

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**



Tese:

**ESTABILIDADE DE COMPONENTES DA FRAÇÃO LIPÍDICA DURANTE O
ARMAZENAMENTO DE GRÃOS, ÓLEO BRUTO, ÓLEO REFINADO E BIODIESEL
DE ARROZ, CANOLA E GIRASSOL**

DIEGO BATISTA ZENI
Engenheiro Agrícola, M. Sc.

Pelotas, 2014

DIEGO BATISTA ZENI

**ESTABILIDADE DE COMPONENTES DA FRAÇÃO LIPÍDICA DURANTE O
ARMAZENAMENTO DE GRÃOS, ÓLEO BRUTO, ÓLEO REFINADO E BIODIESEL
DE ARROZ, CANOLA E GIRASSOL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Pelotas, 2014

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

Z54e Zeni, Diego Batista

Estabilidade de componentes da fração lipídica durante o armazenamento de grãos, óleo bruto, óleo refinado e biodiesel de arroz, canola e girassol / Diego Batista Zeni; Moacir Cardoso Elias, orientador; Manoel Artigas Schirmer, Miguel Pinto de Oliveira, co-orientadores. – Pelotas, 2014.
106 f.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

1. Armazenagem. 2. Oleaginosas. 3. Óleo vegetal. 4. Biodiesel 5. Éster metílico. I. Elias, Moacir Cardoso, orient. II. Schirmer, Manoel Artigas, coorient. III. Oliveira, Miguel Pinto de Oliveira, coorient. IV. Título.

CDD: 664.3

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Comitê de orientação:

Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias (Orientador)

Prof. Dr. Manoel Artigas Schirmer

Prof. Dr. Miguel Pinto de Oliveira

Banca examinadora:

Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias – UFPel - FAEM

Prof. Dr. Fabio Clasen Chaves – UFPel - FAEM

Prof. Dr. Luiz Fernando Gonçalves van der Laan – UFPel - CENG

Prof. Dr. Wolmer Brod Peres – UFPel - CENG

Prof. Dr. Carlos Antonio da Costa Tillmann – UFPel - CENG

“O uso de óleos vegetais para combustíveis de motores pode parecer insignificante hoje. Mas tais óleos podem tornar-se no decorrer do tempo tão importante como o petróleo e os produtos de alcatrão de carvão do tempo presente.”

Rudolf Diesel, 1912

Dedico a Deus, aos meus pais Desto e Ana Vera, à minha irmã Debora, e a minha esposa Ana Lúcia pela ajuda e pelo estímulo.

AGRADECIMENTOS

Quando chegamos ao fim de um projeto, observamos que várias pessoas contribuíram para que ele pudesse ser realizado. Então, gostaria de agradecer a todos aqueles que de alguma forma contribuíram e fizeram parte deste trabalho.

Primeiramente, agradeço a presença de Deus na minha vida, pois sem Ele não chegaria a lugar algum.

À minha querida mãe, pelo amor e pelo apoio incondicional, pela confiança e também pelas muitas orações dedicadas à minha vida acadêmica.

Ao meu querido pai, que sempre me incentivou, sem medir esforços para que eu pudesse chegar onde estou hoje.

À minha Irmã Debora pelo carinho e pelo apoio incondicional.

À minha esposa Ana Lúcia, pela dedicação, pela paciência e pelo carinho.

Ao professor Dr. Moacir Cardoso Elias, pela orientação, por ter me recebido em seu grupo, pelo apoio e pela paciência, pela tranqüilidade transmitida em momentos difíceis e por ter contribuído para o meu crescimento profissional e pessoal tornando possível a realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Manoel Artigas Schimer, pela coorientação, pela amizade, pelo incentivo e pela paciência me encorajando nas dificuldades encontradas.

Ao professor Dr. Miguel Pinto de Oliveira, pela coorientação, pela amizade, pela colaboração e pelo desprendimento, me apoiando nas dificuldades encontradas.

Ao professor Dr. Pedro Luiz Antunes, pela oportunidade de ter sido seu aluno de graduação e pós-graduação, e um grande mestre para minha vida profissional e pessoal, mesmo não estando mais aqui, para compartilhar deste momento, está presente no meu pensamento.

Aos Professores Rui Zambiasi, Fabio Chaves, Álvaro Dias e Mauricio de Oliveira, pela amizade e pela colaboração oferecidas ao longo deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas pelo companheirismo, pelo apoio, pelo incentivo, pela amizade, pela paciência, e por terem compartilhado comigo muitos momentos, alguns agradáveis outros estressantes.

Aos meus amigos da UFPel, DCTA e estagiários do LABGRÃOS, pelo esforço para comigo e este trabalho, e pela amizade demonstrada durante este período.

A todos os colegas do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela amizade e pela convivência durante este período.

À CAPES, pela bolsa de estudos e pelo apoio financeiro.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

A FAPERGS-FINEP-FEPAGRO, pelo apoio financeiro no Projeto Estruturante de Agroenergia do Rio Grande do Sul.

À ABIAP (Associação Brasileira das Indústrias de Arroz Parboilizado), à AFUBRA (Associação dos Fumicultores do Brasil) e às empresas BLUE VILLE e BS BIO, pela doação dos grãos e dos óleos utilizados neste estudo.

ZENI, DIEGO BATISTA. Estabilidade de componentes da fração lipídica durante o armazenamento de grãos, óleo bruto, óleo refinado e biodiesel de arroz, canola e girassol. 2014. 106 f. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

RESUMO

Na última década se observa uma tendência mundial na procura de energia renovável. No Brasil o óleo de soja é a principal matéria prima para produção de biodiesel. Além da diversificação de matérias primas, outra necessidade para a cadeia produtiva de grãos, óleos e biodiesel, é a armazenagem por períodos mais longos, principalmente para a fabricação de biocombustível e seus derivados. A maior dificuldade da cadeia produtiva está na pós-colheita, onde há poucos dados referentes à estabilidade lipídica de grãos e óleos, e à estabilidade dos ésteres metílicos (biodiesel), principalmente por períodos médios e longos de armazenagem, com manutenção de características tecnológicas em níveis aceitáveis para a produção e comercialização do biodiesel, assim como também são escassos em se tratando de consumo alimentar. Neste estudo foram analisados efeitos do armazenamento dos grãos, do óleo bruto, do óleo refinado e dos ésteres metílicos de arroz, canola e girassol, sobre o perfil dos ácidos graxos, o conteúdo de moléculas com caráter antioxidante e características físico-químicas do óleo e do biodiesel armazenados a 25°C e 55% de umidade relativa. Conclui-se que: (a) o armazenamento prolongado promova a degradação de tocoferóis, diminuindo o seu conteúdo em todos os grãos, óleos e biodiesel; (b) tanto a oxidação primária como a secundária são crescentes para todos os grãos, óleos e ésteres metílicos durante o armazenamento, com a exceção do óleo bruto de girassol (para a oxidação secundária); (c) a acidez cresce com o aumento do tempo de armazenamento de grãos, óleo bruto e óleo refinado, mas é estável para os biodieseis durante os 6 meses de armazenamento, com exceção dos óleos brutos de arroz e canola; (d) os grãos de canola apresentam a maior estabilidade lipídica encontrada neste estudo.

Palavras-chave: Armazenagem, oleaginosas, óleo vegetal, biocombustível e éster metílico.

ZENI, DIEGO BATISTA. Stability of components of the lipid fraction during storage of grains, oil crude, oil refined, biodiesel rice, canola and sunflower. 2014. 106 f. Master of Science Dissertation - Post-Graduation. Graduate Program in Science and Technology of Food - Federal University of Pelotas, Pelotas, RS.

ABSTRACT

In the last decade a worldwide trend in the demand for renewable energy has been observed. In Brazil, soybean oil is the main feedstock for biodiesel production. Apart from diversification of raw materials, other needs for the supply chain of grain, oils and biodiesel is stored for longer periods, principally for the manufacture of biofuels and their derivatives. The main problem of the supply chain is the storage stage, as there are few data regarding lipid stability of grain and oils, and the stability of methyl esters (biodiesel), mainly medium and long periods, maintaining technological characteristics at acceptable levels for the production and marketing of biodiesel, as are also scarce when it comes to food consumption. This study analyzed the effects of storage of rice, canola and sunflower grains, crude oil, refined oil, their methyl esters, their fatty acid profile and the antioxidant content and physical-chemical characteristics of the oil and biodiesel stored at 25°C and 55 % relative humidity. It was found that: (a) prolonged storage promoted the degradation of total and individual tocopherols, reducing its content in all grains, oil and biodiesel; (b) both primary and secondary oxidation were increased for all grains, oils and biodiesel during storage, with the exception of crude sunflower oil (for secondary oxidation); (c) the acidity was also increasing during the period of grains storage, crude and refined oil, but was stable for biodiesel during the 6 months of storage, with the exception of crude rice and canola; (d) the highest lipid stability in this study was found in canola grains.

Keywords: Storage, oilseeds, vegetable oil, biofuel, methyl ester.

FIGURAS

Figura 1.	Percentual da produção mundial de óleos vegetais em 2012.	18
Figura 2.	Estrutura do triglicerídeo com ácidos graxos saturado, monoinsaturado e polinsaturado (omega 3, 6 e 9).....	22
Figura 3.	Reação de oxidação lipídica (formação de hidroperóxidos).	25
Figura 4.	Reação de oxidação lipídica (hidroperóxidos trans).	26
Figura 5.	Estrutura dos tocoferóis individuais, alfa, beta, gama e delta.....	29
Figura 6.	Ação antioxidante dos tocoferóis.....	30
Figura 7.	Reação de transesterificação de triglicerídeos.....	31
Figura 8.	Secador de leito fixo de escala laboratorial do LABGRÃOS – DCTA – UFPel	46
Figura 9.	Câmaras de armazenamento do LAB. GRÃOS – DCTA – UFPel.	47
Figura 10.	Frascos com volume de 1 litro de vidro âmbar com tampa.	47
Figura 11.	Teores de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) dos grãos de arroz armazenados durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	58
Figura 12.	Peróxidos, aldeídos (A) e acidez (B) dos grãos de arroz armazenados durante 12 meses a 25°C com umidade relativa a 55%.....	59
Figura 13.	Teores de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) dos grãos de canola armazenados durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	60
Figura 14.	Peróxidos, aldeídos (A) e acidez (B) dos grãos de canola armazenados durante 12 meses a 25°C com umidade relativa a 55%.....	61
Figura 15.	Teores de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) dos grãos de girassol armazenados durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	62
Figura 16.	Peróxidos, aldeídos (A) e acidez (B) dos grãos de girassol armazenados durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	63
Figura 17.	Teores de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo bruto de arroz armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	65
Figura 18.	Peróxidos, aldeídos (A) e acidez (B) do óleo bruto de arroz armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	66
Figura 19.	Teores de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo refinado de arroz armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	67
Figura 20.	Peróxidos, aldeídos (A) e acidez (B) do óleo refinado de arroz armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	68

Figura 21. Teores de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo bruto de canola armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	70
Figura 22. Peróxidos, aldeídos (A) e acidez (B) do óleo bruto de canola armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	71
Figura 23. Teores de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo refinado de canola armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	72
Figura 24. Peróxidos, aldeídos (A) e acidez (B) do óleo refinado de canola armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	73
Figura 25. Teor de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo bruto de girassol armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	74
Figura 26. Peróxidos, aldeídos (A) e acidez (B) do óleo bruto de girassol armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	75
Figura 27. Teores de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo refinado de girassol armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	76
Figura 28. Peróxidos, aldeídos (A) e acidez (B) do óleo refinado de girassol armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.....	77

TABELAS

Tabela 1. Composição em percentual de ácidos graxos dos óleos vegetais de arroz, canola e girassol.	23
Tabela 2. Composição em percentual de ácidos graxos dos óleos de arroz, canola e girassol.	23
Tabela 3. Características físicas e químicas dos óleos de arroz, canola e girassol.	24
Tabela 4. Limites e Normas Técnicas determinados pela resolução ANP N ^o . 14 de 2012.	35
Tabela 5. Limites de ponto de entupimento de filtro a frio para as unidades da federação.	36
Tabela 6. Índice de cetanos de biodiesel produzido de sebo, óleos usados em frituras e óleo de soja usando o método padrão ASTM D- 473735.....	41
Tabela 7. Comparação de índice de cetanos e número de cetanos em amostras de diesel mineral.	41
Tabela 8. Delineamento para avaliar os grãos de arroz, canola e girassol para produção de biodiesel.	43
Tabela 9. Delineamento para avaliar o óleo bruto e o óleo refinado de arroz, canola e girassol para produção de biodiesel.....	44
Tabela 10. Delineamento para avaliar o biodiesel de óleo bruto e óleo refinado de arroz, canola e girassol.	45
Tabela 11. Programa do gradiente de eluição dos solventes na separação de tocoferóis.	49
Tabela 12. Perfil dos ácidos graxos (%) dos grãos, óleos bruto e refinado de arroz.	54
Tabela 13. Perfil dos ácidos graxos (%) dos grãos, óleos bruto e refinado de canola.	55
Tabela 14. Perfil dos ácidos graxos (%) dos grãos, óleos bruto e refinado de girassol.	56
Tabela 15. Teor de ésteres, glicerol livre e total, teor de sódio e potássio, ponto de fusão, cristalização e congelamento dos biodieseis de arroz, canola e girassol produzidos e analisados antes do armazenamento.	85

Tabela 16. Conteúdo de ésteres saturados, monoinsaturados e polinsaturados, tocoferóis individuais e totais dos biodieseis de arroz, canola e girassol armazenados durante 6 meses a 25°C com UR a 55%.....	87
Tabela 17. Índice de peróxido, p-anisidina, acidez, iodo e cetano, e viscosidade cinemática dos biodieseis de arroz, canola e girassol armazenados durante 6 meses a 25°C com UR a 55%.	91

ABREVIATURAS E SIGLAS

α	Alfa
β	Beta
δ	Delta
γ	Gama
a.C.	Antes de Cristo
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
ANVISA	Agência Nacional da Vigilância Sanitária
ASTM	American Society for Testing and Materials
CG	Cromatografia Gasosa
EM/ISO	European and International Organization for Standardization
ERS	Economic Research Service
EUA	Estados Unidos da América
FAS	Foreign Agricultural Service
FAMEs	Fatty Acid Methyl Esters
IC	Índice de Cetano
nº	Número
NBR	Denominação de norma da ABNT
NC	Número de Cetano
USDA	United States Department of Agriculture
HCl	Ácido Clorídrico
K	Potássio
KHO	Hidróxido de Potássio
Na	Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
N	Normalidade

