

MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

KEURISON FIGUEREDO MAGALHÃES

INVESTIGAÇÃO DOS FLUORÓFOROS
PRESENTES NO BIODIESEL PRODUZIDO A
PARTIR DE DIFERENTES ÓLEOS VEGETAIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AMBIENTAL

Dourados-MS
Fevereiro/2012

KEURISON FIGUEREDO MAGALHÃES

**INVESTIGAÇÃO DOS FLUORÓFOROS
PRESENTES NO BIODIESEL PRODUZIDO A
PARTIR DE DIFERENTES ÓLEOS VEGETAIS**

**ORIENTADOR: ANDERSON RODRIGUES LIMA CAIRES
CO-ORIENTADOR: SAMUEL LEITE OLIVEIRA**

Dissertação de mestrado submetida ao programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia na área de concentração Tecnologia Ambiental.

DOURADOS/MS

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD

662.669 Magalhães, Keurison Figueredo.
M188i Investigação dos fluoróforos presentes no biodiesel
 produzido a partir de diferentes óleos vegetais / Keurison
 Figueredo Magalhães. – Dourados, MS : UFGD, 2012.
 53 f.

 Orientador: Prof. Dr. Anderson R. L. Caíres.
 Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia
 Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados.

 1. Biodiesel. 2. Óleo vegetal. 3. Fluorescência
 molecular. 4. Ésteres metílicos. I. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AMBIENTAL

TERMO DE APROVAÇÃO

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora foi emitido o parecer APROVADO para a dissertação intitulada: **"Investigação dos fluoróforos presentes no biodiesel produzido a partir de diferentes óleos vegetais"**, de autoria de KEURISON FIGUEIREDO MAGALHÃES, apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.

Prof. Dr. Samuel Leite de Oliveira (Coorientador- UFMS)
Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dr. Lincoln Carlos Silva Oliveira (UFMS)
Membro Examinador

Prof. Dra. Margarete Soares da Silva (UEMS)
Membro Examinador

DEDICATÓRIA

Dedico meu trabalho aos meus Pais Carmelindo e Zilda, e minhas irmãs Karen, Kariny e Ana Karolina, pelo apoio e presença em todos os momentos de minha vida.

AGRADECIMENTOS

- Á Deus, e aos meus Pais;
- Às minhas irmãs Karen, Kariny e Ana Karolina;
- Ao CNPq pela bolsa concedida;
- Ao Prof. Samuel Leite de Oliveira por seu apoio, confiança, amizade e orientação;
- Ao Prof. Anderson R. L. Caires por seu apoio e sugestões;
- Ao Professor Cristiano Raminelli pela orientação durante a realização do estágio em docência e abertura das portas de seu laboratório;
- Aos professores do Grupo de Óptica Aplicada/UFGD Evaristo Falcão, Eriton Botero, José Ezequiel, Bernardo e Adão;
- Ao técnico de laboratório e amigo Willian por sua ajuda técnica e intermináveis discussões sobre fotoquímica;
- Aos meus amigos Tiago, Mariele, Douglas, Carol, Edson, Denize, Marisa, Irlon, Ernane, Joelson, Franciele, Gustavo Ruivo, Dayana e Jônatan pelo apoio e companheirismo de sempre;
- Aos companheiros de mestrado Mariana, Cinthia, Janina, Ligia, Marcelo, Perla e Rosemari;
- Aos amigos da engenharia Fernanda, Janaina, Gustavo, Valter e Abdimar.
- Aos Profs. Gustavo G. Fonseca, Andrelson Rinaldi, Nelson Luiz Domingues, Lucas Pizzuti e Rozanna M. Muzzi da UFGD, e ao Prof. Sandro M. Lima da UEMS.
- À Profa. Margarete Soares da Silva da UEMS, pela colaboração com nosso grupo.
- Aos técnicos do curso de Engenharia de Alimentos Klerisson e Priscila e aos técnicos dos laboratórios de Química, Marcos, Ana Cristina e Wesley.
- Aos professores do programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental.
- Ao CNPq, FUNDECT e CAPES pelo apoio financeiro.
- Ao “Instituto de Ciência e Tecnologia de Fotônica/CNPq” e “Instituto de Ciência e Tecnologia de Óptica e Fotônica/CNPq” pelo suporte financeiro.

LISTA DE ABREVIATÖES

ANP – Agencia Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis
B100 – 100% de Biodiesel
GC-DIC – Cromatógrafo Gasoso com Detector por Ionização em Chama
IV – Radiação Infravermelha
UV – Radiação Ultravioleta
Vis – Radiação Visível
TBHQ – terc-butil-hidroquinona
BHA – butil-hidroxi-anisol
BHT – butil-hidroxi-Tolueno
PG – propil galato
FT-IR – Infravermelho com transformada de Fourier
HPLC – Cromatografia Liquida de Alta eficiência
NIR – Infravermelho próximo
FIR – Infravermelho longínquo
MIR – Infravermelho médio

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Composição média dos ácidos graxos presentes em diferentes óleos.....	02
Tabela 5.1: Composição média dos ésteres metílicos obtidas via CG-DIC....	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Reação de transesterificação.....	04
Figura 2.2: Reação de hidrólise do éster.	04
Figura 2.3: Reação de esterificação de um ácido graxo.....	05
Figura 2.4: Mecanismo da decomposição térmica de triglicerídeos.....	05
Figura 2.5: Principais antioxidantes utilizados em óleos e biodiesel.....	08
Figura 2.6: Esquema de níveis de energia de excitação eletrônica	10
Figura 2.7. Modos vibracionais típicos no infravermelho.....	12
Figura 2.8: Interação de radiação com a matéria.....	13
Figura 2.9: Diagrama de Jablonski.....	15
Figura 4.1: Separação do biodiesel e glicerina.....	18
Figura 5.1: Ilustração para reação de transesterificação via catálise básica.....	23
Figura 5.2: Espectros de FTIR e estrutura química das amostras de tricaprina e miristato de metila (padrão).....	24
Figura 5.3: Espectros de FTIR das amostras de óleo e biodiesel de soja, milho, girassol e canola.....	25
Figura 5.4: Principais ésteres metílicos presentes nos biodieseis de soja, canola, girassol e milho.....	27
Figura 5.5: Espectros de absorção molecular dos biodieseis diluídos em n-hexano.....	28
Figura 5.6: Espectros de absorção molecular ésteres metílicos (padrão) diluídos em n-hexano.....	29
Figura 5.7: Espectros de absorção molecular da tricaprina, b-caroteno, clorofila e acetato de tocoferol.....	32
Figura 5.8: Espectros de fluorescência molecular das amostras de ésteres (padrão) excitadas em 300 e 320nm. (LNM – Linolenato de metila; LM – Linoleato de metila; OM – Oleato de metila; EM – Estearato de metila; MM – Miristato de metila; PM – Palmitato de metila; TRIC – Tricaprina).....	33

Figura 5.9: Espectros de fluorescência molecular dos biodieseis com excitação em 300 e 320nm.....	34
Figura 5.10: Espectros de fluorescência molecular da clorofila e β -caroteno.....	35
Figura 5.11: Espectros de fluorescência molecular do óleo de buriti diluído a 10% (m/v) em n-hexano.....	35
Figura 5.12: Mapas de contorno de excitação/emissão dos ésteres (padrão).....	36
Figura 5.13: Mapas de contorno de excitação/emissão dos biodieseis.....	37
Figura 5.14: Mapas de contorno de excitação/emissão da clorofila e β -caroteno.....	38
Figura 5.15: Espectros FTIR do ácido oléico e óleo de soja.....	39
Figura 5.16: Espectros de absorção molecular UV-Vis e fluorescência do biodiesel de soja termo-degradados sem adição de antioxidantes.....	41
Figura 5.17: Espectros de absorção molecular UV-Vis e fluorescência dos biodiesel de soja termo-degradados com 100 ppm de BHA.....	41
Figura 5.18: Absorbância em 350nm em função da temperatura de degradação.....	42
Figura 5.19: Fluorescência em 430nm em função da temperatura de degradação.....	43
Figura 5.20: Espectros de fluorescência e curva de calibração obtida para o biodiesel de girassol, enriquecidos com BHA e TBHQ.....	46
Figura 5.21: Espectros de fluorescência e curva de calibração obtida para o biodiesel de soja, enriquecidos com BHA e TBHQ.....	47

RESUMO

Com o crescente consumo energético mundial, a preocupação com questões ambientais fizeram com que pesquisas no desenvolvimento de combustíveis alternativos se tornassem cada vez mais importantes. Diante deste novo cenário, o biodiesel desponta como uma alternativa interessante a ser empregado em motores de ciclo diesel. Segundo a ANP (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis), o biodiesel pode ser classificado como uma mistura de ésteres alquílicos de ácidos graxos, produzido a partir de óleos vegetais ou gorduras animais, e sua utilização podem reduzir a emissão de gases de efeito estufa quando comparado ao uso de diesel. Diversos parâmetros estão relacionados com a qualidade do biodiesel e precisam ser normatizados e monitorados de forma eficaz. Diversas técnicas baseadas na espectroscopia ópticas vêm sendo utilizadas no monitoramento da qualidade do biodiesel como FTIR e absorção UV-Vis. Neste estudo investigaram-se as transições eletrônicas envolvidas nos processos de absorção e de fluorescência UV-Vis de biodiesel produzido a partir de diferentes fontes oleaginosas. Com base nos espectros de absorção e fluorescência dos ésteres metílicos padrão e conteúdo de éster metílico presentes nas amostras de biodiesel, determinada por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, foi possível identificar o linolenato e linoleato como os compostos responsáveis pela absorção e fluorescência em biodiesel. Os resultados também indicam que ésteres metílicos com mais de duas insaturações (linoleato de metila e linolenato de metila) apresentam a maior contribuição para a fluorescência de biodiesel entre 410-420 nm quando excitado entre 280-350 nm. Por sua vez, a intensidade de fluorescência de linolenato de metila é maior do que a observada em linoleato de metila, o último possui apenas duas insaturações. Fluorescência de compostos fenólicos, tais como antioxidantes sintéticos e tocoferóis foi observada em torno de 315-340nm sob excitação entre 280-310 nm, enquanto clorofila e β -caroteno apresentam fluorescência em diferentes regiões espectrais dos ésteres e compostos fenólicos. O tratamento térmico do biodiesel resultou em mudanças na intensidade e perfil da absorção de UV-Vis e espectros de fluorescência das amostras não diluídas com e sem antioxidantes. Não foram observadas mudanças com a adição de antioxidantes nas amostras de biodiesel. Além disso, verificou-se que uma fluorescência em torno de 330 nm observadas nas amostras contendo antioxidantes, pode ser usada como sonda da concentração de antioxidante no biodiesel. Em resumo, a espectroscopia UV-Vis de absorção e de fluorescência podem ser técnicas úteis para a caracterização e controle de qualidade de biodiesel, uma vez que permitem o desenvolvimento de métodos que proporcionem resultados de uma forma rápida, simples e precisa.

ABSTRACT

The growing world energy consumption has raised environmental issues, leading to research alternative fuels. Biodiesel has emerged as an interesting alternative to be used in diesel engines. According to ANP (Brazilian Agency for Petroleum, Natural Gas & Biofuels), biodiesel can be classified as a mixture of alkyl esters of fatty acids, produced from vegetable oils or animal fats, and its use can reduce the emission of greenhouse gases when compared to using diesel. Several parameters are related to the quality of biodiesel and need to be standardized and monitored in an effective way. Several techniques based on optical spectroscopy have been used to monitor the quality of biodiesel such as FTIR and UV-Vis absorption. In this study we investigated the electronic transitions involved in the processes of absorption and fluorescence UV-Vis of biodiesel produced from different oil sources. Based on the absorption and fluorescence spectra of the standard methyl esters and methyl ester content in the biodiesel samples determined by gas chromatography with a flame ionization detector, it was possible to identify the methyl linolenate and linoleate as the compounds responsible for the absorption and fluorescence in biodiesel. The findings also indicate that methyl esters with more than two unsaturated (methyl linoleate and methyl linolenate) present the largest contribution to the fluorescence of biodiesel between 410-420 nm when excited between 280-350 nm. In its turn, the fluorescence intensity of methyl linolenate is larger than one observed in methyl linoleate because the later has only two unsaturations. Fluorescence of phenolic compounds such as synthetic antioxidants and tocopherols was observed around 315-340nm under excitation in the 280-310 nm range, while chlorophyll and β -carotene exhibit fluorescence in distinct spectral regions of the esters and phenolics. The heat treatment of the biodiesel resulted in changes in both intensity and profile of the UV-Vis absorption and fluorescence spectra of the undiluted samples with and without antioxidants. Any difference was not observed as a result of the addition of antioxidants in the biodiesel samples. Furthermore, it was verified that a fluorescence at around 330 nm observed in the samples containing antioxidants might be used as probe of the concentration of antioxidant in the biodiesel. In summary, the UV-Vis absorption and fluorescence spectroscopy can be useful techniques for characterization and quality control of biodiesel since they allow the development of methods that provide results in a quick, simple and precise way.

SUMÁRIO

Lista de Abreviações.....	i
Lista de Tabelas.....	ii
Lista de Figuras.....	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vi
Sumário.....	vii
Capítulo 1. Introdução	01
Capítulo 2. Fundamentação teórica.....	03
2.1 Biodiesel.....	03
2.2 Produção de Biodiesel.....	03
2.3. Matéria-prima.....	05
2.4 Estabilidade do biodiesel.....	07
2.5 Espectroscopia molecular.....	09
2.6 Espectroscopia de absorção IV (FTIR)	10
2.7 Espectroscopia de absorção UV-Vis.....	12
2.8 Espectroscopia de fluorescência	14
2.9 Cromatografia Gasosa com detector de ionização em chama.....	16
Capítulo 3. Objetivo	17
3.1 Objetivo geral	17
3.2 Objetivos específicos	17
Capítulo 4. Materiais e métodos	18
4.1 Produção de biodiesel	18
4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de fourier (FT-IR)	19
4.3 Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis	19
4.4 Espectroscopia de fluorescência molecular UV-Vis.....	19
4.5 Identificação dos ésteres metílicos via CG-DIC	20
4.6 Estudo da identificação dos fluoróforos no biodiesel	20
4.7 Estudo da estabilidade térmica	21
4.8 Estudo quantificação de antioxidantes sintéticos no biodiesel	21

Capítulo 5. Resultados e discussão.....	23
5.1 Estudo da reação de transesterificação	23
5.2 Identificação dos ésteres metílicos via CG-DIC	25
5.3 Estudo da identificação dos fluoróforos no biodiesel	26
5.3.1 Espectroscopia de absorção UV-Vis	26
5.3.2 Espectroscopia de fluorescência UV-Vis.....	32
5.4 Estudo da estabilidade térmica	39
5.5 Estudo da quantificação de antioxidantes sintéticos no biodiesel	45
Capítulo 6. Considerações finais	48
Capítulo 7. Referências bibliográficas	49

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O acelerado desenvolvimento tecnológico, que teve início com a revolução industrial, favoreceu o aumento da degradação ambiental devido à quantidade crescente de resíduos produzidos. Com as evidentes mudanças climáticas no planeta e a diminuição das fontes de obtenção de petróleo, a degradação ambiental começou a merecer atenção em todo o mundo. Deste ponto então, estudos e análises de novas fontes energéticas que seriam sustentáveis, renováveis e biodegradáveis começaram a ser desenvolvidos. A procura por fontes energéticas que possam ser alternativas à utilização de combustíveis fósseis, agora possuem um pretexto não somente político e ideológico, e sim econômico, e mais recentemente uma crescente preocupação ambiental [1].

A emissão de poluentes na atmosfera vem contribuindo para o agravamento do efeito estufa, causando graves danos à saúde da população do planeta e ao meio ambiente. Chuva ácida, poluição química e mudanças climáticas muito mais acentuadas são alguns dos resultados desses efeitos. Os principais causadores do aumento de poluentes na atmosfera são os combustíveis fósseis, por exemplo, partículas em suspensão, partículas inaláveis, fumaça, dióxido de enxofre (SO_2) e inúmeros óxidos [2].

Nesse contexto desponta o biodiesel produzido a partir de óleos vegetais, um combustível alternativo, ambientalmente saudável e de fácil disponibilidade [3]. Os óleos vegetais são produtos que possuem aplicação em diversos setores industriais como o farmacêutico, perfumaria, lubrificação, cosmético, alimentício, medicina popular, entre outros. Os óleos são compostos principalmente de triglicerídeos, que são ésteres formados por ácidos carboxílicos de cadeia longa e glicerol, não possui enxofre em sua composição e apresenta elevado poder calorífico, o que os torna matéria-prima atrativa para a produção de biodiesel [4,5].

O Brasil possui vasta biodiversidade, com isto uma variedade de oleaginosas espalhadas por todo o território nacional, algumas delas com alto rendimento lipídico e extenso potencial de mercado. Em comparação com outros países, a produção nacional do biodiesel é estratégica não apenas pela variedade de matéria-prima, mas pelas enormes áreas produtivas, muitas delas de ocorrência natural para várias oleaginosas [4,5].

As propriedades físico-químicas dos biodieseis derivados de óleos vegetais são influenciadas pelos tipos e teores de ácidos graxos presentes em sua composição. Alguns dos ácidos que constituem os diferentes óleos estão exibidos na Tabela 1.1. Estudos reportam que o biodiesel quando armazenado é mais susceptível ao processo de oxidação do que o diesel fóssil convencional, a menos que sua composição seja alterada por aditivos, que retardam esse processo oxidativo [6,7].

Tabela 1.1: Composição média dos ácidos graxos presentes em diferentes óleos [8].

Matéria-prima	Palmítico	Esteárico	Oleico	Linoleico	Linolênico
Soja	10,3	4,7	22,5	54,1	8,3
Canola	2,7	2,8	21,9	13,1	8,6
Girassol	6,0	5,9	16,0	71,4	0,6
Milho	9,9	3,1	29,1	56,8	1,1

CAPÍTULO 2

FUNDAMETAÇÃO TEÓRICA

2.1 BIODIESEL

Segundo a ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis), os biocombustíveis são derivados de biomassa renovável que podem substituir, parcial ou totalmente, combustíveis derivados de petróleo em motores a combustão ou em outro tipo de geração de energia [9].

Os dois principais biocombustíveis líquidos usados no Brasil são o etanol extraído de cana-de-açúcar e, em escala crescente, o biodiesel, que é produzido a partir de óleos vegetais ou de gorduras animais e adicionado ao diesel de petróleo em proporções variáveis [9].

No Brasil a Lei nº 11.097 de 13 de janeiro de 2005 define o biodiesel como “qualquer combustível alternativo de natureza renovável que possa oferecer vantagens sócio-ambientais ao ser empregado na substituição total ou parcial do diesel de petróleo, em motores de ignição por compressão interna”. A definição química de biodiesel é apresentada no Art. 2º da resolução de diretoria da ANP nº 207 de 19 de março de 2008: “Biodiesel é um combustível composto de alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou gorduras animais” [9]. Este é obtido geralmente pela reação dos triacilglicerídeos, constituintes destas matérias primas, com metanol ou etanol, na presença de base forte, o qual é designado B100. A reação é conhecida como transesterificação [3,9].

