57354), Nitrato de Cobre II P.A. (teor 98% / lote: 60927), Nitrato de Chumbo II P.A. – ACS (teor 99% / lote: 62082), Nitrato de Cobalto II P.A. (teor 98% / lote: 55080 ), Nitrato de Níquel II P.A. – ACS (teor 98 – 102% / lote: 62073), adquiridos pela empresa Dinâmica Química Contemporânea Ltda, o Nitrato de Potássio P.A. (teor 99% / lote: DCBB2703 ) pela empresa Vetec Química Fina Ltda e o Nitrato de Ferro III P.A. (teor 98 -101% / lote: 131449), pela empresa Isofar Industria e Comércio de Produtos Químicos Ltda.

Os metais foram dissolvidos previamente com água destilada e adicionados junto ao biodiesel. Esta amostra passou pelo processo de agitação e aquecimento ( $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) até a solubilização da solução que contém o metal e posteriormente foi armazenada em

um balão volumétrico de 100 ml. A solução estoque para todos os metais foi de 6,25 mg L<sup>-1</sup>. A partir dessa amostra mais concentrada fez-se as amostras de concentrações inferiores (0,5 a 3,5 mg L<sup>-1</sup>).

Para análise da estabilidade oxidativa colocou-se 3g de cada amostra de biodiesel no vaso de reação do equipamento Rancimat, mantidas à temperatura constante de 110°C e sob fluxo constante de ar purificado de 10 L h<sup>-1</sup>. O fim do período de indução é indicado quando a condutividade começa a aumentar rapidamente até o final da dissociação dos ácidos carboxílicos voláteis, obtendo assim uma curva de oxidação, cujo ponto de inflexão é conhecido como IP.

A mesma técnica foi utilizada para analisar o efeito positivo dos antioxidantes no biodiesel metílico de soja. Utilizou-se três diferentes tipos de antioxidantes para análise, o polen fresco da abelha *Tetragonisca angustula*, a própolis verde e a própolis marrom retirado de enxames de abelha *Apis mellifera*. Todas as amostras de possíveis antioxidantes naturais foram fornecidas pela empresa Apiários Girassol.

Tanto o polen quanto as diferentes própolis passaram por um processo de extração etanólica e fez-se maceração durante 3 meses. As concentrações foram manipuladas na proporção 50% m v<sup>-1</sup> e filtradas utilizando o papel de filtro. De acordo com a resolução ANP nº 45 de 2014, a concentração máxima de aditivo a ser adicionado ao combustível não pode exceder a 5.000 µL L<sup>-1</sup> (0,5% v v<sup>-1</sup>). Dessa forma, foram preparadas seis concentrações diferentes no intervalo de 0,0 a 0,5 % (v v<sup>-1</sup>), com incremento de 0,1% (v v<sup>-1</sup>). Todas as análises das amostras foram realizadas em triplicatas.

Para os estudos estatísticos foram aplicados os testes de Anova e Tukey. Primeiramente fez-se uma análise com fator duplo sem repetição utilizando a análise de dados do programa Excel. De outro modo fez-se os testes de Anova e Tukey empregando o programa Statistical and Graphical Software (SYSTAT) para análise de fator simples com repetição.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Caracterização do Biodiesel

A qualidade do biodiesel metílico de soja utilizada na pesquisa foi avaliada pelos parâmetros físico-químicos apresentados na Tabela 2, seguindo as diretrizes estabelecidas pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), em conformidade com a Resolução 45/2014. Os parâmetros do biodiesel metílico de soja estudados estão dentro dos limites permitidos pela resolução vigente.

**Tabela 2:** Métodos de ensaios para as propriedades físico-químicas analisadas conforme os parâmetros adotados pela ANP.

Ensaios	Resultados	Unidades	Métodos de Ensaio	Regulamento Técnico ANP N° 45/2014	
				Min.	Máx.
Aspecto	LII (20,0 °C)	-	Visual		LII
Massa específica a 20°C	882,0	kg m <sup>-3</sup>	ASTM D 4052	850	900
Viscosidade a 40°C	4,164	mm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>	ABNT D 445	3,0	6,0
Conteúdo de Água	146	mg kg <sup>-1</sup>	ASTM D 6304		200
Ponto de fulgor	130,0	°C	ASTM D 93	100	
Cinzas sulfatadas	0,007	% massa	ASTM D 874		0,020
Cálcio + Magnésio	1,7	mg kg <sup>-1</sup>	NBR 15553		5

---

Sódio + Potássio	2,8	$\text{mg kg}^{-1}$	NBR 15553	5
Fósforo	1,6	$\text{mg kg}^{-1}$	NBR 15553	10
Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C	1	-	ASTM D 130	1
Índice de acidez	0,41	$\text{mg KOH g}^{-1}$	ASTM D 664	0,50
Glicerina total	0,218	% massa	ASTM D 6584	0,25
Glicerina livre	0,003	% massa	ASTM D 6584	0,02
Monoglicerídeos	0,743	% massa	ASTM D 6584	0,80
Diglicerídeos	0,149	% massa	ASTM D 6584	0,20
Triglicerídeos	0,005	% massa	ASTM D 6584	0,20
Ponto de Entupimento de Filtro a frio	-4	°C	ASTM D 6371	10
Estabilidade à oxidação a 110°C	7,9	h	EN 14112	8
Resíduo de Carbono	0,02	% massa	ASTM D 4530	0,050
Contaminação Total	20,0	$\text{mg kg}^{-1}$	EN 12662	24
Teor de Éster	97,4	% massa	EN 14103	96,5
Enxofre Total	1,8	$\text{mg kg}^{-1}$	ASTM D 5453	10

---

## 5.2. Efeitos negativo dos metais na estabilidade oxidativa

A análise da estabilidade oxidativa do biodiesel puro e com os devidos metais (Ni, Fe, Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb, Cd e Mn) em suas respectivas concentrações (0,5 a 3,5 mg L<sup>-1</sup>) é apresentada na Tabela 3, na qual os valores do período de indução, obtidos em horas, obteve-se a partir da técnica Rancimat, conforme a norma EN 14112.

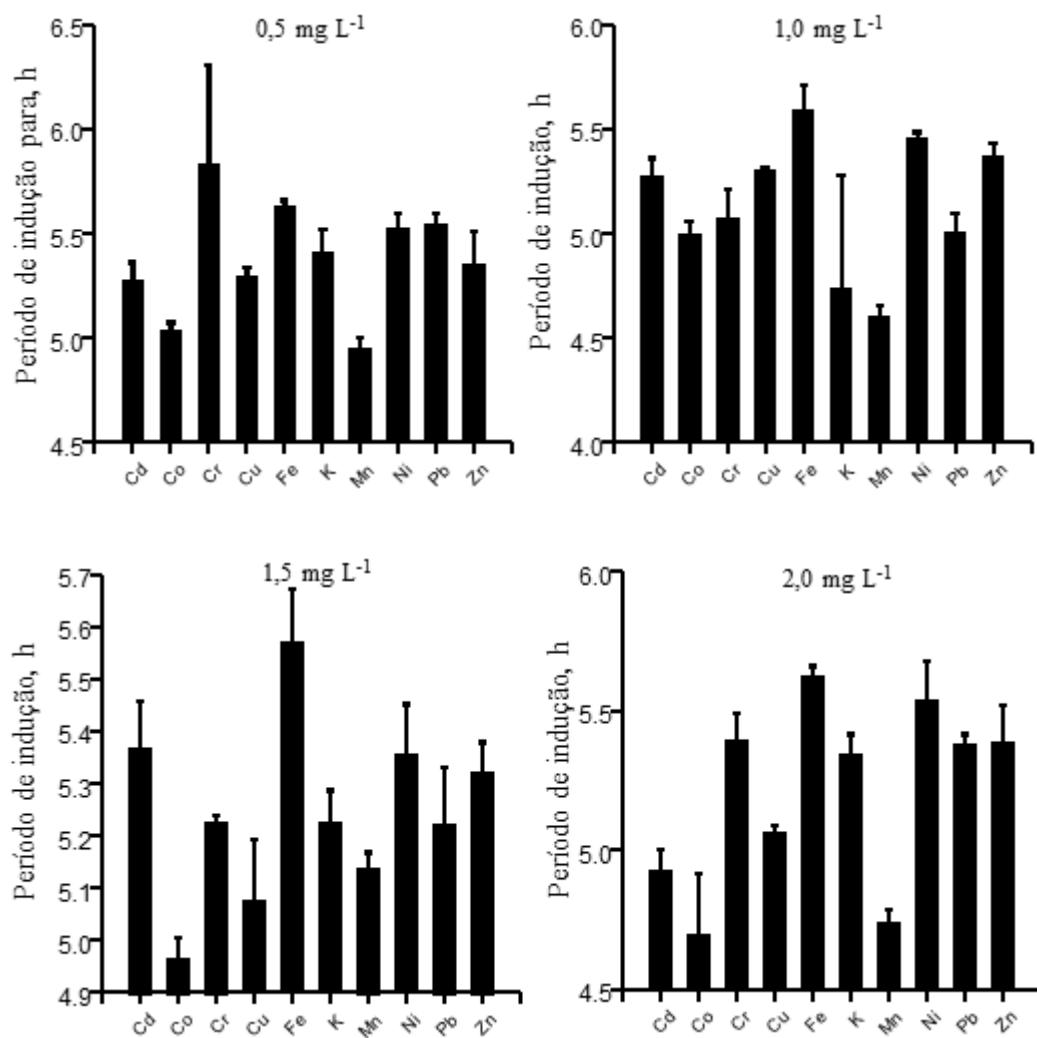
**Tabela 3:** Valores de período de indução, em horas, para o biodiesel metílico de soja dopado com íons Ni, Fe, Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb, Cd e Mn no intervalo de 0,5 a 3,5 mg L<sup>-1</sup>, realizadas em triplicatas.

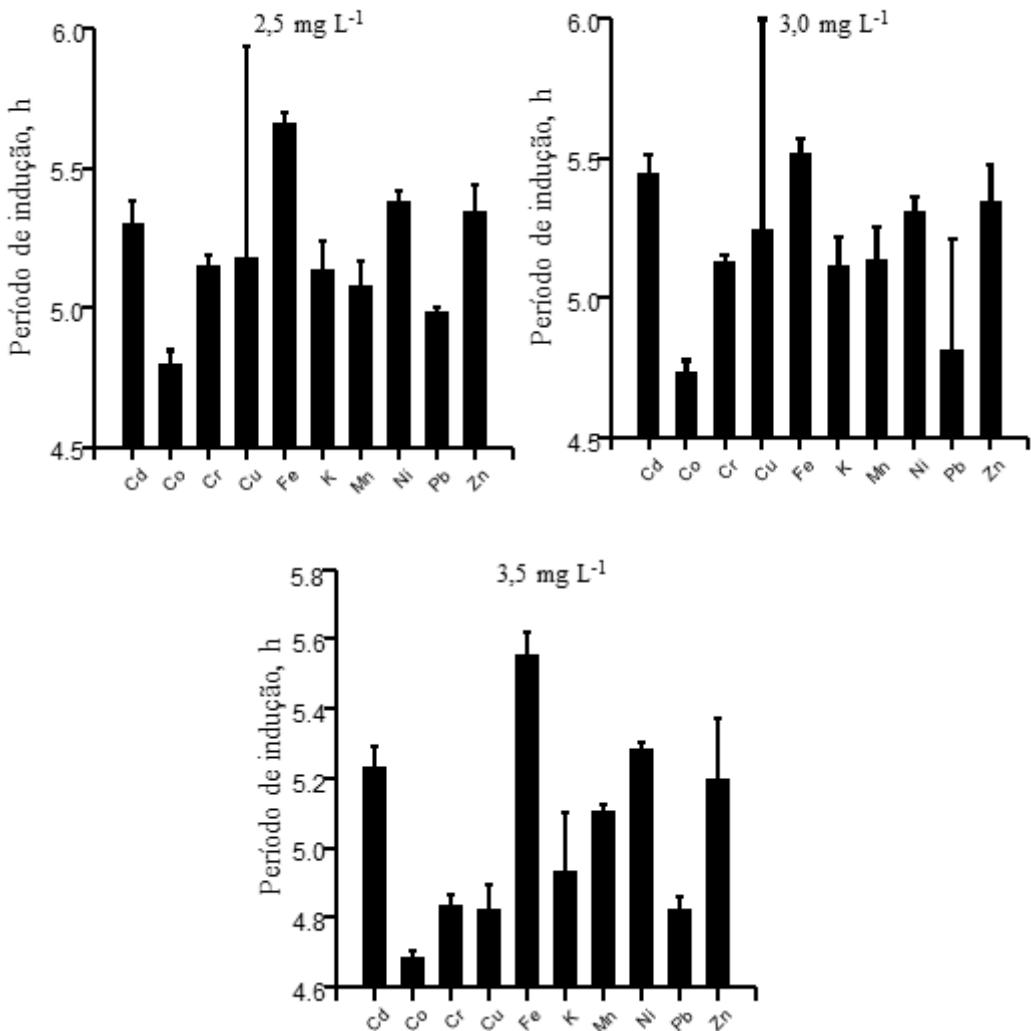
Concentração mg L <sup>-1</sup>	Ni	Fe	Cu	K	Zn	Cr	Co	Pb	Cd	Mn
<b>0,00</b>	5,80	5,75	5,39	5,49	5,71	5,39	5,37	5,32	5,24	5,10
<b>0,50</b>	5,52	5,62	5,29	5,40	5,35	5,83	5,03	5,53	5,27	4,95
<b>1,00</b>	5,45	5,59	5,30	4,73	5,36	5,07	4,99	5,00	5,26	4,60
<b>1,50</b>	5,35	5,57	5,07	5,22	5,32	5,23	4,96	5,22	5,37	5,14
<b>2,00</b>	5,53	5,62	5,06	5,34	5,38	5,39	4,69	5,38	4,92	4,74
<b>2,50</b>	5,37	5,65	5,18	5,13	5,34	5,15	4,79	4,98	5,30	5,07
<b>3,00</b>	5,31	5,51	5,24	5,11	5,34	5,12	4,73	4,81	5,44	5,13
<b>3,50</b>	5,28	5,55	4,82	4,93	5,19	4,83	4,68	4,82	5,23	5,10
<b>MÉDIA</b>	5,45	5,61	5,17	5,17	5,37	5,25	4,91	5,13	5,25	4,98

A Figura 10 mostra o resultado do período de indução dos metais frente a cada concentração, separadamente. Para concentração 0,5 mg L<sup>-1</sup> a sequência dos metais que obtiveram do maior efeito para o menor efeito foram Mn, Co, Cd, Cu, Zn, K, Pb, Ni, Fe e Cr. Na concentração 1,0 mg L<sup>-1</sup> o metal que obteve maior efeito foi o Mn, seguido do K, Co, Pb, Cr, Cd, Cu, Zn e Ni, respectivamente.