UNIDADES

mg	Miligrama
kg	Quilograma
$\text{mg}_{\text{KOH}} \cdot \text{g}^{-1}$	Miligrama de hidróxido de potássio por grama
$\text{mg}_{\text{KOH}} \cdot 100\text{g}^{-1}$	Miligrama de hidróxido de potássio por cem gramas
$\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$	Miligrama por cem gramas

mg. kg ⁻¹	Miligrama por quilograma
g.100ml ⁻¹	Gramas por cem mililitros
gI ₂ .100g ⁻¹	Gramas de iodo por cem gramas
g.100g ⁻¹	Gramas por cem gramas
g _{ac.oléico} .100g ⁻¹	Gramas de ácido graxo oléico por cem gramas
kg.ha ⁻¹	Quilograma por hectare
kg.m ⁻³	Quilograma por metro cúbico
kg.l ⁻¹	Quilograma por litro
meqO ₂ .kg ⁻¹	Miliequivalente de oxigênio por quilograma
um	Micrometro
mm	Milímetro
m	Metro
m ³	Metro cúbico
mm ² .s ⁻¹	Milímetro cúbico por segundo
m ³ .s ⁻¹	Metro quadrado por segundo
m ³ .min ⁻¹ .t ⁻¹	Metro cúbico por minuto por tonelada
m ³ .dia ⁻¹	Metro cúbico por dia
m ³ .kg ⁻¹	Metro cúbico por quilograma
ul	Microlitro
ml	Mililitro
L	Litro
ml.min ⁻¹	Mililitro por minuto
%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
°C. min ⁻¹	Grau Celsius por minuto
n _D ⁴⁰	Refração a 40 °C
h	Hora
min	Minuto
s	Segundo
rpm	Rotações por minuto
kpa	Quilopascal

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1. Grãos.....	19
2.1.1. Arroz.....	19
2.1.2. Canola.....	20
2.1.3. Girassol	20
2.1.4. Conservação de grãos	21
2.2. Óleos vegetais.....	22
2.2.1. Perfil de ácidos graxos e características físico-químicas	23
2.2.2. Oxidação	24
2.2.3. Acidificação	27
2.2.4. Antioxidantes.....	28
2.2.4.1. Tocoferóis.....	28
2.3. Biodiesel.....	30
2.3.1. Transesterificação	32
2.3.2. Armazenamento de biodiesel.....	33
2.3.3. Características físico-químicas do biodiesel.....	34
2.3.3.1. Índice de acidez	36
2.3.3.2. Índice de iodo	37
2.3.3.3. Teores de sódio e potássio	37
2.3.3.4. Viscosidade cinemática	38
2.3.3.5. Ponto de entupimento de filtro a frio.....	38
2.3.3.6. Faixa de destilação.....	39
2.3.3.7. Massa específica.....	40
2.3.3.8. Número e índice de cetanos.....	40
3. MATERIAIS e MÉTODOS.....	42
3.1. Material.....	42
3.2. Métodos.....	42
3.2.1. Delineamento experimental.....	42
Estudo 1: Efeitos do tempo de armazenamento dos grãos sobre a estabilidade do óleo de arroz, canola e girassol.....	42
Estudo 2: Efeitos do processamento industrial e do tempo de armazenamento sobre a estabilidade do óleo bruto e do óleo refinado de arroz, canola e girassol.....	43

Estudo 3: Efeitos do tempo de armazenamento sobre a estabilidade do biodiesel obtido de óleo bruto e óleo refinado de arroz, canola e girassol.....	44
3.2.2. Preparo das amostras.....	45
3.2.2.1. Limpeza e secagem dos grãos.....	45
3.2.2.2. Extração e acondicionamento do óleo bruto.....	46
3.2.2.3. Transesterificação dos óleos.....	46
3.2.2.4. Armazenamento.....	46
3.2.3. Avaliações.....	47
3.2.3.1. Perfil de ácidos graxos.....	48
3.2.3.2. Quantificação de tocoferóis.....	48
3.2.3.3. Índice de peróxidos.....	49
3.2.3.4. Índice de p-anisidina.....	49
3.2.3.5. Índice de acidez.....	50
3.2.3.6. Determinação de teor de ésteres.....	50
3.2.3.7. Índice de iodo.....	51
3.2.3.8. Teores de potássio e sódio.....	51
3.2.3.9. Viscosidade cinemática.....	51
3.2.3.10. Ponto de fusão, cristalização e congelamento.....	51
3.2.3.11. Índice de cetanos.....	52
3.2.3.12. Massa específica.....	52
3.2.3.13. Glicerina livre e total, mono, di e triacilglicerol.....	52
3.2.3.14. Análise estatística.....	53
4 RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	54
4.1. Estudo 1.....	57
4.2. Estudo 2.....	64
4.3. Comparativo entre os estudos 1 e 2.....	78
4.3.1. Grãos e óleos de arroz.....	78
4.3.2. Grãos e óleos de canola.....	80
4.3.3. Grãos e óleos de girassol.....	82
4.3.4. Arroz, canola e girassol.....	83
4.4. Estudo 3.....	84
5. CONCLUSÕES.....	95
6. REFERÊNCIAS.....	96

1. INTRODUÇÃO

Na última década se observa uma tendência mundial na procura de energia renovável, e em consequência, o Brasil que apenas industrializava o óleo vegetal para o consumo interno, passou a produzir em larga escala biocombustíveis derivados de óleos vegetais.

Devido à grande extensão territorial e ao clima propício ao cultivo de oleaginosas, o Brasil é um país com grande potencial de exploração da biomassa para fins alimentícios, químicos e energéticos.

O Brasil é o segundo maior produtor de grãos oleaginosos do mundo, sendo superado apenas pelos EUA, e é o terceiro maior produtor de biodiesel do planeta, sendo a Alemanha a maior produtora e os EUA o segundo. A principal matéria prima para produção de biodiesel no Brasil é o óleo de soja, mas no país ocorre uma mudança para produção de outras culturas com grãos com alto teor de óleo (>25%) que possam acrescentar ou substituir a soja como matéria prima para o biodiesel, diversificando a matriz energética, com menor dependência da sazonalidade das safras e do mercado de commodities.

No país, diversas espécies oleaginosas, como soja, palma, mamona, canola e girassol, têm sido utilizados como matéria prima para a produção de biodiesel, entretanto outros óleos, como de arroz, nabo forrageiro, gorduras animais e óleo residual de fritura, estão sendo estudados e alguns já utilizados em plantas industriais de biocombustíveis, particularmente a gordura animal com algumas restrições devido às características do seu biodiesel utilizado para regiões mais frias.

As oleaginosas de cultivo de inverno como canola (40% de óleo) e girassol (47% de óleo) e subprodutos com oferta maior que a demanda, como o farelo de arroz irrigado podem ser utilizados neste período, que muitas áreas agricultáveis estão ociosas aumentando a oferta de óleo vegetal. Estes fatores interferem no preço final do biodiesel tornando mais atrativo financeiramente que o diesel, somando-se ao atrativo ambiental do biocombustível.

Além da diversificação de matérias primas, outra necessidade para a cadeia produtiva de grãos, óleos e biodiesel é armazenagem por períodos mais longos, principalmente para a fabricação de biocombustível e seus derivados. A maior dificuldade da cadeia produtiva está na etapa de armazenamento, onde há poucos dados referentes à estabilidade lipídica de grãos e óleos, e à estabilidade dos ésteres metílicos (biodiesel), principalmente por períodos médios e longos, com manutenção

de características tecnológicas em níveis aceitáveis para a produção e comercialização do biodiesel.

O armazenamento prolongado tende a promover a degradação dos lipídios alterando seus conteúdos de ácidos graxos e antioxidantes, o que afeta a estabilidade dos grãos e óleos de arroz, canola e girassol, e promove a oxidação dos ésteres metílicos (biodiesel) de óleo extra-virgem e refinado de arroz, canola e girassol alterando suas características físico-químicas.

Teores elevados de polinsaturados e de antioxidantes em óleos vegetais e seus ésteres metílicos, retardam a degradação destes ao longo do armazenamento, preservando o perfil de ácidos graxos, diminuindo a formação de produtos oxidados nos óleos, e mantendo as características físico-químicas do biodiesel.

Objetivou-se, com o presente trabalho, verificar os efeitos do armazenamento dos grãos, do óleo bruto, óleo refinado e dos ésteres metílicos de arroz, canola e girassol, sobre a estabilidade do perfil dos ácidos graxos, do conteúdo de antioxidante e de características físico-químicas do óleo como matéria prima alimentícia e como biodiesel.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Sendo superado apenas pelos Estados Unidos, o Brasil é o segundo maior produtor de grãos oleaginosos do mundo, sendo a soja e o algodão as principais culturas, seguidos pelo girassol e pela canola, e em consequência do programa brasileiro de biocombustíveis. No Brasil os óleos vegetais que tinham somente importância na alimentação humana adquiriram também um potencial para fins energéticos. Os óleos de palma, soja, canola e girassol foram os óleos vegetais (Fig. 1) mais produzidos no mundo em 2012 (CARVALHO, 2013).

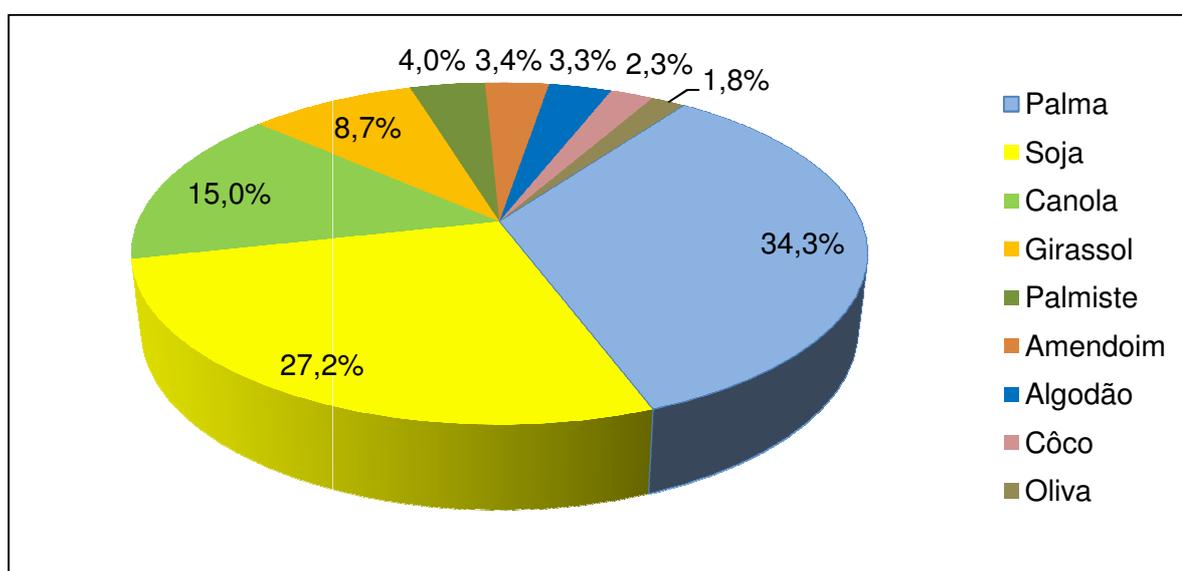


Figura 1. Percentual da produção mundial de óleos vegetais em 2012.

Fonte: Adaptada de CARVALHO, 2013.

A produção de biodiesel no Brasil aumentou de 69.000,00m³ em 2006 para 2.700.000,00m³ em 2011. Aproximadamente 78% dessa produção é proveniente de usinas detentoras do Selo Combustível Social (BRASIL, 2012), sendo compulsório adquirirem parte da matéria prima de pequenos agricultores. Atualmente existem 64 plantas produtoras de biodiesel autorizadas pela ANP para operarem no Brasil, correspondendo a uma capacidade total autorizada de 20.207,76m³.dia⁻¹. Destas 64 plantas, 61 já estão em operação e possuem autorização para comercialização do biodiesel produzido, correspondendo a 19.159,04m³.dia⁻¹ de capacidade. Em 2012 o Brasil manteve a produção 2.700.000,00m³ equivalente ao ano anterior (ANP, 2013).

2.1. Grãos

2.1.1. Arroz

Há registro do cultivo de arroz (*Oryza sativa*) na Ásia anterior a 500 anos a.C. Este cereal e o trigo são os mais produzidos no mundo e consumidos milenarmente, sendo o arroz reconhecido pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) como alimento de dois terços população mundial (USDA-FAS, 2013).

A estrutura do grão de arroz consiste, tecnologicamente, de uma camada protetora, a casca (a pálea e a lema), correspondendo a cerca de 20% da massa do grão, que é removida no descascamento (WALTER et al., 2008).

O grão com um todo é denominado de cariopse, além da casca, é formado por diversas camadas, o pericarpo, o tegumento e a camada de aleurona, representando 5-8% da massa do arroz integral (descascado). A camada de aleurona contém os corpos lipídicos e proteicos que representam estruturas de reserva (MONKS, 2010; WALTER et al., 2008). A capa de aleurona e o gérmen (embrião) são eliminados na forma de farelo na etapa de polimento do grão de arroz, restando apenas o endosperma, a qual é utilizada na alimentação humana. A composição do grão e do farelo de arroz depende do genótipo, do armazenamento e do tipo de processamento (HOSENEY, 2010; LAKKAKULA et al., 2004).

As camadas periféricas que dão origem ao farelo (cerca de 8% do grão integral) oriundo do polimento destacam-se pela presença de nutrientes como fibras, gorduras e vitaminas do complexo B, com destaque ao ácido fólico. O gérmen ou embrião, igualmente removido nesta etapa distingue-se pela composição rica em proteínas e lipídios (MONKS, 2010). A maior parte do óleo do grão de arroz está localizada no gérmen com um teor variável de 15-22% (KIM et al., 1999).

A instabilidade do óleo do farelo de arroz se deve à ação enzimática que leva a decomposição dos triglicerídeos, formando ácidos graxos livres, quando exposto a condições de umidade e temperaturas elevadas. Os ácidos graxos livres comprometem a utilização do farelo para extração de óleos comestíveis, devido ao sabor ácido e desagradável que atribuem ao produto. Este óleo também é passível de oxidação, atribuindo odor e sabor de rançoso, conseqüentemente levando a perda de vitaminas e antioxidantes naturais (CARVALHO; VIEIRA, 1999; RODRIGUES et al., 2006).

A produção brasileira de arroz em 2013 foi de 11,7 milhões de toneladas, e o estado com maior produção foi o Rio Grande do Sul com 7,9 milhões de toneladas,

seguido de Santa Catarina com um milhão de toneladas (CONAB, 2013). Portanto é evidente a contribuição do Rio Grande do Sul na produção de arroz no Brasil, em especial no eixo produtor/beneficiador de Pelotas - Camaquã, onde já existem duas empresas que produzem óleo de arroz utilizando o farelo como matéria prima.

2.1.2 Canola

A canola e a colza são Crucíferas (do gênero *Brassica*) originária da Ásia e da Europa. Os grãos de canola possuem em torno de 34 a 40% de óleo, no Brasil é cultivada somente a canola de primavera (*Brassica napus* L. var. *oleífera*) é cultivada, a qual foi obtida por melhoramento genético convencional da colza (USDA-ERS, 2013).