2.2 PRODUÇÃO DO BIODIESEL

Existem várias técnicas para a obtenção do biodiesel, como craqueamento térmico-catalítico, esterificação de ácidos graxos e transesterificação de triglicerídeos. Dentre essas, a mais difundida é a transesterificação por fornecer alto rendimento, baixo investimento em

equipamentos utilizados para a produção, por ser baseada em uma tecnologia simples e de fácil assimilação [10].

A reação de transesterificação ocorre através de reações consecutivas e reversíveis (Figura 2.1). Nessa reação, são formados di-glicerídeos e mono-glicerídeos como compostos intermediários. Apesar da estequiometria geral da equação requerer três mols do álcool para cada mol de triglicerídeo, a reversibilidade das reações exige excesso de álcool no meio reacional para promover aumento no rendimento [11].

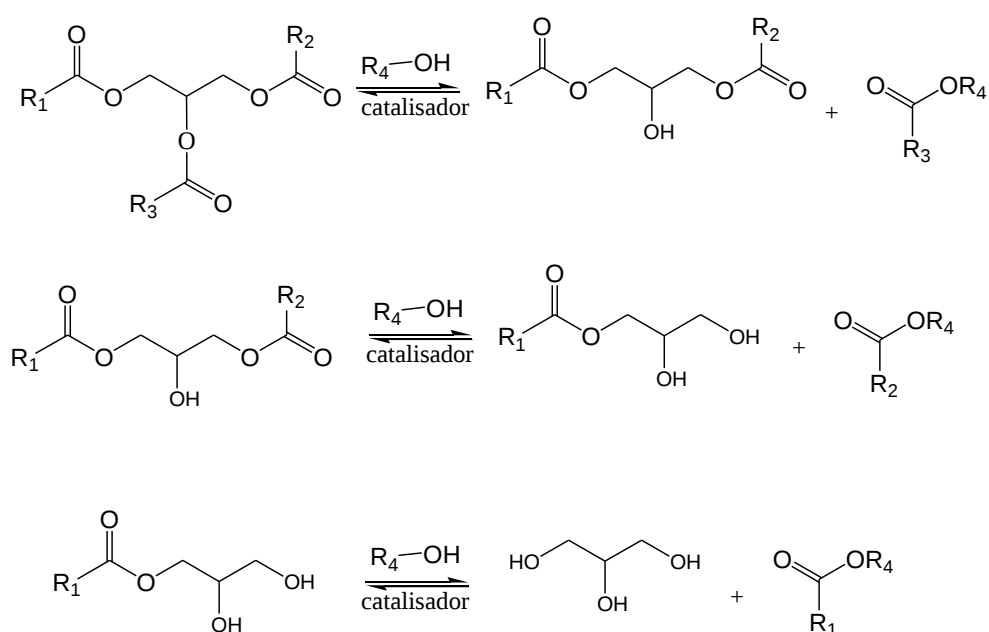


Figura 2.1 - Reação de transesterificação [11].

Na presença de água é também verificado o equilíbrio entre os diferentes ésteres e seus respectivos ácidos graxos e álcoois (glicerina e/ou álcoois), conforme ilustrado na Figura 2.2.

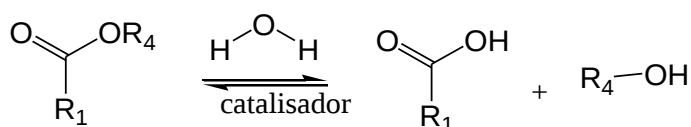


Figura 2.2 - Reação de hidrólise do éster [11].

A reação de formação de ésteres através de ácidos graxos é denominada de esterificação (Figura 2.3), sendo necessário neste caso o ácido graxo e o

álcool para que a reação se processe. A reação pode ser catalisada por catalisadores ácidos de Brønsted ou de Lewis e básicos de Lewis, ou enzimas [12].

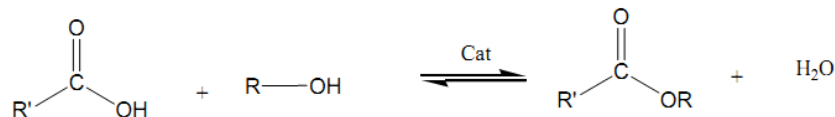


Figura 2.3 - Reação de esterificação de um ácido graxo [11].

O processo de craqueamento ou pirólise de óleos e gorduras, mostrado na Figura 2.4 pode ocorrer em temperaturas acima de 350 °C, na presença ou ausência de catalisador. Nesta reação, a quebra das moléculas dos triglicerídeos leva à formação de uma mistura de hidrocarbonetos e compostos oxigenados, lineares ou cíclicos, tais como alcanos, alcenos, cetonas, ácidos carboxílicos e aldeídos, além de monóxido e dióxido de carbono e água. O tamanho e número de insaturações dos compostos obtidos dependem da estrutura química dos triglicerídeos e de reações consecutivas dos produtos formados [11].

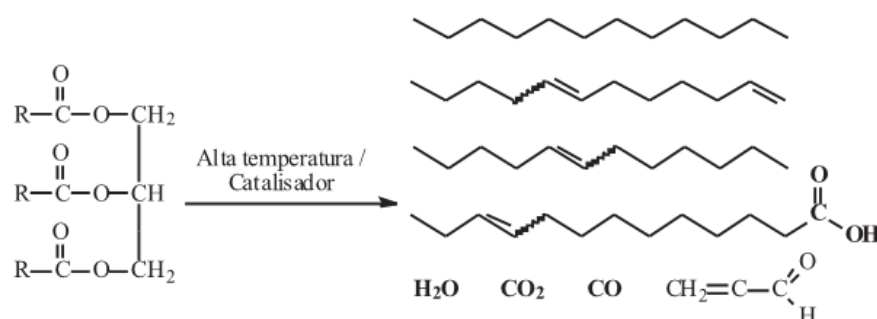


Figura 2.4 - Mecanismo de craqueamento ou pirólise de óleos e gorduras [11].

2.3 MATÉRIA-PRIMA

Óleos e gorduras são substâncias de origem vegetal ou animal que devido à sua composição química são insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos, tais como o hexano. Uma das principais diferenças entre um óleo e uma gordura está no aspecto físico. Uma vez que os óleos são definidos como substâncias líquidas à temperatura ambiente, e as gorduras

são caracterizadas como substâncias sólidas nas mesmas condições. Os óleos e gorduras são compostos por triglicerídeos ou triacilgliceróis em maior proporção [13].

Os óleos e gorduras apresentam ainda em sua composição, ácidos graxos, que são ácidos carboxílicos de cadeia longa e que podem conter insaturações na cadeia carbônica. O número de insaturações varia de acordo com a fonte oleaginosa e existe o predomínio de isômeros cis. Os ácidos graxos saturados organizam-se com facilidade devido às fortes atrações de Van der Waals, fazendo com que possuam um ponto de fusão relativamente elevado. Os pontos de fusão aumentam com o aumento do peso molecular. Devido à configuração cis da ligação dupla de um ácido graxo insaturado a estrutura da molécula tende à formação de uma curva rígida causando a diminuição da atração de Van der Waals, entre as moléculas. Dessa forma os ácidos graxos que possuam insaturações apresentam pontos de fusão mais baixos do que os ácidos graxos saturados [14].

O uso de óleos vegetais como combustível apresenta varias vantagens, tais como: elevado poder calorífico, pequena quantidade de enxofre em sua composição e sua fonte de origem é renovável. Os óleos vegetais podem ser obtidos de diversas fontes como soja, mamona, macaúba, dendê, girassol, canola e milho. Há também de óleos residuais, como os óleos utilizados em restaurantes. A utilização direta desses óleos nos motores pode causar diversos problemas, pois apresentam alta viscosidade, densidade relativa elevada e baixa volatilidade. Estas propriedades físico-químicas causam inúmeros problemas devido à combustão incompleta, formação de depósitos nos bicos injetores, baixa taxa de lubrificação, entupimento nos filtros de óleo, comprometendo assim a vida útil do motor [15,16]

A transformação dos óleos e gorduras, de origem vegetal ou animal, em biodiesel é de grande importância para o setor energético, pois o biodiesel possui muitas características físico-químicas semelhantes ao óleo diesel. Quando comparados, a queima do biodiesel forma menos fuligem do que o diesel convencional, isto pode ser devido ao biodiesel ser composto por ésteres e possuir pequena quantidade de compostos aromáticos, responsáveis pela queima incompleta do combustível [16].

Para o Brasil, o biodiesel é uma opção atraente devido ao grande potencial de nosso território para a produção de óleos vegetais. Assim a produção de biodiesel possibilita o desenvolvimento das lavouras, tanto de grandes produtores quanto de pequenos [1,4,5].

2.4 ESTABILIDADE DO BIODIESEL

A manutenção da qualidade do biodiesel produzido a partir de oleaginosas, durante o armazenamento e no momento de uso, constitui um importante aspecto técnico a ser avaliado. A resistência à oxidação é um aspecto relevante dentro do ciclo de existência do biodiesel uma vez que os óleos vegetais contendo ésteres de ácidos graxos insaturados tais como linoléico e linolênico são sensíveis à oxidação [16,17]. Esses ésteres sob condições de calor, radiação ultravioleta, umidade, ar atmosférico e metais, mesmo que por pouco tempo, induzem o biodiesel ao processo oxidativo (formação de radicais livres, combinação com oxigênio, formação e clivagem de peróxidos nas insaturações, liberação de aldeídos, ácidos carboxílicos e formação de polímeros) [18]. Os produtos gerados causam corrosão no motor e obstrução nos filtros e no sistema de injeção.

Os biodieseis podem ser oxidados por diferentes mecanismos, como exemplos reações hidrolíticas, oxidação enzimática, fotoxidação e autooxidação. Nas reações hidrolíticas as reações são catalisadas pelas enzimas ou pela ação de calor e umidade, com formação de ácidos graxos livres levando à formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas, que podem envolver-se em diferentes reações degradativas [19,20].

Os processos de degradação de óleos e do biodiesel podem ser retardados com a utilização de agentes antioxidantes. Os tratamentos com inibidores de oxidação são promissores, uma vez que facilitam a estocagem em tanques já existentes e permitem a manipulação dos combustíveis sem requerer melhoramentos ou nova estrutura para armazenamento. Antioxidantes como BHA (butil-hidroxi-anisol), BHT (butil-hidroxi-Tolueno), TBHQ (terc-butil-hidroquinona) e propil galato (PG) são conhecidos por retardarem efeitos de oxidação, no aumento da viscosidade, acidez e índice de peróxido do biodiesel

[17,21]. Além dos ésteres, ácidos graxos e compostos fenólicos, os óleos e seus respectivos biodieseis apresentam em sua composição tocoferóis, tocotrienóis e carotenóides que são antioxidantes naturais presentes em óleos de origem vegetal. A Figura 2.5 apresenta a estrutura dos principais antioxidantes utilizados em óleos e no biodiesel.

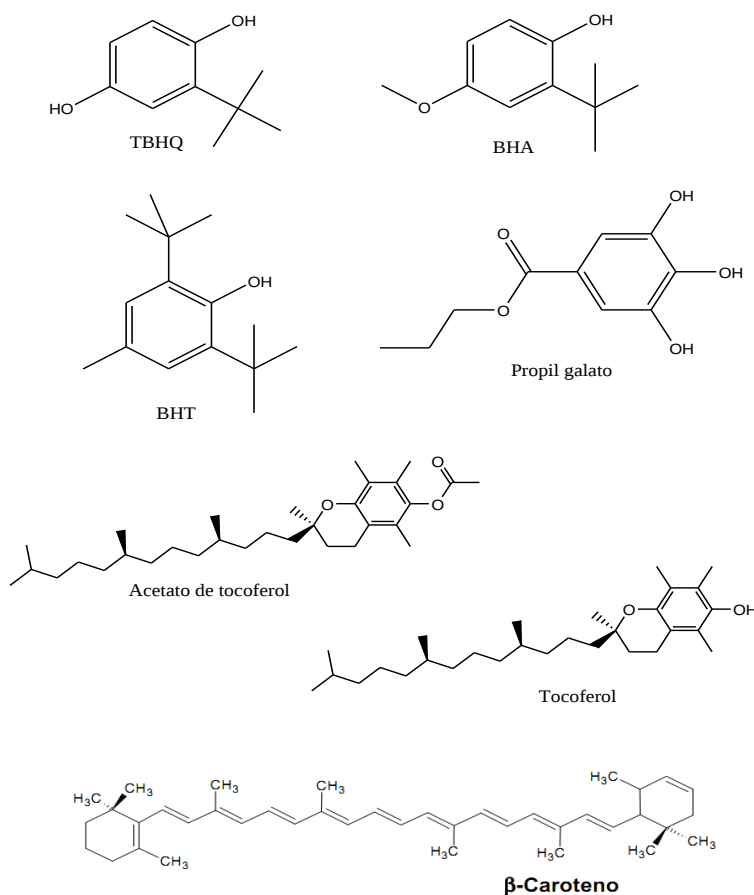


Figura 2.5 - Principais antioxidantes utilizados em óleos e biodiesel [17].

Os parâmetros físico-químicos do biodiesel tais como índice de acidez, iodo e peróxido são indicadores de degradação. O índice de acidez revela o estado de conservação do óleo, sendo definido como o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ácidos livres de 1 grama de biodiesel. A decomposição dos glicerídeos é acelerada por aquecimento e pela incidência da luz, e a rancidez é quase sempre acompanhada pela formação de ácido graxo livre. Altos índices de acidez têm efeito bastante negativo sobre a qualidade do óleo, a ponto de torná-lo

impróprio para a alimentação humana ou até mesmo para fins carburantes. Além disso, a pronunciada acidez dos óleos/biodieseis pode catalisar reações intermoleculares, ao mesmo tempo em que afeta a estabilidade térmica do combustível na câmara de combustão. Também, no caso do emprego carburante do óleo/biodiesel, a elevada acidez livre tem ação corrosiva sobre os componentes metálicos do motor [21,22]. Assim, torna-se necessário investigar metodologias que possam ser utilizadas no monitoramento da degradação termo-oxidativa sofrida pelo biodiesel durante o armazenamento e a influência sofrida pela adição de aditivos antioxidantes.

2.5 ESPECTROSCOPIA MOLECULAR

A espectroscopia molecular investiga a variação da energia interna quando uma molécula absorve, emite ou espalha a radiação eletromagnética em quantidades discretas ou quantizadas. Esta variação de energia pode estar associada à excitação dos elétrons [23].

Uma transição entre níveis eletrônicos representa a energia requerida para promover um elétron de um orbital molecular do estado fundamental para um orbital molecular de mais alta energia. A transição eletrônica ocorre por absorção de fótons. A absorção de luz na região do visível é responsável pelo aparecimento de cor em determinadas substâncias [24].

Os orbitais moleculares encontrados no estado fundamental são do tipo σ (sigma) formados em ligações simples, π (pi) que ocorre em ligações duplas e triplas, e ainda n não-ligantes provenientes dos pares livres dos heteroátomos, como oxigênio, nitrogênio e enxofre. A formação de uma ligação química leva a formação de dois orbitais moleculares, um ligante e um antiligante do tipo sigma (σ^*) e pi (π^*) que representam o estado excitado de σ e π , respectivamente. As transições eletrônicas envolvidas nas regiões do ultravioleta e do visível são dos seguintes tipos: $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$. A Figura 2.6 representa o ordenamento dos orbitais em termos de energia relativas, com as possíveis transições [23]

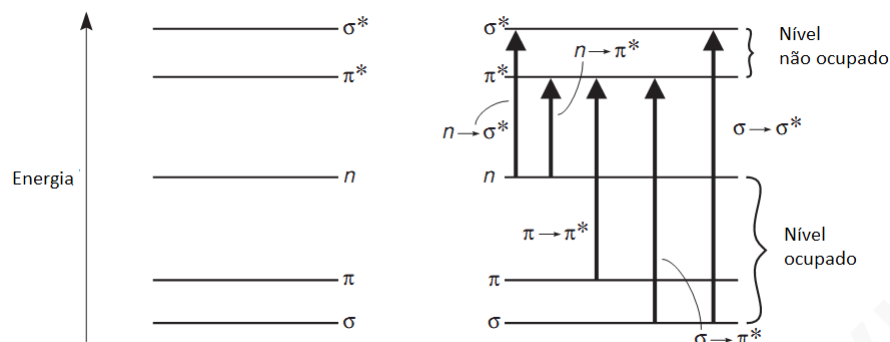


Figura 2.6 - Esquema de níveis de energia de excitação eletrônica [23]

Compostos onde os elétrons da camada de valência estão envolvidos na formação de ligações simples (σ), como os hidrocarbonetos saturados, não apresentam absorção na região ultravioleta (200 a 400 nm) pois a energia envolvida na transição $\sigma \rightarrow \sigma^*$ é muito alta, por exemplo, o hexano apresenta um máximo de absorção em torno de 135 nm [23]. Compostos que contêm elétrons não ligantes em átomos de oxigênio, enxofre ou halogênios podem absorver energia em comprimentos de onda entre 150 a 250 nm em decorrência das transições $n \rightarrow \sigma^*$, pois estas transições envolvem menor energia do que transições $\sigma \rightarrow \sigma^*$, em consequência, moléculas contendo elétrons não ligantes geralmente mostram absorção na região do ultravioleta (nm). As transições eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$ envolvem menor quantidade de energia e podem ser observadas numa região do espectro que vai do ultravioleta ao infravermelho próximo [23,24].

2.6 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO IV (FT-IR)

O espectro de absorção no infravermelho de uma dada substância é característico das moléculas constituintes. É justamente a presença de bandas de absorção que permite a identificação de estruturas moleculares específicas de cada composto verificando assim a sua identidade [25].

A radiação infravermelha na região do infravermelho médio normalmente não possui energia suficiente para produzir transições eletrônicas nas moléculas, mas ela é capaz de fazer com que os átomos ou moléculas vibrem

ao redor das ligações saturadas ou insaturadas. Quando essas vibrações moleculares resultam em alteração do momento de dipolo e, conseqüentemente, da variação do arranjo eletrônico ao redor das ligações, pode-se induzir transições entre os níveis vibracionais tornando possível sua detecção pelo espectrofotômetro [23,25].

O formato usual de um espectro de absorção no infravermelho é o de transmitância versus número de onda. As características de um espectro FT-IR estão diretamente relacionadas à estrutura molecular de um composto. A região do infravermelho compreende vibrações fundamentais de grupos atômicos. Sempre que tais grupos vibram, apresentam faixas de absorção no infravermelho e desta forma é possível identificar grande parte dos grupos funcionais que compõem um dado material [23,25].

As vibrações moleculares podem ser classificadas em duas principais componentes fundamentais que são as vibrações de deformação axial e de deformação angular. Uma deformação axial é uma oscilação radial ao longo do eixo de ligação da molécula que faz com que as distâncias interatômicas aumentem e diminuam alternadamente. A deformação angular envolve mudanças dos ângulos de ligação em relação a um átomo comum ou conjunto de átomos sem que as posições relativas dos átomos se alterem [23,25]. O espectro de absorção na região do infravermelho permite investigar a constituição das moléculas em estudo. As regiões são divididas em infravermelho próximo (NIR) de 12500-4000 cm^{-1} , infravermelho longínquo (FIR) de 400-10 cm^{-1} e o infravermelho médio (MIR) de 4000-400 cm^{-1} . A figura 2.7 mostra alguns exemplos de vibração.