Com relação a concentração 1,5 mg L<sup>-1</sup> a sequencia dos metais do maior efeito para o menor efeito foram Co, Cu, Mn, Pb, K, Cr, Zn, Ni, Cd e Fe, na devida ordem. Para a concentração 2,0 mg L<sup>-1</sup> a sucessão foi Co, Mn, Cd, Cu, K, Pb, Cr, Zn e Ni, seguindo o mesmo critério, do maior para o menor efeito.

Sucedendo o mesmo sistema de avaliação, na concentração 2,0 mg L<sup>-1</sup> o Co continua sendo o metal que mostrou-se com maior efeito, seguido dos metais Pb, Mn, K, Cr, Cu, Cd, Zn e Ni. Para a concentração 3,0 mg L<sup>-1</sup> a sequência dos dados foram Co, Pb, K, Cr, Mn, Cu, Ni, Zn, Cd, repectivamente. Para a última concentração, 3,5 mg L<sup>-1</sup>, a série dos dados foram Co, Cu, Pb, Cr, K, Mn, Zn, Cd, Ni e Fe.





**Figura 10:** Período de indução dos íons Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Ni, Pb, Zn para cada concentração, no intervalo de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  a  $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ .

Utilizando a Anova de duplo fator sem repetição para todos os metais, pode-se dizer que a variação na concentração destes influencia de maneira significativa na estabilidade oxidativa, pois  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$ . Os metais apresentam comportamentos estatisticamente diferentes entre si, pois  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$  (Tabela 4).

**Tabela 4:** Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Ni, Fe, Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb, Cd e Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>p valor</i>	<i>F crítico</i>
<b>Concentração</b>	1,21	7	0,173	6,06	$1,99 \cdot 10^{-5}$	2,16
<b>Metal</b>	3,12	9	0,347	12,13	$7,29 \cdot 10^{-11}$	2,03
<b>Erro</b>	1,80	63	0,029			
<b>Total</b>	6,13	79				

SQ= soma de quadrados; gl= graus de liberdade; MQ= média dos quadrados; F= Fisher-Snedecor.

A Tabela 5 apresenta os resultados do teste de Tukey para o nível de 95% de confiança. O ferro foi o metal que apresentou comportamento diferente com maior número de metais (Cu, K, Cr, Co, Pb, Cd e Mn). Portanto, este foi excluído para uma nova avaliação de Anova e teste de Tukey

**Tabela 5:** Teste de Tukey para os dados da Tabela 3 com o nível de confiança 95%, onde q= 4,65, QMR= 0,029, r= 8 e  $\Delta= 0,278$

	Ni	Fe	Cu	K	Zn	Cr	Co	Pb	Cd	Mn
Ni	-	0,148	0,284 ≠	0,282 ≠	0,086	0,200	0,545 ≠	0,320 ≠	0,198	0,473 ≠
Fe	0,148	-	0,432 ≠	0,430 ≠	0,234	0,348 ≠	0,693 ≠	0,468 ≠	0,346 ≠	0,621 ≠
Cu	0,284 ≠	0,432 ≠	-	0,002	0,198	0,083	0,261	0,036	0,086	0,190
K	0,282 ≠	0,430 ≠	0,002	-	0,196	0,082	0,262	0,037	0,084	0,191
Zn	0,086	0,234	0,198	0,196	-	0,115	0,459 ≠	0,234	0,112	0,388 ≠
Cr	0,200	0,348 ≠	0,083	0,082	0,115	-	0,344 ≠	0,119	0,002	0,273
Co	0,545 ≠	0,693 ≠	0,261	0,262	0,459 ≠	0,344 ≠	-	0,225	0,347 ≠	0,071
Pb	0,320 ≠	0,468 ≠	0,036	0,037	0,234	0,119	0,225	-	0,122	0,154
Cd	0,198	0,346 ≠	0,086	0,084	0,112	0,002	0,347 ≠	0,122	-	0,275
M n	0,473 ≠	0,621 ≠	0,190	0,191	0,388 ≠	0,273	0,071	0,154	0,275	-

# Estatisticamente diferentes

Anova de duplo fator para os contaminantes Ni, Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb, Cd e Mn resultou que a concentração dos metais influenciam de maneira significativa na estabilidade oxidativa, já que  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$ . Os metais apresentam comportamentos estatisticamente diferentes entre si, pois  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$  (Tabela 6).

**Tabela 6:** Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Ni, Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb, Cd e Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>p valor</i>	<i>F crítico</i>
<b>Concentração</b>	1,26	7	0,180	5,90	$3,65 \cdot 10^{-5}$	2,18
<b>Metal</b>	1,89	8	0,236	7,73	$6,38 \cdot 10^{-7}$	2,11
<b>Erro</b>	1,71	56	0,031			
<b>Total</b>	4,86	71				

SQ= soma de quadrados; gl= graus de liberdade; MQ= média dos quadrados; F= Fisher-Snedecor.

O níquel foi o metal que apresentou comportamento diferente com maior número de metais (Cu, K, Co, Pb e Mn). Portanto este foi excluído para uma nova avaliação de Anova e teste de Tukey. Na Tabela 7 encontra-se resultados do teste de Tukey para o nível de 95% de confiança.

**Tabela 7:** Teste de Tukey para os dados da tabela 5 com o nível de confiança 95%, onde q= 4,55, QMR= 0,030, r= 8 e  $\Delta= 0,281$

	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	<b>K</b>	<b>Zn</b>	<b>Cr</b>	<b>Co</b>	<b>Pb</b>	<b>Cd</b>	<b>Mn</b>
<b>Ni</b>	-	0,2838 ≠	0,2821 ≠	0,0858	0,2004	0,5446 ≠	0,3196 ≠	0,1979	0,4733 ≠
<b>Cu</b>	0,2838 ≠	-	0,0017	0,1979	0,0833	0,2608	0,0358	0,0858	0,1896
<b>K</b>	0,2821 ≠	0,0017	-	0,1963	0,0817	0,2625	0,0375	0,0842	0,1912
<b>Zn</b>	0,0858	0,1979	0,1963	-	0,1146	0,4588 ≠	0,2338	0,1121	0,3875 ≠
<b>Cr</b>	0,2004	0,0833	0,0817	0,1146	-	0,3442 ≠	0,1192	0,0025	0,2729
<b>Co</b>	0,5446 ≠	0,2608	0,2625	0,4588 ≠	0,3442 ≠	-	0,2250	0,3467 ≠	0,0713
<b>Pb</b>	0,3196 ≠	0,0358	0,0375	0,2338	0,1192	0,2250	-	0,1217	0,1538
<b>Cd</b>	0,1979	0,0858	0,0842	0,1121	0,0025	0,3467 ≠	0,1217	-	0,2754

<b>Mn</b>	<b>0,4733</b>	0,1896	0,1912	<b>0,3875</b>	0,2729	0,0713	0,1538	0,2754	-
-----------	---------------	--------	--------	---------------	--------	--------	--------	--------	---

# Estatisticamente diferentes

Com base nas informações obtidas a partir da Anova de duplo fator para os íons Ni, Cu, K, Zn, Cr, Pb, Cd e Mn, torna-se possível analisar que estes apresentaram comportamentos estatisticamente diferentes, pois o valor do  $F_{\text{crítico}}$  foi menor que o valor do  $F_{\text{calculado}}$ . Da mesma forma ocorreu para a análise das concentrações dos metais, o  $F_{\text{crítico}}$  mostrou-se menor que o valor do  $F_{\text{calculado}}$ , assim apresentando que a mudança na concentração dos metais influenciam na estabilidade oxidativa (Tabela 8).

**Tabela 8:** Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Cu, K, Zn, Cr, Pb, Cd, Co e Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
<b>Concentração</b>	0,66	6	0,111	3,04	$1,64 \cdot 10^{-2}$	2,36
<b>Metal</b>	1,21	6	0,201	5,543191	$3,76 \cdot 10^{-4}$	2,36
Erro	1,31	36	0,036			
Total	3,18	48				

Segundo os resultados obtidos com o teste de Tukey, com grau de 95% de confiança, é possível constatar que o cobalto foi o metal que apontou maior comportamento diferente aos demais metais. Desta forma este foi retirado para realizar um novo teste de Anova e Tukey (Tabela 9).

**Tabela 9:** Teste de Tukey para os dados da tabela 8 com o nível de confiança 95%, onde  $q=4,52$  QMR= 0,0363 r= 8 e  $\Delta=0,305$

	<b>Cu</b>	<b>K</b>	<b>Zn</b>	<b>Cr</b>	<b>Co</b>	<b>Pb</b>	<b>Cd</b>	<b>Mn</b>
Cu	-	0,0017	0,1979	0,0833	0,2608	0,0358	0,0858	0,1896
K	0,0017	-	0,1963	0,0817	0,2625	0,0375	0,0842	0,1912
Zn	0,1979	0,1963	-	0,1146	<b>0,4588<sup>#</sup></b>	0,2338	0,1121	<b>0,3875<sup>#</sup></b>
Cr	0,0833	0,0817	0,1146	-	<b>0,3442<sup>#</sup></b>	0,1192	0,0025	0,2729
Co	0,2608	0,2625	<b>0,4588<sup>#</sup></b>	<b>0,3442<sup>#</sup></b>	-	0,2250	<b>0,3467<sup>#</sup></b>	0,0713
Pb	0,0358	0,0375	0,2338	0,1192	0,2250	-	0,1217	0,1538
Cd	0,0858	0,0842	0,1121	0,0025	<b>0,3467<sup>#</sup></b>	0,1217	-	0,2754
Mn	0,1896	0,1912	<b>0,3875<sup>#</sup></b>	0,2729	0,0713	0,1538	0,2754	-

# Estatisticamente diferentes

Os metais Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb, Cd e Mn apresentam comportamento estatisticamente diferentes entre si, visto que  $F_{\text{calculado}}$  foi maior que o  $F_{\text{crítico}}$ , e a variação na concentração dos metais influenciam de maneira expressiva na estabilidade oxidativa, pois  $F_{\text{calculado}}$  mostrou-se maior que o  $F_{\text{crítico}}$  (Tabela 10).

**Tabela 10:** Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb, Cd e Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja.

<b>Fonte da variação</b>	<b>SQ</b>	<b>gl</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>p valor</b>	<b>F crítico</b>
<b>Concentração</b>	0,94	7	0,135	3,92	$2,27 \cdot 10^{-3}$	2,24
<b>Metais</b>	0,70	6	0,117	3,39	$8,05 \cdot 10^{-3}$	2,32
<b>Erro</b>	1,45	42	0,034			
<b>Total</b>	3,10	55				

SQ= soma de quadrados; gl= graus de liberdade; MQ= média dos quadrados; F= Fisher-Snedecor.

Os resultados da tabela 11 mostraram que o zinco e o manganês obtiveram comportamento diferente entre si. Desta forma, calculou-se a média de ambos para excluir o metal de maior valor. Neste caso, o manganês foi excluído para fazer um novo teste de Anova e Tukey. Os resultados desta tabela apresentam o nível de 95% de confiança.

**Tabela 11:** Teste de Tukey para os dados da tabela 7 com o nível de confiança 95%, onde  $q= 4,31$ ,  $QMR= 0,034$ ,  $r= 8$  e  $\Delta= 0,283$

	<b>Cu</b>	<b>K</b>	<b>Zn</b>	<b>Cr</b>	<b>Pb</b>	<b>Cd</b>	<b>Mn</b>
<b>Cu</b>	-	0,0017	0,1979	0,0833	0,0358	0,0858	0,1896
<b>K</b>	0,0017	-	0,1963	0,0817	0,0375	0,0842	0,1912
<b>Zn</b>	0,1979	0,1963	-	0,1146	0,2338	0,1121	<b>0,3875<sup>#</sup></b>
<b>Cr</b>	0,0833	0,0817	0,1146	-	0,1192	0,0025	0,2729
<b>Pb</b>	0,0358	0,0375	0,2338	0,1192	-	0,1217	0,1538
<b>Cd</b>	0,0858	0,0842	0,1121	0,0025	0,1217	-	0,2754
<b>Mn</b>	0,1896	0,1912	<b>0,3875<sup>#</sup></b>	0,2729	0,1538	0,2754	-

*# Estatisticamente diferentes*

Os metais apresentam comportamentos estatisticamente iguais entre si, pois  $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$ . Porém a concentração dos metais ainda influenciam de maneira significativa na estabilidade oxidativa, uma vez que o  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$  (Tabela 12).

**Tabela 12:** Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb e Cd. Dopados no biodiesel metílico de soja.

<b>Fonte da variação</b>	<b>SQ</b>	<b>gl</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>p valor</b>	<b>F crítico</b>
<b>Concentração</b>	1,02	7	0,146	4,74	$7,98 \cdot 10^{-4}$	2,29
<b>Metais</b>	0,29	5	0,058	1,88	$1,23 \cdot 10^{-1}$	2,49
<b>Erro</b>	1,08	35	0,031			
<b>Total</b>	2,39	47				

SQ= soma de quadrados; gl= graus de liberdade; MQ= média dos quadrados; F= Fisher-Snedecor.

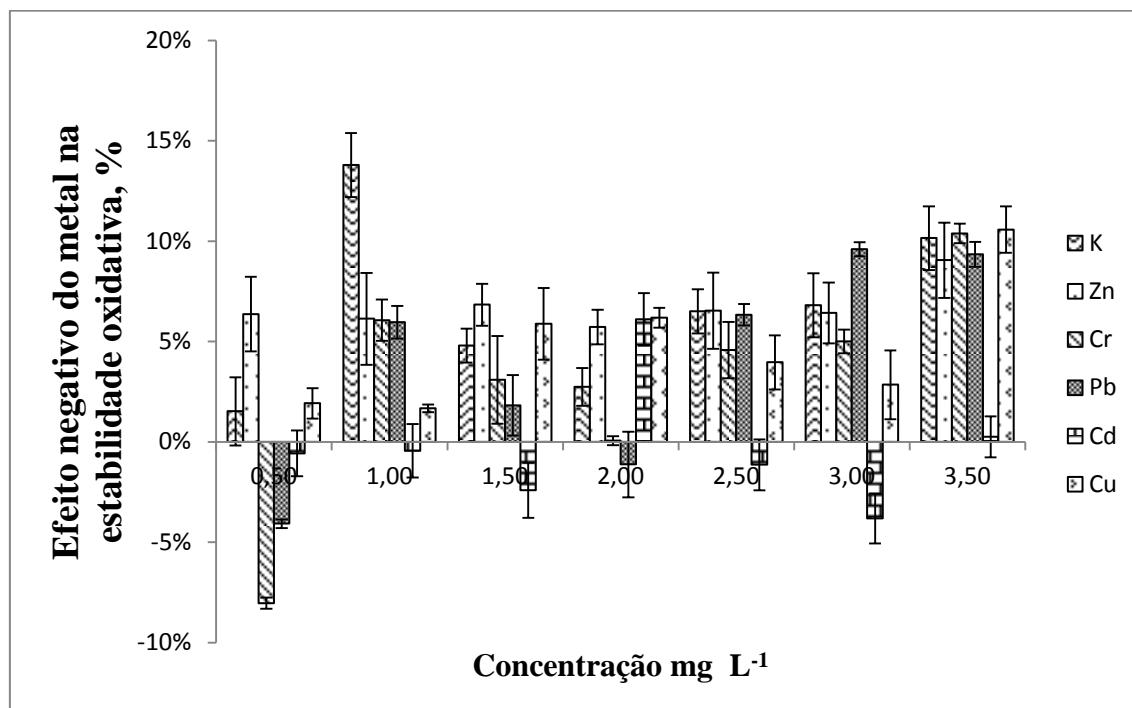
O teste de Tukey mostrado na tabela 10 possui nível 95% de confiança. Nota-se que não houve diferença no comportamento para os contaminantes Cu, K, Zn, Cr, Co, Pb e Cd, portanto estes metais pertence ao mesmo grupo, com efeito semelhante na estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de soja (Tabela 13).