De acordo com o Canola Council of Canadá (2013) a denominação canola é uma sigla oriunda do termo, **CAN**adian **Oil Low Acid**, não é uma marca registrada industrial como foi até 1986, e é adotado internacionalmente cuja a descrição oficial é: "uma oleífera cujo óleo deve conter menos de 2% de ácido erúxico e cada grama de componente sólido do grão seco ao ar deve apresentar no máximo 30 micromoles de glucosinolatos".

A canola possui em média 40% de óleo (base seca), os grãos de *Brassica oleífera* são processados e o óleo utilizado para consumo humano e o farelo para ração animal (KIMBER; MCGREGOR, 1995), este farelo em base de 10% de umidade geralmente contém cerca de 36% de proteína, 3,5% de gordura, 6,1% de cinzas e 44,4% de carboidratos (12% fibras) (HICKLING, 2001; NEWKIRK, CLASSEN; TYLER, 1997; HASSAS-ROUDSARI, 2009). O óleo de canola é o mais utilizado na Europa para produção de biodiesel (USDA-ERS, 2013).

A produção brasileira de canola em 2013 foi de 60,5 mil toneladas, e o estado com maior produção foi o Rio Grande do Sul com 36,3 mil toneladas, seguido do Paraná com 21,5 mil toneladas (CONAB, 2013).

2.1.3 Girassol

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma dicotiledônea anual da família *Compositae*, cultivado em todos os continentes, em área que atinge aproximadamente 18 milhões de hectares. Originária do Peru, na América do Sul, porém, pesquisas arqueológicas revelaram o uso do girassol por índios norteamericanos, por volta de 3000 anos a.C.; os grãos de girassol em uma base de 5% de umidade geralmente contém cerca de 24% de proteína, 47% de gordura, 4% de cinzas e 20% de carboidratos (EMBRAPA, 2010).

A produção brasileira de girassol em 2013 foi de 108,1 mil de toneladas, e o estado com maior produção foi o Mato Grosso com 84,7 mil de toneladas, seguido de Minas Gerais com 13,1 mil de toneladas (CONAB, 2013).

O cultivo de canola e girassol tem importância sócio-econômico por viabilizar a produção de oleaginosas no inverno e na primavera, vindo a complementar à demanda por oleaginosas, como a soja no verão, e desta forma contribuir para racionalizar os meios de produção (terra, equipamentos e pessoas) disponíveis (EMBRAPA, 2010).

2.1.4. Conservação de grãos

Os grãos quando armazenados podem ser degradados por diversos fatores como umidade, oxigênio, organismos associados, enzimas entre outros. A ação destes fatores sobre a degradação é proporcional às propriedades específicas e às características dos grãos como tipo de tegumento, constituição química e arranjo celular (LORINI et AL, 2002; ELIAS, 2008).

A acidificação é uma característica dos grãos oleaginosos, intensificada quanto maior for a umidade e a temperatura do armazenamento, esta característica é proporcional ao teor de grãos amassados, descascados e materiais estranhos (DIOS, 1984). A atividade de todos os componentes bióticos de um sistema depende do efeito combinado da umidade relativa e da temperatura no local da armazenagem, podendo levar a um armazenamento seguro ou perdas do produto. A variação da temperatura ambiente pode ser extrema gerando implicações positivas ou negativas na extensão das perdas durante a armazenagem (ELIAS, 2008; OLIVEIRA, 2011).

Sabe-se que o grau de umidade influencia muito a qualidade do produto armazenado. Grãos com elevado grau de umidade são um meio ideal para desenvolvimento de microrganismos, insetos e ácaros (PUZZI, 2000; LORINI et al., 2002; ELIAS, 2008) . A possibilidade de deterioração de grãos e sementes é menor quando estes são armazenados em baixa temperatura, já que o frio pode compensar os efeitos do alto grau de umidade em relação ao desenvolvimento de pragas que atacam os grãos armazenados (NAVARRO; NOYES, 2002).

A secagem é uma forma de armazenar grãos por mais tempo mantendo sua qualidade e seu valor nutritivo, pois esta diminui o teor de água do produto até níveis que permitam sua conservação segura (ELIAS, 2008).

2.2 Óleos vegetais

Lipídios são designados como um grupo heterogêneo de substâncias insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos polares. São classificados em três grandes grupos: lipídios simples (formados de ésteres de ácidos graxos e álcoois) contendo ácidos graxos, glicerol e ceras que são uma mistura complexa de álcoois, ácidos e alcanos de cadeia longa; lipídios compostos (lipídios simples conjugados com moléculas não lipídicas), fosfolipídios que são compostos que possuem ésteres formados a partir do glicerol, ácidos graxos, ácido fosfórico e outros grupos nitrogenados, e cerebrosídeos que são compostos formados por ácidos graxos, um grupo nitrogenado e um carboidrato, não contendo grupo fosfórico; e lipídios derivados (produtos da hidrólise lipídica) são os ácidos graxos, álcoois de alto peso molecular, esteróis, hidrocarbonetos de cadeia longa, carotenoides e vitaminas lipossolúveis (tocoferóis) (RIBEIRO & SERAVALLI, 2007).

Óleos e gorduras são compostos constituídos principalmente por triacilgliceróis, ou também chamados de triglicerídeos (Fig. 2) e suas propriedades físicas dependem da estrutura e da distribuição dos ácidos graxos presentes (CLAUSS, 1996, CASTRO et al., 2004). Os fosfolipídios, juntamente com os acilgliceróis, são os maiores componentes lipídicos da natureza, e a sua composição de ácidos graxos é determinante para as propriedades dos óleos (BOBBIO; BOBBIO, 2001).

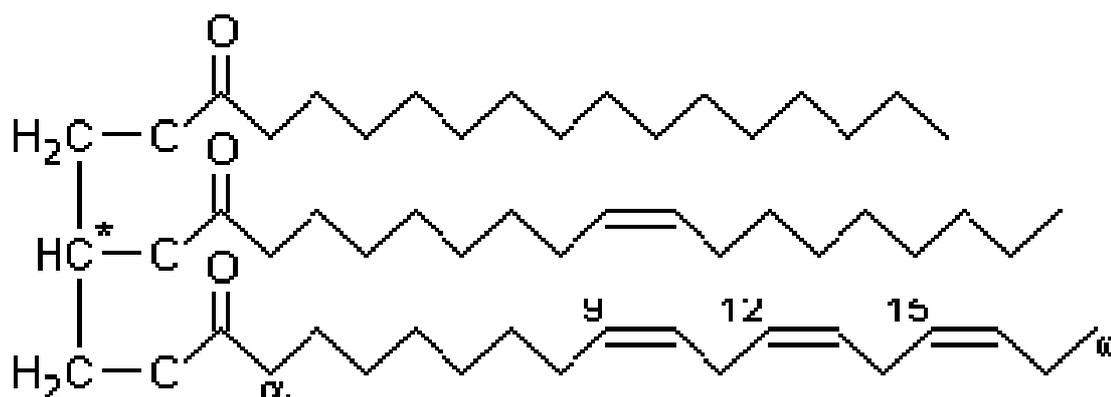


Figura 2. Estrutura do triglicerídeo com ácidos graxos saturado, monoinsaturado e polinsaturado (omega 3, 6 e 9).

Fonte: Adaptada de RIBEIRO et al., 2007.

2.2.1. Perfil de ácidos graxos e características físico-químicas

A Tab. 1 apresenta uma comparação entre os óleos vegetais de arroz, canola e girassol. Na Tab. 2 é apresentada a composição média de ácidos graxos dos óleos de arroz, canola e girassol, respectivamente (ANVISA, 1999).

Tabela 1. Composição em percentual de ácidos graxos dos óleos vegetais de arroz, canola e girassol.

Ácidos graxos (%)	Cultura		
	Arroz	Canola	Girassol
Saturados	23,4	6,5	11,3
Monoinsaturados	39,2	61,5	23,2
Polinsaturados	37,5	32,0	65,4
Total insaturados	76,6	93,5	88,6
Relação sat.-Insaturados	1-3,3	1-14,4	1-7,8
Relação oleico-linoleico	1,1-1	1,9-1	1-2,8
Acido linolênico	0,8	10,0	0,2

FONTE: Adaptada de BRUZZETTI, 1999.

Um perfil de ácidos graxos com predominância de ácidos graxos insaturados é desejável do ponto de vista nutricional, uma vez que dietas ricas em ácidos graxos saturados afetam a adiposidade e comportamento dos macrófagos, além de causar inflamações e disfunção metabólica; porém as ligações insaturadas fazem com que o óleo torne-se mais susceptível à degradação, mesmo à temperatura ambiente (ENOS et al., 2013; MASSIERA et al., 2010).

Tabela 2. Composição em percentual de ácidos graxos do óleo de arroz, canola e girassol.

Ácidos Graxos	Estrutura	Valores de Referência (%)		
		Arroz	Canola	Girassol
Ácido Mirístico	C 14:0	0,4 – 1,0	< 0,2	< 0,5
Ácido Palmítico	C 16:0	12,0 – 18,0	2,5 – 6,5	3,0 – 10,0
Ácido Palmitoleico	C 16:1	0,2 – 0,4	< 0,6	< 1,0
Ácido Esteárico	C 18:0	1,0 – 3,0	0,8 – 3,0	1,0 – 10,0
Ácido Oleico (Ômega 9)	C 18:1	40,0 – 50,0	53,0 – 70,0	14,0 – 35,0
Ácido Linoleico (Ômega 6)	C 18:2	29,0 – 42,0	15,0 – 30,0	55,0 – 75,0
Ácido Linolênico (Ômega 3)	C 18:3	< 1,0	5,0 – 13,0	< 0,3
Ácido Araquídico	C 20:0	< 1,0	0,1 – 1,2	< 1,5
Ácido Eicosenoico	C 20:1	< 0,2	0,1 – 4,3	< 0,5
Ácido Behênico	C 22:0	< 1,0	< 0,6	< 1,0
Ácido Erúxico	C 22:1	< 0,2	< 2,0	< 0,5
Ácido Lignocérico	C 24:0	< 0,2	< 0,2	< 0,5
Ácido Tetracosenoico	C 24:1	< 0,2	< 0,2	< 0,5

FONTE: Adaptada de ANVISA, 1999.

O óleo é importante matéria-prima para a indústria oleoquímica e para fontes renováveis de energia, com potencial de reduzir os prejuízos ecológicos dos petroderivados, devido a sua característica estrutural em função do perfil de ácidos (ARLESKIND, 1996; BOSS, 2000; CANAKCI; VAN GERPEN, 2001).

Os lipídios contêm pequenas quantidades de diversos componentes menores, impactando significativamente suas propriedades físicas e químicas (BOBBIO; BOBBIO, 2001). Na Tab. 3 são apresentadas as características físicas e químicas do óleo de arroz, canola e girassol, e seus limites definidos pela Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA, 1999).

Tabela 3. Características físicas e químicas do óleo de arroz, canola e girassol.

	Arroz	Canola	Girassol
Densidade relativa (25°C)	0,916 – 0,91	0,914 – 0,920	0,915 – 0,920
Índice de refração (n_D^{40})	1,465 – 1,468	1,465 – 1,467	1,467 – 1,469
Índice de saponificação ($mg_{KOH} \cdot 100g^{-1}$)	181 -189	182 -193	188 -194
Índice de iodo ($g_{I_2} \cdot 100g^{-1}$)	99 – 108	110 – 126	110 – 143
Matéria insaponificável ($g \cdot 100g^{-1}$)	< 5,0	< 2,0	< 1,5
Acidez, g de ácido ($g_{ac.oléico} \cdot 100g^{-1}$)	< 0,3	< 0,3	< 0,3
Índice de peróxido ($meq_{O_2} \cdot kg^{-1}$)	< 10,0	< 10,0	< 10,0

FONTE: Adaptada de ANVISA, 1999.

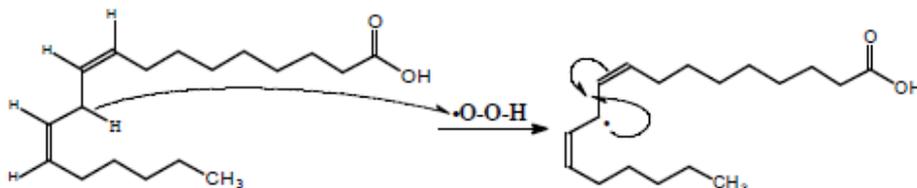
2.2.2. Oxidação

A oxidação de óleos depende de uma série de fatores incluindo a disponibilidade de oxigênio, a presença de luz, a temperatura e a auto-oxidação, que é a oxidação na ausência de luz e segue um mecanismo de radical livre, onde inicialmente a absorção de oxigênio resulta na formação de hidroperóxidos. Estes compostos lábeis decompõem-se produzindo uma mistura complexa de compostos orgânicos voláteis como aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, álcoois e ésteres, responsáveis pela deterioração do sabor (MORALES et al., 1997; FRANKEL, 2005).

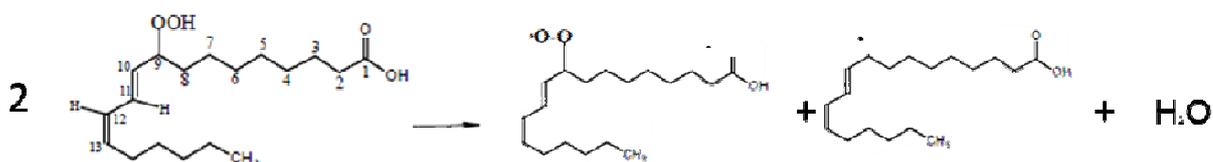
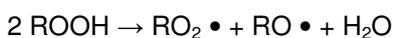
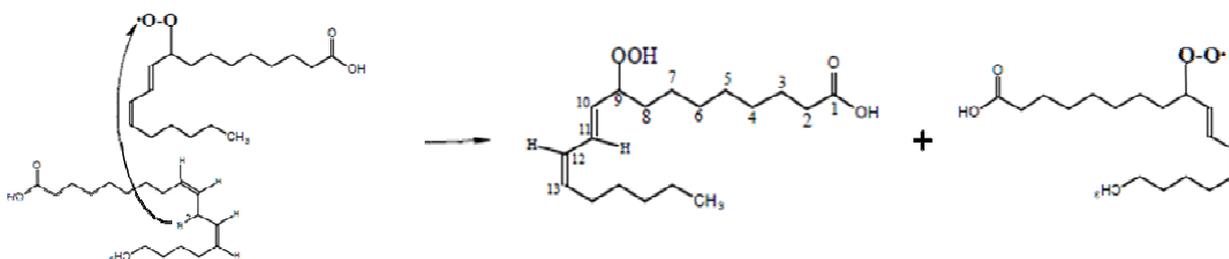
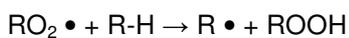
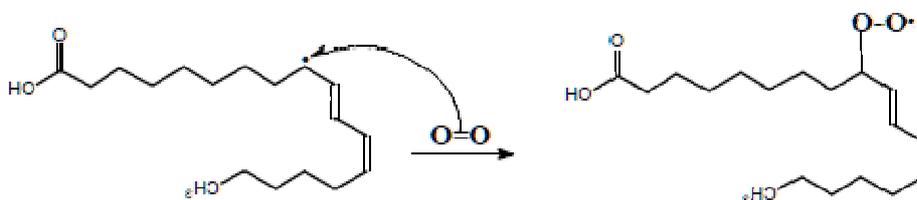
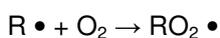
A oxidação ocorre inicialmente pela adição de um elétron ao oxigênio molecular, o que resulta em um ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), que pode reagir com diversas moléculas, entre elas com um próton H^+ , resultando no radical peroxil, extremamente oxidante, que, na presença de um ácido graxo insaturado, promove a retirada de hidrogênio ligado ao carbono entre os grupamentos insaturados (Fig. 3). Esta molécula, então, passa a possuir um radical livre e pode reagir com outro oxigênio molecular, que se liga ao ácido graxo e forma o radical peroxila, que pode

atuar sobre outro ácido graxo e formar os peróxidos, que são instáveis e reagem entre si, ou com outras moléculas instáveis, formando os produtos finais de oxidação, que são estáveis (FERRARI, 1998; KESZLER et al., 2000).