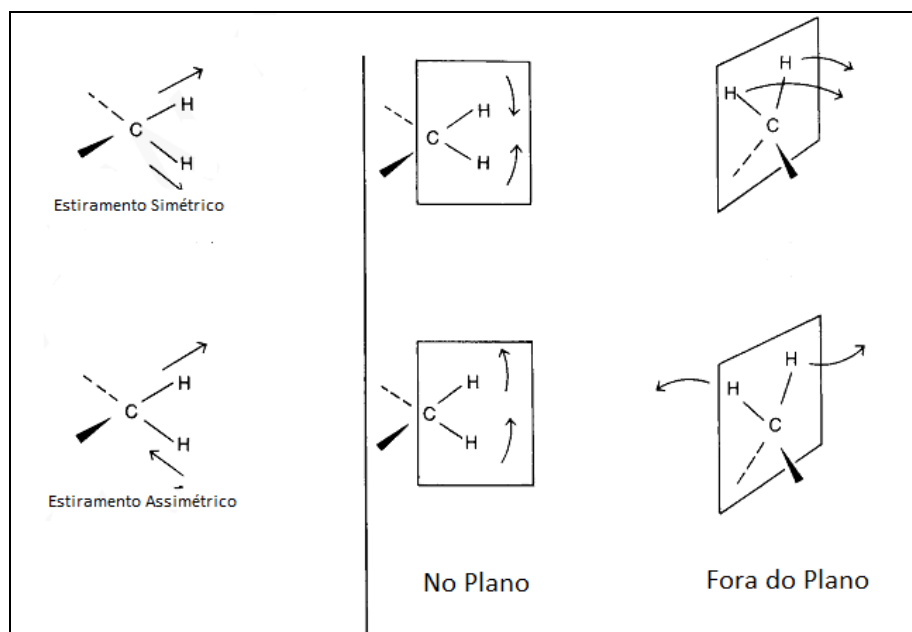


Figura 2.7 - Modos vibracionais típicos no infravermelho [23].

Técnicas espectroscópicas tornaram-se ótimas ferramentas para análise de biodiesel fornecendo resultados de forma rápida e precisa. Várias dessas técnicas, dentre elas espectroscopia de absorção na região ultravioleta-visível-infravermelho (UV-Vis-IV), fluorescência e Raman, tem sido utilizadas com sucesso no estudo de biodiesel [26-32].

2.7 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO UV-Vis

Um dos processos de interação da radiação eletromagnética com a matéria é a absorção, onde parte da energia radiante incidindo em um material é transferida para excitar moléculas de estados de menor energia para estados de energia mais alta. Quando um fóton encontra uma molécula ele pode ser espalhado ou pode ser absorvido. A ocorrência de cada processo depende da molécula estudada. Uma molécula ou parte de uma molécula que pode ser excitada pela absorção de luz é chamada de cromóforo [23,24]

Cada molécula pode absorver frequências características da radiação eletromagnética. Esse processo transfere energia para a molécula e resulta em um decréscimo da intensidade da radiação eletromagnética incidente.

A lei de absorção, conhecida como lei de Lambert-Beer, revela quantitativamente como absorção da energia depende da concentração das moléculas absorventes e do caminho onde ocorre a absorção. Conforme a radiação atravessa um meio que contém o analito que absorve em uma dada frequência, um decréscimo de intensidade ocorre na proporção que o analito é excitado. Em uma solução com concentração fixa do analito, quanto mais longo for o comprimento do caminho óptico, mais centros absorventes estarão no caminho, e maior será a absorção da radiação. Para um caminho óptico fixo, quanto maior for a concentração de grupos absorvedores, mais forte será a absorção ou atenuação [24].

A Figura 2.8 mostra a atenuação de um feixe de radiação monocromática que atravessa uma solução de espessura de ***b*** (cm) e contém um analito absorvente de concentração igual a ***c*** (mols por litro). Devido às interações entre os fótons e as partículas absorventes, a potência radiante do feixe decresce de P_0 a P . Equação 2.1 expressa a transmitância T da solução, a qual é a fração da radiação incidente transmitida pela solução.

$$T = P/P_0$$

Equação 2.1

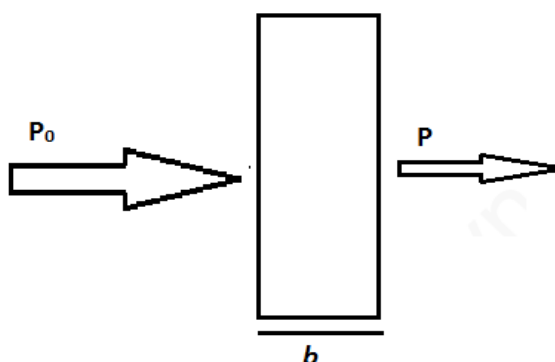


Figura 2.8 - Interação de radiação com a matéria [24].

A Equação 2.2 mostra a relação da absorbância A de uma solução que contém um grupo absorvedor com a transmitância de forma logarítmica. Portanto, quando a absorbância de uma solução aumenta, a transmitância diminui.

$$A = -\log T = \log P_0/P$$

Equação 2.2

Segundo a lei de Lambert-Beer, a absorbância é diretamente proporcional à concentração de uma espécie absorvente c e ao caminho óptico b , como expresso pela Equação 2.3.

$$A = \log (P_0/P) = abc \quad \text{Equação 2.3}$$

Na Equação 2.3 a é uma constante de proporcionalidade denominada absortividade. Como a absorbância é uma grandeza adimensional a absortividade deve ter unidades que cancelam as unidades de b e c . Quando expressamos a concentração na Equação 2.3 em mols por litro e b em centímetros, a constante de proporcionalidade é chamada absortividade molar, ϵ , e sua unidade é expressa $\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, portanto.

$$A = \epsilon bc \quad \text{Equação 2.4}$$

2.8 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA UV-Vis

A luminescência molecular é a emissão de luz a partir de transições eletrônicas de ligações químicas de determinadas moléculas, e ocorre a partir de estados eletronicamente excitados. É dividida em fluorescência e fosforescência, dependendo da natureza do estado excitado. Se o estado excitado envolvido é singleto, onde o spin do elétron no orbital excitado mantém sua orientação original, tem-se a fluorescência. Por outro lado, na fosforescência, a orientação do elétron que foi promovido ao estado excitado é invertida (estado excitado tripleto). (Figura 2.9) [33]. A fluorescência é um processo no qual os átomos ou moléculas são excitados após a absorção de radiação eletromagnética. A espécie que se encontra no estado excitado então relaxa, voltando ao estado fundamental, liberando excesso de energia como fótons. O tempo de vida de uma espécie no estado excitado é relativamente curto, pois existem diversos mecanismos pelos quais um átomo ou molécula excitada podem liberar seu excesso de energia e relaxar para o estado fundamental [24,33]

Processos de conversão interna, isto é, a passagem da molécula de um estado eletrônico de mais alta energia com nível vibracional de mais baixa energia para um estado eletrônico de mais baixa energia, mas com nível vibracional excitado, ocorrem na escala de tempo de 10^{-12} s.

Decaimentos não-radiativos podem continuar a ocorrer até o estado fundamental (também por conversão interna). Esses decaimentos ocorrem em tempos que variam de 10^{-12} s a 10^{-6} s. A taxa de decaimento radiativo situa-se em torno de 10^7 s^{-1} a 10^8 s^{-1} . Como essas emissões ocorrem muito mais provavelmente do nível vibracional menos energético, portanto, após haver ocorrido decaimentos não-radiativos, na maioria dos casos, a energia do fóton emitido é menor que a do fóton absorvido. A fluorescência de uma molécula é o decaimento de um estado excitado para o estado fundamental por meio de emissão espontânea de um fóton [33].

Uma vantagem da espectroscopia de fluorescência é a grande faixa de concentração do fluoróforo em que as medidas de intensidade mantêm uma relação linear, dessa forma simplifica o procedimento laboratorial de rotina. Outro fator importante é que métodos de espectroscopia por fluorescência são muito mais seletivos. Porém, a técnica é limitada a um número relativamente pequeno de estruturas moleculares que apresentam fluorescência [24]. A figura 2.9 mostra o diagrama de Jablonski onde são mostradas esquematicamente as diferentes formas de decaimento para elétrons excitados.

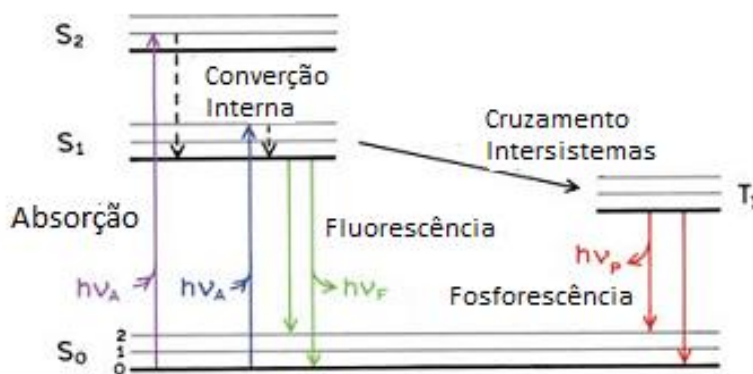


Figura 2.9 - Diagrama de Jablonski [33].

2.9 CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR DE IONIZAÇÃO EM CHAMA (CG-DIC)

Na cromatografia gasosa, uma amostra é vaporizada e os componentes presentes são separados entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida ou sólida contida dentro da coluna. Um gás inerte promove a eluição da amostra pela coluna. Diferente de outros métodos cromatográficos a fase não interage com as moléculas do analito e somente possui a função de transportar o analito através da coluna [24].

Vários detectores podem ser utilizados em cromatografia gasosa, dependendo do analito a ser investigado. O detector de ionização em chama (DIC) é o mais empregado em aplicações da cromatografia gasosa de compostos orgânicos. O efluente da coluna é dirigido para uma pequena chama de ar/hidrogênio. A maioria dos compostos orgânicos produz íons e elétrons quando pirolizados à temperatura de uma chama ar/hidrogênio. A detecção envolve o monitoramento da corrente produzida pela coleta desses portadores de carga. Poucas centenas de volts são aplicadas entre a ponta do queimador e um eletrodo, localizado acima da chama, serve para coletar os íons e elétrons. O detector de ionização em chama é sensível para grupos funcionais como carbonila, álcool, halogênicos e amínicos produzem. Além disso, o detector não é sensível para gases como H_2O , CO_2 , SO_2 e NO_x . Essas propriedades tornam o detector de ionização em chama muito mais útil para a análise de amostras orgânicas, incluindo aquelas contaminadas com água e com óxidos de nitrogênio e enxofre. Este tipo de detector exhibe elevada sensibilidade e ampla faixa linear de resposta [24].

CAPÍTULO 3

OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os principais compostos fluorescentes em biodiesel. Monitorar como a absorção e fluorescência desses compostos se alteram em decorrência do tratamento térmico e interação com antioxidantes.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinação dos principais fluoróforos presentes no biodiesel por meio da espectroscopia de fluorescência e absorção molecular UV-Vis;
- Monitorar o efeito da termo-oxidação induzida no biodiesel de óleo de soja, com a adição de anti-oxidante TBHQ, BHT, BHA, através de medidas de absorção UV-Vis e fluorescência na região do visível;
- Avaliar a interação dos antioxidantes em diferentes concentrações com o biodiesel através da técnica de espectroscopia de fluorescência.

CAPÍTULO 4

MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PRODUÇÃO DE BIODIESEL

As amostras de biodiesel foram obtidas a partir do óleo de soja, milho, girassol e canola (LIZA[®]) através do processo de transesterificação, utilizando rota metílica.

Foi utilizado catalisador hidróxido de sódio (NaOH) dissolvido em álcool metílico (metanol) para formar o metóxido de sódio utilizando uma placa de agitação magnética à temperatura ambiente. Em seguida, ao óleo foi adicionada essa solução e mantida em torno de 60°C e agitada por aproximadamente 60 minutos, para ocorrer o processo de transesterificação. Após este procedimento, a mistura é constituída de duas fases, separáveis por decantação. A fase mais pesada composta por glicerina, catalisador e resíduos do álcool e do óleo. A fase menos densa é composta principalmente por uma mistura de ésteres metílicos (Figura 4.1). Depois de aproximadamente 24 horas de decantação, a fase mais pesada foi removida. Após a separação das duas fases, o biodiesel foi submetido a um processo de lavagem com água para remover resíduos do álcool, do catalisador e glicerina presentes no biodiesel. E, finalmente, a fase aquosa foi separada do biodiesel por decantação. Após lavagem o biodiesel foi filtrado com papel de filtro qualitativo na presença de sulfato de sódio anidro para retirada da água remanescente.



Figura 4.1 - Separação do biodiesel e glicerina.

4.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR)

Medidas de absorção na região do infravermelho foram realizadas em um espectrofotômetro por transformada de Fourier (FT-IR) modelo 4100, marca JASCO, equipado com um acessório de reflectância total atenuada com cristal de Seleneto de Zinco (ZnSe). Os espectros de absorção no infravermelho médio das amostras foram obtidos a temperatura ambiente. As medidas de foram realizadas utilizando uma resolução de 2 cm^{-1} e 64 varreduras, a fim de se verificar a presença de ácidos graxos no biodiesel, bem como avaliar a reação de transesterificação.

4.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO UV-Vis

Medidas de absorção na região do ultravioleta-vísivel (UV-Vis) foram realizadas utilizando um espectrofotômetro Cary 50 (Varian). Uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 0,5 mm foi utilizada nas medidas no biodiesel degradado em função da temperatura, em diluição da amostra. Uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm com as quatro faces polidas foi utilizada nas medidas das amostras de biodiesel e padrões diluídos a fim de obter os espectros de absorção UV-Vis característicos.

4.4 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

Medidas de espectroscopia de fluorescência foram realizadas em um espectrofluorímetro Cary Eclipse (VARIAN). Este espectrofotômetro contém dois monocromadores, um para a seleção do comprimento de onda de excitação e outro para a seleção do comprimento de onda emitido pela amostra. Uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm e as quatro faces polidas foi utilizada para as análises do biodiesel e padrões diluídos a fim de se obter os espectros de fluorescência para cada amostra. Medidas de

fluorescência foram utilizadas para o estudo da degradação do biodiesel e sua interação com antioxidantes sintéticos.

4.5 IDENTIFICAÇÃO DOS ÉSTERES METÍLICOS VIA CG-DIC

Medidas de cromatografia gasosa foram realizadas nas amostras de biodiesel diluídas em n-hexano na concentração de 10^{17} moléculas/cm³, a fim de se conhecer a identidade dos biodieseis, bem como o teor de ésteres presentes em cada biodiesel. O equipamento utilizado foi o Thermo Scientific, FOCUS GC, equipado com detector de ionização em chama usando uma coluna OV-5 com as dimensões 30 m de comprimento X 0,25mm de diâmetro X 0,25 µm de espessura de filme; pressão constante de 0,8 Bar/ mL; volume de injeção, razão de split (1:20) e temperatura do injetor de 250°C. Programação do forno 70°C por 5 minutos; velocidade de 5°C por minuto até 100°C; velocidade de 20°C por minuto até 260°C; velocidade de 0,1°C por minuto até 261°C; velocidade de 20°C por minuto até 270°C e temperatura do detector de 280°C.

4.6 ESTUDO DA IDENTIFICAÇÃO DOS FLUORÓFOROS NO BIODIESEL

Medidas de absorção UV-Vis e fluorescência foram realizadas utilizando padrões de ésteres metílicos, da marca Sigma-Aldrich (palmitato de metila, estearato de metila, miristato de metila, oleato de metila, linoleato de metila, linolenato de metila e β-caroteno), a fim de avaliar a contribuição dessas moléculas nos espectros de absorção e fluorescência. Os padrões e as amostras de biodieseis foram diluídos em n-hexano grau HPLC na concentração de 10^{17} moléculas/cm³. No caso do biodiesel, foi considerada a massa molar média dos ésteres metílicos.

Os espectros de absorção e fluorescência da clorofila *a* e *b* presentes na maioria dos óleos de origem vegetal foi avaliada. Para tal, um extrato metanólico obtido a partir de folhas verdes foi utilizado.

Medidas de fluorescência foram feitas excitando as amostras em 300 e 320 nm e monitorando a fluorescência desde 330 até 800 nm. Além disso, medidas de espectroscopia de excitação/emissão (3D) foram realizadas com excitação de 280 a 450nm e monitorando a emissão de 300 a 800nm em intervalos de 2nm e fendas de excitação e emissão abertas em 10nm. Também foram realizadas medidas de absorção molecular na região UV-Vis de 200 a 800nm. Uma cubeta de 10 mm de caminho com quatro faces polidas foi utilizada nos estudos.

4.7 ESTUDO DA ESTABILIDADE TÉRMICA

Amostras de biodiesel de soja foram submetidas ao teste acelerado de oxidação, sendo uma amostra isenta de antioxidantes e as demais contendo diferentes concentrações dos antioxidantes BHA, BHT e TBHQ.

Ao biodiesel foram adicionados antioxidantes nas concentrações de 100, 250, 500 e 1000 ppm (mg/Kg), em uma massa total de 200g de amostra.

As amostras foram submetidas ao aquecimento em diferentes temperaturas, sendo estas 25, 40, 50, 70, 90, 100, 120, 135, 150, 170, 190 e 210 °C, as amostras permaneceram durante 1h a cada temperatura, sendo o aquecimento cumulativo. Ao término de cada tratamento, uma alíquota da amostra foi retirada para realizar as medidas de absorção UV-Vis e fluorescência molecular. As medidas de fluorescência foram feitas excitando as amostras em 350 nm e monitorando a emissão de 360 e 800 nm. Para as medidas foi utilizada uma cubeta de 10 mm de caminho óptico. Também foram realizadas medidas de absorção molecular na região UV-Vis de 200 a 400 nm e uma cubeta de 0,5 mm foi empregada para as medidas.

4.8 QUANTIFICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS COM BIODIESEL

Amostras de biodiesel foram preparadas com diferentes concentrações do antioxidante BHA e TBHQ na faixa de 1000 a 8000 ppm (m/m). O antioxidante

sólido foi pesado e adicionado diretamente ao biodiesel previamente pesado, e então a mistura foi homogeneizada com o auxílio de uma barra magnética. Medidas de fluorescência foram realizadas após a diluição da mistura biodiesel/antioxidante em etanol 95% (SYNTH) a 10% (m/v). Os espectros de fluorescência foram obtidos a temperatura ambiente, com excitação fixada em 310nm e emissão monitorada entre 320 a 800nm. Uma cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico foi utilizada para as medidas.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

A Figura 5.1 ilustra a reação de transesterificação via catálise homogênea básica, onde um tri-éster reage com três moléculas de metanol levando à formação de três moléculas de ésteres metílicos de cadeia longa. O tri-éster é um triglicerídeo composto por três derivados de ácidos graxos, que estão presentes em maior proporção nos óleos estudados. Quando ocorre a reação de transesterificação, formam-se três moléculas dos respectivos ésteres metílicos e uma molécula de glicerol [8,10].