**Tabela 13:** Teste de Tukey para os dados da tabela 9 com o nível de confiança 95%, onde q= 4,23, QMR= 0,031, r= 8 e  $\Delta = 0,263$

	<b>Cu</b>	<b>K</b>	<b>Zn</b>	<b>Cr</b>	<b>Pb</b>	<b>Cd</b>
<b>Cu</b>	-	0,0017	0,1979	0,0833	0,0358	0,0858
<b>K</b>	0,0017	-	0,1963	0,0817	0,0375	0,0842
<b>Zn</b>	0,1979	0,1963	-	0,1146	0,2338	0,1121
<b>Cr</b>	0,0833	0,0817	0,1146	-	0,1192	0,0025
<b>Pb</b>	0,0358	0,0375	0,2338	0,1192	-	0,1217
<b>Cd</b>	0,0858	0,0842	0,1121	0,0025	0,1217	-

Os gráficos 1, 2 e 3 apresentam os resultados comparativos de forma geral entre os metais quanto ao efeito provocado na estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de soja. Os cálculos para representar o efeito negativo foram realizados comparando com o biodiesel sem contaminante metálico (branco). A partir dos dados conduzidos pelos testes Anova e Tukey, formou-se um grupo representado pelos íons K, Zn, Cr, Pb, Cd,e Cu os quais mostram comportamento estatisticamente iguais entre os metais (Gráfico 1).

**Gráfico 1:** Efeito dos íons metálicos K, Zn, Cr, Pb, Cd e Cu frente à estabilidade oxidativa, no intervalo de concentração de 0,50 a 3,5 mg L<sup>-1</sup>.



Para os íons Ni, Fe, Co e Mn estatisticamente não houve resultado significativo na variação da concentração, visto que o  $F_{\text{calculado}}$  foi menor que o  $F_{\text{crítico}}$ , porém, estes apresentaram comportamentos estatisticamente diferentes entre si, pois o  $F_{\text{calculado}}$  mostrou-se maior que o  $F_{\text{crítico}}$  (Tabela 14).

**Tabela 14:** Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Ni, Fe, Co, Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	p valor	F crítico
<b>Concentração</b>	0,396	7	0,057	2,323	$6,38 \cdot 10^{-2}$	2,488
<b>Metal</b>	2,826	3	0,942	38,649	$9,88 \cdot 10^{-9}$	3,072
<b>Erro</b>	0,512	21	0,024			
<b>Total</b>	3,734	31				

SQ= soma de quadrados; gl= graus de liberdade; MQ= média dos quadrados; F= Fisher-Snedecor.

Os resultados do teste de Tukey apresentados na Tabela 15 possuem o nível de 95% de confiança. A partir dos dados apresentados na mesma, é possível observar que

todos os metais (Ni, Fe, Co e Mn) apresentaram comportamentos estatisticamente diferentes. Desta forma o Fe foi retirado do conjunto para repetição do teste por possuir a maior média entre os outros metais.

**Tabela 15:** Teste de Tukey para os dados da tabela 11 com o nível de confiança 95%, onde  $q= 3,85$ ,  $QMR= 0,024$ ,  $r= 8$  e  $\Delta= 0,212$

	Ni	Fe	Co	Mn
Ni	-	0,1479	0,5446 <sup>#</sup>	0,4733 <sup>#</sup>
Fe	0,1479	-	0,6925 <sup>#</sup>	0,6213 <sup>#</sup>
Co	0,5446 <sup>#</sup>	0,6925 <sup>#</sup>	-	0,0713
Mn	0,4733 <sup>#</sup>	0,6213 <sup>#</sup>	0,0713	-

<sup>#</sup> Estatisticamente diferentes

Nota-se que os metais Ni, Co e Mn possuem comportamento estatisticamente diferente, já que  $F_{calculado} > F_{crítico}$ . Porém não houve resultado significativo na variação da concentração dos metais, o  $F_{calculado} < F_{crítico}$  (Tabela 16).

**Tabela 16:** Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Ni, Co, Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	p valor	F crítico
Concentração	0,416	7	0,059	1,835	$1,58 \cdot 10^{-1}$	2,764
Metal	1,402	2	0,701	21,643	$5,21 \cdot 10^{-5}$	3,739
Erro	0,453	14	0,032			
<b>Total</b>	<b>2,271</b>	<b>23</b>				

SQ= soma de quadrados; gl= graus de liberdade; MQ= média dos quadrados; F= Fisher-Snedecor.

A tabela 17 mostra que no teste de Tukey o níquel foi o metal que apresentou comportamento diferencia dos demais. Desta forma este foi retirado da tabela para uma nova avaliação.

**Tabela 17:** Teste de Tukey para os dados da tabela 13 com o nível de confiança 95%, onde  $q= 3,53$ ,  $QMR= 0,032$ ,  $r= 8$  e  $\Delta= 0,225$

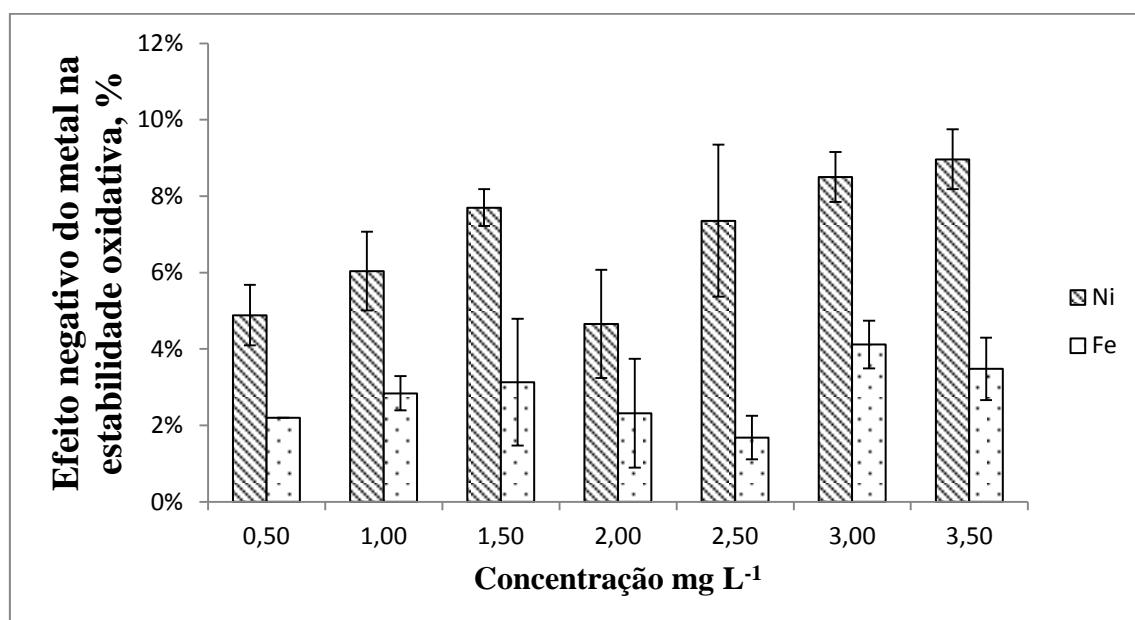
	Ni	Co	Mn
Ni	-	0,5446 <sup>#</sup>	0,4733 <sup>#</sup>
Co	0,5446 <sup>#</sup>	-	0,0713

<b>Mn</b>	<b>0,4733<sup>#</sup></b>	0,0713	-
<i># Estatisticamente diferentes</i>			

Os dados mostrados no gráfico 2 faz referência ao segundo grupo organizado segundo os resultados dos testes Anova e Tukey referentes às tabelas 14,15, 16 e 17 para os metais Ni, Fe, Co e Mn, sendo que o Ni e Fe representam um grupo e o Co e Mn outro.

Com bases nestes dados apresentados pode-se perceber o íon Ni mostrou um maior efeito negativo que o Fe, sendo que o menor efeito negativo do Ni foi de 4,66% e o maior de 8,97%, enquanto o Fe produziu um efeito de 1,68% a 4,12% no biodiesel metílico de soja.

**Gráfico 2:** Efeito negativo dos íons metálicos Ni e Fe frente a estabilidade oxidativa, em diferentes concentrações.



Não houve resultado significativo na variação da concentração dos metais quanto à estabilidade oxidativa, logo o  $F_{\text{calculado}}$  apresentou valor menor que  $F_{\text{crítico}}$ . O cobre e o manganês mostraram comportamentos estatisticamente iguais, o valor do  $F_{\text{calculado}}$  foi menor que  $F_{\text{crítico}}$ (Tabela 18).

**Tabela 18:** Anova de fator duplo sem repetição para os contaminantes metálicos: Co, Mn. Dopados no biodiesel metílico de soja.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>p valor</i>	<i>F crítico</i>
<b>Concentração</b>	0,350	7	0,050	1,088	$4,57 \cdot 10^{-1}$	3,787
<b>Metal</b>	0,020	1	0,020	0,442	$5,27 \cdot 10^{-1}$	5,591
<b>Erro</b>	0,322	7	0,046			
<b>Total</b>	0,692	15				

SQ= soma de quadrados; gl= graus de liberdade; MQ= média dos quadrados; F= Fisher-Snedecor.

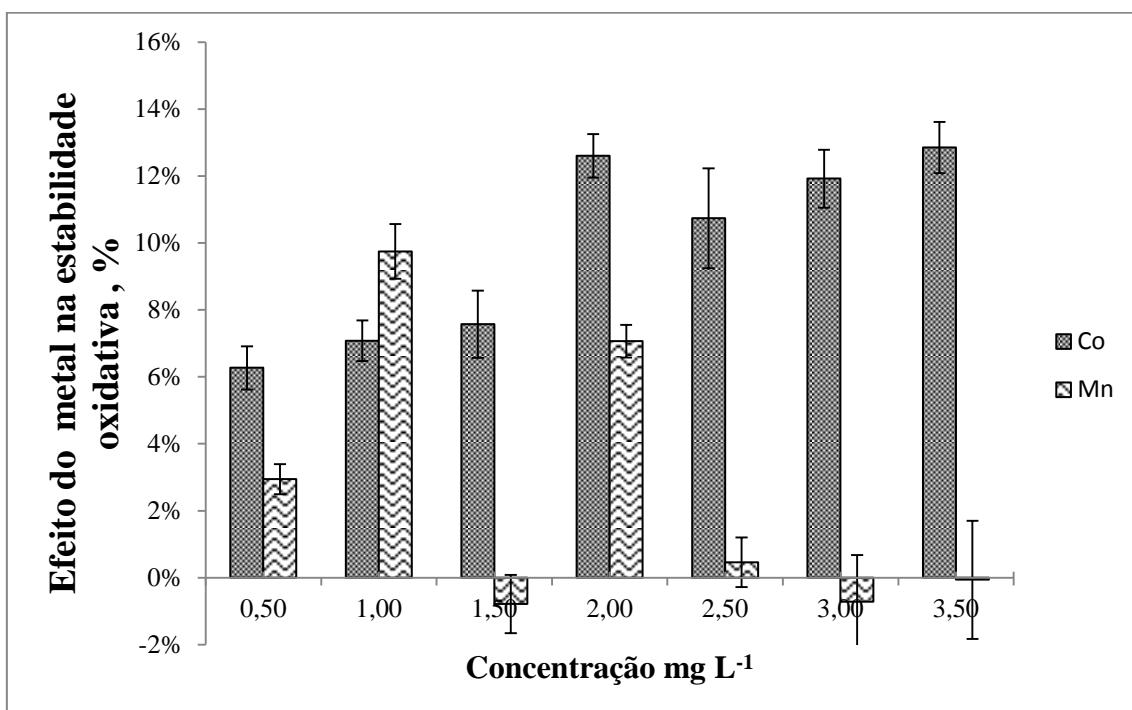
O teste de Tukey mostrado na tabela 19 possui nível 95% de confiança. Podemos observar que não houve diferença no comportamento para os contaminantes Co e Mn, portanto estes metais pertencem ao mesmo grupo, com efeito negativo semelhante na estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de soja.

**Tabela 19:** Teste de Tukey para os dados da tabela 15 com o nível de confiança 95%, onde q= 3,01, QMR= 0,046, r= 8 e  $\Delta= 0,228$

	<b>Co</b>	<b>Mn</b>
<b>Co</b>	-	0,0713
<b>Mn</b>	0,0713	-

Com base nos testes de Anova e Tukey, o gráfico 3 faz correspondência ao grupo disposto com os íons Co e Mn. Na maioria das concentrações o cobalto mostrou ser o íon com maior efeito negativo na estabilidade oxidativa do biodiesel. Este teve um maior resultado entre as concentrações 2,0 a 3,5 mg L<sup>-1</sup>, variando de 10,74 a 12,85%. Por outro lado o manganês não indicou um comportamento padronizado, já que este aponta maior efeito negativo nas concentrações 1,0 mg L<sup>-1</sup> e 2,0 mg L<sup>-1</sup>, e efeito positivo nas concentrações 1,5 mg L<sup>-1</sup>; 3,0 mg L<sup>-1</sup> e 3,5 mg L<sup>-1</sup>.