Iniciação:



Propagação:



Terminação:



Figura 3. Reação de oxidação lipídica (formação de hidroperóxidos).

Fonte: Adaptada de KESZLER et al., 2000.

A decomposição dos hidroperóxidos inicia-se imediatamente após sua formação. Os compostos formados podem, posteriormente, sofrer reações de oxidação e decomposição, contribuindo assim para a formação de uma grande quantidade e variedade de radicais livres. No início da reação da rancidez oxidativa, a velocidade de formação de peróxidos é maior que a de decomposição, e o inverso ocorre no final (RIBEIRO; SARAVALLI, 2007).

Os compostos secundários são aqueles formados a partir de hidroperóxidos, que podem se decompor em compostos de três diferentes formas: quebra da cadeia para produzir álcoois, cetonas, furanos, lactonas, alcanos e alquenos, além de aldeídos como o malonaldeído; rearranjo de monohidroxiperóxidos, seguido ou não de oxidação; e polimerização de duas ou mais moléculas de lipídio peroxidadas, resultando em compostos de alto peso molecular (ESTERBAUER, 1993). O malonaldeído possui potencial mutagênico em células humanas, com mutações que ocorrem principalmente nos pares de bases guanina-citosina (NIEDERNHOFER et al., 2003).

Os óleos vegetais quando são expostos a luz, sofrem foto-oxidação através da ação de fotos sensibilizadores naturais (por exemplo, clorofila), que reagem com o oxigênio para formar o oxigênio singlete, eletronicamente excitado (SKIBSTED, 2000; RIBEIRO; SARAVALLI, 2007).

A foto-oxidação também atua formando hidroperóxidos, através de captura de um próton alílico ou de outra espécie da cadeia carbônica insaturada por um oxigênio singlete, o que altera a ligação dupla para a posição adjacente, pela ocorrência de impedimento estérico, e implica na formação de hidroperóxidos alílicos trans (Fig. 4) (VILJANEN et al., 2002).

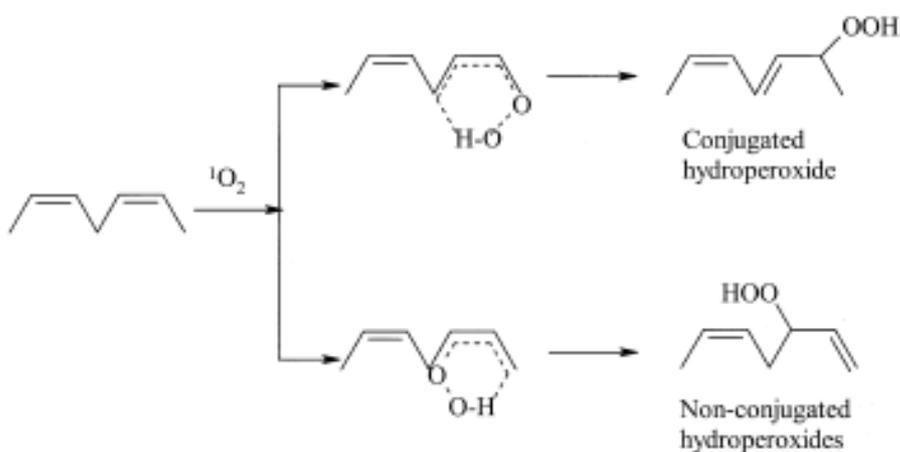


Figura 4. Reação de oxidação lipídica (hidroperóxidos trans).

Fonte: Adaptada de KESZLER et al., 2000.

A auto-oxidação de ácidos graxos insaturados é um processo que origina uma mistura de compostos oriundos dos diferentes estágios de oxidação. Os produtos iniciais (primários) são normalmente analisados pelo valor do índice de peróxidos e perda de ácidos graxos insaturados; e os produtos oriundos da decomposição dos produtos iniciais da oxidação (secundários) são mensurados pelo valor de p-anisidina, teste de ácido tiobarbitúrico e técnicas cromatográficas para outros compostos específicos (CRAPISTE et al., 1999).

O índice de peróxido é medido pelo conteúdo de oxigênio reativo em termos de miliequivalentes de oxigênio por 1kg de gordura, o método determina todas as substâncias que oxidam o iodeto de potássio. Estas substâncias são consideradas como sendo peróxido ou produtos similares provenientes de oxidação primária das gorduras (MORETTO; FETT, 1989).

O valor de p-anisidina está relacionado com os produtos secundário de oxidação (aldeídos) que podem estar presentes no óleo ou seus derivados, oriundos da peroxidação das suas insaturações. O índice de p-anisidina é a medida do conteúdo de miligramas de p-anisidina reativo em gramas de gordura, os produtos da oxidação secundária reagem com p-anisidina, resultando na produção de um composto colorido qual é avaliado por espectrofotometria. (RODRÍGUEZA et al., 2008).

De acordo com Neto e Rossi (2000), a oxidação é um processo acelerado pela alta temperatura e é a principal responsável pela modificação das características físico-químicas e sensoriais do óleo. O óleo torna-se viscoso, escuro, tem sua acidez aumentada e desenvolve odor desagradável, comumente chamado ranço. A deterioração oxidativa tem como consequência a degradação das vitaminas lipossolúveis e dos ácidos graxos essenciais, além da formação de subprodutos com sabor e odor fortes (TURATTI et al, 2002).

2.2.3. Acidificação

O aumento da temperatura de armazenamento causa aumento no valor de ácidos graxos livres no óleo armazenado (GUTIERREZ et al., 1992; GARCIA et al., 1994). A presença de luz acelera a rancidez dos glicerídeos e geralmente acompanha a formação dos ácidos graxos livres. A qualidade dos óleos pode ser prejudicada por elevados índices de acidez podendo torná-los impróprios para a alimentação humana ou até para fins carburantes (DANTAS, 2006).

Os ácidos graxos oxidam-se mais rapidamente quando se encontram livres do que quando esterificados com a molécula de glicerol (TAPPEL et al., 1957). Os ácidos graxos livres são formados pela reação que ocorre pelo ataque de uma molécula de água, um nucleófilo fraco, à ligação éster do triacilglicerol, produzindo mono e di-acilgliceróis. A reação ocorre preferencialmente sobre ácidos graxos de cadeia curta e insaturados, pois estes são mais solúveis em água e, quanto maior a quantidade de água do alimento, mais rapidamente ocorre a hidrólise (CHOE. MIN, 2007).

2.2.4. Antioxidantes

A oxidação dos óleos pode ser evitada por antioxidantes. As classes mais importantes de antioxidantes naturais em óleos incluem tocoferóis, ácidos fenólicos e flavonóides, que são comuns a todas as fontes vegetais (NACZK; SHAHIDI, 2006). Compostos fenólicos representam a maioria dos antioxidantes naturais atualmente identificados.

Uma diversidade de compostos fenólicos está presente nas farinhas de canola ou colza, sementes (inteiras) ou extratos, indicando que esses produtos possam proteger os componentes dos alimentos contra a oxidação (AMAROWICZ et al., 2003).

2.2.4.1. Tocoferóis

Os tocoferóis são encontrados em quantidades significativas em todos os óleos vegetais, ao passo que as gorduras animais não costumam conter tocoferóis. Os tocoferóis são pouco resistentes aos tratamentos que se aplicam ao processamento de óleos (ORDÓÑEZ, 2005).

Os antioxidantes naturais ou sintéticos interferem na participação do oxigênio singlete ou, principalmente, atuam como inibidores da reação, fazendo papel de doadores de hidrogênio ou aceptores de radicais livres dos ácidos graxos. Os antioxidantes utilizados em alimentos são compostos fenólicos sintéticos ou produtos naturais como os tocoferóis, que apresentam atividade de vitamina E, que são lentamente degradados durante sua ação de proteção a oxidação e, por isso, perdem sua eficiência com o tempo (RIBEIRO; SARAVALLI, 2007).

Os tocoferóis constituem um grupo de compostos lipossolúveis que possuem propriedades antioxidantes, os quais possuem um anel cromanol e uma cadeia lateral fitil. O α -, β -, γ - e δ -tocoferol (Fig. 5) diferem entre si pelo número e posição de substituintes no anel cromanol (SCHWARTZ et al., 2008).

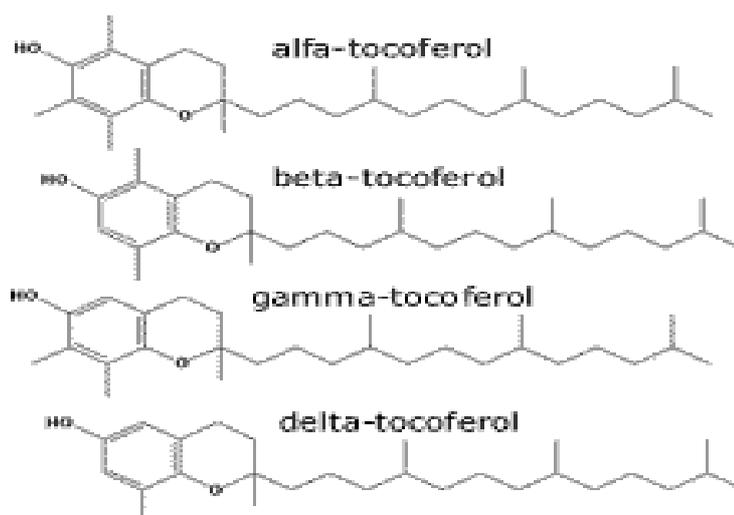
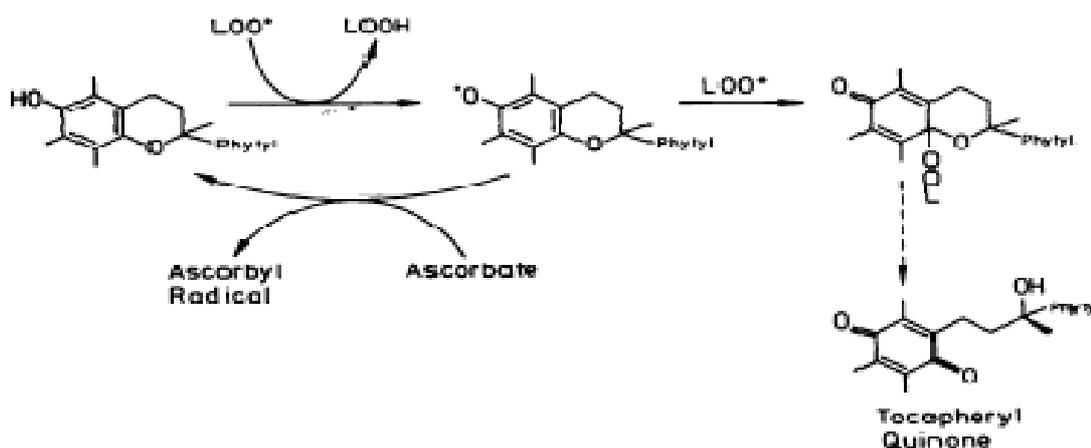


Figura 5. Estrutura dos tocoferóis individuais, alfa, beta, gama e delta.

Fonte: RIBEIRO et al., 2007

Estas moléculas, juntamente com os tocotrienóis, são também denominadas de vitamina E, sendo que o α -tocoferol é a forma mais abundante e que apresenta maior ação no organismo (MATRINGE et al., 2008). Estes compostos atuam como antioxidantes contra a peroxidação lipídica, sendo sintetizados por organismos fotossintéticos (ABBASI et al., 2007), os quais provém da rota do chiquimato, produzindo hidroxifenil piruvato que é oxirreduzido a homogentisato que, por sua vez, reage com a cadeia fitil, formando composto que se bifurca em duas vias, uma para gerar δ e posteriormente β -tocoferol e a outra que produz o γ seguido de α -tocoferol (KEGG PATHWAY, 2013; ABBASI, 2007). Os isoprenoides, estruturas que dão origem ao grupamento fitil dos tocoferóis além de serem precursores de carotenoides, podem ser produzidos a partir de compostos da via do mevalonato ou ser produzidos a partir da rota MEP (2-C-metil-D-eritriol-4-fostato), através do precursor geranilgeranildifosfato (GGDP) (ZHU et al., 2013).

Dentre os tocoferóis, o alfa-tocoferol é o mais largamente distribuído na natureza e o que apresenta maior atividade biológica como vitamina E. O gama-tocoferol apresenta somente 50% da atividade do alfa-tocoferol. O beta e o delta-tocoferol possuem respectivamente 40% e 10% de atividade do alfa-tocoferol (MORAES, 2003). As propriedades antioxidantes dos tocoferóis ocorrem principalmente pela ação sequestrante sobre os radicais peroxil, interrompendo a propagação da reação de oxidação (Fig. 5).



Legenda: LOO•: radical peróxila; LOOH: hidroperóxido

Figura 6. Ação antioxidante dos tocoferóis

Fonte: SIES & STAHL, 1995.

2.3. Biodiesel

O engenheiro alemão Rudolf Diesel inventou o motor a diesel e o apresentou na Exposição de Paris de 1900 utilizando o óleo de amendoim como combustível (CANAKCI, 2007; BOZBAS, 2008). Depois de vários testes o engenheiro declarou que a utilização de óleos vegetais como combustível de motores poderia auxiliar consideravelmente no desenvolvimento da agricultura de diversos países (DEMIRBAS, 2005). Porém, a alta viscosidade, a baixa volatilidade e o alto peso molecular dos óleos vegetais puros em comparação ao diesel mineral, podem gerar problemas no uso destes como combustível para motores convencionais como por exemplo depósitos no injetor de combustível, pouca atomização e combustão incompleta (HRIBERNIK, 2007, ALTIPARMAK et al., 2007; LANG et al., 2001).