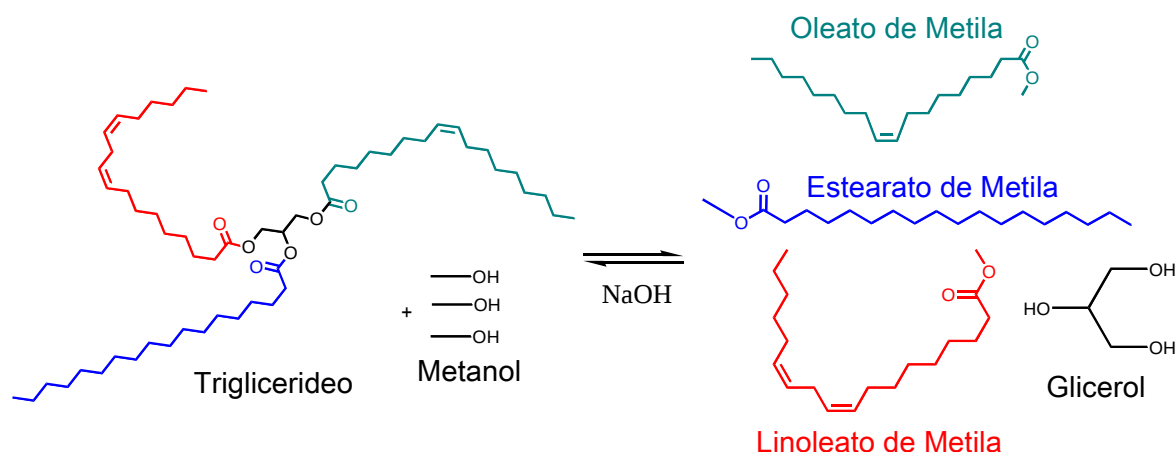


Figura 5.1 - Ilustração para reação de transesterificação via catálise básica.

Medidas de absorção na região do infravermelho médio (4000-500 cm⁻¹) foram feitas em nossas amostras a fim de caracterizar o biodiesel produzido e verificar se a reação se processou. Ésteres metílicos apresentam uma banda de absorção em torno de 1741 cm⁻¹ decorrente do estiramento do grupo carbonila R₁-(C=O)-OR₂ [23,25]. ZAGONEL *et al* monitoraram a reação de transesterificação etílica de óleo de soja degomado, utilizando um equipamento de FT-IR com amostras diluídas em pastilhas de KBr. Naquele trabalho, verificou-se que a banda de absorção do grupo carbonila obtida para o óleo estudado ocorre em números de onda maiores do que encontrados para o

respectivo biodiesel, sendo $1746,2\text{ cm}^{-1}$ para o óleo, e $1735,2\text{ cm}^{-1}$ para o biodiesel.

A Figura 5.2 exibe os espectros de absorção da região do infravermelho, e a estrutura química das amostras de tricaprina e miristato de metila (padrão). Os espectros obtidos indicam um deslocamento da banda em 1743 cm^{-1} que ocorre na molécula de tricaprina (um triéster sem insaturações) para 1741 cm^{-1} no miristato de metila (um éster de sem insaturações), estes resultados suportados pelos resultados de CG-FID indicam a conversão do triéster em éster metílico.

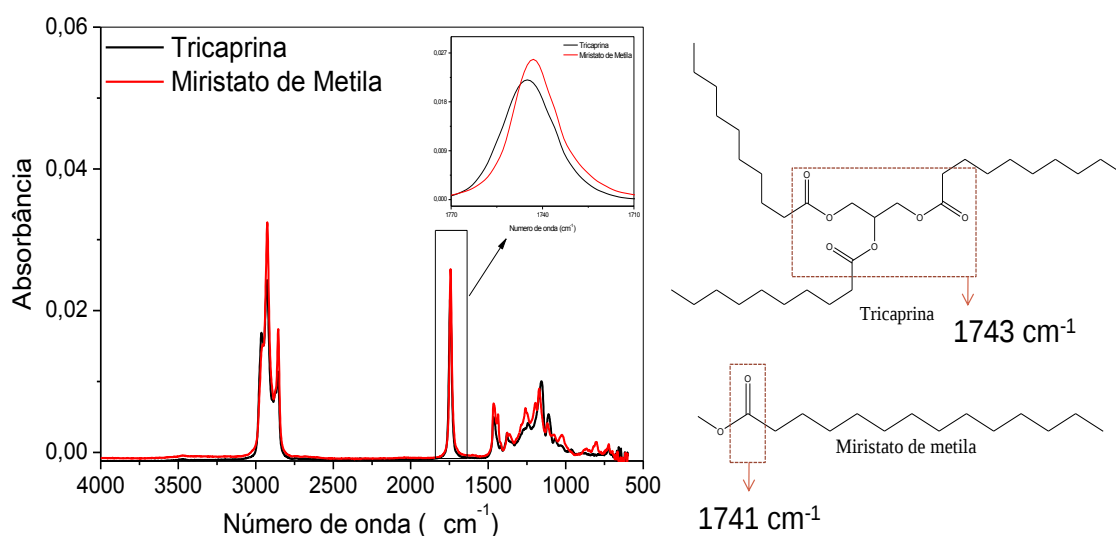


Figura 5.2 - Espectros de FT-IR e estrutura química das amostras de tricaprina e miristato de metila (padrão).

A Figura 5.3 apresenta os espectros de FT-IR obtidos para os óleos e respectivos biodieseis. Quando a reação de transesterificação se processa, a banda de absorção em 1743 cm^{-1} do triacilglicerol é deslocada para números de onda menores (energia menor), devido à formação de ésteres metílicos de cadeias menores do que os tri-ésteres de partida presentes nos óleos, como mostra a equação apresentada na Figura 5.1 [25,35,36].

O biodiesel obtido a partir de óleos com alto índice de acidez, degradados ou com elevado teor de umidade, tendem a apresentar ácidos graxos livres, que afetam a estabilidade do biodiesel [8]. Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos que exibem uma estrutura $R-(C=O)-OH$ apresentando absorção característica de grupos OH em torno de 3300 e 2500 cm^{-1} . As amostras de biodiesel e óleos estudados não apresentam essa banda associada à água e

ácidos graxos, indicando que os biodieseis produzidos apresentam uma concentração reduzida de grupos OH [25,35,36].

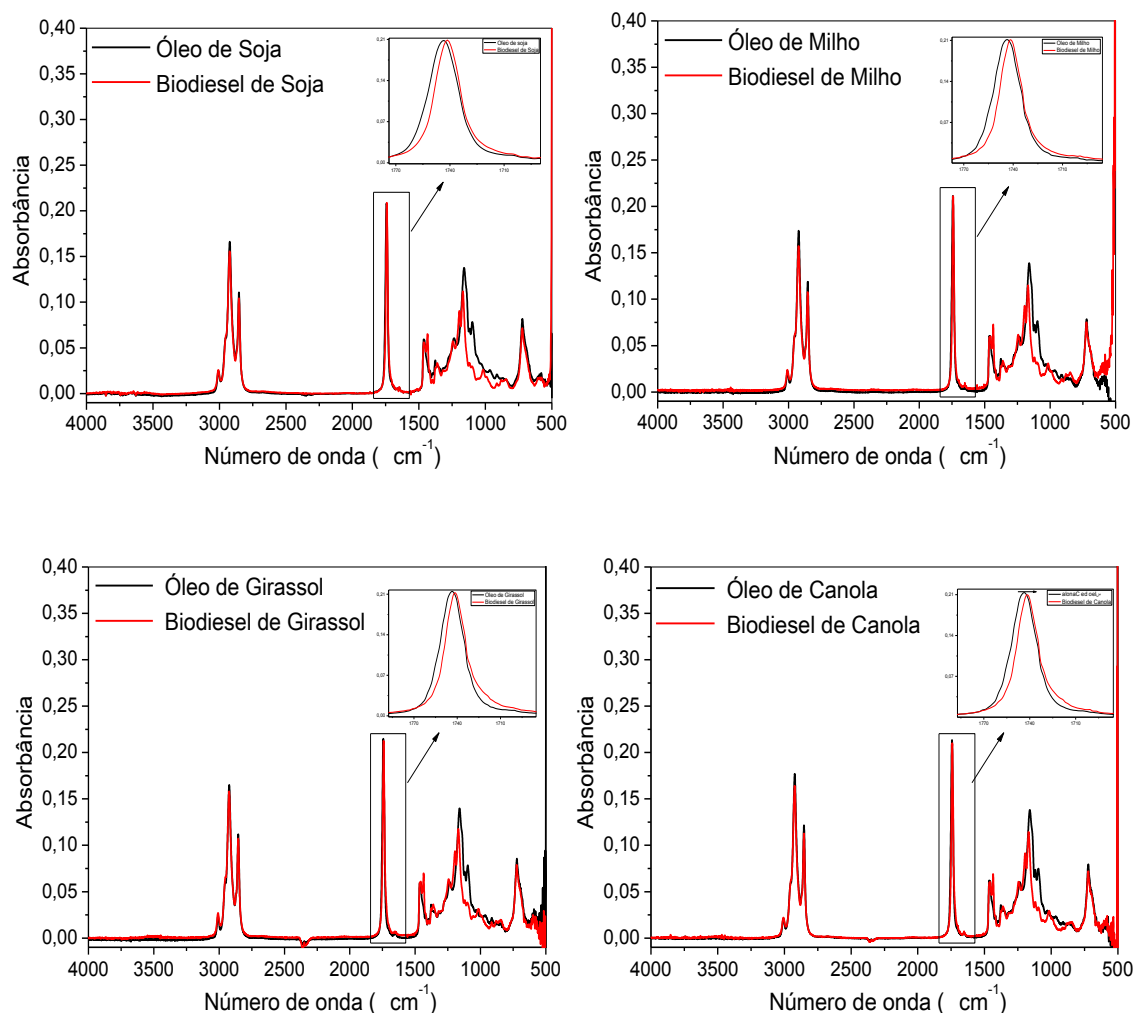


Figura 5.3 - Espectros de FTIR das amostras de óleo e biodiesel de soja, milho, girassol e canola.

5.2 IDENTIFICAÇÃO DOS ÉSTERES METÍLICOS VIA CG-DIC

A Tabela 5.1 apresenta as concentrações dos ésteres metílicos presentes nas amostras de biodiesel analisadas com CG-DIC. Os resultados mostram que o oleato e linoleato de metila são os ésteres que estão presentes em maiores proporções nos biodieseis estudados. Para realização das medidas, as amostras de biodiesel e ésteres padrão foram diluídas em n-hexano grau HPLC. As mesmas amostras foram utilizadas para medidas de absorção

molecular UV-Vis e fluorescência, a fim de se verificar as propriedades ópticas dos padrões e biodieseis analisados.

Tabela 5.1: Composição média dos ésteres metílicos obtidas via CG-DIC.

Substância	Milho (%)	Canola (%)	Girassol (%)	Soja (%)
Miristato de metila	0.1	0.2	0.1	0.1
Palmitato de metila	12.6	6.3	5.9	10.8
Linolenato de metila	2.0	3.1	0.5	5.7
Linoleato de metila	45.1	25.4	60.3	52.8
Oleato de metila	31.6	53.5	21.7	21.4
Estearato de metila	2.1	1.8	3.8	3.6

5.3 ESTUDO DA IDENTIFICAÇÃO DOS FLUORÓFOROS NO BIODIESEL

5.3.1 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO UV-Vis

A equação mostrada na Figura 5.1 apresenta a reação de transesterificação de uma molécula de tri-éster composta por derivados do ácido oléico, linolênico e linoléico via rota metílica, utilizando NaOH como catalisador. A reação de transesterificação leva à formação de três moléculas dos respectivos ésteres metílicos e uma molécula de glicerol [8]. A Tabela 5.1 apresenta a porcentagem dos ésteres identificados em nossas amostras através das medidas de cromatografia gasosa com detector de ionização em chama. Esses dados nos servem de base para correlacionar os espectros de absorção UV-vis e fluorescência com as concentrações de ésteres presentes em cada amostra de biodiesel estudado. As estruturas químicas dos ésteres metílicos saturados e insaturados que estão presentes em maior concentração nos biodieseis estudados são mostradas na Figura 5.4. Segundo a Tabela 5.1, os principais constituintes dos biodieseis estudados são os oleato e linoleato de metila, os quais possuem insaturações ao longo da cadeia. A existência dessas

insaturações pode favorecer o processo oxidativo do biodiesel, devido à alta reatividade dessas ligações duplas [16,17].

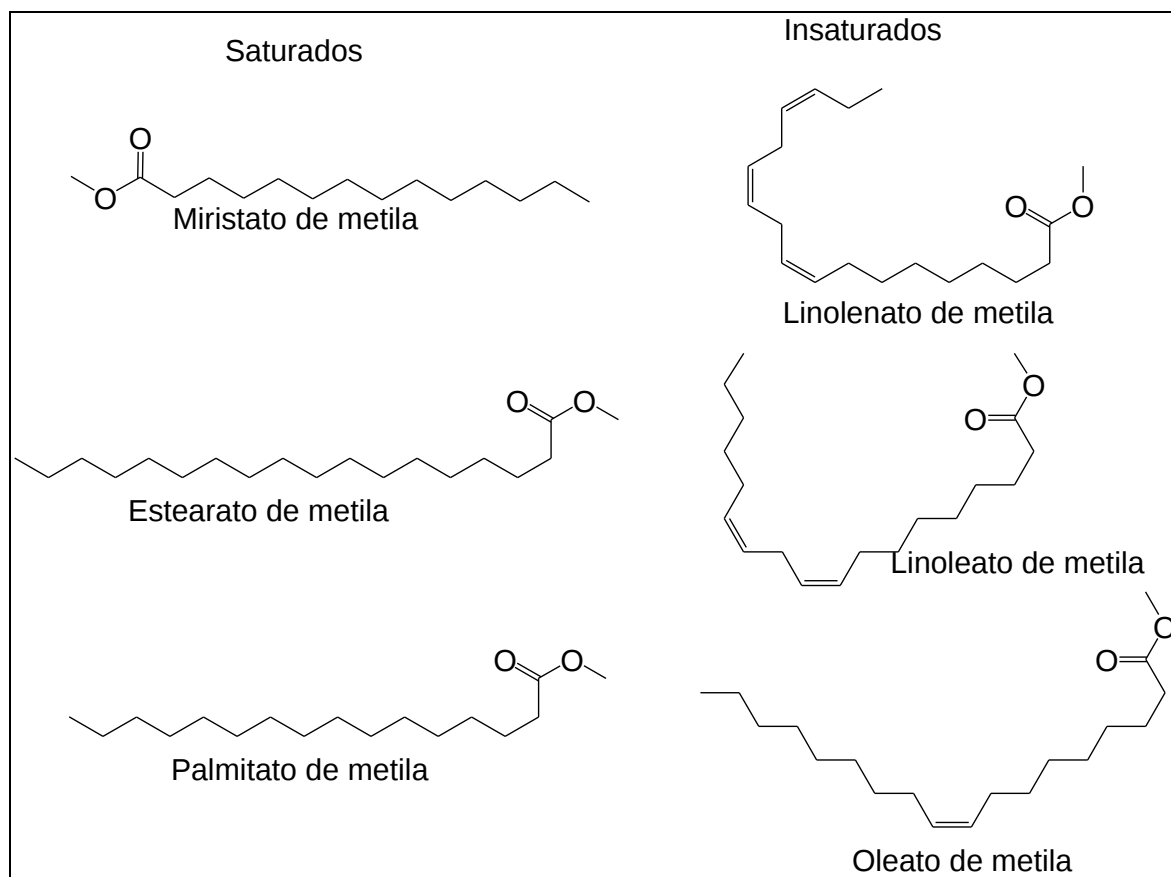


Figura 5.4 - Principais ésteres metílicos presentes nos biodieseis estudados.

A Figura 5.5 mostra os espectros de absorção dos biodieseis de soja, canola, girassol e milho, diluídos nas concentrações de 10^{17} moléculas/cm³ em n-hexano e estudados na região entre 250 a 400 nm, que é a região na qual os ésteres absorvem energia.

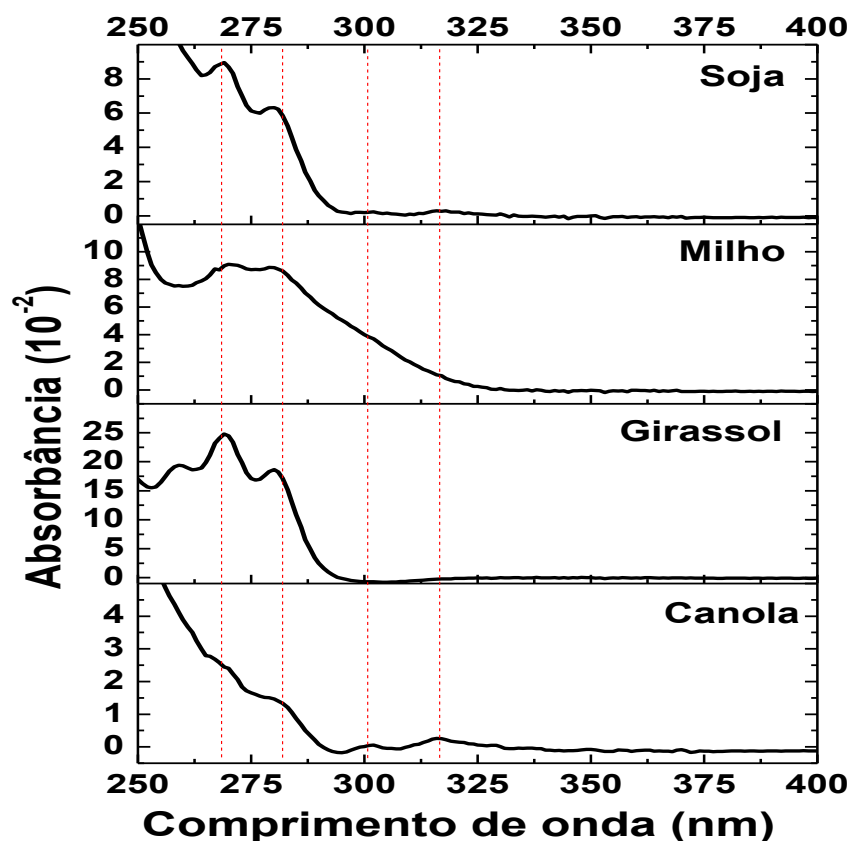


Figura 5.5: Espectros de absorção molecular dos biodieseis diluídos em n-hexano.

Os espectros de absorção mostram que os biodieseis apresentam absorção somente na região do ultravioleta. Bandas de absorção em torno de 270 e 280 nm são observadas em todas as amostras analisadas. Contudo, as bandas de absorção em torno de 302 e 316 nm foram observadas somente nos biodieseis de soja e canola. De maneira geral, os espectros de absorção dos biodieseis diferem entre si, indicando que as transições eletrônicas são afetadas pela composição química de cada biodiesel.

Para identificar a origem das bandas de absorção nos biodieseis produzidos, medidas de absorção dos padrões foram realizadas utilizando as mesmas condições para as amostras de biodiesel. Os espectros de absorção dos ésteres padrão, na região entre 250 e 400 nm são mostrados na Figura 5.6.