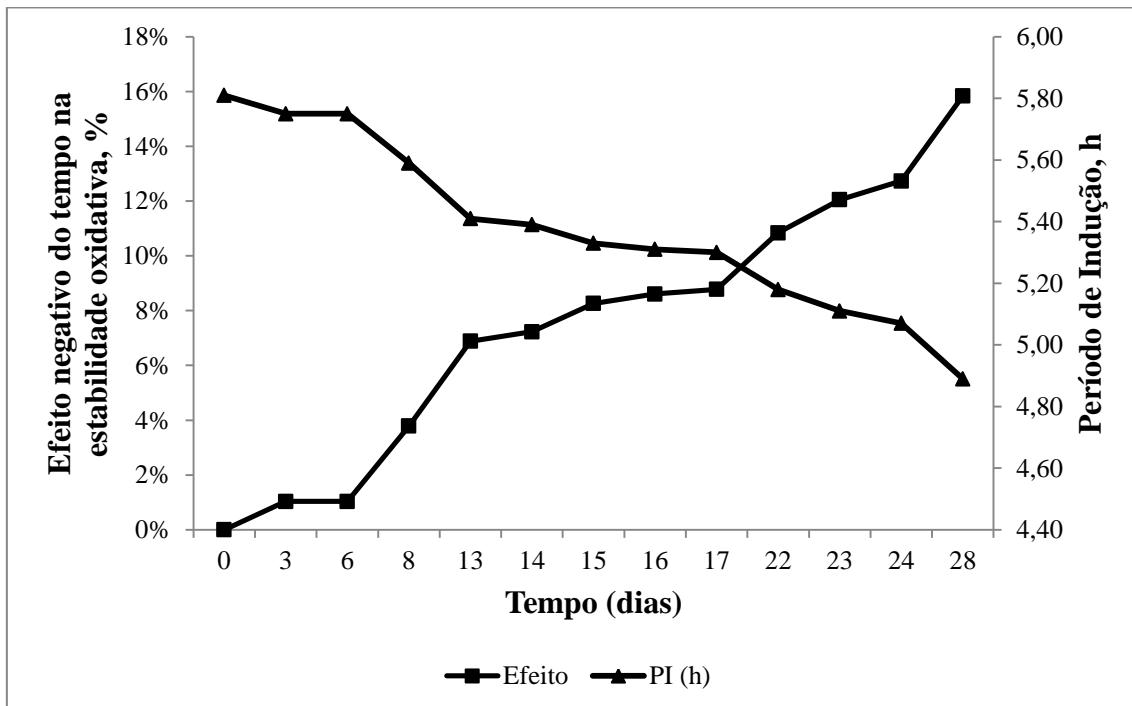
**Gráfico 3:** Efeito dos íons metálicos Co e Mn frente a estabilidade oxidativa, em diferentes concentrações.



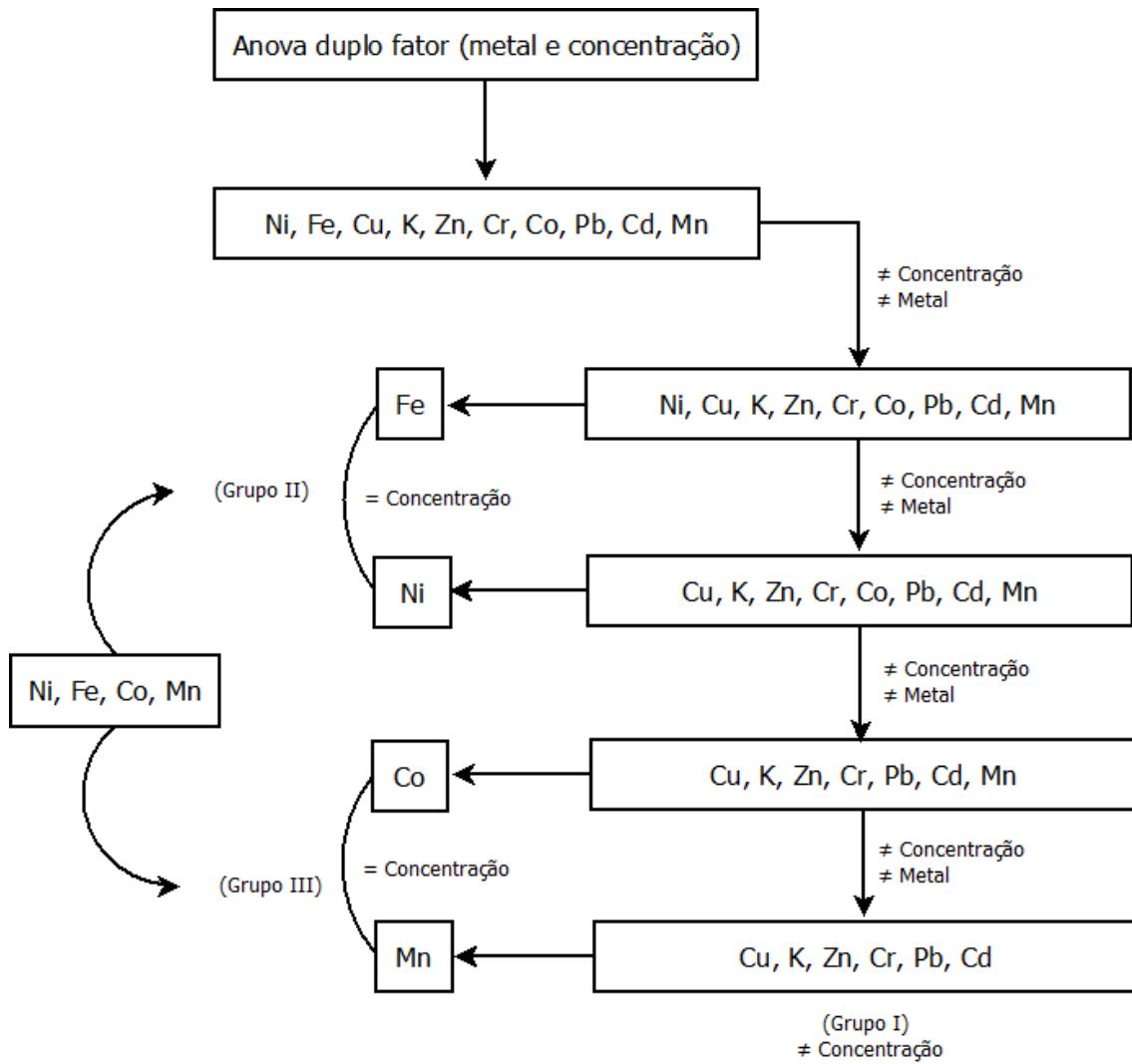
Juntamente a estes dados o gráfico 4 nos mostra o comportamento do biodiesel puro, ou seja, sem a utilização de aditivos ou contaminantes metálicos, durante o período de 28 dias . Com base nos resultados obtidos pode-se verificar que o próprio biocombustível obteve um efeito significativo referente ao processo de oxidação.

As análises do biodiesel, isento de contaminação ou qualquer outro aditivo, foram feitas periodicamente no método Rancimat, os quais apresentaram um crescimento gradual quanto ao efeito na estabilidade oxidativa, variando de 1 a 16% ao longo dos dias.

**Gráfico 4:** Efeito negativo e período de indução da estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de soja em relação ao tempo.



O fluxograma da Figura 11 mostra, através de um esquema e de forma sintética, os resultados obtidos por meio do teste estatístico de anova com duplo fator para os contaminantes metálicos. Ao realizar o teste com os 10 íons houve diferença significativa tanto na concentração quanto nos metais, e o Fe foi o íon que teve maior divergência. Dessa forma foi retirado do grupo e realizou-se um novo teste, o qual também houve diferença tanto para a concentração quanto para os metais, e o íon que teve maior divergência foi o Ni. Repetiu-se o teste sem o Ni e o resultado também mostrou diferença tanto para as concentrações quanto para os metais, e o íon retirado foi o Co. Fez-se o teste novamente, o qual também apresentou diferença nas concentrações e nos metais, e o íon separado foi o Mn. Por último fez-se o teste novamente com os íons que sobraram, mas não houve nenhuma divergência referente aos metais, somente às concentrações. Dessa maneira formou-se o primeiro grupo, composto pelo Cu, K, Zn, Cr, Pb e Cd. Realizou-se novos testes com os íons que foram retirados do grupo (Fe, Ni, Co e Mn), os quais deram igualdade tanto para na concentração quanto aos metais, formando assim o segundo grupo com Fe e Ni e o terceiro grupo com CO e Mn.

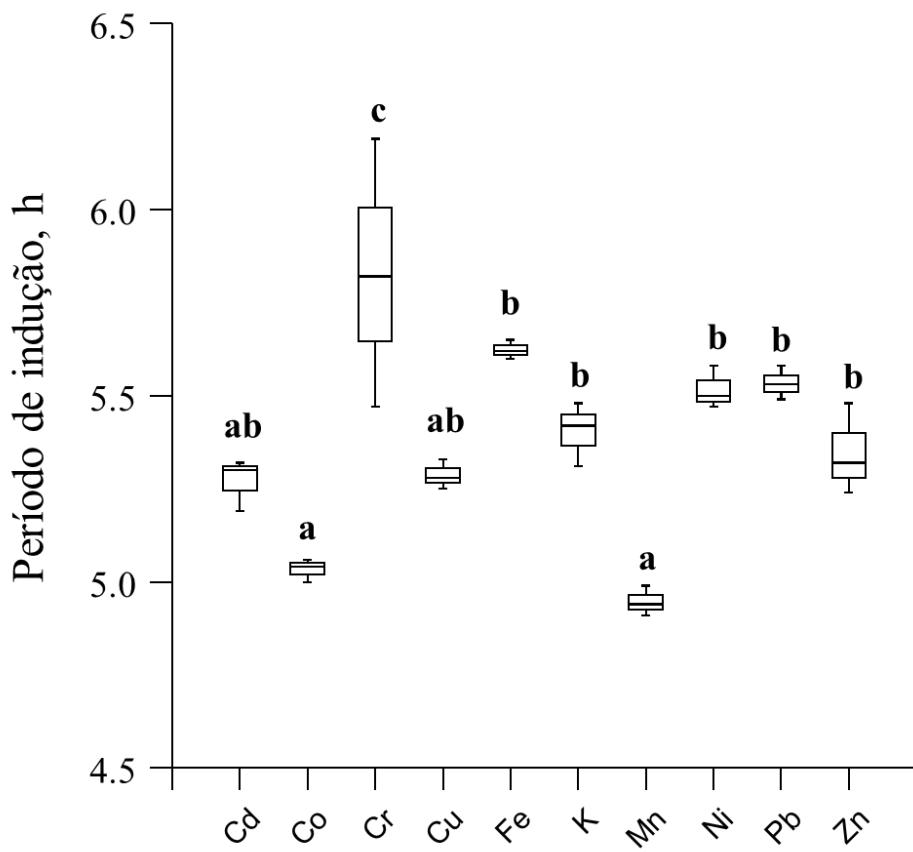


**Figura 11:** Representação os resultados do teste estatístico de anova com duplo fator para os contaminantes metálicos.

A partir do programa SYSTAT foi realizado um novo teste de Anova e Tukey, porém considerando apenas um único fator com repetição. O teste Anova foi feito para todas as concentrações, e todos os resultados apontaram p-valores abaixo de 0,05. Dessa forma, as concentrações  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  a  $3,5 \text{ mg L}^{-1}$  mostraram diferença significativa quanto aos metais.

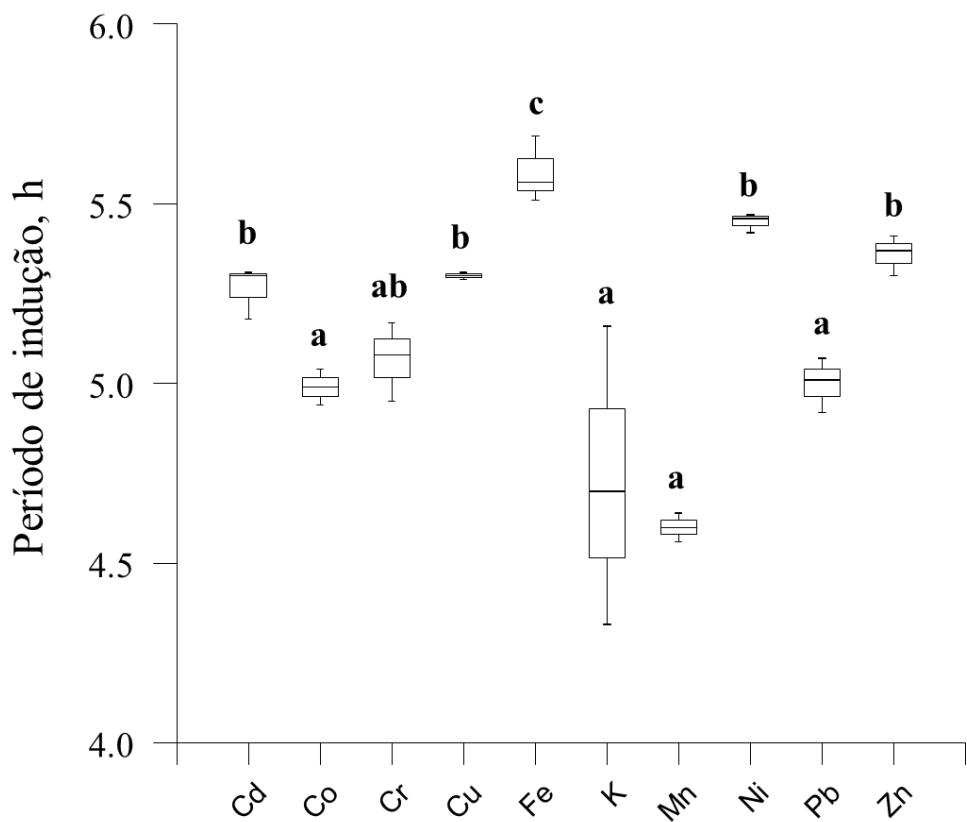
O teste de Tukey para concentração  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  organizou os íons em quatro grupos (a, ab, b e c), os quais Co e Mn (grupo a) obtiveram o maior efeito, em seguida Cd e Cu (grupo ab), depois Zn, Pb, Ni, K e Fe (grupo b) e por último Cr (grupo c), com menor efeito (Gráfico 5).