Uma alternativa aos combustíveis originados do petróleo é o biodiesel, que por definição é um combustível renovável e biodegradável (FERRARI et al., 2005; ÇETINKAYA et al., 2005). É produzido pela reação de transesterificação catalítica com álcool de baixo peso molecular a partir de óleos vegetais e/ou gorduras animais (puros ou residuais) demonstrada pela Fig.7, com o objetivo de melhorar suas características e ser usado como combustível de motores a diesel (DORADO et al., 2003). Como produtos principais desta reação estão os ésteres alquílicos e o como subproduto o glicerol (BAJPAI et al., 2006, BOUAID et al., 2005, ZHENG et al., 2006, RAMADHAS et al., 2005, LEUNG et al., 2006).

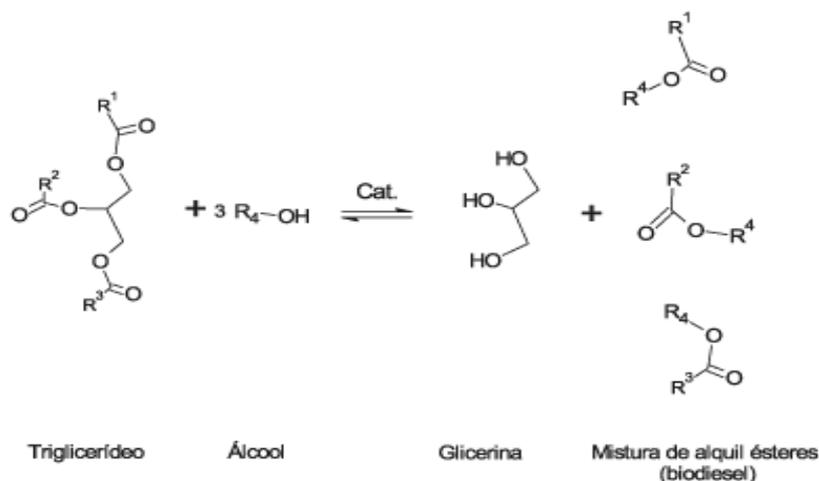


Figura 7. Reação de transesterificação de triglicéridos.

Fonte: ZHENG et al., 2006.

As propriedades dos ésteres alquílicos de óleos vegetais são semelhantes às aquelas apresentadas pelo diesel mineral tornando seu uso como combustível promissor, podendo ser utilizados em motores a diesel convencionais sem necessitar modificações significativas (NELSON et al., 2006, MA et al., 1999, CARRARETTO et al., 2004, HRIBERNIK et al., 2007, PENG et al., 2006, LIN et al., 2006).

Algumas propriedades como densidade, viscosidade e volatilidade podem ser afetadas pela composição do diesel e das misturas diesel/biodiesel, principalmente quando se trabalha em temperaturas baixas (MENEZES et al., 2006, KNOTHE et al., 2005). A eficiência da combustão e o perfil das emissões podem melhorar de acordo com algumas propriedades encontradas no biodiesel (HAAS et al., 2001, IMAHARA et al., 2006, LEDEVAS et al., 2006, PASQUALINO et al., 2006). Porém, a redução das emissões (devido ao uso de compostos oxigenados) depende da estrutura da molécula e da quantidade de biodiesel utilizado na mistura com o diesel (MENEZES et al., 2006, KNOTHE et al., 2005).

A escolha das matérias primas utilizadas no Brasil para produzir óleo é feita em função dos seus perfis de ácidos graxos e seu teor de óleo (20-60%) considerando a crescente demanda por biocombustíveis líquidos, mas também levando em conta o valor nutricional para ser utilizado como óleo vegetal (alimentício), tornando a cadeia produtiva mais flexível. Entretanto, a cadeia produtiva de biodiesel vem encontrando dificuldades no armazenamento de matérias primas para este fim, como a contribuição dos ácidos graxos insaturados na sua deterioração, bem como o papel dos anti-oxidantes na manutenção das propriedades físico-químicas do biodiesel. As fontes lipídicas como arroz, canola e girassol apresentam razoável produtividade de

grãos por área cultivada, 6000, 1380, 1490 kg.ha⁻¹ respectivamente (CONAB, 2013; CARVALHO, 2013; CARVALHO, 2012), com uma produção de óleo bruto de 96, 552 e 700 kg.ha⁻¹, apresentando-se como alternativa para diversificação de matérias primas para produção do biodiesel no Brasil, que é dependente do óleo de soja, correspondendo este a 90% da produção nacional.

2.3.1 Transesterificação

Os óleos devem possuir baixo teor de ácidos graxos livres para que apresentem uma transesterificação satisfatória, pois durante o processo estes podem reagir com o catalisador alcalino formando produtos saponificados diminuindo a eficiência de conversão. Para uma reação completa na produção de biodiesel o teor de ácidos graxos livres deve ser inferior a 3% e os óleos brutos comercialmente encontrados possuem um índice de acidez entre 0,5–3% (KUSDIANA, 2001; DORADO, 2002; FERRARI, 2005).

A transesterificação pode ser realizada tanto em meio ácido quanto em meio básico (FREDDMAN et al., 1986), entretanto é mais rápida, com maior rendimento e seletividade e com menos problemas em relação à corrosão dos equipamentos na presença de um catalisador alcalino quando comparada com a mesma quantidade de catalisador ácido (ENCINAR et al., 2002; NOUREDDINI et al., 1997). Os hidróxidos de potássio e de sódio são catalisadores eficientes, sendo o primeiro preferido para uso devido aos perigos e inconvenientes do uso de metal de sódio (BOOCOOCK et al., 1998).

Os álcoois mais empregados na transesterificação de óleos e gorduras são o metanol e o etanol. O metanol por ser mais reativo é mais amplamente aplicado na produção de biodiesel em escala comercial o que implica em menor temperatura e tempo de reação. O etanol, além de ter produção consolidada no Brasil, é consideravelmente menos tóxico, é renovável e produz biodiesel com maior número de cetano e lubricidade, sua desvantagem está no fato deste promover uma maior dispersão da glicerina no biodiesel, dificultando a sua separação. Para a obtenção de maiores rendimentos na reação de transesterificação costuma-se utilizar excesso de álcool em relação ao óleo, sendo que a razão molar, comumente empregada, é de 6:1 para metanol/óleo, enquanto que para o etanol, a razão é de 9:1 a 12:1 (SHARMA et al., 2008).

No Brasil o uso de etanol anidro é vantajoso, pois este é produzido em larga escala para ser misturado à gasolina (SHUCHRDT et al., 1998), além de ser um produto obtido a partir de biomassa e, torna o processo totalmente independente do

petróleo, promovendo a produção de um combustível completamente agroindustrial (ENCINAR et al., 2002).

Algumas pesquisas indicam que a reação de transesterificação é muito rápida, pois a conversão de ésteres etílicos atinge um valor próximo ao máximo com apenas 5-10 min de reação, e estabiliza no valor máximo após 20-30min. No período inicial a reação é muito rápida, existindo um segundo período muito mais longo que o primeiro, no qual a composição evolui vagarosamente até o equilíbrio. Alguns autores indicam que no equilíbrio existem di e monoglicerídeos com concentração de 2 e 4%, respectivamente. (SERDARI et al., 1999; ENCINAR et al., 2002).

2.3.2. Armazenamento de biodiesel

O uso do biodiesel como combustível alternativo depende do desenvolvimento de tecnologias que aumentem sua resistência à oxidação durante longos tempos de estocagem. Fatores que podem afetar a autooxidação de derivados de gordura incluem a presença ou ausência de ar, temperatura, luz, presença de antioxidantes, pró-oxidantes como hidroperóxidos e presença de metais catalíticos. Algumas alternativas para aumentar a resistência à oxidação de derivados de gordura têm apresentado aplicação para o biodiesel (KNOTHE; DUNN, 2001).

O número de insaturações e a posição da dupla ligação ao longo das moléculas de ésteres metílicos determinam o grau de resistência à oxidação. Estes compostos quando oxidados podem causar a formação de depósitos no motor e deterioração do óleo de lubrificação, afetando o biodiesel principalmente durante a estocagem (BAJPAI et al, 2006, KNOTHE, 2005, IMAHARA et al., 2006, WYATT et al., 2005). A viscosidade cinemática é usada no monitoramento da qualidade do biodiesel durante armazenagem, visto que esta aumenta continuamente com o decréscimo da qualidade do combustível (DEMIRBAS, 2005, KNOTHE, 2006, KNOTHE; STEIDLEY, 2005).

A oxidação de ésteres etílicos e metílicos de óleo de girassol armazenado em temperaturas acima de 50° C foi retardada com a estocagem sob atmosfera inerte de nitrogênio (DU PLESSIS et al., 1985). O envelhecimento de ésteres metílicos de óleo de canola estocados em contêineres em recipientes de vidro a 40 °C não afetou significativamente a qualidade do combustível com relação à viscosidade, número de cetano, massa específica, ponto de fulgor ou propriedades de fluidez no frio (BONDIOLI, 1995).

Os antioxidantes conhecidos por aumentar a resistência à oxidação de óleos vegetais como ascorbil palmitato, tocoferóis, BHA e propil galato (TAN; CHE MAN,

2002) são tratamentos promissores, pois facilitam a estocagem em tanques já existentes e permitem a manipulação dos combustíveis sem requerer melhoramentos ou nova estrutura.

2.3.3. Características físico-químicas do biodiesel

Os componentes mais expressivos dos óleos e gorduras são os triglicerídeos e suas propriedades físicas dependem da estrutura e da distribuição dos ácidos graxos presentes (CLAUSS, 1996, CASTRO et al., 2004). A análise da composição de ácidos graxos constitui o primeiro passo para a avaliação da qualidade do óleo bruto e/ou seus produtos de transformação. Para a determinação da composição, em termos de ácidos graxos, podem ser utilizados métodos de cromatografia líquida e gasosa, e por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (NETO; ROSSI, 2000).

Nas Tab. 4 e 5 estão indicados os valores de referência limites para biodiesel segundo as normas técnicas (metodologias) nacionais e internacionais determinados pela Agência Nacional do Petróleo (ANP) conforme publicado no Diário Oficial da União (DOU) na resolução ANP N^o. 14, de 11/05/2012 – DOU 18/05/2012.

Tabela 4. Limites e Normas Técnicas determinados pela resolução ANP N°. 14 de 2012.

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	LIMITE	MÉTODO		
			ABNT NBR	ASTM D	EN/ISO
Aspecto	-	LII (1)	-	-	-
Massa específica a 20° C	kg/m ³	850-900	7148	1298	EN ISO 3675
			14065	4052	EN ISO 12185
Viscosidade Cinemática a 40°C	mm ² /s	3,0-6,0	10441	445	EN ISO 3104
Teor de Água, máx.	mg/kg	(2)	-	6304	EN ISO 12937
Contaminação Total, máx.	mg/kg	24	15995	-	EN ISO 12662
Ponto de fulgor, mín. (3)	°C	100	14598	93	EN ISO 3679
Teor de éster, mín	% massa	96,5	15764	-	EN 14103
Resíduo de carbono, máx. (4)	% massa	0,05	15586	4530	-
Cinzas sulfatadas, máx.	% massa	0,02	6294	874	EN ISO 3987
Enxofre total, máx.	mg/kg	10	15867	5453	EN ISO 20846
					EN ISO 20884
Sódio + Potássio, máx.	mg/kg	5	15554		EN 14108
			15555		EN 14109
			15553	-	EN 14538
			15556		
Cálcio + Magnésio, máx.	mg/kg	5	15553		EN 14538
			15556	-	
Fósforo, máx.	mg/kg	10	15553	4951	EN 14107
Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx.	-	1	14359	130	EN ISO 2160
Número de Cetano (7)	-	Anotar	-	613 6890 (6)	EN ISO 5165
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.	°C	(7)	14747	6371	EN 116
Índice de acidez, máx.	mg KOH/g	0,5	14448	664	EN 14104 (8)
Glicerol livre, máx.	% massa	0,02	15341 (8)	6584 (8)	EN 14105 (8)
			15771		EN 14106 (8)
Glicerol total, máx. (9)	% massa	0,25	15344	6584 (8)	EN 14105 (8)
			15908		
Monoacilglicerol máx.	% massa	0,8	15342 (8)	6584 (8)	EN 14105 (8)
			15344		
			15908		
Diacilglicerol máx.	% massa	0,2	15342 (8)	6584 (8)	EN 14105 (8)
			15344		
			15908		
Triacilglicerol máx.	% massa	0,2	15342 (8)	6584 (8)	EN 14105 (8)
			15344		
			15908		
Metanol ou Etanol, máx.	% massa	0,2	15343	-	EN 14110
Índice de lodo (7)	g/100g	Anotar	-	-	EN 14111
Estabilidade à oxidação a 110°C, mín.(10)	H	6	-	-	EN 14112 (8)
					EN 15751 (8)

(1) Límpido e isento de impurezas com anotação da temperatura de ensaio.

(2) Será admitido o limite de 380 mg.kg⁻¹ 60 dias após a publicação da Resolução. A partir de 1º de janeiro de 2013 até 31 de dezembro de 2013 será admitido o limite máximo de 350 mg.kg⁻¹ e a partir de 1º de janeiro de 2014, o limite máximo será de 200 mg.kg⁻¹.

(3) Quando a análise de ponto de fulgor resultar em valor superior a 130°C, fica dispensada a análise de teor de metanol ou etanol.

(4) O resíduo deve ser avaliado em 100% da amostra.

(5) Estas características devem ser analisadas em conjunto com as demais constantes da tabela de especificação a cada trimestre civil. Os resultados devem ser enviados à ANP pelo Produtor de biodiesel, tomando uma amostra do biodiesel

comercializado no trimestre e, em caso de neste período haver mudanças de tipo de material graxo, o Produtor deverá analisar número de amostras correspondente ao número de tipos de materiais graxos utilizados.

- (6) O método ASTM D6890 poderá ser utilizado como método alternativo para determinação do número de cetano.
- (7) Limites conforme a Tabela 5. Para os estados não contemplados na tabela o ponto de entupimento a frio permanecerá 19°C.
- (8) Os métodos referenciados demandam validação para os materiais graxos não previstos no método e rota de produção etílica.
- (9) Poderá ser determinado pelos métodos ABNT NBR 15908, ABNT NBR 15344, ASTM D6584 ou EM 14105, sendo aplicável o limite de 0,25% em massa. Para biodiesel oriundo de material graxo predominantemente láurico, deve ser utilizado método ABNT NBR 15908 OU ABNT NBR 15344, sendo aplicável o limite de 0,30% em massa.
- (10) O limite estabelecido deverá ser atendido em toda a cadeia de abastecimento do combustível.

Tabela 5. Limites de ponto de entupimento de filtro a frio para as unidades da federação.

UNIDADES DA FEDERAÇÃO*	LIMITE MÁXIMO (°C)											
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
SP-MG-MS	14	14	14	12	8	8	8	8	8	12	14	14
GO-DF-MT-ES-RJ	14	14	14	14	10	10	10	10	10	14	14	14
PR-SC-RS	14	14	14	10	5	5	5	5	5	10	14	14

*Para os estados não contemplados na tabela o ponto de entupimento a frio permanecerá 19°C.

Destes parâmetros os mais críticos são: o índice de acidez, de iodo, teores de sódio e potássio, ponto de entupimento do filtro a frio, viscosidade cinemática e número de cetano.