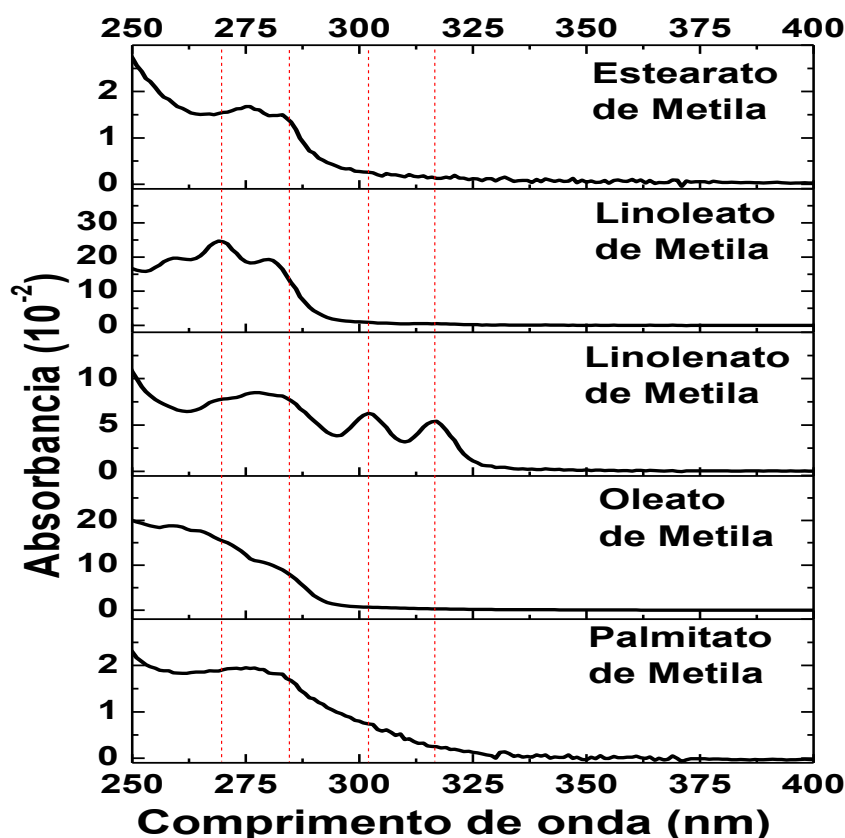


Figura 5.6 - Espectros de absorção molecular ésteres metílicos (padrão) diluídos em n-hexano.

Os ésteres metílicos presentes no biodiesel, possuem ligações químicas que podem sofrer transições eletrônicas do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$, e estas podem contribuir para absorção na região do UV-Vis. Moléculas insaturadas que contêm átomos como oxigênio ou nitrogênio podem sofrer transições eletrônicas $n \rightarrow \pi^*$. Estas são talvez as transições mais estudadas, particularmente em compostos carbonílicos. Um composto carbonílico típico apresenta a transição $n \rightarrow \pi^*$ na faixa entre 280 e 290 nm. A maioria das transições $n \rightarrow \pi^*$ é proibida e, portanto, são de baixa intensidade [23]. A absorção dos ésteres nesta região do espectro eletromagnético pode ser atribuída a essas transições eletrônicas, observando as moléculas de biodiesel possuem ligações do tipo (π).

Todas as moléculas de ésteres analisadas absorvem energia entre 250 e 300 nm que pode ser atribuído as transições dos elétrons não ligantes (n) dos átomos de oxigênio da carbonila para orbitais (π^*), assim como (π) da ligação

dupla carbono-oxigênio para orbitais (π^*). Contudo, os ésteres que possuem mais do que uma dupla ligação apresentam bandas adicionais de absorção, que ocorre entre de 302 e 316 nm. A absorção nessa região depende do número de ligações duplas presentes na cadeia carbônica, pois a absorção torna-se acentuada para o linolenato de metila, o qual possui três duplas ligações na estrutura quando comparado com o oleato e linoleato de metila. Este aumento da absorção pode ser atribuído à maior disponibilidade de orbitais (π^*) provenientes das ligações do tipo π , o que favorece as transições eletrônicas [23,37-39]. Os espectros de absorção dos padrões apresentam perfis distintos, com isso é possível comparar os espectros dos padrões com aqueles das amostras de biodiesel investigadas.

Os dados mostrados na Tabela 5.1 indicam que o biodiesel de soja apresenta uma maior quantidade de oleato e linoleato de metila em sua composição. Com isso, o espectro de absorção, mostrado na Figura 5.6 apresenta uma sobreposição das bandas características dos dois ésteres, e ainda uma banda de absorção em 303 nm, e outra em 316 nm provenientes da absorção do linolenato de metila que também constitui o biodiesel de soja em menor quantidade.

O linoleato de metila é o éster em maior concentração no biodiesel de girassol com cerca de 60%, logo o espectro de absorção para essa amostra exibe as bandas características do linoleato de metila (padrão) e em menor quantidade o oleato de metila. O linolenato de metila pouco contribui no espectro de absorção do biodiesel de girassol, pois está presente em pequena quantidade, conforme indica a Tabela 5.1.

O biodiesel de canola possui uma maior quantidade de oleato de metila, apresentando assim o espectro de absorção semelhante ao espectro do oleato de metila padrão. Além disso, as bandas em 303 e 316 nm estão associadas à presença de linolenato de metila, com 3,0 % na amostra.

O biodiesel de milho apresenta a sobreposição das bandas de absorção características do oleato, linoleato e palmitato de metila, presentes em torno de 45, 32 e 12,6% respectivamente conforme mostrado na Tabela 5.1.

Aliada as técnicas de absorção molecular e CG-DIC, a espectroscopia de fluorescência foi utilizada para avaliar a contribuição de cada éster na fluorescência das amostras de biodiesel.

Portanto, os resultados mostram que os espectros de absorção das amostras de biodiesel apresentam características específicas dos ésteres que o constituem em maior quantidade. Isto foi verificado através das análises de CG-DIC, indicando as concentrações reais de cada éster, avaliando assim a contribuição de cada éster na absorção das amostras de biodiesel de diferentes fontes oleaginosas.

Os biodieseis analisados também possuem em sua composição outros compostos que podem contribuir para a absorção e fluorescência molecular na região do UV-Vis [40]. A Figura 5.7 exibe os espectros de absorção das amostras de tricaprina, β -caroteno, clorofila e acetato de tocoferol.

Verifica-se que os biodieseis estudados não apresentam quantidade significativa de β -caroteno, pois os espectros de absorção dos biodieseis não são afetados pela presença de β -caroteno.

A molécula de acetato de tocoferol e a tricaprina absorvem energia na mesma região do α -tocoferol e dos ésteres, podendo dessa forma contribuir para absorção [41-44]. Devido o óleo utilizado para a produção de biodiesel ter passado por processos de purificação, a quantidade de clorofila presente nos respectivos biodieseis é baixa e pouco interfere no espectro de absorção do biodiesel, como é mostrado na figura 5.6.

Dessa forma as amostras de biodieseis estudadas possuem maior contribuição nos espectros de absorção UV-Vis atribuídas aos ésteres metílicos que possuam um número maior do que duas insaturações em sua cadeia carbônica, e pouca contribuição dos compostos como clorofilas e β -caroteno.

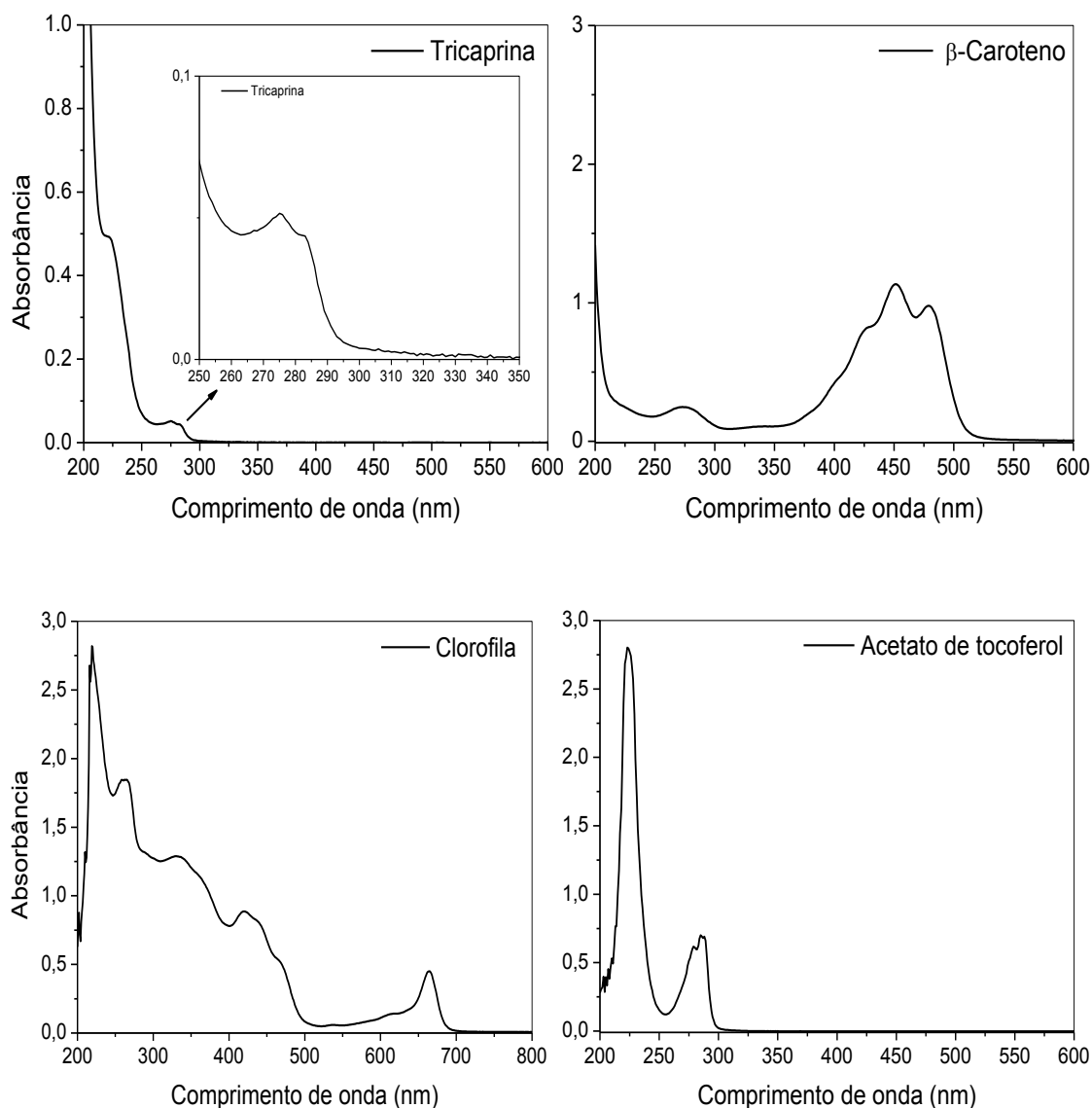


Figura 5.7 - Espectros de absorção molecular da tricaprina, b-caroteno, clorofila e acetato de tocoferol.

5.3.2 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA

Os espectros de fluorescência das amostras de ésteres (padrão) diluídos na concentração de 10^{17} moléculas/cm³ são exibidos na Figura 5.8. O espectro mostra que quando excitados em 300 e 320nm, o linolenato e linoleato de metila apresentam fluorescência em torno de 410nm. Contudo o linolenato de metila apresenta maior intensidade de fluorescência. Esta diferença nas intensidades de fluorescência deve-se possivelmente à maior quantidade de

duplas ligações presentes na estrutura, favorecendo as transições $\pi^* \rightarrow \pi$ e $\pi^* \rightarrow n$ proveniente das ligações duplas entre carbono-carbono (C=C) e carbono-oxigênio (C=O) [23,38,39,45]. Os espectros de fluorescência indicam que os ésteres metílicos que não possuem duplas ligações não apresentam fluorescência na região no UV-Vis.

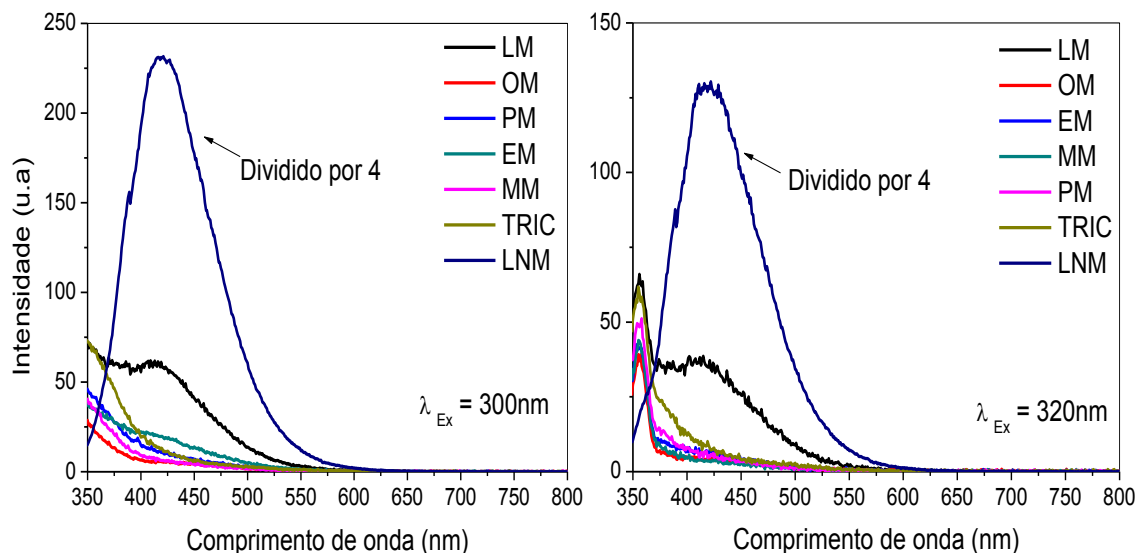


Figura 5.8 - Espectros de fluorescência molecular das amostras de ésteres (padrão) excitadas em 300 e 320nm. (LNM – Linolenato de metila; LM – Linoleato de metila; OM – Oleato de metila; EM – Estearato de metila; MM – Miristato de metila; PM – Palmitato de metila; TRIC – Tricaprina).

A Figura 5.9 mostra os espectros de fluorescência das amostras de biodiesel diluídas a 10^{17} moléculas/cm³ em n-hexano. Verifica-se que todas as amostras apresentam fluorescência em torno de 410nm quando excitadas em 300 e 320nm. Por sua vez a intensidade de fluorescência é mais intensa para o biodiesel de canola e soja. Esta diferença nas intensidades de fluorescência pode ser devida à maior quantidade de linolenato de metila presente nestas amostras, sendo 3,1% no biodiesel de canola e 5,7% no biodiesel de soja, conforme indica a Tabela 5.1 .

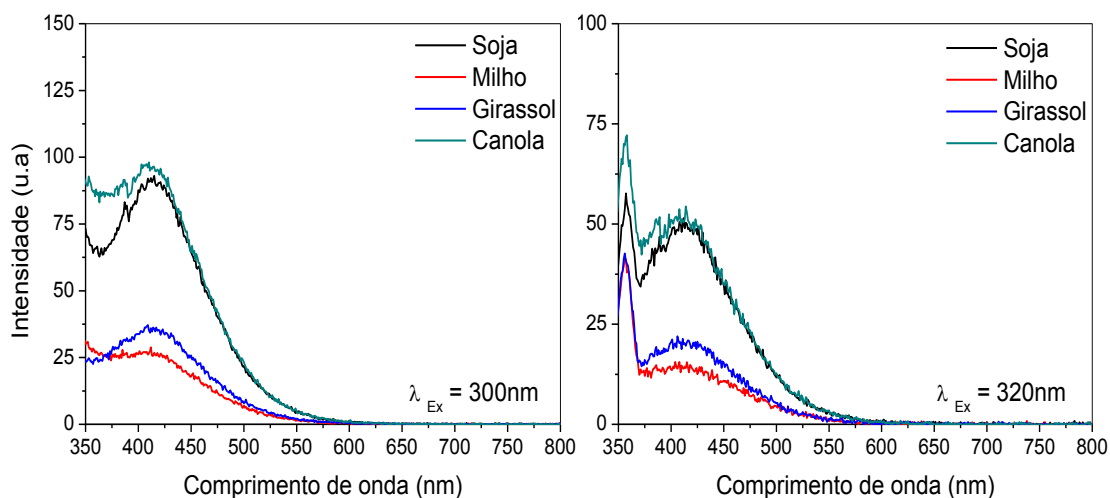


Figura 5.9 - Espectros de fluorescência molecular dos biodieseis com excitação em 300 e 320nm.

Outros componentes presentes no biodiesel podem apresentar fluorescência em torno de 410 nm quando excitadas em 300 e 320 nm. A Figura 5.10 exibe o espectro de fluorescência da clorofila e do β -caroteno. Nesse espectro é verificado que a clorofila apresenta três regiões de fluorescência, em torno de 400-500 nm, 650-700 nm e 700-750 nm, característica das porfirinas [46]. A fluorescência da clorofila não interfere significativamente no espectro de fluorescência de nossos biodieseis, pois a quantidade presente nos óleos utilizados em sua produção é reduzida, devido aos processos de purificação que os óleos foram submetidos. Isto fica evidenciado nos espectros de absorção dos biodieseis (Figura 5.5) e da clorofila (Figura 5.7).

Conforme verificado no espectro de absorção molecular (Figuras 5.5 e 5.7), a quantidade de β -caroteno presente no biodiesel não é suficiente para contribuir na absorção de energia e também fluorescência observada. Em óleos que possuem uma grande quantidade de β -caroteno, como o óleo de buriti, não apresentam fluorescência em torno de 410nm, pois ocorre re-absorção da energia emitida pelos fluoróforos como os ésteres com duplas ligações, clorofila e tocoferóis pelas moléculas de β -caroteno, apresentando assim fluorescência somente em torno de 550nm conforme exibe a Figura 5.11 [40,47].

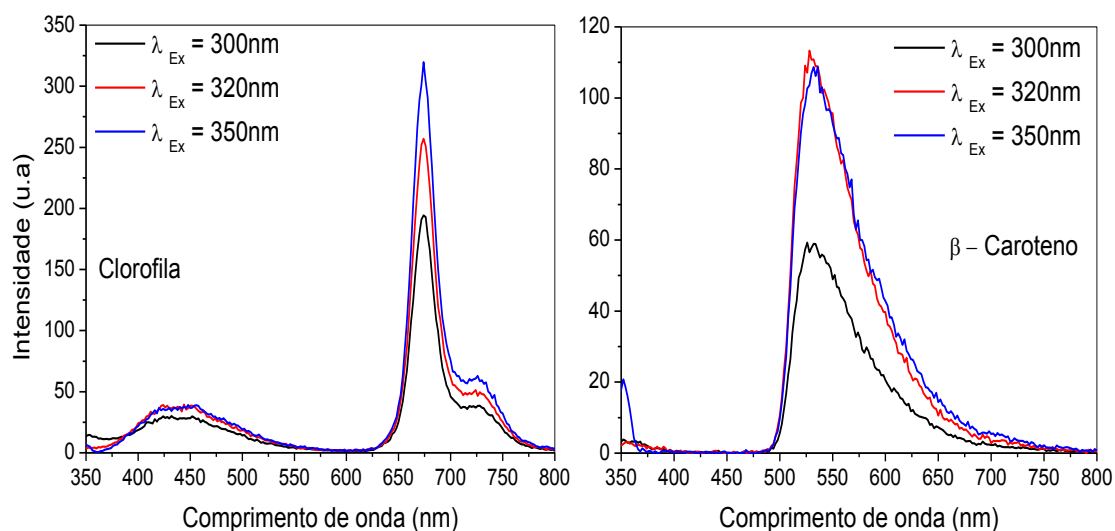


Figura 5.10 - Espectros de fluorescência molecular da clorofila e b-caroteno.