**Gráfico 5:** Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ .



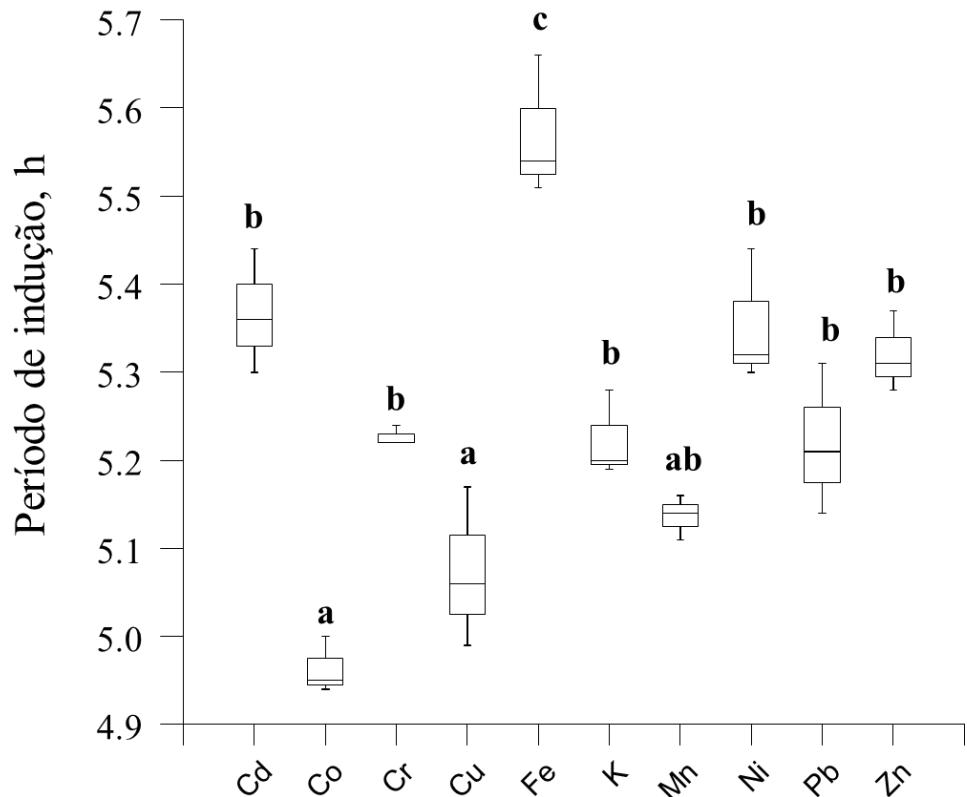
Para concentração  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  tem-se também a organização de quatro grupos (a, ab, b e c) a partir do teste de Tukey, sendo o Co, K, Mn e Pb (grupo a) os íons de maior efeito negativo, em seguida o Cr (grupo ab), depois o Cu, Ni, Cd e Zn (grupo b) e com menor efeito negativo o íon Fe (grupo c) ( Gráfico 6).

**Gráfico 6:** Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ .



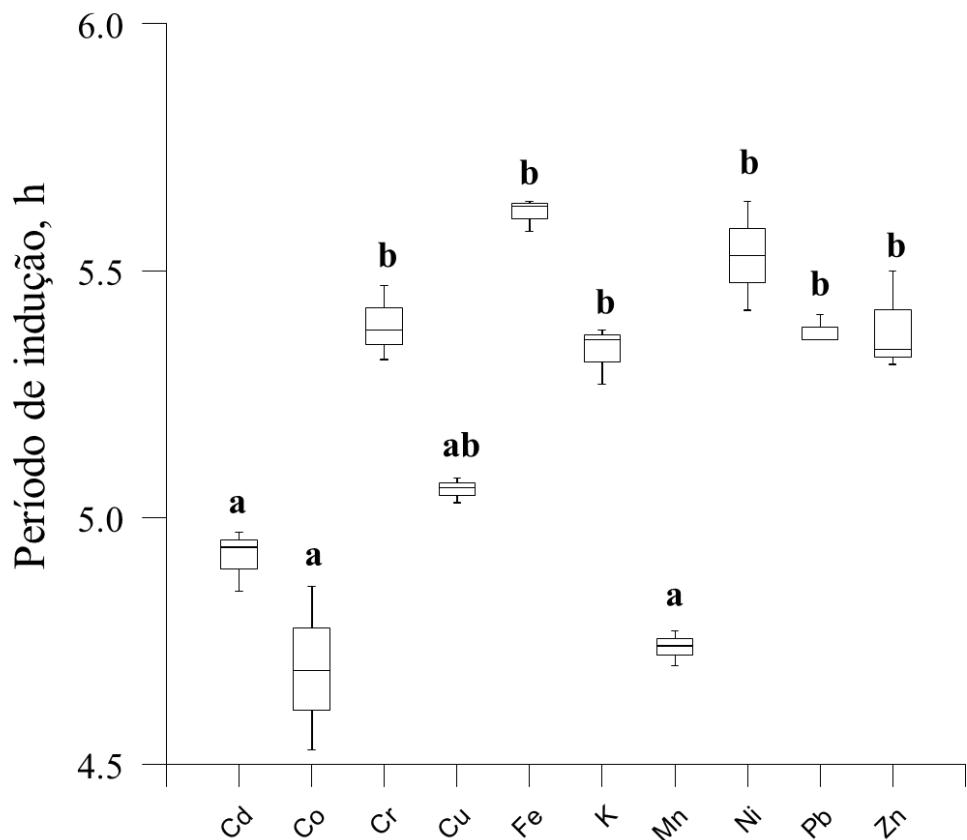
Com concentração  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  obteve os grupos a, ab, b e c, o qual o Fe (grupo c) também mostrou-se com menor efeito negativo na estabilidade oxidativa do biodiesel, seguido dos íons K, Cr, Cd, Ni, Pb e Zn (grupo b). Como intermediário tem-se o Mn (grupo ab) e o grupo do Co e Cu (grupo a) constituiu-se do maior efeito negativo (Gráfico 7).

**Gráfico 7:** Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ .



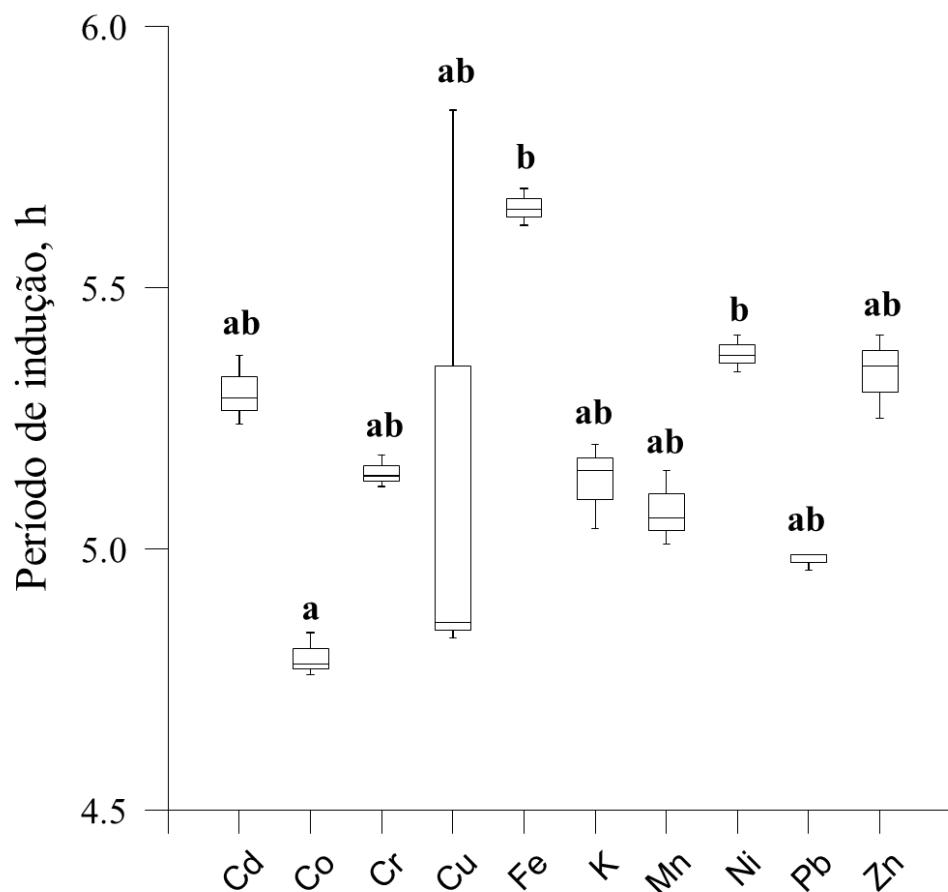
Os íons Cd, Co e Mn (grupo a) destacaram-se quanto ao maior efeito negativo do biodiesel para concentração  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Abaixo desses metais tem-se o íon Cu (grupo ab) e com menor efeito negativo significativo compõem-se o grupo b, com o Fe, Cr, K, Ni, Pb e Zn (Gráfico 8).

**Gráfico 8:** Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ .



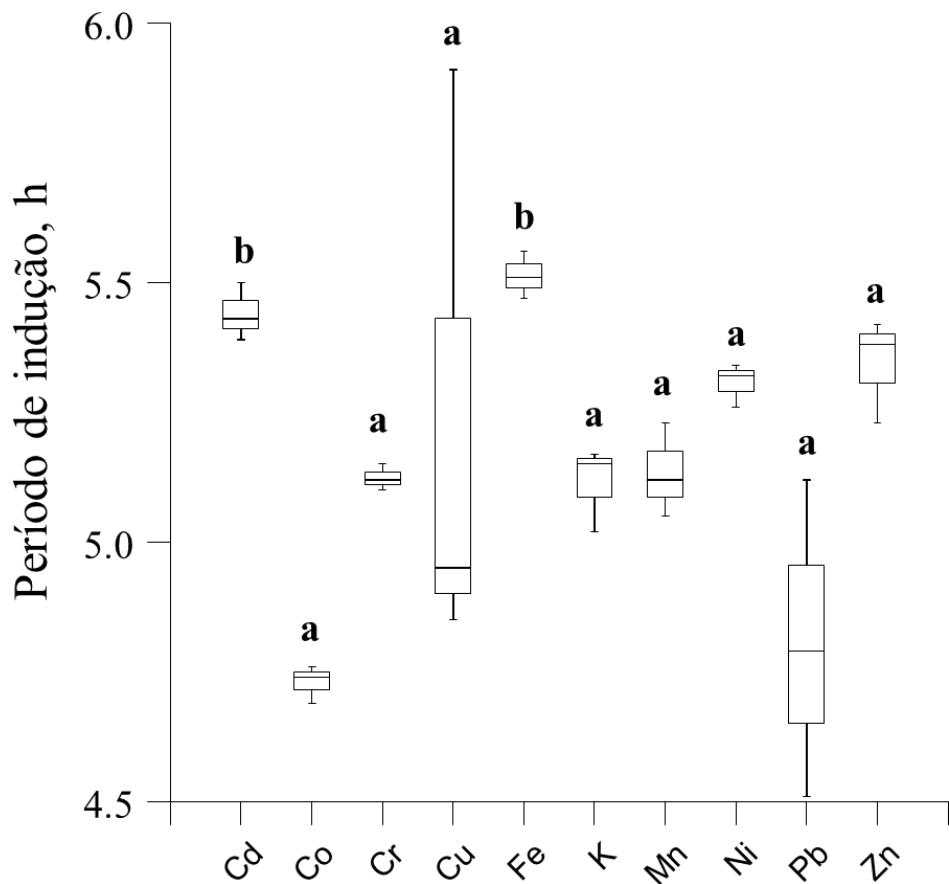
Relacionado a concentração  $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ , obtivemos como resultado três grupos (a, ab e b), sendo o íon Co (grupo a) com maior efeito negativo, seguido do grupo Cd, Cr, Cu, K, Mn, Ni, Pb e Zn (grupo ab) e por último o grupo b, composto pelo Fe e Ni (Gráfico 9).

**Gráfico 9:** Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração  $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ .



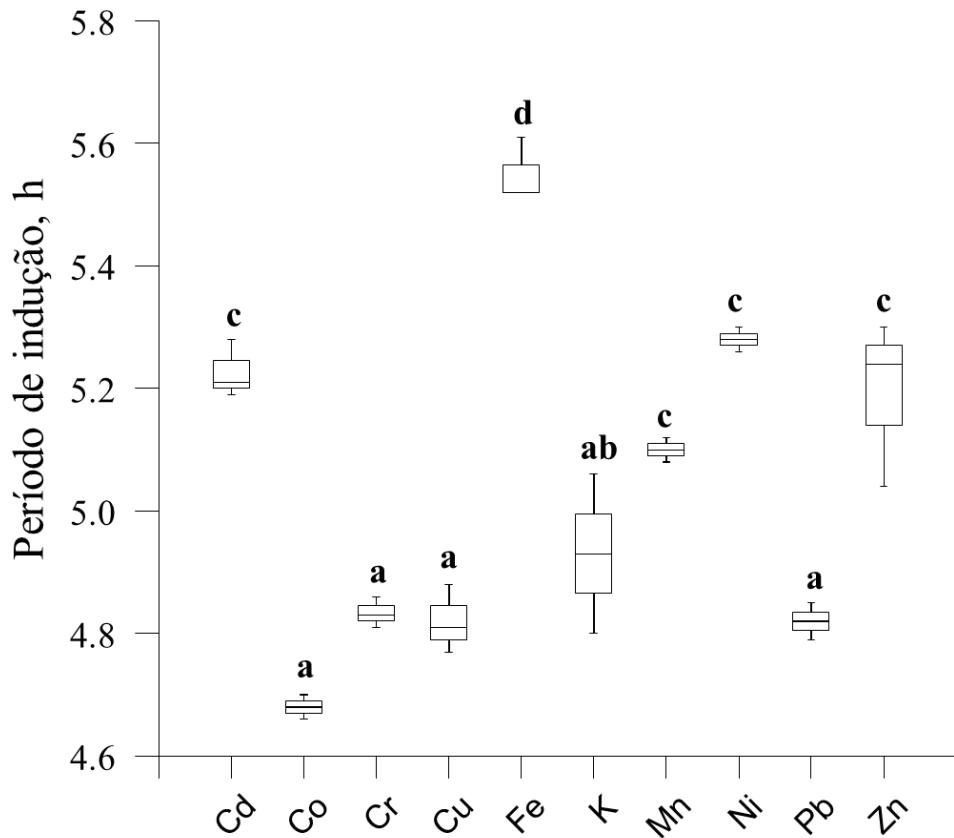
O gráfico 10 mostra os dados para concentração  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  e obtivemos a formação de apenas dois grupos (a e b). Como maior efeito negativo mostraram-se Co, Cr, Cu, K, Mn, Ni, Pb e Zn (grupo a), e os íons Fe e Cd (grupo b) foram os que obtiveram menor efeito negativo no biocombustível, para esta concentração.