2.3.3.1 Índice de acidez

O teste de índice de acidez é um método simples para monitorar a qualidade dos combustíveis (KNOTHE, 2005) devendo ser uma das primeiras análises já que o valor encontrado pode demonstrar a eficiência do processo de obtenção do biodiesel além de revelar o estado de conservação do óleo (KUSDIANA; SAKA, 2004, HAAS, 2005 MAHAJAN et al., 2006). O índice de acidez é o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em um grama de óleo ou gordura (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

O limite máximo estipulado para índice de acidez é de $0,5 \text{ mg}_{\text{KOH}} \cdot \text{g}^{-1}$ de acordo com a Resolução nº. 14 (ANP, 2012). Porém, se for encontrado um índice de acidez alto (superior a $2 \text{ mg}_{\text{KOH}} \cdot \text{g}^{-1}$ de amostra) é possível supor que alguns ácidos graxos livres irão permanecer no biodiesel (KUSDIANA; SAKA, 2004, HAAS, 2005, WYATT et al., 2005, MAHAJAN et al., 2006).

Ledegas et al. (2006) testaram algumas propriedades de diferentes amostras de biodiesel produzidas através da transesterificação com álcool metílico. Neste trabalho os autores avaliaram o índice de acidez das amostras de biodiesel dos óleos vegetais de colza e linhaça e das gorduras animais sebo bovino e banha de porco. Estes testes apresentaram valores de acidez bastante semelhantes que variaram de $0,4$ a $0,5 \text{ mg}_{\text{KOH}} \cdot \text{g}^{-1}$.

2.3.3.2. Índice de iodo

Esta propriedade avalia a estabilidade à oxidação do combustível (KNOTHE, 2006) e está diretamente relacionada com o total de insaturações de um material lipídico, ou seja, aumenta com o aumento na proporção de insaturações (WYATT et al., 2005).

A norma europeia EN 14214 estipula um valor máximo para o índice de iodo de $120 \text{ g}_{\text{I}_2} \cdot 100\text{g}^{-1}$ para o biodiesel, já a Resolução nº. 14 da ANP não determina um limite para este índice. Análises para avaliar o índice de iodo dos ésteres metílicos provenientes dos óleos de linhaça e colza foram realizadas por Lebedevas et al. (2006) que encontraram valores 176,2 e 116,3 $\text{g}_{\text{I}_2} \cdot 100\text{g}^{-1}$ respectivamente e para os ésteres metílicos obtidos do sebo bovino e banha de porco foram encontrados os valores de 51,5 e 64,9 $\text{g}_{\text{I}_2} \cdot 100\text{g}^{-1}$ respectivamente.

2.3.3.3. Teores de sódio e potássio

Os processos industriais utilizam com muita freqüência a catálise básica homogênea para obtenção de biodiesel, pois este tipo de reação apresenta rendimentos elevados em tempos menores. Os catalisadores mais utilizados são os hidróxidos de potássio ou de sódio que geram a contaminação com sódio e potássio na produção de biodiesel (MORAES, 2008; DI SERIO, 2006). A Resolução nº. 14 da ANP estabelece o limite máximo para a contaminação sódio mais potássio de $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Apesar de ser uma reação relativamente simples, a transesterificação de óleos vegetais e gorduras animais na presença destes catalisadores alcalinos gera o inconveniente de produzir sabões, devido à presença de água e/ou ácidos graxos livres no meio reacional. A incapacidade de esterificar os ácidos graxos livres na catálise alcalina faz com que estes reajam com bases solúveis formando os sabões (MORAES, 2008; DI SERIO et al., 2006, SCHUCHARDT; SERCHELI, 1998). Como conseqüência, a saponificação consome o catalisador, reduz o rendimento da transesterificação, dificulta os processos de separação da glicerina e purificação do biodiesel e também aumenta a viscosidade podendo gerar depósitos no motor além de catalisar reações de polimerização. Portanto, o uso de catalisadores alcalinos necessita que o óleo ou gordura empregado esteja isento de água e contenha menos que 0,3% de ácidos graxos livres (GOFF et al., 2004). A ANP não tem um limite estipulado para o teor de sabões no biodiesel.

2.3.3.4. Viscosidade cinemática

A viscosidade cinemática pode ser utilizada para selecionar o perfil de ácidos graxos presentes na matéria-prima utilizada para a produção do biocombustível e é a medida da resistência ao escoamento dos combustíveis. A viscosidade aumenta proporcionalmente com um aumento no tamanho da cadeia e/ou no grau de saturação (MORAES, 2008; MENEZES et al., 2006; KNOTHE, 2005; KERSCHBAUM; RINKE, 2004; NETO et al., 2000).

Fatores que podem influenciar na viscosidade incluem a posição e a configuração das duplas ligações, sendo que a ligação dupla cis apresenta uma viscosidade menor que a trans e o maior número de ésteres metílicos saturados apresenta maior viscosidade cinemática (KNOTHE, 2005; MUNIYAPPA et al., 1996, GIAKOUMIS, 2013).

O aumento da viscosidade afeta a fluidez do combustível influenciando na operação de injeção deste no motor, principalmente em baixas temperaturas, constituindo uma propriedade muito importante. Os ésteres alquílicos dos óleos são usados como combustível devido à redução da viscosidade em relação aos óleos puros (KNOTHE, 2006; DEMIRBAS, 2005; KALAM; MASJUKI, 2002; NETO et al., 2000).

A viscosidade do biodiesel é levemente maior que a do diesel mineral, porém é consideravelmente menor que a dos óleos ou gorduras de origem. A lubricidade do petrodiesel com baixa concentração de enxofre pode ser recuperada com a adição de biodiesel mesmo que em baixas concentrações (1-2%) (MORAES, 2008; MARAFI et al., 2007, ANASTOPOULOS et al., 2001).

2.3.3.5. Ponto de entupimento de filtro a frio

A resolução da agência nacional do petróleo (ANP nº.14) determina os parâmetros que o biodiesel deve atender para ser comercializado no Brasil, entre eles estão a determinação do ponto de entupimento de filtro a frio e a viscosidade cinemática. Os valores limites de temperatura do biodiesel e de suas misturas para o ponto de entupimento do filtro a frio do diesel, varia conforme a região e a época do ano, sendo de 5°C no inverno e de 14°C no verão para a região Sul do Brasil e o intervalo determinado para a viscosidade cinemática do biodiesel é de 3 a 6 mm².s⁻¹. Na União Européia, EN 14214, e nos Estados Unidos, ASTM D675, os padrões para a viscosidade cinemática do biodiesel estão entre 3,5 a 5 e 1,9 a 6 mm².s⁻¹ respectivamente, e não é determinado o limite do ponto de entupimento do filtro a frio a nas respectivas normas internacionais (ANP, 2012).

Visando controlar a qualidade dos óleos vegetais as indústrias farmacêutica e alimentícia buscaram métodos analíticos mais rápidos e precisos como a termogravimetria (TG) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC) para determinar o ponto de fusão, cristalização e oxidação de óleos e gorduras (FARIA et al., 2002; KAISERSBERGER, 1989). É possível fazer associações entre este parâmetro e o Ponto de Congelamento do biodiesel, em um estudo Dunn et al. (1999) mostraram que o Ponto de Entupimento de Filtro a Frio do biodiesel pode ser comparado a temperatura Onset determinada em uma curva DSC e modelos foram criados para descrever a relação existente entre essas variáveis. O estudo mostra que o primeiro pico é referente a uma transição líquido-líquido com a formação dos cristais líquidos, e que o segundo pico é consistente com um pico de congelamento.

2.3.3.6. Faixa de destilação

O diesel normalmente é ajustado para não apresentar variações significativas nos limites de seus pontos de ebulição e sua produção é baseada no controle desses limites. O diesel convencional apresenta como característica uma faixa de ponto de ebulição específica e a curva de destilação exerce influência direta na evolução da combustão (MORAES, 2008; GOODRUM, 2002).

A quantidade de hidrocarbonetos leves modifica as características ponto de fulgor e pressão de vapor do diesel influenciando diretamente o ponto inicial de destilação. A volatilidade dos combustíveis aumenta de acordo com a diminuição no ponto de ebulição inicial e na temperatura da primeira fração (10%) do líquido recuperado na destilação (MORAES, 2008; MENEZES et al., 2006).

As propriedades físicas do biodiesel são semelhantes aquelas dos ésteres alquílicos puros e a mistura destes compostos apresenta volatilidade e pontos de ebulição semelhantes que dependem da composição de ácidos graxos (MORAES, 2008; GOODRUM et al., 2002).

De acordo com os procedimentos descritos na norma ASTM D-240-92 (Standard test method for heat of combustion of liquid hydrocarbon fuels by bomb calorimeter, de 1998) pode-se estimar as temperaturas de destilação de 10, 50 e 90% do volume dos biocombustíveis. Estudos foram realizados para determinar a faixa de destilação de ésteres alquílicos de diferentes óleos vegetais, usando curvas de variação de massa por termogravimetria (TG), através desta norma (MORAES, 2008; LANG et al., 2001).

2.3.3.7. Massa específica

A massa específica é uma propriedade importante e tem o objetivo de restringir a utilização de alguns materiais como matéria-prima para a produção de biodiesel. A densidade, também conhecida como massa específica, e a viscosidade cinemática exercem uma grande influência em processos como a injeção de combustível e a preparação deste para a ignição automática. Conseqüentemente, deve-se obter parâmetros aceitáveis para cada propriedade físico-química com o objetivo de otimizar o processo de combustão no motor (KNOTHE, 2006).

Determinar um valor mínimo para densidade deve-se à necessidade de obter uma potência máxima para o motor, que usa o combustível com controle de vazão na bomba de injeção. Além disso, este valor estabelecido previne a formação de fumaça quando opera com potência máxima. Rakopoulos et al. (2007) realizaram estudos que avaliaram a densidade do óleo e do biodiesel de algodão. O valor de massa específica do óleo ($0,910 \text{ kgL}^{-1}$) ficou bem acima do valor do diesel usado como referência ($0,840 \text{ kg.L}^{-1}$), porém a massa específica determinada no biodiesel de algodão ($0,885 \text{ kg.L}^{-1}$) apresentou um valor próximo ao do diesel mineral (MENEZES et al., 2006).

2.3.3.8. Número e índice de cetanos

A qualidade de ignição do combustível pode ser medida pelo número/índice (NC/IC) de cetanos e é uma das propriedades mais importantes do diesel mineral. O aumento deste índice normalmente proporciona uma redução no consumo de combustível e nas emissões liberadas. Um NC/IC alto produz uma combustão mais eficiente e pode amenizar o barulho emitido pelos motores, pois um combustível com esta característica inflama com mais facilidade quando é injetado dentro do motor (FERRARI et al, 2005, MARAFI et al., 2007).

O índice de cetanos do biodiesel depende da composição original do óleo usado como matéria-prima, quanto mais saturada e longa a cadeia carbônica do éster, maior é o valor de IC, ou seja, $\text{IC (C18:0)} > \text{IC (C16:0)} < \text{IC (C14:0)}$. Conseqüentemente o biodiesel de gorduras animais apresenta um IC maior que o biodiesel de óleos vegetais. O biodiesel costuma apresentar NC e/ou IC mais alto que o petrodiesel e, isto se deve ao fato do biodiesel apresentar uma percentagem maior de oxigênio na sua composição (DEMIRBAS, 2005).

Moraes (2008) cita que norma americana ASTM 4737 é o método de “índice de cetano calculado por equação de quatro variáveis”, é aplicada para diesel combustíveis, contendo óleos de destilação direta, craqueamento ou mistura dos

dois, mas pode ser usado para combustíveis pesados com temperatura dos 90% recuperados menor que 382°C, como biodiesel e destilados de alcatrão e óleos de xisto. Existindo uma relação entre unidades do sistema internacional é estabelecida entre o número de cetano, a densidade e as temperaturas dos 10%, 50% e 90% recuperados da destilação do combustível (ALI et al., 1995).

Alcântara et al. (2000) realizaram a análise do índice de cetano de acordo com a ASTM D-4737 para avaliar a qualidade de ignição do biodiesel de óleo de soja, de sebo e de óleo usado em fritura. O IC dos três biocombustíveis está presente na Tab. 6 (MORAES, 2008).

Tabela 6. Índice de cetanos de biodiesel produzido de sebo, óleos usados em frituras e óleo de soja usando o método padrão ASTM D- 473735.

Óleo/Gordura	Densidade (g/cm ³), ASTM D-1298	Temperatura para obter os níveis de destilação (ASTM D-86), (°C)			Índice de Cetanos calculado seguindo a ASTM D-4737
		10%	50%	90%	
Sebo	0,8815	316,7	328	336,4	50,17
Óleo de soja	0,8995	329,2	330,5	331,7	48,84
Óleo residual	0,883	331,3	336	342,1	52,91

Fonte: Adaptada de MORAES, 2008.

Cookson et al. (1995) promoveram estudos comparativos entre o índice de cetanos calculado com base na ASTM D-4737, ASTM D-976 e o número de cetanos medido no diesel mineral, 81 amostras foram avaliados neste estudo e os dados encontrados foram muito semelhante. Na Tab. 7 pode ser observada a faixa de valores dos três métodos avaliados (MORAES, 2008).

Tabela 7. Comparação de índice de cetanos e número de cetanos em amostras de diesel mineral.

Propriedades	Faixa de valores
Índice de Cetanos ASTM 4737	32 a 76
Índice de Cetanos ASTM D-976	30 a 70
Número de Cetanos Ref. 89,90	32 a 71

Fonte: Adaptada de MORAES, 2008.

3. MATERIAIS e MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos (Labgrãos) do Departamento de Ciência e Tecnologia de Agroindustrial (DCTA) e no Laboratório de Resíduos Agroindustriais, ambos da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). O delineamento proposto tentou determinar o melhor estágio de processamento (grãos, óleo bruto, óleo refinado e biodiesel) em que a estabilidade lipídica é maior, sendo dividido em três estudos.

Estudo 1: Efeitos do tempo de armazenamento dos grãos sobre a estabilidade do óleo de arroz, canola e girassol.

Estudo 2: Efeitos do processamento industrial e do tempo de armazenamento sobre a estabilidade do óleo bruto e do óleo refinado de arroz, canola e girassol.

Estudo 3: Efeitos do tempo de armazenamento sobre a estabilidade do biodiesel obtido de óleo bruto e óleo refinado de arroz, canola e girassol.

3.1. Material

Neste estudo foram utilizados grãos, e óleo bruto, óleo refinado e biodiesel de arroz (*Oryza sativa L.*), canola (*Brassica napus L.*) e girassol (*Helianthus annuus L.*) oriundos, respectivamente, de Pelotas, Passo Fundo e Santa Cruz do Sul.

Os grãos de arroz, canola e girassol foram escolhidos devido a diferenças, entre eles, nas proporções de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados de seus óleos e a utilização como óleo alimentício e matéria prima para biocombustível. O óleo de arroz aparece como uma alternativa para a região Sul do Brasil, mas não conta com nenhuma planta industrial ou piloto de biodiesel no país. Diferente do que ocorre com a canola e o girassol.