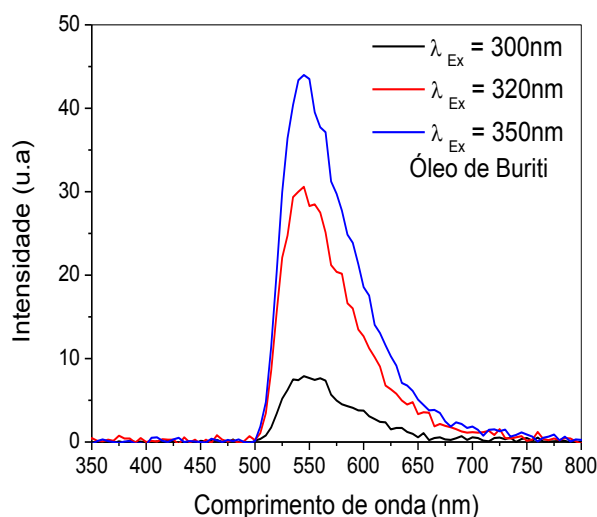


Figura 5.11 - Espectros de fluorescência molecular do óleo de buriti diluído a 10% (m/v) em n-hexano.

A Figura 5.12 exibe os mapas de contorno de excitação/emissão (3D) das amostras dos ésteres (padrão) diluídos na concentração de 10^{17} moléculas/cm³. Os espectros mostram que o linolenato de metila apresenta uma região de emissão entre 350-550nm quando excitado entre 280-330 nm. A mesma região de excitação/emissão é observada para a amostra de linoleato de metila. Contudo, vale ressaltar que a intensidade de fluorescência observada para linolenato de metila é maior que a observada para o linoleato de metila. Os ésteres de cadeia saturada não apresentaram fluorescência na região estudada.

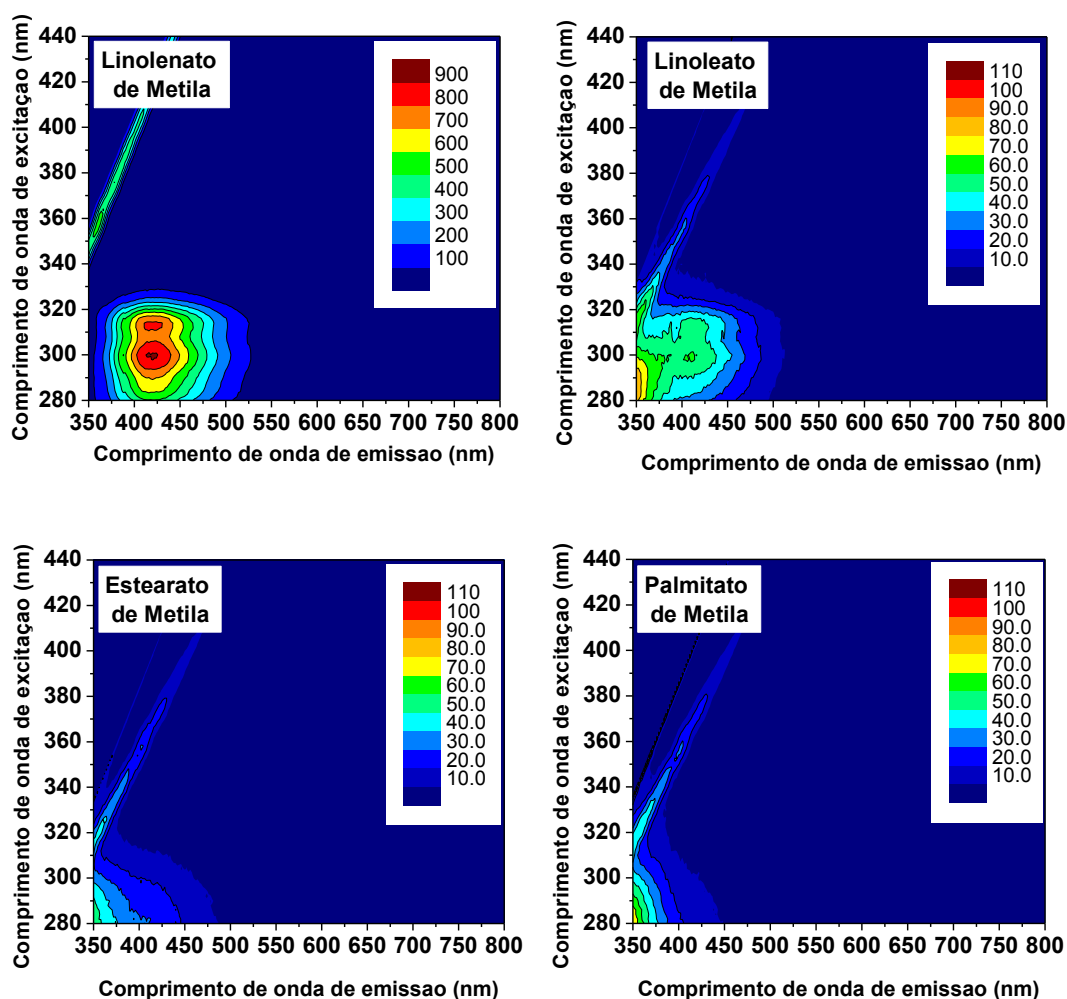


Figura 5.12 - Mapas de contorno de excitação/emissão dos ésteres (padrão).

A Figura 5.13 mostra os mapas de excitação/emissão das amostras de biodiesel diluídas na concentração de 10^{17} moléculas/cm³. As amostras apresentam fluorescência entre 350 e 550 nm com máximo em torno de 410 nm quando excitadas entre 280 e 330 nm. Uma maior intensidade de fluorescência nessa região foi observada nos biodieseis de soja e canola, uma vez que apresentam maior quantidade de linolenato de metila.

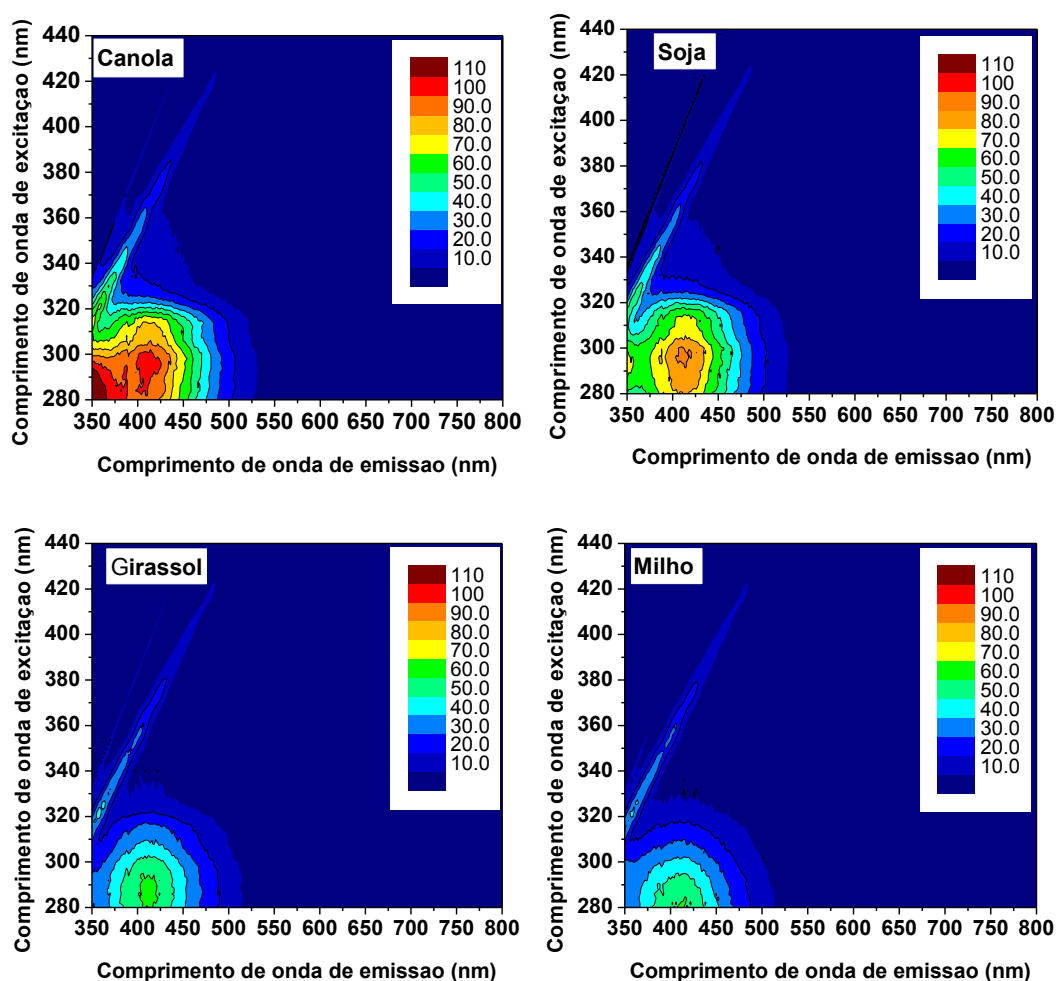


Figura 5.13 - Mapas de contorno de excitação/emissão dos biodieseis.

A clorofila analisada apresenta excitação/emissão em diferentes regiões espectrais (Figura 5.14), características das porfirinas [46], podendo contribuir para a fluorescência de biodieseis produzidos a partir de óleos brutos dependendo da concentração em que se encontra na amostra estudada. Em óleos brutos que não sofreram algum processo de clarificação e purificação, a concentração de clorofila é elevada, porém nos óleos estudados essa concentração é reduzida, logo, a intensidade de fluorescência da clorofila não afeta de maneira significativa a fluorescência dos biodieseis estudados.

Conforme exibe a Figura 5.14, o β -caroteno diluído apresenta uma região de excitação/emissão distinta dos ésteres estudados, compostos fenólicos, tocoferóis e clorofila [40,47]. Portanto, o β -caroteno e a clorofila não possuem contribuição nos espectros de absorção e excitação/emissão das amostras estudadas.

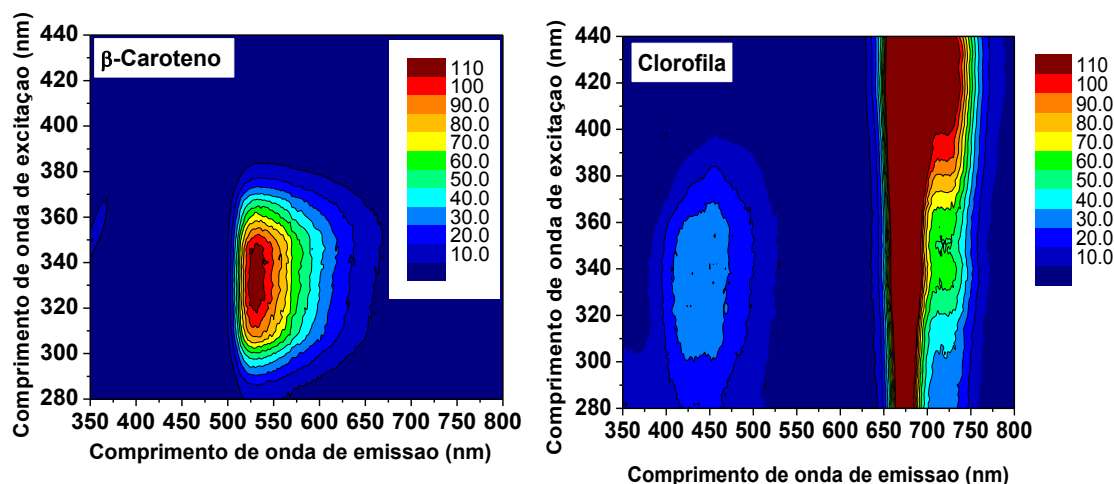


Figura 5.14 - Mapas de contorno de excitação/emissão da clorofila e β-caroteno.

Vários autores atribuem a fluorescência dos óleos e biodiesel à presença de tocoferóis, carotenóides, ácidos graxos e clorofila [46,48-61]. Um dos ácidos graxos presentes na grande maioria dos óleos de origem vegetal e animal é o ácido oléico. O ácido oléico é um ácido carboxílico presente em óleos brutos responsável pela acidez do óleo. Os óleos utilizados em nossos estudos são refinados, logo possuem uma reduzida quantidade de ácidos graxos livres. Para verificar a presença de ácidos graxos livres em nossas amostras de biodiesel, medidas de absorção na região do infravermelho foram realizadas.

A Figura 5.15 que mostra o espectro de absorção no infravermelho do biodiesel de soja e ácido oléico P.A. O ácido oléico é um ácido graxo insaturado (18:1) que possui o grupo R-COOH na extremidade da cadeia carbônica. Devido à presença do grupo -OH ligado ao carbono da carbonila, pode-se observar uma absorção na faixa entre 3300 e 2500 cm^{-1} , que pode ser atribuída ao estiramento da ligação desse grupo [23,25]. Esse estiramento não ocorre nos óleos refinados devido à substituição do grupo -OH pelo grupo -OR. Essa substituição de grupo promove também o deslocamento da banda de absorção em 1708 cm^{-1} , decorrente do estiramento da carbonila presente no ácido oléico, para números de onda maiores. A banda em torno de 934 cm^{-1} é observada na amostra de ácido oléico devido a vibração fora do plano do -OH dos ácidos graxos [23,25], e não ocorre em ésteres.

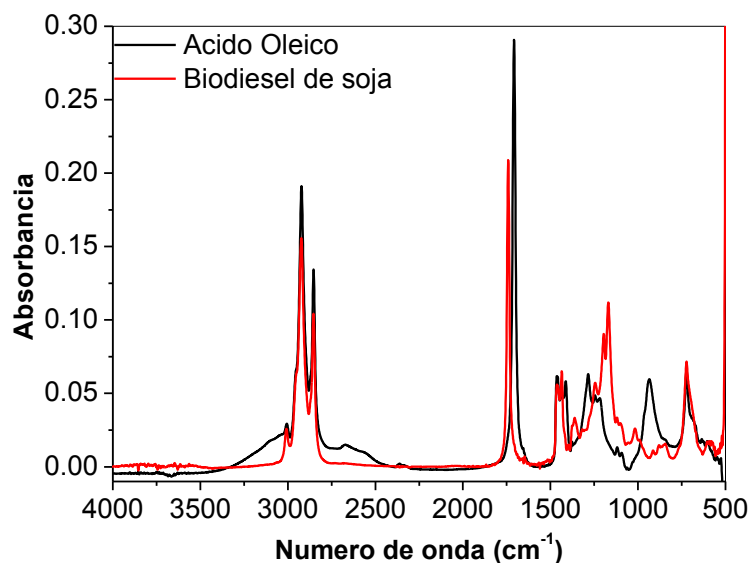


Figura 5.15 - Espectros FTIR do ácido oléico e óleo de soja.

Nos trabalhos publicados, diversos autores atribuem a fluorescência dos óleos e biodiesel à presença de tocoferóis, carotenóides, ácidos graxos e clorofila [46,48-61]. Contudo não relatam a contribuição dos ésteres metílicos nos espectros de absorção UV-Vis e fluorescência. Em nossos estudos investigamos a contribuição dos ésteres.

Em resumo, os resultados de absorção UV-Vis e fluorescência molecular indicam que os biodieseis estudados apresentam absorção na região do ultravioleta, que podem ser atribuídas aos ésteres metílicos que compõem majoritariamente o biodiesel, com características distintas dependendo do éster metílico. Ademais, os ésteres que possuem mais do que duas insaturações na cadeia carbônica apresenta fluorescência com máximo de emissão em torno de 410 nm quando excitados entre 280 a 350 nm, confirmando assim a contribuição dos ésteres metílicos nos espectros de absorção e fluorescência das amostras de biodiesel obtido a partir de diferentes fontes oleaginosas.

5.4 ESTUDO DA ESTABILIDADE TÉRMICA

O monitoramento da estabilidade térmica de óleos e biodiesel é de grande importância para o controle de qualidade do mesmo. O método padrão para o

monitoramento da estabilidade térmica do biodiesel é o método de Rancimat [9]. Diversas técnicas ópticas vêm sendo avaliadas para monitorar a estabilidade térmica do biodiesel, dentre elas a absorção na região do infravermelho e absorção UV-Vis. A técnica de absorção e fluorescência no UV-Vis tem sido proposta para determinação de tempos de indução oxidativo do biodiesel e óleos, identificando produtos secundários de oxidação (produtos aldeídos cetônicos α , β etilênicos) [6,18,53,54,60].

ANDRADE e colaboradores utilizaram a espectroscopia de fluorescência para monitorar o processo de degradação térmica do biodiesel obtido a partir de diferentes oleaginosas sem a adição de antioxidantes. Naquele trabalho, a intensidade de fluorescência observada em 430 nm com excitação em 350 nm foi plotada em função da temperatura de degradação, e verificou-se que a intensidade de fluorescência se manteve constante até a temperatura de 120 °C. Contudo, um decréscimo na fluorescência foi observado partir dessa temperatura para todas as amostras analisadas.

Em nosso trabalho, amostras de biodiesel de soja foram submetidas ao aquecimento acelerado em estufa como proposto por ANDRADE e colaboradores. A fim de verificar a contribuição de antioxidantes sintéticos na mudança dos espectros de absorção UV-Vis e fluorescência, diferentes concentrações de antioxidantes BHA, BHT e TBHQ foram adicionados ao biodiesel antes do aquecimento.

As medidas de fluorescência foram realizadas com comprimento de onda de excitação fixo em 350 nm. As amostras degradadas foram analisadas sem qualquer diluição à temperatura ambiente.

Os espectros de absorção UV-Vis e fluorescência do biodiesel de soja sem adição de antioxidantes (SA) e aditivado com 100 ppm de BHA, em função das temperaturas de degradação, são mostrados nas Figuras 5.16 e 5.17. Os espectros das demais amostras aditivadas com 250, 500 e 1000 ppm de antioxidantes se comportaram de maneira análoga aos mostrados nas Figuras 5.16 e 5.17.