**Gráfico 10:** Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ .

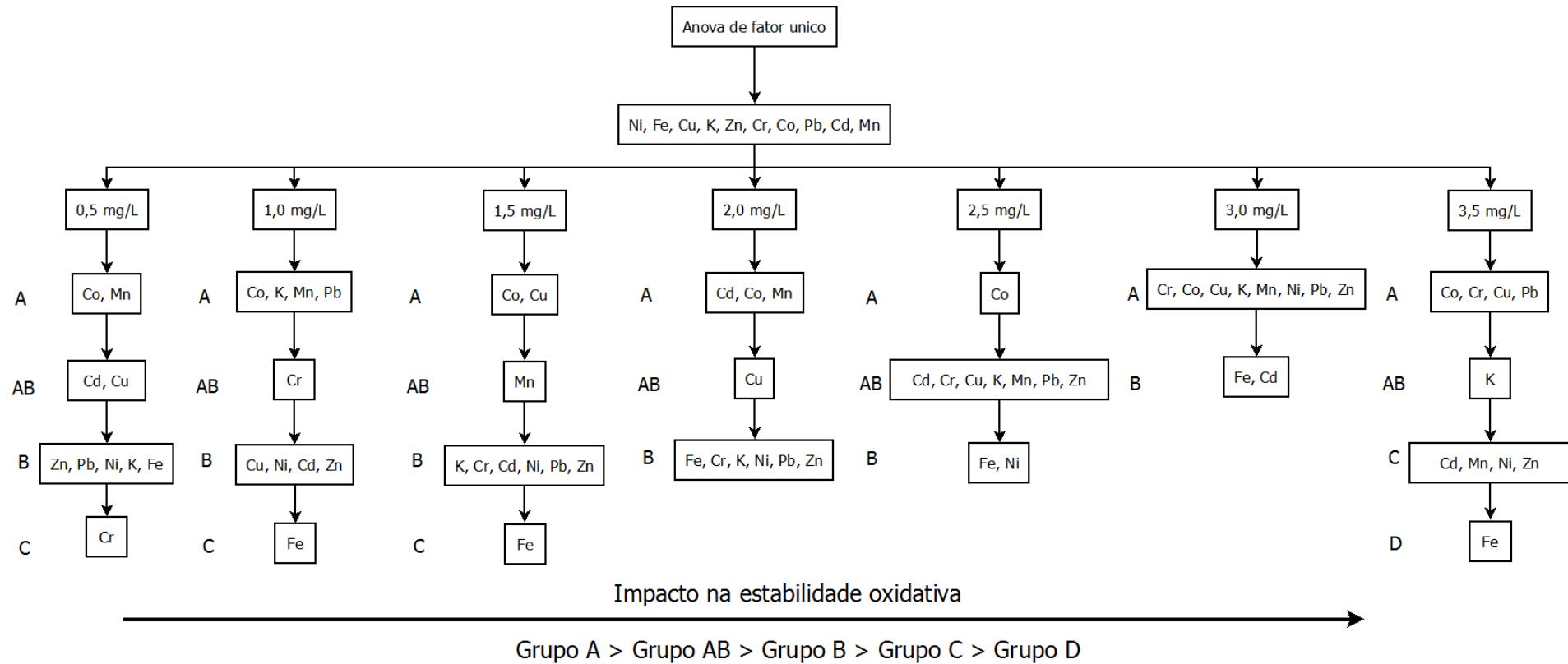


Por conseguinte a concentração  $3,5 \text{ mg L}^{-1}$  apresentou a formação de quatro grupos (a, ab, c e d), os quais o Fe (grupo d) novamente foi o íon que houve menor efeito negativo significativo, seguido do Cd, Mn, Ni e Zn (grupo c), em seguida o K (grupo ab) e por último, com maior efeito negativo na estabilidade oxidativa do biodiesel o grupo a, com os íons Co, Cr, Cu e Pb (Gráfico 11).

**Gráfico 11:** Comportamento dos íons frente ao período de indução para contaminantes metálicos, agrupados conforme teste de Anova de um fator com repetição e teste de Tukey, para a concentração  $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ .



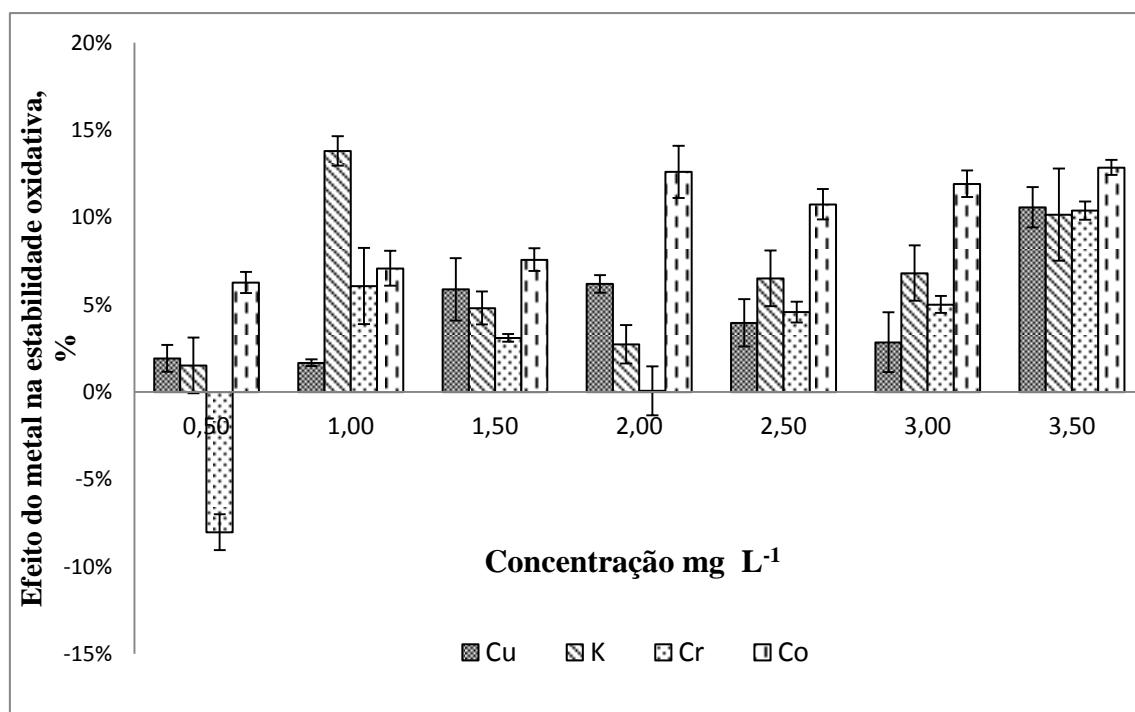
Na figura 12 temos uma representação na forma de fluxograma dos resultados do teste estatístico de anova fator único para os contaminantes metálicos na sequência do grupo de maior impacto para o grupo de menor impacto ( Grupo A > Grupo AB > Grupo B > Grupo C > Grupo D) referente a cada concentração ( 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0;  $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ ). A partir dessa imagem podemos verificar que o íon Co esteve presente no grupo de maior impacto na estabilidade oxidativa (Grupo A) em todas as concentrações e o íon Fe sempre presente nos grupos de menor impacto em quase todas as concentrações, exceto para  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ .



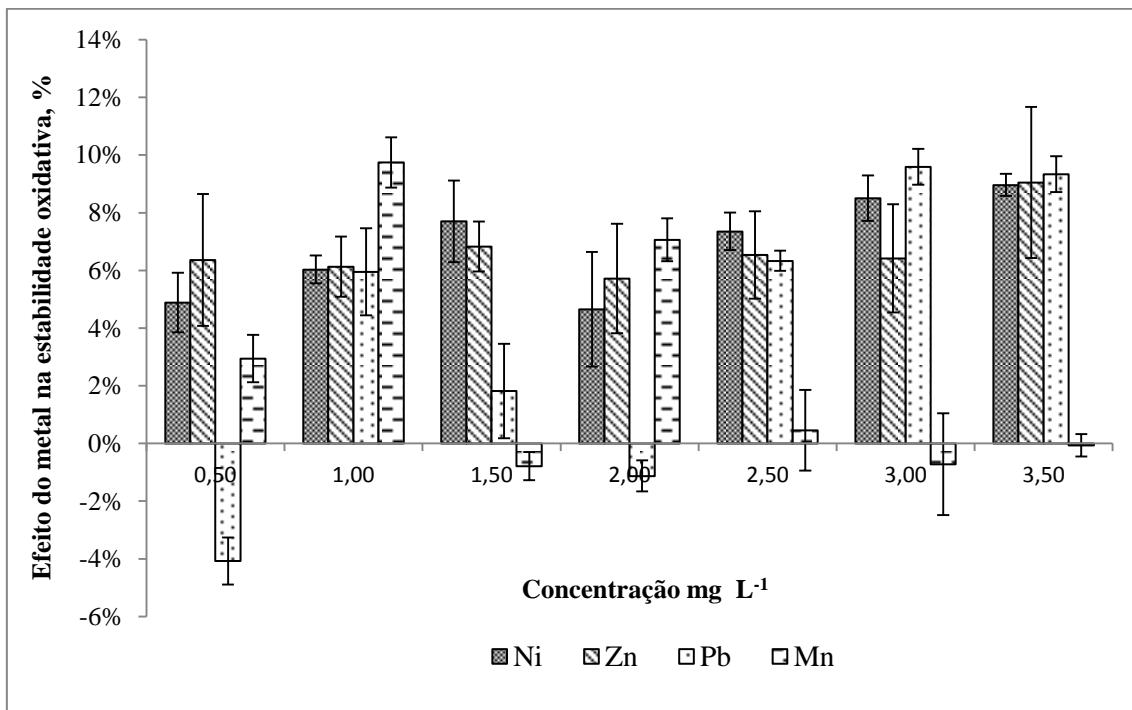
**Figura 12:** Representação os resultados do teste estatistico de anova fator único para os contaminantes metalicos.

Os gráficos 12, 13 e 14 nos mostram o efeito dos 10 diferentes tipos de metais na estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de soja. A partir desses dados podemos perceber que a presença desses metais, em contato com o combustível analisado, pode deteriorar drasticamente a estabilidade à oxidação. Os metais que obtiveram o maior efeito, acima de 10%, foram o cobre (Cu), chumbo (Pb), cobalto (Co), potássio (K) e cromo (Cr). Os resultados entre 5 e 10% foram para os metais zinco (Zn), manganês (Mn), e níquel (Ni). Abaixo desse valor ficaram os metais de menor efeito, ferro (Fe) e cádmio (Cd).

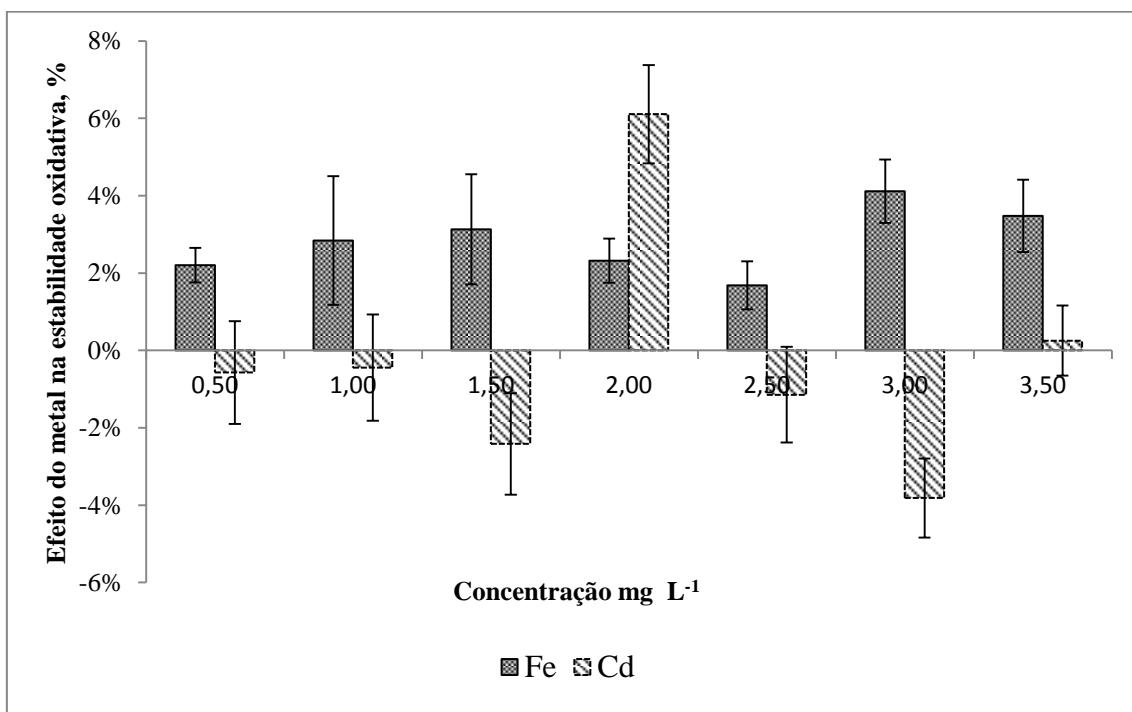
**Gráfico 12:** Comportamento dos metais que obtiveram efeito oxidativo acima de 10% no biodiesel metílico de soja



**Gráfico 13:** Comportamento dos metais que obtiveram efeito oxidativo entre 5 e 10% no biodiesel metílico de soja.



**Gráfico 14:** Comportamento dos metais que obtiveram efeito oxidativo abaixo de 5% no biodiesel metílico de soja



Na cadeia de produção do biodiesel, desde a sua produção, distribuição e estocagem, estão em contato com diferentes materiais metálicos, e esses provocam efeitos significativos sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel. Os artigos apresentados na literatura publicaram relatando os seguintes metais: Cu, Ni, Mn e Co (SARIN *et al* , 2009), (JAIN *et al* em 2014), KIVEVELE *et.al* 2015) (VERMA *et al* 2015).

Kivevele *et.al* 2015 apresentou dados semelhantes quanto ao efeito dos metais no biodiesel metílico de *Croton megalocarpus* e *Moringa oleífera*, no qual o Cu mostrou-se ter maior influência na qualidade do biodiesel, seguido de Ni, Mn e Co, enquanto o Fe foi o íon que obteve menor intervenção relacionado a esta caracterização.

O mesmo foi observado no trabalho de Jain *et al* em 2014, o qual mostrou o efeito de contaminantes dos seguintes metais, Ni, Co, Fe, Mn e Cu em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5) em ppm no biodiesel a partir do óleo de *Jatropha curcas* (JCB). O Fe obteve o menor efeito catalisador sobre a estabilidade à oxidação, seguido de Ni, Mn, Cu e Co. Neste mesmo trabalho pode-se perceber que, com o aumento da concentração do metal, houve uma diminuição significativa na estabilidade oxidativa, porém depois de 2,0 ppm esta estabilidade torna-se constante.

O trabalho de Verma *et al* 2015 também teve o objetivo de investigar o efeito do metal na estabilidade oxidativa do biodiesel, para tanto fizeram-se os experimentos utilizando os metais Fe, Ni, Mn, Co e Cu. Neste trabalho avaliou-se a presença desses íons metálicos em seis concentrações diferentes ( $0,5 - 3,0 \text{ mg L}^{-1}$ , com incremento de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ). A partir dos resultados obtidos pode-se observar que houve uma tendência nos valores de período de indução de acordo com o aumento da concentração, o metal que obteve maior efeito negativo foi o Cu, seguido do Co, Mn, Ni e Fe, respectivamente. Porém, a partir da concentração  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  os resultados dos períodos de indução tornaram-se semelhantes, ou seja, pequenas concentrações de metais tinham quase o mesmo efeito sobre a estabilidade oxidativa de grandes concentrações.