3.2. Métodos

3.2.1. Delineamento experimental

Estudo 1: Efeitos do tempo de armazenamento dos grãos sobre a estabilidade do óleo de arroz, canola e girassol.

O experimento constou do delineamento totalmente casualizado de amostras compostas de três coletas de 15 tratamentos (3 grãos X 5 períodos de

armazenamento), com 6 determinações em triplicata, resultando em 270 determinações, conforme a Tab. 8.

Tabela 8. Delineamento para avaliar os grãos de arroz, canola e girassol para produção de biodiesel.

Tratamentos	Variáveis Independentes		Variáveis Dependentes
	Grãos	Armazenamento (meses)	
1	Arroz	1	Perfil de ácidos graxos Tocoferóis individuais
2		3	
3		6	
4		9	
5		12	
6	Canola	1	Tocoferóis totais
7		3	Índice de peróxido Índice de p-anisidina
8		6	
9		9	
10		12	
11	Girassol	1	
12		3	
13		6	
14		9	
15		12	

Estudo 2: Efeitos do processamento industrial e do tempo de armazenamento sobre a estabilidade do óleo bruto e do óleo refinado de arroz, canola e girassol.

O experimento constou do delineamento totalmente casualizado entre 30 tratamentos (3 óleos X 2 processos X 5 períodos de armazenamento) com 6 determinações em triplicata, resultando em 540 determinações, conforme a Tab. 9.

Tabela 9. Delineamento para avaliar o óleo bruto e o óleo refinado de arroz, canola e girassol para produção de biodiesel.

Tratamentos	Variáveis Independentes			Variáveis Dependentes	
	Óleos	Processos	Armazenamento (meses)		
1	Arroz	Óleo Bruto	1	Perfil de ácidos graxos	
2			3		
3			6		
4			9		
5			12		
6		Óleo Refinado	1	Tocoferóis individuais	
7			3		
8			6		
9			9		
10			12		
11	Canola	Óleo Bruto	1	Índice de peróxido	
...			...		
...			12		
...		Óleo Refinado	1	Índice de p-anisidina	
...			...		
20			12		
21		Girassol	Óleo Bruto	1	Índice de acidez
...				...	
...	12				
...	Óleo Refinado		1		
...			...		
30			12		

Estudo 3: Efeitos do tempo de armazenamento sobre a estabilidade do biodiesel obtido de óleo bruto e óleo refinado de arroz, canola e girassol.

Os biodieseis dos óleos de arroz, canola e girassol foram escolhidos devido a diferença dos percentuais de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados entre eles e, seu emprego como matéria prima para biocombustível já bem difundidos. O experimento constou do delineamento totalmente casualizado entre 18 tratamentos (3 biodieseis X 2 processos X 3 armazenamento) com 15 determinações em triplicata, resultando em 810 determinações, conforme a Tab. 10.

Tabela 10. Delineamento para avaliar o biodiesel de óleo bruto e óleo refinado de arroz, canola e girassol.

Tratamentos	Variáveis Independentes			Variáveis Dependentes
	Biodieseis	Processos	Armazenamento (meses)	
1	Arroz	Óleo	0	Teor de éster Glicerol livre e total Teores de potássio e sódio Ponto de fusão Ponto de cristalização Ponto de congelamento Tocoferóis individuais Tocoferóis totais Índice de peróxido Índice de p-anisidina Índice de acidez Índice de iodo Ésteres saturados, mono e polinsaturados Viscosidade Cinemática Índice de Cetanos
2		Bruto	3	
3			6	
4		Óleo Refinado	0	
5			3	
6			6	
7	Canola	Óleo	0	
...		Bruto	3	
...			6	
...		Óleo Refinado	0	
...			3	
12			6	
13	Girassol	Óleo	0	
...		Bruto	3	
...			6	
...		Óleo Refinado	0	
...			3	
18			6	

3.2.2. Preparo das amostras

3.2.2.1. Limpeza e secagem dos grãos

As amostras de grãos foram coletadas da linha de processamento das empresas que extraem óleo para produção de biodiesel, e no caso do arroz da unidade de óleo refinado. Estas amostras foram limpas até teor inferiores a 2% de impurezas e matérias estranhas, em máquina de ar e peneiras (Vitória) em escala industrial e alíquotas de 12 kg, referentes a 1 tonelada de grãos, foram secadas até 12% de umidade para o arroz e 8% de umidade para a canola e o girassol, em secador de leito fixo de escala laboratorial, desenvolvido no próprio Laboratório de Grãos (Fig. 8), com ar não aquecido (25 a 30°C) e vazão de 6,41 metros cúbicos de ar por segundo ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) (fluxo específico de 5 metros cúbicos de ar por minuto por tonelada de grãos ($\text{m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$)),

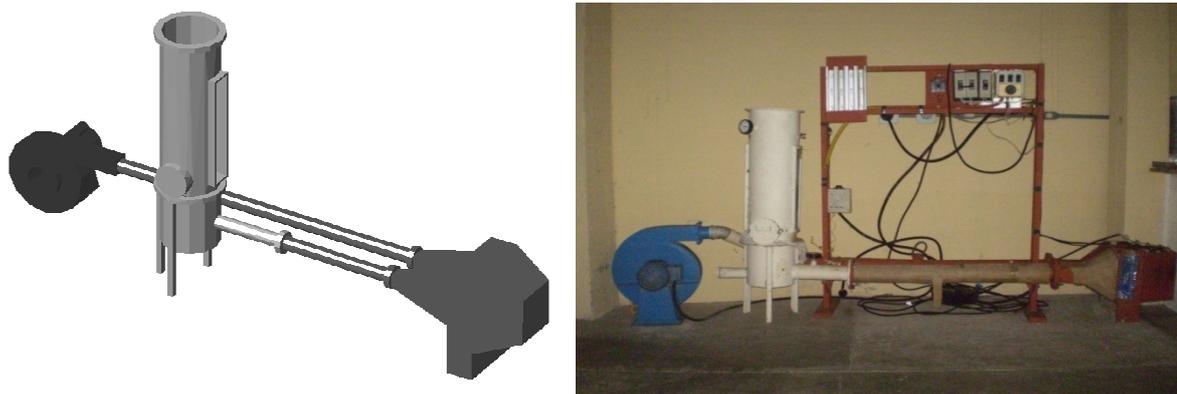


Figura 8. Secador de leito fixo de escala laboratorial do LABGRÃOS – DCTA – UFPel.

3.2.2.2. Extração e acondicionamento do óleo bruto

Amostras de 5 litros dos óleos brutos, extraídos por prensagem mecânica, coletados das empresas, foram filtrados em papel filtro com poros (aberturas) 5 microns (um), para a remoção de partículas oriundas da prensagem, e foram acondicionados em frascos de vidro âmbar com volume de 1 litro.

3.2.2.3. Transesterificação dos óleos

A reação de transesterificação dos óleos brutos e refinados foi realizada em um reator com capacidade de 2 litros e com agitação mecânica (700rpm) por 30 minutos. A este reator foram adicionados 800ml do óleo, que foi aquecido a 60 °C, nesta temperatura foram adicionados 8g de hidróxido de potássio (KOH), equivalendo a 1% da massa do óleo, dissolvidos 200ml de metanol (0,5N de KOH), mantendo-se uma razão estequiométrica óleo/álcool de 1:9. Após a decantação e da separação da glicerina foram adicionados ao biodiesel, sob agitação, 8ml de ácido clorídrico (0,1N) e feita a lavagem duas vezes com água destilada na razão 1:4, para remover o KOH remanescente e eventuais traços de álcool ou glicerina. Após decantar novamente, a amostra (sobrenadante) foi levada a estufa a 70°C e sob vácuo moderado a fim de eliminar traços de álcool que não tenham sido removidos na etapa anterior.

3.2.2.4. Armazenamento

O armazenamento ocorreu em ambiente com temperatura controlada a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ e umidade relativa (UR) de $55 \pm 5\%$ (razão de mistura de 10,89g de água por quilogramas de ar e volume específico do ar de $0,86\text{m}^3 \cdot \text{Kg}^{-1}$). Amostras dos grãos e dos óleos foram coletadas a cada 3 meses, num total de 12 meses, enquanto as amostras de biodiesel foram coletadas no início, aos 3 e aos 6 meses. Os grãos foram acondicionados em lotes de 10kg por amostra, em sacarias de algodão para

facilitar as trocas térmicas e gasosas com o ambiente, e transferidos para câmaras de armazenamento (Fig. 9) adaptadas, com controle de temperatura e umidade relativa do ar.

Os óleos brutos e refinados, e os biodieseis de arroz, canola e girassol, foram acondicionados em frascos com volume de 1 litro de vidro âmbar com tampa (Fig. 10) para limitar efeitos de foto-oxidação e trocas gasosas com o meio externo, sendo transferidos para sala de armazenagem dotada de controle de temperatura e umidade relativa do ar. As câmaras e a sala de armazenagem foram desenvolvidas no Laboratório de Grãos do DCTA-UFPel.



Figura 9. Câmaras de armazenamento do LABGRÃOS – DCTA – UFPel.



Figura 10. Frascos com volume de 1 litro de vidro âmbar com tampa.

3.2.3. Avaliações

As análises químicas dos óleos dos grãos durante o armazenamento foram realizadas em amostras de óleo bruto extraídos com éter de petróleo em extrator Soxhlet, assim como nas amostras de óleos brutos e refinados. As amostragens foram feitas no início do armazenamento e a cada trimestre até completar 12 meses.

As alíquotas de óleo foram acondicionadas em recipientes de vidro âmbar, com capacidade de 100mL, e alojados no refrigerador ao abrigo da luz e do oxigênio até as amostras serem avaliadas.

3.2.3.1. Perfil de ácidos graxos

O método utilizado para a determinação dos perfis de ácidos graxos foi o descrito pela norma Ce 1f-96 da AOCS (1998). A metilação dos ácidos graxos ocorreu através da adição de 50 mg de amostra em tubo com tampa e adicionado 12ml de HCl (0,5N) em metanol, levado a estufa a 60°C e agitado em vortex em intervalos de 10 minutos por 1h, mantido em repouso a 60°C por 1h, após esfriar foi adicionado 5 mL de iso-octano e 6 mL de água destilada e agitado, após a separação das fases foi coletado o sobrenadante e transferido para o vial e injetada no cromatógrafo a gás (GC).

A análise cromatográfica ocorreu em CG Perkin Elmer modelo Clarus 500, equipado com injetor split/splitless, com detector por ionização de chama (FID) e coluna capilar ZB-Wax-Plus (30m x 0,25mm x 0,25µm). Foi utilizada a seguinte programação de temperatura: gás carreador nitrogênio, vazão de 1,2ml.min⁻¹, split 1:50, volume de amostra 1µl, temperatura programada do forno: temperatura inicial 100°C permanecendo nesta temperatura por 30s, após uma rampa de aquecimento de 7°C.min⁻¹ até 175°C, após uma rampa de aquecimento de 5°C.min⁻¹ até 190°C mantendo-se nesta temperatura por 1min, após uma rampa de aquecimento de 2°C.min⁻¹ até 230°C, permanecendo nesta temperatura por 11min, com tempo total de 60min, sendo as temperaturas do injetor e detector de 250°C. A identificação dos compostos foi realizada por comparação com os tempos de retenção obtidos para o F.A.M.E Mix C4-C24 (Sigma-Aldrich) e a quantificação relativa foi realizada por normalização de área em percentual.

3.2.3.2. Quantificação de tocoferóis

Os tocoferóis foram obtidos pela extração adaptada segundo Rodriguez-Amaya (1996), e a quantificação foi realizada em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detector de fluorescência operando a 290nm de excitação e 330 nm de emissão. A separação foi realizada utilizando um sistema de eluição por gradiente, com fase móvel constituída de metanol, acetonitrila e isopropanol (Tab. 11), seguindo a metodologia adaptada de Zambiasi (1997), com fluxo de 1,0ml.min⁻¹.

Tabela 11. Programa do gradiente de eluição dos solventes na separação de tocoferóis.

Tempo (minutos)	Fase móvel (%)	Fase móvel
0	A:B:C*	40:50:10
10	A:B:C	65:30:05
12	A:B:C	40:50:10
15	A:B:C	40:50:10

*Solventes A: metanol; B: acetonitrila; C: isopropanol.

A identificação dos compostos foi realizada através da comparação dos tempos de retenção com padrões cromatográficos, enquanto a quantificação foi realizada por integração das áreas obtidas e interpolação com as respectivas curvas de calibração desenvolvidas para cada padrão cromatográfico (alfa-tocoferol, delta-tocoferol, beta-tocoferol e gama-tocoferol), o beta-tocoferol e o gama-tocoferol possuem o mesmo tempo de retenção não permitindo a resolução dos mesmos, os quais foram quantificados juntos. A concentração de tocoferóis foi expressa em $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de amostra.

3.2.3.3. Índice de peróxidos

Foi realizado segundo o método AOCS Cd-8b-90 (1998), com adaptação. Consiste na dissolução de amostras de 5g de óleo em solução de ácido acético e clorofórmio (3:2) e adição 1ml de solução de iodeto de potássio saturada. O erlenmeyer foi agitado, fechado e protegido da luz durante 5 minutos. Foram adicionados 100ml de água destilada, recentemente fervida e resfriada. Após agitação vigorosa, foi titulado com tiosulfato de sódio 0,01N. O volume gasto após a adição da solução de amido a 1% indicou a concentração de peróxidos em $\text{meq}_{\text{O}_2} \cdot \text{kg}^{-1}$ de amostra.

3.2.3.4. Índice de p-anisidina

Determinação do índice de p-anisidina foi realizada conforme o método Ia-64 da AOCS (1998), em triplicata para todas as amostras. Foram pesados 0,5g de amostras de óleo e diluídas em iso-octano em balão de 25ml, o indicador utilizado foi p-anisidina em ácido acético glacial a $0,25\text{g} \cdot 100\text{mL}^{-1}$, 5ml da solução da amostra foi introduzida em um tubo de ensaio e adicionado 1mL de solução de p-anisidina e agitados, após 10 minutos foram acondicionadas em cubetas de quartzo e transferidas para o espectrofotômetro (JENWAY, modelo 6705 UV/VIS), a absorbância foi lida a 350nm, a amostra em branco foi medida usando 5 mL iso-octano e 1ml de solução de p-anisidina. A concentração de aldeídos foi expressa em $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de amostra.

3.2.3.5. Índice de acidez

Para a determinação do índice de acidez, conforme o método da AOCS (1998), adaptado. Foi pesado 2g da amostra em um erlenmeyer e foi adicionado 25ml de solução de éter-álcool (2:1) previamente neutralizada com uma solução de hidróxido de sódio 0,1N. Em seguida, foram adicionadas 2 gotas de indicador fenolftaleína e titulou-se com solução de NaOH 0,01N até atingir a coloração rósea. A concentração de acidez foi expressa em mg.g^{-1} de amostra.