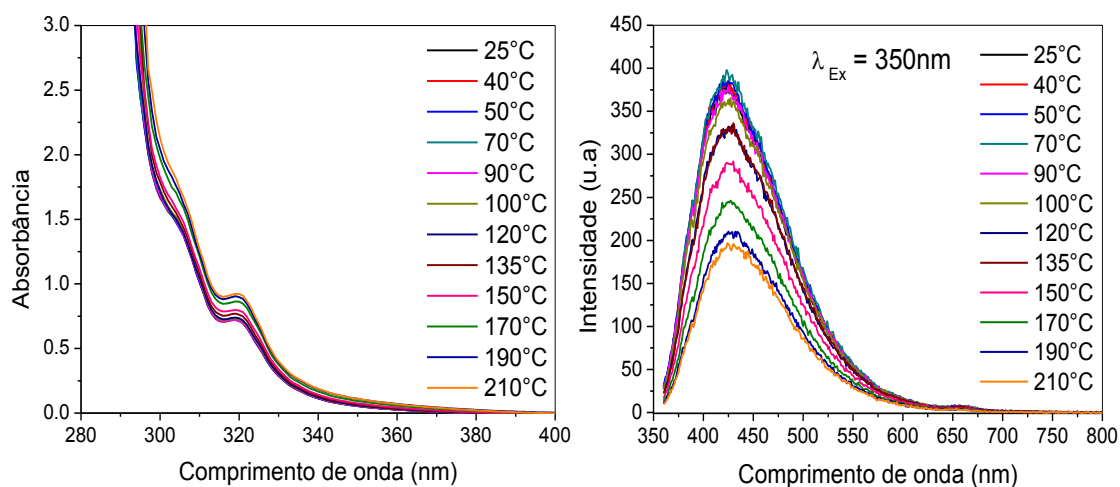


Figura 5.16 - Espectros de absorção molecular UV-Vis e fluorescência do biodiesel de soja termo-degradados sem adição de antioxidantes.

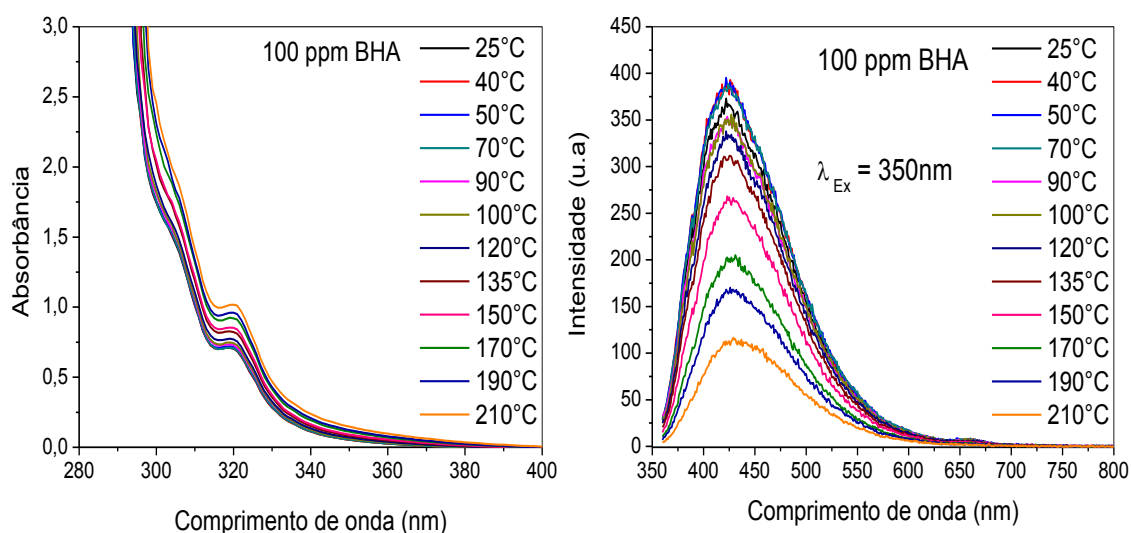


Figura 5.17 - Espectros de absorção molecular UV-Vis e fluorescência dos biodiesel de soja termo-degradados com 100 ppm de BHA.

A Figura 5.18 mostra a absorbância em 350 nm em função da temperatura de tratamento térmico. As curvas indicam um aumento significativo na absorção pode ser percebido a partir de 120 °C em todas as amostras degradadas, contendo ou não antioxidantes. Esse aumento na absorção molecular está associado à formação de compostos decorrentes da termo-oxidação do biodiesel como formação de hidroperóxidos e aldeídos cetônicos, e também devido a formação de duplas conjugadas que absorvem energia nessa faixa do espectro eletromagnético [17,18].

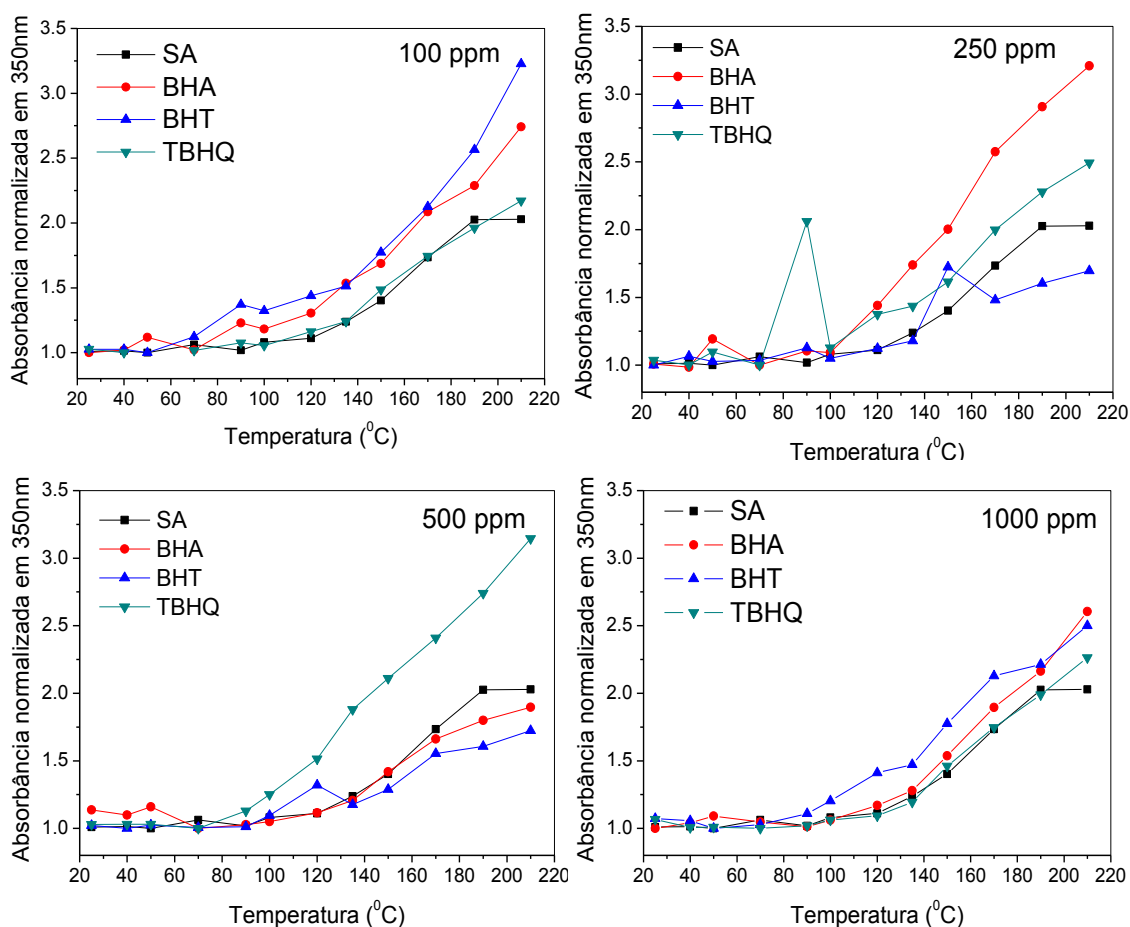


Figura 5.18 - Absorbância em 350nm em função da temperatura de degradação.

As intensidades de fluorescência em 430 nm em função da temperatura de aquecimento são mostradas na Figura 5.19. Os dados revelam uma diminuição na intensidade de fluorescência a partir de 120 °C, que pode estar associada à formação de hidroperóxidos e mudança nas propriedades físicas da amostra, como viscosidade e densidade. Verificou-se que a queda na intensidade de fluorescência ocorre para todas as amostras contendo ou não antioxidantes.

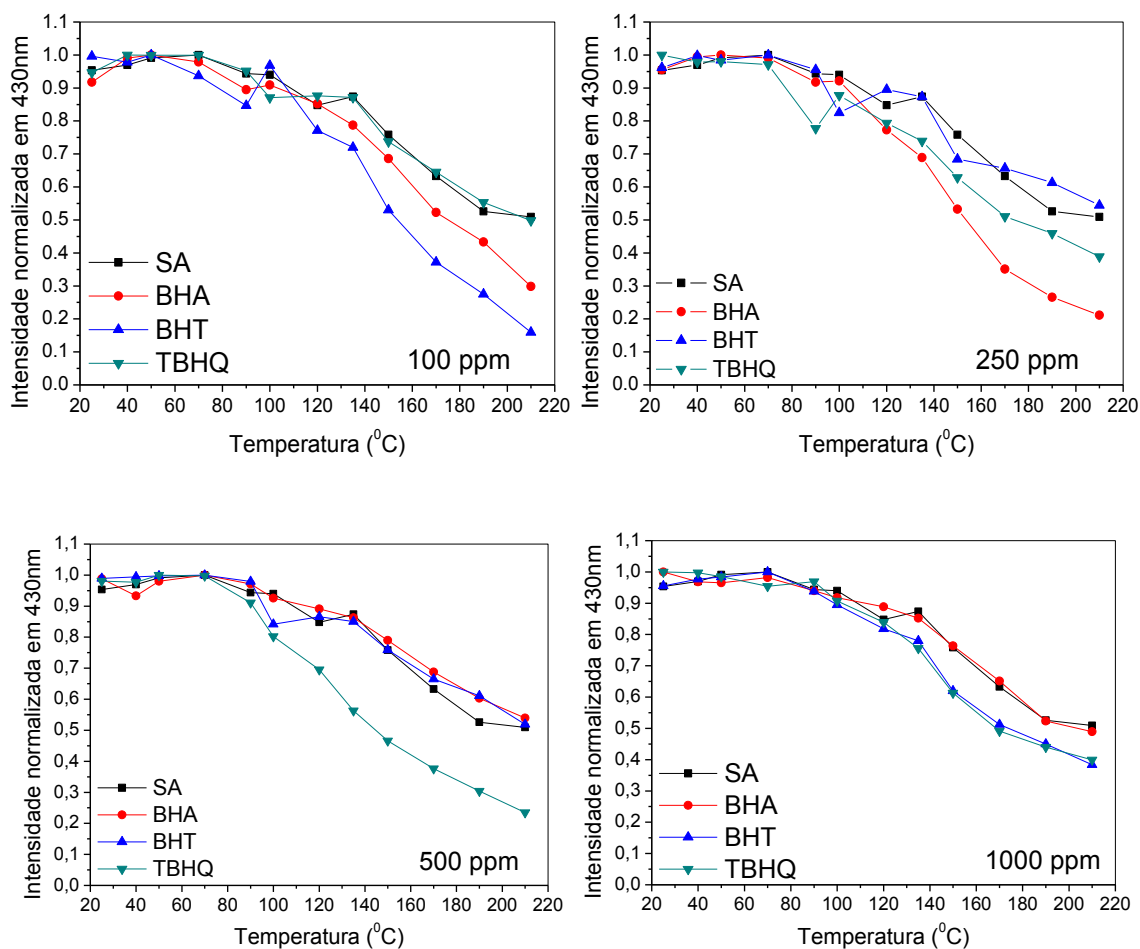


Figura 5.19 - Fluorescência em 430nm em função da temperatura de degradação.

Os resultados indicaram que o biodiesel contendo ou não antioxidantes apresentaram mudanças significativas nos espectros de absorção UV-Vis e fluorescência em temperaturas acima de 120°C. Contudo, as amostras contendo antioxidantes apresentaram um aumento na absorção UV-Vis e uma queda mais acentuada na fluorescência acima dessa temperatura quando comparadas à amostra sem antioxidante. Este resultado pode ser decorrente da degradação dos antioxidantes que ocorre em temperaturas acima de 120°C. Ademais quando degradados, os antioxidantes podem formar radicais que venham a favorecer os processos de degradação do biodiesel [7,17,18,27].

REDA e colaboradores avaliaram óleos vegetais aditivados com diferentes antioxidantes submetidos ao estresse térmico através da técnica de TG/DSC. Naquele trabalho o antioxidante sintético BHA foi analisado e verificou-se que a degradação do mesmo inicia-se em torno de 120°C,

mostrada pela curva TG que mostra também um pico endotérmico bem evidente em torno de 70°C, indicando o ponto de fusão do composto. Logo o autor inferiu que o BHA não oferece proteção para os óleos vegetais nas temperaturas de frituras (180-200 °C) sendo este antioxidante volátil na faixa de temperatura de 100 a 240°C. No mesmo trabalho o autor mostra o comportamento térmico do antioxidante BHT e verifica-se que a sua decomposição começa em torno de 120°C, de maneira semelhante ao BHA. O pico endotérmico em torno de 70°C corresponde ao seu ponto de fusão. Assim como o BHA, o BHT não oferece proteção antioxidante aos óleos vegetais nas temperaturas de frituras.

Dessa forma, os antioxidantes utilizados em nossos trabalhos não apresentam proteção para o biodiesel em temperaturas acima de 120 °C. Portanto a queda na intensidade de fluorescência mais acentuada nas amostras degradadas acima de 120 °C contendo antioxidantes pode ser atribuída à formação de compostos de degradação dos antioxidantes que favoreceram a oxidação dos grupos fluoróforos, bem como influenciando nos espectros de absorção UV-Vis.

Um dos principais problemas associado à oxidação do biodiesel é a formação de sedimentos causando entupimento de bicos injetores e do filtro de combustível. Portanto, os espectros de absorção e fluorescência podem ser utilizados para verificação da degradação térmica do biodiesel ao longo de um tratamento térmico, pois fatores que alterem as propriedades químicas do biodiesel podem causar distorções nos espectros. Porém, estudos ainda devem ser desenvolvidos para avaliar a dinâmica de interação dos antioxidantes sintéticos com o biodiesel.

5.5 ESTUDO DA QUANTIFICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS NO BIODIESEL

As propriedades físico-químicas dos biodieseis são influenciadas pelos tipos e teores de ácidos graxos e antioxidantes naturais como o tocoferol e carotenóides presentes em sua composição. Vários estudos indicam que o biodiesel é mais susceptível ao processo de oxidação do que o diesel fóssil convencional. Este problema é contornado pela incorporação de aditivos sintéticos que possuem a propriedade de retardar o processo oxidativo [6,7].

Os antioxidantes sintéticos mais utilizados em óleos e biodiesel são o TBHQ, BHA e BHT. As estruturas desses antioxidantes são mostradas na Figura 2.5. Tais compostos são sólidos à temperatura ambiente e possuem alta solubilidade em óleos e biodiesel.

Os métodos utilizados para a quantificação desses antioxidantes em óleos são baseados em métodos cromatográficos e requerem vários passos de preparo das amostras e usualmente são muito onerosos. Neste trabalho investigamos o potencial da espectroscopia de fluorescência para a quantificação de antioxidantes presentes em biodiesel. Para estas medidas as amostras foram preparadas adicionando os antioxidantes diretamente ao biodiesel nas concentrações de 1000 a 8000 ppm. Posteriormente, a mistura biodiesel/antioxidante foi diluída em etanol P.A. A diluição foi adotada a fim de evitar que processos de reabsorção de energia da amostra ocorressem. Uma cubeta de 10 mm de caminho óptico com as quatro faces foi utilizada para as medidas.

As Figuras 5.20 e 5.21 exibem os espectros de fluorescência do biodiesel de girassol e soja contendo BHA e TBHQ em diferentes concentrações.

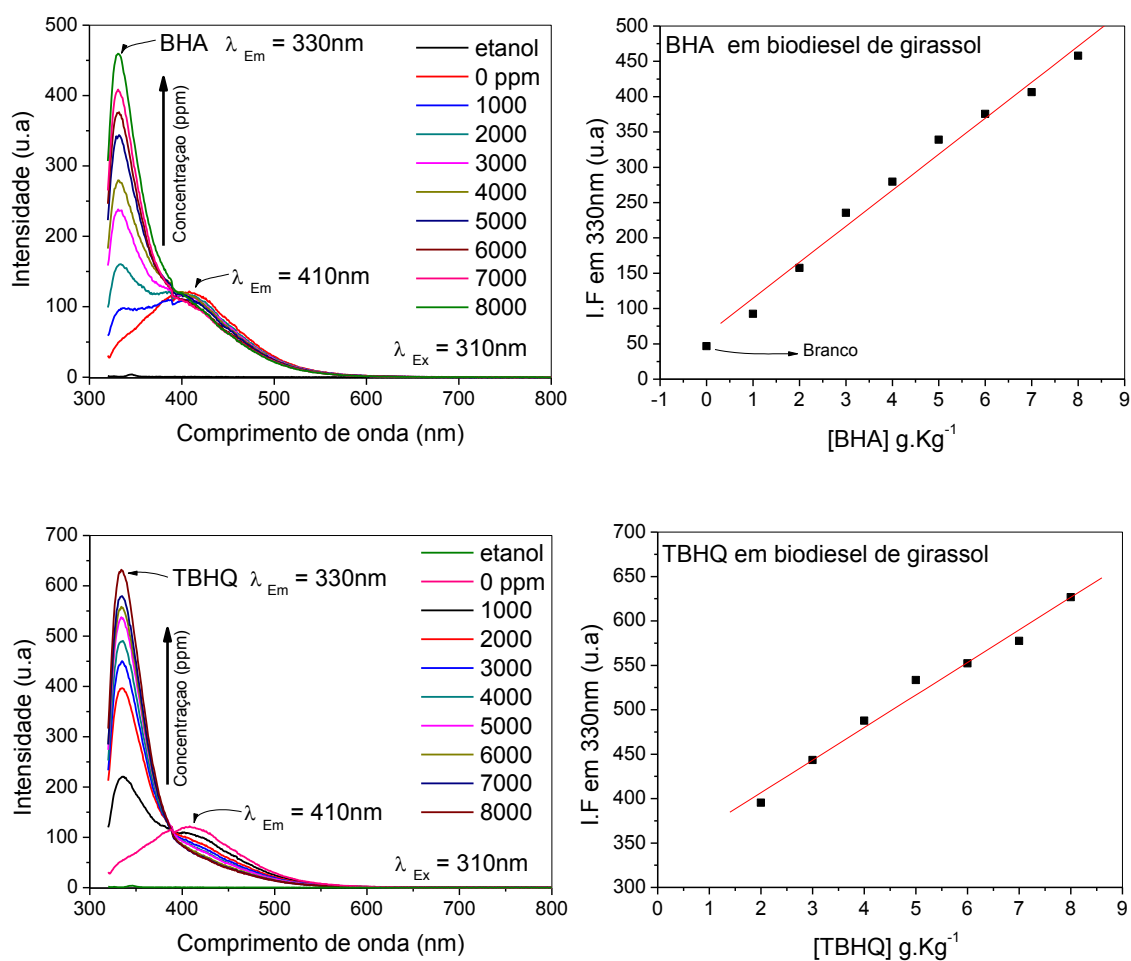


Figura 5.20 - Espectros de fluorescência e curva de calibração obtida para o biodiesel de girassol, enriquecidos com BHA e TBHQ.