Para melhor avaliação, o presente trabalho realizou-se uma análise com um número maior de íons metálicos (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Ni, Pb e Zn) já que estes podem estar presentes na cadeia de produção, distribuição e estocagem do biodiesel. Dentro os relatos apresentados na literatura não foi encontrado nenhum tratamento estatístico para o estudo de contaminantes metálicos (SARIN *et al* , 2009), (JAIN *et al*

em 2014), KIVEVELE *et.al* 2015) (VERMA *et al* 2015). Neste trabalho aplicou-se o teste de Anova de fator único e de duplo fator, o que possibilitou formação de grupos com comportamentos semelhantes, levando a resultados que distingue dos já encontrados nos artigos publicados.

### **5.3. Efeito Positivo dos Antioxidantes Naturais na Estabilidade Oxidativa**

A partir dos dados obtidos no método Rancimat, podemos observar que houve um crescimento gradual quanto ao efeito positivo que os aditivos naturais obteve em contato com o biodiesel. O efeito do polen no combustível variou da menor concentração a maior concentração, entre 4 e 15% (Tabela 20). A própolis marrom variou de 1 a 15% (Tabela 21) e a própolis verde obteve o melhor resultado, variando de 0 a 23% (Tabela 22).

**Tabela 20:** Período de indução para a estabilidade oxidativa da polen como antioxidante natural no biodiesel metílico de soja.

Pollen	Período de Indução (h)					
	Concentração, % m v <sup>-1</sup>	1	2	3	Média	Efeito
<b>0,00</b>	6,83	6,85	6,79	6,82	-	0,03
<b>0,05</b>	7,12	7,15	7,07	7,11	4%	0,04
<b>0,10</b>	7,20	7,17	7,17	7,18	5%	0,02
<b>0,20</b>	7,28	7,27	7,24	7,26	6%	0,02
<b>0,30</b>	7,34	7,47	7,36	7,39	8%	0,07
<b>0,40</b>	7,78	7,77	7,79	7,78	14%	0,01
<b>0,50</b>	7,83	7,91	7,85	7,86	15%	0,04

**Tabela 21:** Período de indução para a estabilidade oxidativa do própolis marrom como antioxidante natural no biodiesel metílico de soja.

Própolis Marrom	Período de Indução (h)					
	Concentração, % m v <sup>-1</sup>	1	2	3	Média	Efeito
<b>0,00</b>	6,79	6,83	6,85	6,82	-	0,03
<b>0,05</b>	6,90	6,95	6,90	6,92	1%	0,03
<b>0,10</b>	7,21	7,18	7,18	7,19	5%	0,02
<b>0,20</b>	7,39	7,42	7,37	7,39	8%	0,03
<b>0,30</b>	7,62	7,59	7,6	7,60	11%	0,02

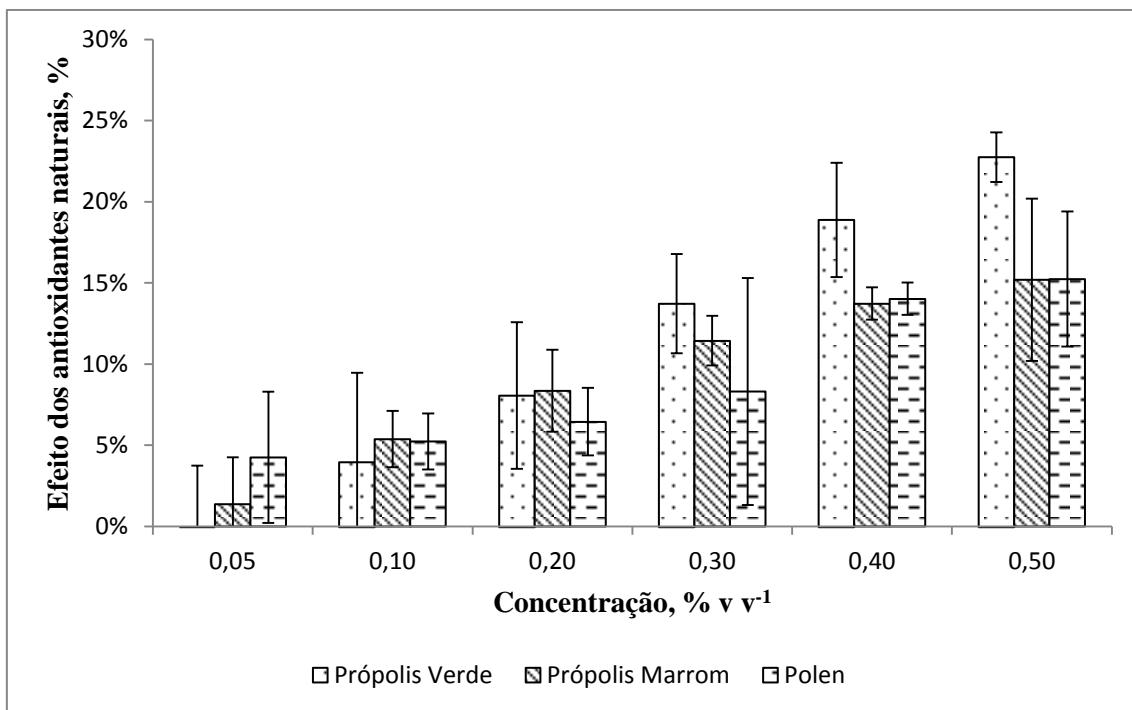
<b>0,40</b>	7,76	7,77	7,75	7,76	14%	0,01
<b>0,50</b>	7,81	7,91	7,86	7,86	15%	0,05

**Tabela 22:** Período de indução para a estabilidade oxidativa do própolis verde como antioxidante natural no biodiesel metílico de soja.

<b>Própolis Verde</b>	<b>Período de Indução (h)</b>					
	<b>Concentração, %</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>Média</b>	<b>Efeito</b>
<b>0,00</b>	7,24	7,26	7,22	7,24	-	0,02
<b>0,05</b>	7,20	7,26	7,27	7,24	0%	0,04
<b>0,10</b>	7,49	7,59	7,50	7,53	4%	0,06
<b>0,20</b>	7,78	7,87	7,82	7,82	8%	0,05
<b>0,30</b>	8,26	8,24	8,20	8,23	14%	0,03
<b>0,40</b>	8,57	8,61	8,64	8,61	19%	0,04
<b>0,50</b>	8,87	8,90	8,89	8,89	23%	0,02

De acordo com o trabalho realizado por Oliveira (2012) o polen de *Tetragonisca angustula* foi o antioxidante que obteve maior período de indução no biodiesel puro de soja, aditivado com 5000ppm, indicou o tempo de 14 horas, em contrapartida o biodiesel com BHT, na mesma concentração, marcou 4,4 horas e o biodiesel puro 2,6 horas. Porém, no presente trabalho houve um maior efeito positivo com o uso da própolis verde do que com o polen de *Tetragonisca angustula*. A partir de 0,20 % v/v este aditivo destacou-se dos demais, e ao chegar ao 0,50 % v/v sua eficiência foi para 23%, o própolis marrom e o polen, tiveram efeito de 15%, nesta mesma condição (Gráfico 15).

**Gráfico 15:** Comparação dos efeitos dos antioxidantes naturais no biodiesel metílico de soja.



#### 5.4. Efeito positivo do aditivo de própolis no biodiesel dopado com íon cobalto

Os dados anteriores mostraram o quanto o íon cobalto pode afetar o biodiesel referente à sua estabilidade oxidativa. Na concentração  $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ , este metal pode apontar efeito negativo entre 11 a 13%. Porém, ao inserir o aditivo de própolis neste combustível com cobalto é possível verificar que, com a menor concentração adicionada (0,05%) de própolis, o biodiesel já demonstra um efeito positivo de 3%. Para concentrações maiores deste aditivo, no biodiesel contaminado, houve variação de 15 a 30% (Tabela 23).

**Tabela 23:** Resultados de período de indução para o biodiesel isento de antioxidante e metal (branco), biodiesel com cobalto ( $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) e biodiesel com cobalto e aditivo de própolis em diferentes concentrações.

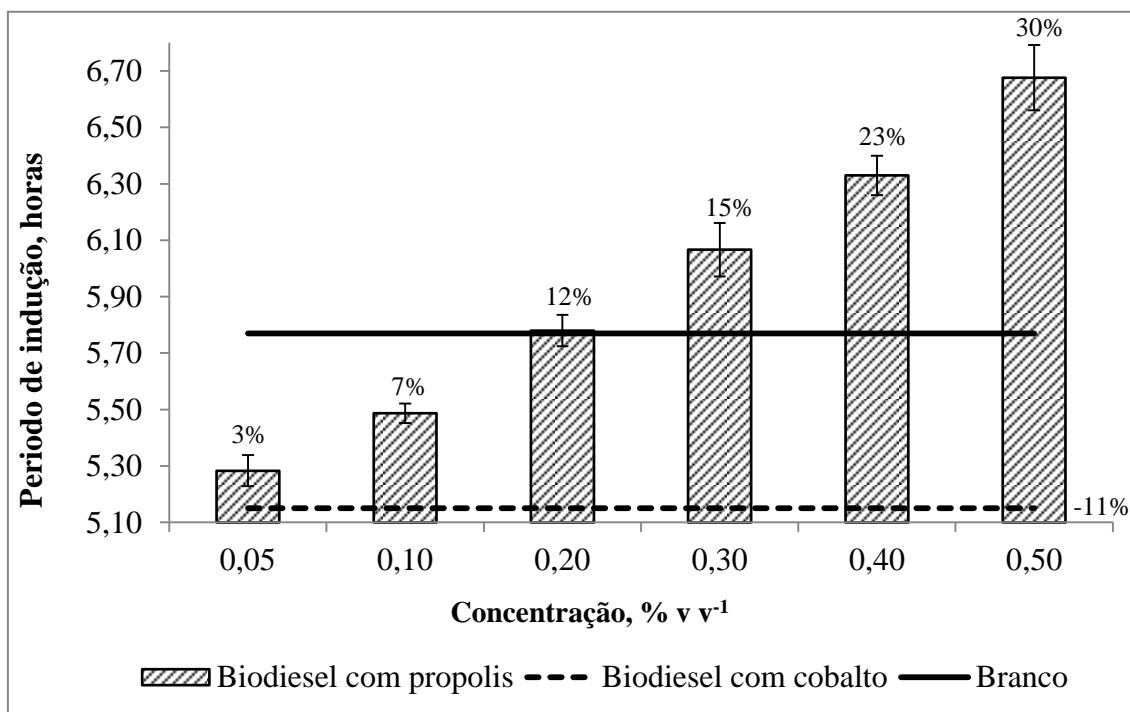
Resultados Rancimat					
	1	2	3	Média	Efeito
<b>Branco</b>	5,78	5,69	5,83	5,77	-
<b>Co (<math>3,5 \text{ mg L}^{-1}</math>)</b>	5,18	5,13	5,13	5,15	-11%
<b>0,05 %</b>	5,31	5,32	5,22	5,28	3%
<b>0,10 %</b>	5,45	5,49	5,52	5,49	7%
<b>0,20 %</b>	5,72	5,79	5,83	5,78	12%
<b>0,30 %</b>	6,1	5,96	6,14	6,07	15%
<b>0,40 %</b>	6,4	6,26	6,33	6,33	23%
<b>0,50 %</b>	6,8	6,57	6,66	6,68	30%

Com base nos dados representados no gráfico 16 podemos verificar que houve um aumento progressivo no período de indução do biodiesel de acordo com o aumento da concentração do aditivo de própolis. Os resultados mostraram que a própolis pode apresentar efeito satisfatório quanto à estabilidade oxidativa, mesmo quando este combustível esteja dopado com o íon cobalto em alta concentração ( $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ ).

Este aumento gradativo com o uso do antioxidante no biodiesel contaminado com metais também foi observado no trabalho de Verma *et al* em 2015. Verificou-se que a dosagem mínima de 500ppm (0,05%) de BHT foi necessária para melhorar o ponto de indução do ferro e níquel contaminado a 200ppm (0,02%). Para o manganês foi necessário 700ppm (0,07%) do antioxidante para atender a especificação EN 14112. Já o cobalto e o cobre, a dosagem mínima foi de 900 ppm (0,09%) e 1000 ppm (0,1%), respectivamente.

No trabalho de Sousa *et al* (2014), mostra a determinação da atividade antioxidante de dois compostos naturais, curcumina e  $\beta$ -caroteno, em 5 concentrações diferentes (25, 50, 100, 150, e  $100 \text{ ng mL}^{-1}$ ), no biodiesel de soja. Este experimento também apresenta um efeito gradual relacionado às concentrações utilizadas somente para a curcumina. A  $\beta$ -caroteno não revelou nenhuma atividade anti-oxidante apropriado para o biodiesel de soja em qualquer concentração.

**Gráfico 16:** Representação dos valores de período de indução para o biodiesel isento de antioxidante e metal (branco), biodiesel com cobalto ( $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) e biodiesel com cobalto e aditivo de própolis em diferentes concentrações.



## 6. CONCLUSÃO

Com o uso do método EN 14112 (Rancimat) como acelerador da estabilidade oxidativa no biodiesel pode-se perceber que houve a influência dos contaminantes metálicos frente à estabilidade oxidativa. Assim, é possível afirmar que os íons metálicos podem provocar alteração significativa na qualidade do biodiesel, dependendo do metal e da sua concentração.

Na análise estatística considerando os dois fatores, metais e concentração, houve o agrupamento dos íons que contém o mesmo comportamento, formando assim três grupos. O primeiro grupo formado pelos íons Cu, K, Zn, Cr, Pb e Cd, o segundo grupo com os íons Ni e Fe e o terceiro com o Co e Mn. Os íons do grupo I apresentam o mesmo comportamento entre eles, porém são diferentes quanto ao fator concentração. Para o grupo II e III, os íons destes grupos possuem semelhança no comportamento entre eles, tanto para os metais quanto para as concentrações.

Para a análise da Anova de um único fator podemos concluir que o ferro foi o íon que apresentou menor impacto em quase todas as concentrações, excluindo apenas a concentração  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ . Diversamente do íon cobalto, o qual mostrou-se o metal com maior impacto na estabilidade oxidativa para todas as concentrações. Apesar do manganês não ser o metal com maior efeito negativo, este íon apontou também resultado desfavorável para o biodiesel metílico de soja nas concentrações  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  e  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ .

A estabilidade do biodiesel é muito crítica e requer a presença de antioxidantes para conseguir atender os requisitos de armazenamento e garantir a qualidade dos combustíveis em todos os pontos da cadeia de distribuição. Dessa forma, a partir dos dados obtidos nos testes de estabilidade oxidativa com os aditivos naturais: própolis verde, própolis marrom e o pólen, podemos dizer que possuem grande potencial antioxidante, sendo que a própolis verde, em maior concentração destaca-se dentre os outros aditivos. Apesar disso, tanto a própolis marrom quanto o pólen possuem capacidade para inibir o efeito oxidativo do biodiesel, inclusive com potencial maior que os aditivos comerciais.