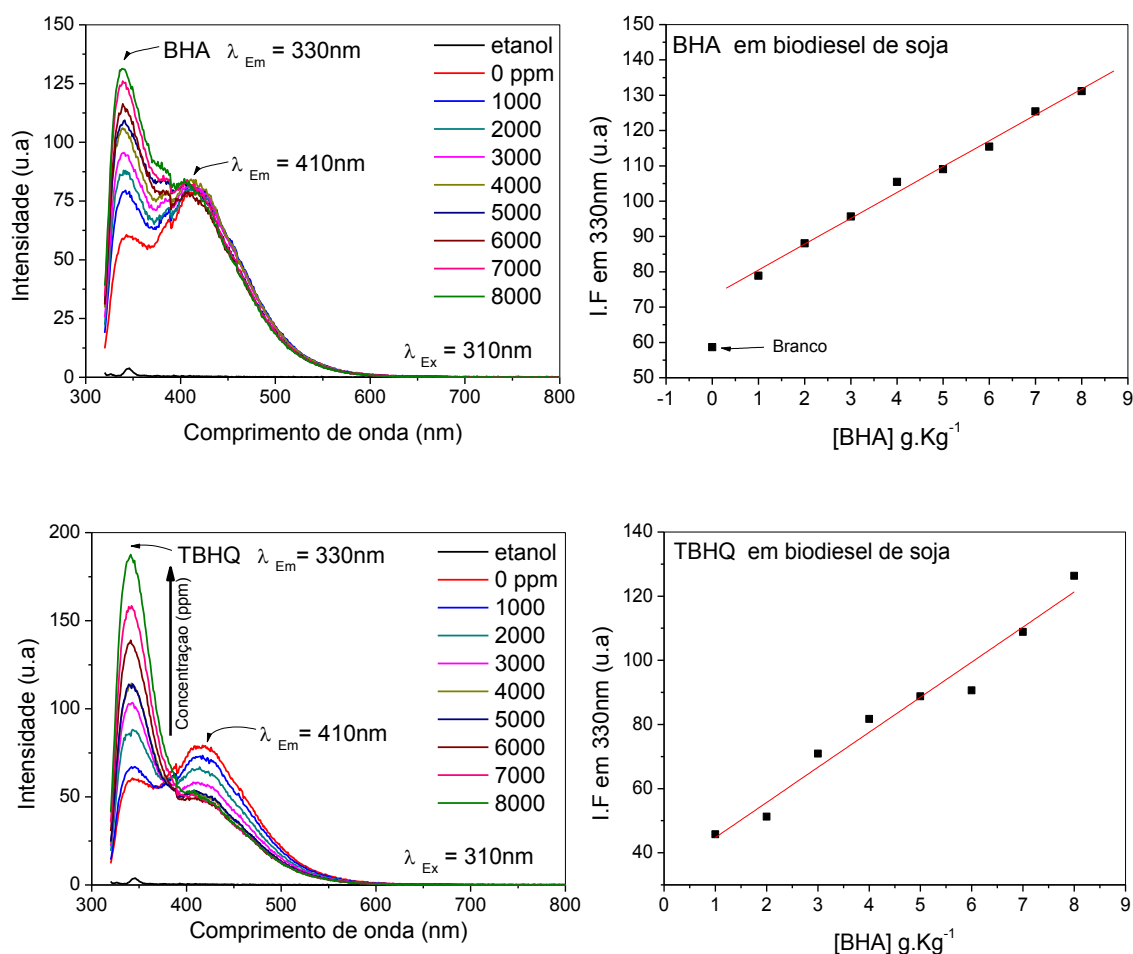


Figura 5.21 - Espectros de fluorescência e curva de calibração obtida para o biodiesel de soja, enriquecidos com BHA e TBHQ.

Os biodieseis de girassol e soja sem adição dos antioxidantes sintéticos apresentam uma banda de fluorescência em torno de 330nm e 410nm quando excitadas em 310nm. A fluorescência em 330 nm pode ser atribuída aos antioxidantes sintéticos já presentes nos óleos que foram utilizados para a produção das amostras de biodiesel, e ainda a fluorescência de moléculas de tocoferol, presentes nos óleos e também no respectivo biodiesel. A emissão em 410 nm pode ser atribuída à moléculas ésteres metílicos com duplas ligações [63].

À medida que a concentração de BHA e TBHQ aumenta, a intensidade de fluorescência em torno de 330nm aumenta, pois a fluorescência nessa região é característica dessas moléculas [64-66]. Ademais, verifica-se que embora a intensidade de fluorescência em torno de 330nm aumenta com a adição de BHA, a fluorescência em torno de 410nm sofre apenas uma pequena variação

na intensidade. Isto pode ser devido ao fato dos compostos que fluorescem nessa região serem os ésteres metílicos insaturados (conforme discutido no item 5.3) que não sofrerem mudança na concentração inicial.

Quando a concentração de TBHQ é aumentada no biodiesel, a banda em torno de 410 nm sofre uma supressão, possivelmente devido à transferência de energia dos fluoróforos presentes no biodiesel para a molécula do antioxidante TBHQ. Estudos precisam ser desenvolvidos para melhor elucidação desse comportamento.

A partir dos espectros apresentados analisamos o comportamento da fluorescência em função da concentração de BHA e TBHQ. Os resultados mostraram que a dependência da intensidade de fluorescência em 330 nm em função da concentração de antioxidante pode ser descrita por uma função linear, conforme apresentado nas figuras 5.20 e 5.21. Para o biodiesel de girassol foi obtido o valor de R^2 de 0,9914 (BHA) e 0,9918 (TBHQ). O biodiesel de soja, por sua vez obteve-se o valor de 0,9964 (BHA) e 0,9636 (TBHQ).

Os resultados indicam que a espectroscopia de fluorescência pode ser utilizada como uma técnica alternativa para a determinação da concentração de antioxidantes sintéticos em biodiesel de diferentes fontes oleaginosas, com agilidade e sem etapas adicionais de pré-tratamentos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A eficiência do processo de produção do biodiesel utilizado em nossos estudos foi confirmada por meio das técnicas de absorção no infravermelho médio e CG-DIC;
- As técnicas de fluorescência e absorção molecular UV-Vis se mostraram eficientes na identificação dos principais fluoróforos presentes nos biodieseis de soja, canola, girassol e milho;
- Nossos resultados mostraram que os ésteres metílicos contribuem de forma significativa para a fluorescência do biodiesel em torno de 410 nm, sendo que o linoleato e linolenato de metila os compostos que apresentam fluorescência nessa região;

- O processo de tratamento térmico do biodiesel de soja contendo antioxidantes sintéticos resultou em mudanças na fluorescência e absorção molecular do biodiesel devido à degradação termo-oxidativa e pode-se perceber mudança óptica a partir de 120°C, para as amostras contendo ou não antioxidantes.
- Pode-se estabelecer uma correlação linear da intensidade de fluorescência com a adição de BHA e TBHQ em biodiesel de soja e girassol;
- Outros estudos estão sendo desenvolvidos pelo grupo utilizando a espectroscopia de fluorescência no monitoramento do processo de purificação da glicerina bruta proveniente da produção de biodiesel.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. LIMA, P. C. R. O Biodiesel e a Inclusão Social. Recursos Minerais, Hídricos e Energéticos. Câmara dos Deputados. Praça 3 Poderes, Consultoria Legislativa, Anexo III – Térreo. Brasília – DF, Março, 2004.
2. MONYEM, A; VAN GERPEN, J. H. The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions. *Biomass and Bioenergy* 20 (2001) 317–325
3. GARCIA, C. C; *et al.* Estudo Comparativo da Estabilidade Oxidativa de Diferentes Biodiesel por termogravimetria (TG) e Teste Rancimat. Biodiesel o novo combustível do Brasil: Goiânia, GO, Brasil.
4. Cadernos NAE / Núcleo de Assuntos Estratégicos da Presidência da República. Nº. 2 (jul. 2004). - Brasília: Núcleo de Assuntos Estratégicos da Presidência da República, Secretaria de Comunicação de Governo e Gestão Estratégica, 2004.
5. Meher, L. C.; *et al.* *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 10: 248–268, (2006).
6. McCORMICK, R. L.; RATCLIFF, M.; MOENS, L.; LAWRENCE, R. Several factors affecting the stability of biodiesel in standard accelerated tests. *Fuel Processing Technology*, v. 88, p. 651–657, 2007.
7. KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. *Fuel Processing Technology*, v. 88, p. 669–677, 2007.
8. LEÃO, L. S. Estudo empírico e cinético da esterificação de ácidos graxos saturados sobre o ácido nióico. Dissertação de mestrado. Escola de Química/Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro – RJ, Brasil. 2009.
9. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br/biocombustíveis>>. Acesso em Abril de 2011.
10. L.C. Meher, D. Vidya Sagar, S.N. Naik. Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 10 (2006) 248–268.
11. Paulo A. Z. Suarez*, Simoni M. Plentz Meneghetti, Mario R. Meneghetti, Carlos R. Wolf. Transformação de triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e

- insumos. Químicos: algumas aplicações da catálise na oleoquímica. quim. Nova, Vol. 30, No. 3, 667-676, 2007.
12. ROSSET, I, G. Produção de biodiesel empregando biocatálise via reações de esterificação e transesterificação. Dissertação de Mestrado. USP, São Carlos-SP, 2011.
 13. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v.1.:*Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos*, 3. ed. Sao Paulo: IMESP, 1985. p.245-246.
 14. SOLOMONS, G.T.W. Química Orgânica. 6 ed. Rio de Janeiro, (1996)
 15. KNOTHE, G; GERPEN, J. V; KRAHL, J. The Biodiesel Handbook. Copyright © 2005 AOCS Press. Champaign-Illinois.
 16. DANTAS M.B *et al.* Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. Fuel 90 (2011) 773–778.
 17. DUNN, R. O; Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel). Fuel Processing Technology, v. 86, n.10, 2005.
 18. LIANG, Y. C.; MAY, C. Y.; FOON, C. S.; NGAN, M. A.; HOCK, C. C.; BASIRON, Y. The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm diesel. Fuel, v. 85, n. 5, march, 2006.
 19. ARAUJO, S. V; A rapid method for evaluation of the oxidation stability of castor oil FAME: influence of antioxidant type and concentration. Fuel Processing Technology, V. 90 (2009) 1272–1277.
 20. HERBINET, O; PITZ, W. J; WESTBROOK, C. K. Detailed chemical kinetic oxidation mechanism for a biodiesel surrogate. Combustion and Flame 154 (2008) 507–528.
 21. NAVARRA, G *et al.* Thermal oxidative process in extra-virgin olive oils studied by FTIR, rheology and time-resolved luminescence. Food Chemistry 126 (2011) 1226–1231.
 22. DANTAS, E. J; Estudo Termoanalítico, Cinético e Reológico de Biodiesel Derivado do Óleo de Algodão (*Gossypium hisutum*). João Pessoa, PB, 2006.
 23. PAVIA, D. L; *et al.* Introduction to spectroscopy. Third edition, Brooks/Cole – Thomson Learning, US, 2001.
 24. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Análise instrumental. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 836 p, (2002).
 25. SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G.; MORRIL, T. C. Identificação espectroscópica de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 387 p, (1994).
 26. ALMEIDA, A.A. F, Avaliação do biodiesel etílico de milho por meio de técnicas espectroscópicas. Dissertação de Mestrado, João Pessoa, PB, 2007.
 27. MAHAMUNI, N. N; ADEWUYI, Y.G; Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) Method To Monitor Soy Biodiesel and Soybean Oil in Transesterification Reactions, Petrodiesel-Biodiesel Blends, and Blend Adulteration with Soy Oil. Energy & Fuels, 23, 3773–3782, 2009
 28. CONCEIÇÃO, M. M; *et al.* Thermal and Oxidative Degradation of Castor Oil Biodiesel. Energy & Fuels, 21, 1522-1527, 2007.
 29. CORGOZINHO, C. N.C; *et al.* Determination of residual oil in diesel oil by spectrofluorimetric and chemometric analysis. Talanta, 76 (2008) 479–484.

30. PILAR, H. F; *et al.* Caracterização e quantificação de biodiesel de mamona usando técnicas FTIR e espectroscopia luminescente. São Paulo, SP, Brasil.
31. CANDEIA, R. A; *et al.* Determinação da Concentração de Biodiesel em Misturas Binárias (Biodiesel/Diesel) por Espectrofotometria de Absorção Molecular no Ultravioleta/Visível. Cajazeiras, PB, Brasil.
32. ANDRADE-ELROA, A; *et al.* Critical approach to synchronous spectrofluorimetry. I. Trends in Analytical Chemistry, 2010
33. Lakowicz, J. R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. 3rd edition, Springer, 63–67, 2006.
34. ZAGONEL *et al.* Multivariate monitoring of soybean oil ethanolysis by FTIR. Talanta 63 (2004) 1021–1025.
35. ÁVILA, R. N. A. Características físico-químicas e estabilidade à oxidação do biodiesel de nabo forrageiro. PUC de Minas Gerais. Programa de pós-graduação em engenharia mecânica. Belo Horizonte, 2009.
36. MAHAMUNI, N. N; ADEWUYI, Y. G. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) method to monitor soy biodiesel and soybean oil in transesterification reactions, petrodiesel biodiesel blends, and blend adulteration with soy oil. Energy & Fuels, 23, 3773–3782, 2009.
37. ARUDI, R. L. Purification of oleic acid and linoleic acid. J. Lipid Res. 24, 485-488, 1983.
38. SKLAR, L. A; *et al.* Conjugated Polyene Fatty Acids on Fluorescent Probes: Spectroscopic Characterization. Biochemistry, American Chemical Society, Vol 16. No 5, 1977.
39. SKLAR, L. A; *et al.* Conjugated polyene fatty acids as fluorescent probes: binding to bovine serum albumin. Biochemistry, Vol 16, No. 23, 1977.
40. ALBUQUERQUE, M. L. S; *et al.* Characterization of buriti (*mauritia flexuosa* L.) oil by absorption and emission spectroscopies. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 16, No. 6A, 1113-1117, 2005.
41. ARANDA, F. J; *et al.* Fluorescence study of the location and dynamics of α -tocopherol in phospholipide vesicles.
42. GOMEZ-FERNANDEZ; *et al.* Localization of α -tocopherol in membranes. Annals New York Academy of Sciences (109-120).
43. DAHOT, M. U; MEMON, M. A; MEMON, M. A; UV-Spectrophotometric determination of α -tocopherol acetate in pharmaceutical preparations.
44. LINS, R. T. Determinação de tocoferóis e carotenóides em frutas amazônicas: implantação de uma metodologia. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pará. Centro Tecnológico. Belém, 2006
45. SKLAR, L. A; *et al.* Conjugated Polyene Fatty Acids As Membrane Probes: Preliminary Characterization. Proc. Nat. Acad. Sci. USA Vol. 72, No. 5, 1649-1653, 1975.
46. CHRISTENSEN, J; NORGAARD, L; BRO, R; ENGELSEN, S. B. Multivariate Autofluorescence of Intact Food Systems. Chem. Rev. Vol. 106, No 6, 1980-1994, 2005.
47. NUNES, E. C. B. Propriedades ópticas e térmicas da oleína de palma. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pará. Instituto de Ciências Exatas e Naturais. Programa de Pós-Graduação em Física. Belém-PA. 2008

48. GUIMET, F.; BOQUÉ, R.; FERRÉ, J. Study of oils from the protected denomination of origin "Siurana" using excitation-emission fluorescence spectroscopy and three-way method of analysis. *Grasas y Aceites*. Vol. 56. Fasc. 4, 292-297, 2005.
49. ESCUDEROS, M. E; SAYAGO, A; MORALES, M. T; APARICIO, R. Evaluation of α -tocopherol in virgin olive oil by a luminiscent method. *Grasas y Aceites*, 60 (4), 336-342, 2009.
50. SIKORSKA, E; *et al.* Characterization of Edible Oils Using Total Luminescence Spectroscopy. *Journal of Fluorescence*, Vol. 14, No. 1, 2004.
51. SÁDECKÁ, J; TÓTHOVÁ, J. Fluorescence Spectroscopy and Chemometrics in the Food Classification – a Review. *Czech J. Food Sci.* Vol. 25, No. 4. 159–173, 2007.
52. SIKORSKA, E; *et al.* Classification of edible oils using synchronous scanning fluorescence spectroscopy. *Food Chemistry*. 89, 217–225, 2005.
53. TENA, N; *et al.* Evaluation of Virgin Olive Oil Thermal Deterioration by Fluorescence Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 57, 10505–10511, 2009.
54. CHEIKHOUSMAN, R; *et al.* Fluorescence spectroscopy for monitoring deterioration of extra virgin olive oil during heating. *Anal Bioanal Chem.* 382, 1438–1443, 2005.
55. SAYAGO, A; MORALES, M. T.; APARICIO, R. Detection of hazelnut oil in virgin olive oil by a spectrofluorimetric method. *Eur Food Res Technol.* 218:480–483, 2004.
56. GUIMET, F; *et al.* Excitation–emission fluorescence spectroscopy combined with three-way methods of analysis as a complementary technique for olive oil characterization. *J. Agric. Food Chem.* 53, 9319–9328, 2005.
57. POULLI, K. I; *et al.* Classification of edible and lampante virgin olive oil based on synchronous fluorescence and total luminescence spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*. 542, 151–156, 2005.
58. DUPUY, N; *et al.* Origin of french virgin olive oil registered designation of origins predicted by chemometric analysis of synchronous excitation–emission fluorescence spectra. *J. Agric. Food Chem.* 53, 9361–9368, 2005.
59. SIKORSKA, E; *et al.* Characterization of edible oils using synchronous scanning fluorescence spectroscopy. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, Vol. 12/53, SI 2, pp. 108-112, 2003.
60. POULLI, K. I. *et al.* Synchronous Fluorescence Spectroscopy: Tool for Monitoring Thermally Stressed Edible Oils. *J. Agric. Food Chem.* 57, 8194–820, 2009.
61. SIKORSKA, E *et al.* Synchronous fluorescence spectroscopy of edible vegetable oils. Quantification of tocopherols. *J. Agric. Food Chem.* 53, 6988–6994, 2005.
62. CHIMENEZ, T. A. Espectroscopia de fluorescência como ferramenta para caracterização de biodiesel e monitoramento de processos de degradação. *Dissertação de Mestrado. UFGD, Dourados – MS*, 2011.
63. MAGALHÃES, K.F; OIVEIRA, S. L; CAIRES, A. R. L; SILVA, M. S. The Role of Methyl Esters in the UV-Vis Absorption and Fluorescence of Biodiesel. 2011 (Redação)
64. Hurtubise, R. J .Selective fluorescence quenching and determination of phenolic antioxidants. *analytical chemistry*, vol. 48, No. 14. 2092-2094, 1976.

65. SILVA, R. Estudo das propriedades ópticas de absorção e fotoluminescência do ácido oleico diluído com beta-caroteno. Dissertação de Mestrado. Belém-Pará, 2004.
66. Soheila Kashanian and Jafar Ezzati Nazhad Dolatabadi, DNA AND CELL BIOLOGY Volume 28, Number 10, 2009.
67. REDA S. Y. Estudo Comparativo de Óleos Vegetais Submetidos a Estresse Térmico. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa - PR, 2004.