## 7. REFERÊNCIAS

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Rio de Janeiro.  
Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 09 mar. 2015.

BUENO, R. D. Identificação de marcadores SNP em genes candidatos associados ao conteúdo e qualidade do óleo de soja. 2012. 102 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Bioquímica Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.  
Disponível em: <[http://alexandria.cpd.ufv.br:8000/teses/bioquimica\\_agricola/2012/249645f.pdf](http://alexandria.cpd.ufv.br:8000/teses/bioquimica_agricola/2012/249645f.pdf)>. Acesso em: 26 jan. 2016.

DALL'AGNOL, Amélio. Por que fazemos biodiesel de soja. Disponível em:  
<<http://www.biodieselbr.com/noticias/columnistas/convidado/porque-fazemos-biodiesel-de-soja.htm>>. Acesso em: 14 dez. 2007.

BP, ENERGY OUTLOOK 2035. Country and regional insights – Brazil. BP, London (February, 2015). Disponível em: <[http://www.bp.com/content/dam/bp/pdf/Energy-economics/energy-outlook-2015/Energy\\_Outlook\\_2035\\_booklet.pdf](http://www.bp.com/content/dam/bp/pdf/Energy-economics/energy-outlook-2015/Energy_Outlook_2035_booklet.pdf)>. Acesso em: 16 jun. 2015.

CARVALHO, A.; CARDOSO, E.A.; SANTANA, S.M.F.; DA ROCHA, G.O.; PEPE, I.M.; GROSJEAN, D.M.; TEIXEIRA, L. Avaliação de espécies iônicas volatilizadas após oxidação acelerada do biodiesel de soja. 6º Simpósio Nacional de Biocombustíveis. Realizado em Canoas/RS, de 24 a 26 de Abril de 2013.

CHRISTOFF, P. Produção de biodiesel a partir do óleo residual de fritura comercial. Estudo de caso: guaratuba, litoral paranaense. 2006. Tese (Mestrado em Desenvolvimento em Tecnologia) - Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento – LACTEC e Instituto de Engenharia do Paraná – IEP, Curitiba.

CLARK, B; WANG, A; SALLEY, S.O; SIMON, K.Y. Catalytic Effects of transition Metals on the Oxidative Stability of Various Biodiesels 2007 AIChE Annual Meeting November 4 – 9 (2007) Salt Lake City, Utah

CREMONEZ, P. A.; FEROLDI, M.; NADALETI, W.C.; DE ROSSI, E.; FEIDEN, A.; CAMARGO, M.P.; CREMONEZ, F.E.; KLAJN, F.F. Biodiesel production in Brazil: Current scenario and perspectives. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 42 (2015), PP. 415-428.

DANTAS, M.B.; ALBUQUERQUE, A.R.; BARROS, A.K.; RODRIGUES FILHO, M.G.; ANTONIOSI FILHO, N.R. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. Fuel, 90 (2011), pp. 773–778.

DAOUD, A. *et al.* Assessment of polyphenol composition, antioxidant and antimicrobial properties of various extracts of Date Palm Pollen (DPP) from two Tunisian cultivars. Arabian Journal Of Chemistry, [s.l.] ago. 2015. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.arabjc.2015.07.014. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S1878535215002361?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 15 set. 2015.

DE SOUSA, L.S.; DE MOURA, C.V.R.; DE OLIVEIRA, J.E.; DE MOURA, E.M. Use of natural antioxidants in soybean biodiesel. Fuel, 134 (2014), pp. 420-428.

DUNN, R.O. Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel). *Fuel Process Technol* 2005; 86:1071–85.

DUNN, R. O. Oxidative stability of soybean oil fatty acid methyl esters by oil stability index (OSI) *J Am Oil Chem Soc*, 82 (2005), pp. 381–387

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Soja em numeros (2014/2015). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 12 jan 2015.

FARMER, E. H.; BLOOMFIELD, G. G.; SUNDRALINGAM, S.; SUTTON, D.A. The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. *Transactions of the Faraday Society*. 38 (1942), pp. 348-356.

FAROBIE, O.; MATSUMURA, Y. A comparative study of biodiesel production using methanol, ethanol, and tert-butyl methyl ether (MTBE) under supercritical conditions. *Bioresource Technology*, 191 (2015), pp. 306-311.

FAZAL, M.; HASEEB, A.; MASJUKI, H. Corrosion mechanism of copper in palm biodiesel. *Corrosion Science*, 67 (2013), pp. 50–59.

FELIZARDO, P.; CORREIA, M. J. N; RAPOSO, I.; MENDES, J. F.; BERKEMEIR, R.; BORDADO, J.M. Production of biodiesel from waste frying oils. *Waste Management*, v.26, pp.487-494. 2006.

FLEMMING, J. S. Antioxidantes: importância dos óleos essenciais e dos compostos fenólicos. Disponível em:  
<<http://pt.engormix.com/MAaviculatura/nutricao/artigos/antioxidantes-importancia-dos-oleos-t397/141-p0.htm>>. Acesso em: 22 abr. 2015.

FOCKE, W.W.; WESTHUIZEN, I.; LOFTÉ GROBLER, A.B.; NSHOANE, K.T.; REDDY, J. K.; LUYT, A. S. The effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel. *Fuel*, 94 (2012), pp. 227-223.

FRANKEL, E. N. Lipid oxidation. *Progress in Lipid Research*. Oxford, v.19, n. 1-2, pp. 1-22, 1980.

GALLINA, A. L. Uma alternativa sustentável para a produção de biodiesel: *Cyperus esculentus*. (Dissertação) UNICENTRO: Guarapuava, 2011. Disponível em: <[http://www.unicentro.br/posgraduacao/mestrado/bioenergia/editais/2012/Dissertacao\\_mestrado\\_Bioenergia\\_André.pdf](http://www.unicentro.br/posgraduacao/mestrado/bioenergia/editais/2012/Dissertacao_mestrado_Bioenergia_André.pdf)> Acesso em: 07 dez. 2014.

GHISALBERTI, E.L. Propolis; A review. Bee word, v.60, p. 59-84, 1979.

GOEMBIRA, F.; SAKA, S. Optimization of biodiesel production by supercritical methyl acetate. Bioresour. Technol, 131 (2013), pp. 47–52.

HERBERT Jr., E.W.; SHIMANUKI, H. Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. Apidology, v.9, n.1, p.33-40, 1978.

JAIN, S.; SHARMA, M.P. Prospects of biodiesel from Jatropha in India: A review. Renewable And Sustainable Energy Reviews, [s.l.], v. 14, n. 2, p.763-771, fev. 2010. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.rser.2009.10.005. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S1364032109002366?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 03 jun. 2015.

JAIN, S.; SHARMA, M.P.. Effect of metal contents on oxidation stability of biodiesel/diesel blends. Fuel, [s.l.], v. 116, p.14-18, jan. 2014. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.fuel.2013.07.104. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0016236113007035?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 20 jun. 2015.

KARMAKAR, A.; KARMAKAR, S.; MUKHERJEE, S. Properties of various plants and animals feedstocks for biodiesel production. Bioresource Technology, 101 (2010), pp. 7201–7210

KIVEVELE, T.; HUAN, Z. Influence of metal contaminants and antioxidant additives on storage stability of biodiesel produced from non-edible oils of Eastern Africa origin (Croton megalocarpus and Moringa oleifera oils). Fuel, [s.l.], v. 158, p.530-537, out. 2015. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.fuel.2015.05.047. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0016236115005542?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 14 out. 2015.

KNOTHE, G. “Designer” biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. *Energy Fuels* 2008;22(2):1358e64.

KOSTIĆ, A. Ž.; BARAĆ, M. B.; STANOJEVIĆ, S. P.; MILOJKOVIĆ-OPSENICA, D. M.; TEŠIĆ, Ž. L.; ŠIKOPARIJA, B.; RADIŠIĆ, P.; PRENTOVIĆ, M.; PEŠIĆ, M. B. Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. *Lwt – Food Science and Technology*, 62 (2015), pp. 301-309.

KWANGSAM, N.A.; BISWAS, S.; ROBERTSON, W.; SAHAY, K.; OKAMOTO, R.; MITCHELL, A.; LEMIEUX, S. Impact of biodiesel and renewable diesel on emissions of regulated pollutants and greenhouse gases on a 2000 heavy duty diesel truck. *Atmospheric Environment*, 107 (2015), pp. 307–314.

LI, Z.; YANG, D.; HUANG, M.; HU, X.; SHEN, J.; ZHAO, Z.; CHEN, J. Chrysomya megacephala (Fabricius) larvae: a new biodiesel resource. *Applied Energy*, 94 (2012), pp. 349–354

LIMA, P. C. R. Biodiesel: Um novo combustível para o Brasil. Biblioteca Digital da Câmara dos Deputados. Disponível em: <<http://bd.camara.gov.br>>. Acesso em: 02 Jun. 2015.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Química Nova* (2009), vol. 32, nº 5, pp. 1596-1608. Disponível em: <<http://quimicanova.sbj.org.br>>. Acesso em: 09 Mar. 2016.

MOSER, B. R. Influence of extended storage on fuel properties of methyl esters prepared from canola, palm, soybean and sunflower oils. *Renewable Energy*, 36 (2011), pp. 1221–1226.

MOTA, CLAUDIO J. A.; SILVA, CAROLINA X. A. DA AND GONCALVES, VALTER L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. *Quím. Nova* [online]. 2009, vol.32, n.3, pp. 639-648. ISSN 1678-7064. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000300008>.

OLIVEIRA, R.S. Avaliação da ação antioxidante de produtos naturais no biodiesel B100 (*Glycine max*). 2012. Tese (Mestrado em Bioenergia) – Programa de Pós-Graduação em Bioenergia, Toledo-PR.

PAGANOTTI, R. S. N. Desenvolvimento de métodos analíticos para a análise de própolis utilizando técnicas espectrométricas e análise multivariada. 2013. 165 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais. 2013.

PASCOAL, A.; RODRIGUES, S.; TEIXEIRA, A.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L. M. Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63 (2014), pp 233–239.

RAMALHO, V. C. & JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, vol. 29, nº4, pp 755-760, 2006.

RAMOS, M. J.; FERNÁNDEZ, C. M.; CASAS, A.; RODRÍGUEZ, L.; PÉREZ, Á. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresources Technol*, 100 (2009), pp. 261–268

RASHEDUL, H.K. *et al.* The effect of additives on properties, performance and emission of biodiesel fuelled compression ignition engine. *Energy Conversion And Management*, [s.l.], v. 88, p.348-364, dez. 2014. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.enconman.2014.08.034. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0196890414007584?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 21 abr. 2015.

RIGHI, A.A.; NEGRI, G. ; SALATINO, A. Comparative chemistry of propolis from eight Brazilian localities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2013 (2013), pp. 1–14. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/267878>>. Acesso em: 4 fev. 2016.

RODRIGUES, F.M.G.; SOUZA, A.G.; SANTOS, I.M.G.; BICUDO, T.C. ; SILVA, M.C.D. ; SINFRÔNIO, F.S.M. Antioxidative properties of hydrogenated cardanol for cotton biodiesel by PDSC and UV/vis J Therm Anal Calorim, 97 (2) (2009), pp. 605–609.

SANGALETTI-GERHARD, N. *et al.* Energy flow in the soybean biodiesel production chain using ethanol as solvent extraction of oil from soybeans. *Biomass And Bioenergy*, [s.l.], v. 66, p.39-48, jul. 2014. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biombioe.2014.04.004.

Disponível em:

<<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0961953414001986?httpAccept=text/xml>>.

Acesso em: 15 nov. 2014.

SANTOS, E.M.; PIOVESAN, N. D.; DE BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Low linolenic soybeans for biodiesel: Characteristics, performance and advantages. *Fuel*, 104 (2013), pp 861-864.

SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N.P.; SHARMA, M.; MALHOTRA, R.K. Influence of metal contaminants on oxidation stability of Jatropha biodiesel. *Energy*, 34 (2009), pp. 1271–1275

SHAHIR, S.A.; MASJUKI, H.H.; KALAM, M.A.; IMRAN, A.; ASHRAFUL, A.M. Performance and emission assessment of diesel–biodiesel–ethanol/bioethanol blend as a fuel in diesel engines: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 48 (2015), pp. 62–78.

SHARMA, M. P.; KUMAR, M. Selection of potential oils for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 56 (2016), pp. 1129-1138.

SHEEHAM *et al.*, An Overview of Biodiesel and Petroleum Diesel Life Cycles; National Renewable Energy Laboratory, 1998.

SILVA, S. F.; CARVALHO, C. C. D.; MURTA VALLE. Influência de metais e de Antioxidantes na Estabilidade do biodiesel de Soja. *Revista de Química Industrial*, v. 79, p. 23-27, 2010.

SOUSA, L. S.; MOURA, C. V. R.; OLIVEIRA, J. E.; MOURA, E. M. Use of natural antioxidants in soybean biodiesel. *Fuel*, v. 134, pp. 420–428, 2014.

SYSTAT - Systat Software, Inc. Tools for science. For Windows, version 9.01.

Disponível em: <<https://systatsoftware.com/>>. Acesso em: 25 set. 2015.

TEIXEIRA, E. W.; MESSAGE, D.; NEGRI, G.; SALATINO, A. AND STRINGHETA, P. C. Seasonal variation, chemical composition and antioxidant activity of brazilian propolis samples. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 7, no. 3, pp. 307–315, 2010.

VEGA-LIZAMA , T.; DÍAZ-BALLOTE, L. ; HERNÁNDEZ-MEZQUITA, E.; MAY-CRESPO,F.; CASTRO-BORGES,P.; CASTILLO-ATOCHE, A.; GARCÍA GONZÁLEZ ,G.; MALDONADO,L. Thermogravimetric analysis as a rapid and simple method to determine the degradation degree of soy biodiesel. Fuel, v.156 (2015), pp. 158-162.

VERMA, P.; SHARMA, M. P.; DWIVEDI, G. Investigation of metals and antioxidants on Stability Characteristics of Biodiesel. Materials Today: Proceedings. 4th International Conference on Materials Processing and Characterization. v. 2 (2015) pp. 3196 – 3202

XING, Y.; WHITE, P. J. Antioxidants from Cereals and Legumes in Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Applications “in” SHAHIDI, F. AOCS Press: Champaign, Illinois, p. 25-55, 1996.

ZHANG, Y.; DUBÉ, M.A.; MCLEAN, D.D.; KATES,M. Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technological assessment. Bioresource Technology, v.89, n.1, p.1-1866, 2003.