3.2.3.6. Determinação de teor de ésteres

O controle da qualidade do biodiesel produzido no Brasil, atendendo a resolução ANP nº 42/2007, deve determinar o teor de ésteres presentes no produto final, sendo esta análise realizada por cromatografia gasosa, segundo a norma EN/ISO 14103.

De cada amostra de biodiesel a ser analisada, uma alíquota com cerca de 50 mg foi transferida para um tubo de ensaio de 10ml e pesada com precisão (0,1mg). Em seguida, foram adicionados 5ul do etil-decanoato (Supelco), padrão interno, 5ml de n-heptano foram adicionados a cada tubo de ensaio e foram fechados e agitados vigorosamente. Em seguida, Após homogeneização, cada solução foi passada para os vials e injetada no CG.

A análise cromatográfica ocorreu em CG Perkin Elmer modelo Clarus 500, equipado com injetor split/splitless, detector por ionização de chama (FID) e coluna capilar ZB-Wax-Plus (30m x 0,25mm x 0,25 μm). Foi utilizada a seguinte programação de temperatura: gás carreador nitrogênio, vazão de 2ml.min^{-1} , split 1:50, volume de amostra 1 μl , temperatura programada do forno: temperatura inicial 150°C permanecendo nesta temperatura por 1min com rampa de aquecimento em $5^{\circ}\text{C.min}^{-1}$ até 240°C , ficando estável nesta temperatura por 6min, com tempo total de 24min, sendo as temperaturas do injetor e detector de 240°C . A identificação dos compostos foi realizada por comparação com os tempos de retenção obtidos para o FAME Mix C4-C24 (Sigma-Aldrich). O teor de éster é calculado através da soma de todos os picos entre C14 e C24 e relacionando-os com o padrão interno C10, representando uma quantificação relativa em percentual.

3.2.3.7. Índice de iodo

O índice de iodo foi obtido por cálculo através do perfil de ácidos graxos, pelas normas EN 14103 e EN 14111. A concentração de aldeídos foi expressa em $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de amostra.

3.2.3.8. Teores de potássio e sódio

As determinações de K e Na foram realizadas por espectrometria de emissão atômica com chama (FAES) segundo método proposto pela NBR 15554, NBR 15555, NBR15553 e NBR 15556. A metodologia empregada para a determinação utilizou microemulsões preparadas com HCl e álcool iso-propílico bidestilados. Para o preparo das microemulsões, foram pesadas 0,5g de biodiesel em tubos volumétricos de 14mL seguidos da adição de 100 μL de HCl e avolumadas a 10mL com álcool iso-propílico. Do mesmo modo, foi determinada a curva de calibração com padrão inorgânico de K e Na com óleo mineral para simular a matriz da amostra. A exatidão foi avaliada utilizando um padrão controle de biodiesel contendo 20mg kg^{-1} de Na e K, e os valores de concentração encontrados foram concordantes. As determinações de K e Na foram realizadas em triplicata, por FAES, utilizando os sistemas de introdução de amostras por AD e AC. As concentrações de sódio e potássio foram expressas em $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de amostra.

3.2.3.9. Viscosidade cinemática

O método utilizado para a determinação da viscosidade cinemática foi o método proposto pela NBR 10441, realizada em Viscosímetro Rotativo Analógico (QUIMIS, modelo Q860A), com a amostra mantida a 40°C. A determinação da viscosidade cinemática foi expressa em $\text{mm}^2\cdot\text{s}^{-1}$.

3.2.3.10. Ponto de fusão, cristalização e congelamento

As análises de calorimetria exploratória diferencial foram realizadas em equipamento Schimadzu modelo DTG 60 em cadinho de alumínio, numa faixa de temperatura de 25 a -40°C para as curvas exotérmicas e -40 a 25°C para as curvas endotérmicas, em atmosfera de nitrogênio com um fluxo de 40 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ com razão de resfriamento e aquecimento de 5°C $\cdot\text{min}^{-1}$, utilizando de 6 a 8mg de amostra. A determinação do ponto de fusão, cristalização e congelamento foi expressa em °C.

3.2.3.11. Índice de cetanos

Uma correlação em unidades SI é estabelecida entre o número de cetano ASTM, a densidade (ASTM D-1298), e as temperaturas dos 10%, 50% e 90% recuperados do combustível (ASTM D-86).

A literatura apresenta diversas aplicações das duas formas de determinação dos índices de cetano. Pela abrangência e aceitação, escolheu-se para este trabalho o IC calculado pela norma ASTM D-4737.

3.2.3.12. Massa específica

Determinada segundo método proposto pela NBR 14065. Esta Norma estabelece o ensaio para determinação da massa específica, da densidade e °API de destilados de petróleo e óleos viscosos que podem ser manuseados normalmente como líquidos a temperaturas de ensaio, usando equipamento de injeção de amostra manual ou automática. Sua aplicação limita-se a líquidos com pressão de vapor abaixo de 100 kPa e viscosidade abaixo de $15.000\text{mm}^2\text{s}^{-1}$, aproximadamente, à temperatura de ensaio.

3.2.3.13. Glicerina livre e total, mono, di e triacilglicerol

A qualidade do biodiesel B100 é controlada, entre outras características, pelos seus conteúdos de glicerina livre e total, determinados segundo as normas EN 14105 e ASTM D6584.

Quatro soluções de calibração contendo glicerol, monoleína, dioleína e trioleína (ASTM D6584 Standard Solution 5, Sigma-Aldrich), diluídas em piridina nas concentrações especificadas na norma ASTM D6584, e 10ul etil-decanoato (Supelco), padrão interno. Uma alíquota de 100ul do reagente derivatizante (MSTFA) foi adicionada a cada solução de calibração. Os tubos de ensaio foram fechados e agitados vigorosamente por 20min. Em seguida, 8mL de n-heptano foram adicionados a cada tubo de ensaio. Após homogeneização, cada solução foi passada para os vials e injetada no cromatógrafo a gás (CG).

De cada amostra de biodiesel a ser analisada, uma alíquota com cerca de 100mg foi transferida para um tubo de ensaio de 10ml e pesada com precisão (0,1mg). Em seguida, foram adicionados 10ul do padrão interno e 100 µl do derivatizante MSTFA. Os tubos de ensaio com amostra foram fechados e agitados vigorosamente por 20min. Em seguida, 8ml de n-heptano foram adicionados a cada tubo de ensaio. Após homogeneização, cada solução foi passada para os vials e injetada no CG.

A análise cromatográfica foi realizada em CG Perkin Elmer modelo Clarus 500, equipado com injetor split/splitless, detector por ionização de chama (FID); com a seguinte programação de temperatura: 60°C mantidos por 1min, seguidos de incremento de 15°C.min⁻¹ até 300°C, mais um incremento de 30°C.min⁻¹ até atingir 380°C; e coluna capilar ZB-5HT inferno (15m x 0,32mm x 0,10µm); e a seguinte programação de temperatura: 50°C mantidos por 1min, seguidos de incremento de 15°C.min⁻¹ até 180°C, mais um incremento de 7°C.min⁻¹ até atingir 230°C e por fim, um incremento de 10°C.min⁻¹ até 370°C, mantidos por 5min. O nitrogênio foi usado como gás de arraste a 3ml.min⁻¹. A identificação dos compostos foi realizada por comparação com os tempos de retenção obtidos para o ASTM D6584 Standard Solution 5 (Sigma-Aldrich) e a quantificação relativa foi realizada por normalização de área em percentual.

3.2.3.14. Análise estatística

Para as avaliações dos efeitos do armazenamento sobre a qualidade dos grãos, óleos e biodiesel, os experimentos foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições para os diferentes tratamentos.

Foi realizada análise de variância (ANOVA) dos dados obtidos para os parâmetros determinados. Quando a análise de a ANOVA mostrou valores de F significativos foram executados testes para comparação de médias, especificamente com o programa SAS, foi determinada a diferença mínima significativa pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os óleos obtidos de arroz, canola e girassol foram caracterizados e analisados qualitativamente pelo perfil de ácidos graxos, índice de peróxido, tocoferóis individuais e totais, índice de p-anisidina (aldeídos) e índice de acidez, durante 12 meses de armazenamento com condições psicrométricas do ambiente de 25°C com umidade relativa (UR) a 55%.

A Tab. 12 contém a comparação do perfil de ácidos graxos dos grãos, óleo bruto e óleo refinado de arroz antes do início do armazenamento.

Tabela 12. Perfil dos ácidos graxos* (%) dos grãos, óleos bruto e refinado de arroz.

Nomenclatura	Grãos	Óleo bruto	Óleo refinado
Saturados:			
C16:0 Palmítico	20,16 Cb	20,36 Ca	19,00 Cc
C18:0 Esteárico	1,50 Eb	1,79 Ea	0,49 Ec
Monoinsaturados:			
C18:1 Oléico (ômega 9)	39,09 Ac	40,16 Ab	42,24 Aa
Polinsaturados:			
C18:2 Linoléico (ômega 6)	36,11 Ba	34,25 Bb	34,73 Bb
C18:3 Linolênico (ômega 3)	2,32 Da	1,94 Db	1,80 Db
Outros	0,81	1,51	1,74
<hr/>			
Saturados	22,38 Cb	23,46 Ca	21,00 Cc
Monoinsaturados	39,19 Ac	40,36 Ab	42,47 Aa
Polinsaturados	38,43 Ba	36,18 Bb	36,53 Bb

* Médias aritméticas simples, de três repetições, seguidas por letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, e letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância (P<0,05).

Os principais ácidos graxos encontrados nos óleos de arroz são: Palmítico, esteárico, oléico, linoleico e linolênico (Tab. 12). Os ácidos graxos encontrados e suas concentrações estão entre os limites especificados na resolução nº. 482 da ANVISA (1999) para o óleo de arroz.

O conteúdo de ácidos graxos detectados está próximo ao encontrado por Zambiasi (1997), que tanto para o farelo quanto para o óleo de arroz encontrou que os principais ácidos graxos saturados são os ácidos palmítico (14-17%) e esteárico (2,0-2,5%), e os principais ácidos graxos insaturados são os ácidos oléico (40-45%), linoléico (35-37%) e linolênico (1-2%).

Os diferentes métodos de extração e refino dos óleos de arroz alteram a relação dos ácidos graxos, observando um aumento no percentual de ácido graxo monoinsaturado, oléico (ômega 9), e uma diminuição no percentual nos ácidos graxos

polinsaturados e saturados, linoléico (ômega 6) e linolênico (ômega 3), palmítico e esteárico, respectivamente. O processo de degomagem e winterização no refino dos óleos vegetais pode ser responsável pela diminuição dos ácidos graxos saturados, ocorrendo uma centrifugação dos óleos em ambos os processos com a finalidade de remover fosfolipídios, proteínas, ceras e substância coloidal (MORETTO & FETT, 1989), podendo arrastar os ácidos graxos saturados, devido a estes permanecerem sólidos ou cristalizados a temperatura ambiente (ORDÓÑEZ, 2005).

A proporção de ácidos graxos saturado-insaturados, 1-3,5; 1-3,3; 1-3,8; e a proporção de ácidos graxos oléico-linoléico, 1,1-1; 1,2-1; 1,2-1; dos grãos, do óleo bruto e do óleo refinado de arroz, respectivamente, estão próximos aos encontrados por Bruzzetti (1999).

A Tab. 13 contém a comparação do perfil dos principais ácidos graxos (>1%) do óleo dos grãos, óleo bruto e óleo refinado de canola antes do início do armazenamento.

Tabela 13. Perfil dos ácidos graxos* (%) dos grãos, óleos bruto e refinado de canola.

Nomenclatura	Grãos	Óleo bruto	Óleo refinado
<u>Saturados:</u>			
C16:0 Palmítico	4,58 Eb	4,23 Ec	4,91 Ea
C18:0 Esteárico	1,95 Dc	2,23 Db	2,58 Da
C20:0 Araquídico	0,82 Fc	1,14 Fa	0,99 Fb
<u>Monoinsaturados:</u>			
C18:1 Oléico (ômega 9)	66,98 Aa	66,20 Aa	60,43 Ab
<u>Polinsaturados:</u>			
C18:2 Linoléico (ômega 6)	16,34 Bb	15,93 Bc	23,77 Ba
C18:3 Linolênico (ômega 3)	9,25 Cb	9,71 Ca	6,84 Cc
<u>Outros</u>	0,10	0,55	0,49
Saturados	7,23 Cb	7,85 Cb	8,73 Ca
Monoinsaturados	67,18 Aa	66,50 Aa	60,66 Ab
Polinsaturados	25,59 Bb	25,64 Bb	30,61 Ba

* Médias aritméticas simples, de três repetições, seguidas por letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, e letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância (P<0,05).

Os principais ácidos graxos encontrados nos óleos de canola são: Palmítico, esteárico, oléico, linoléico, linolênico e araquídico (Tab. 13). Os ácidos graxos encontrados e suas concentrações estão entre os limites especificados na resolução nº. 482 da ANVISA (1999) para o óleo de canola, mas diferentes dos citados por Izquierdo (2003) que encontrou para grãos de canola, 61% de ácido oléico, 21% de ácido linoléico e 11% de ácido linolênico.

Comparando as proporções dos ácidos graxos deste trabalho com os valores encontrados por Bruzzetti (1999) para os óleos comestíveis, a relação saturado-insaturados encontrada esta menor, 1-12,8; 1-12,2; 1-10,5; e a proporção de ácidos graxos oléico-linoléico encontrada esta maior, 4,1-1; 4,2-1; 2,5-1; para óleo extra-virgem e óleo refinado de canola, respectivamente.

Os processos de extração e refino dos óleos de canola alteraram o perfil dos seus ácidos graxos, onde se observou uma diminuição no percentual do ácido graxo oléico (ômega 9) e um aumento proporcional nos ácidos graxos polinsaturados e saturados, linoléico (ômega 6) e linolênico (ômega 3), palmítico, esteárico e araquídico, respectivamente. Observando estes resultados, é possível afirmar que as condições do processo de refino dos óleos vegetais podem promover alteração dos ácidos graxos bem como a remoção dos produtos gerados, o que pode ter acarretado a redução da concentração do ácido graxo oleico no óleo refinado de canola.

Foi observado para a canola que os ácidos graxos saturados por não possuírem duplas ligações, não sofrem oxidação, e os polinsaturados são mais estáveis que os monoinsaturados por possuírem duas ou mais ligações duplas, que promovem ressonância entre elas e mantém a estabilidade da cadeia, comportamento similar ao ocorrido com os tocoferóis.

A Tab. 14 contém a comparação do perfil de ácidos graxos dos grãos, óleo bruto e óleo refinado de girassol antes do início do armazenamento.

Tabela 14. Perfil dos ácidos graxos* (%) dos grãos, óleos bruto e refinado de girassol.

Nomenclatura	Grãos	Óleo bruto	Óleo refinado
Saturados:			
C16:0 Palmítico	5,48 Cb	4.43 Cc	6,55 Ca
C18:0 Esteárico	1,98 Dc	3.15 Da	2,72 Db
Monoinsaturados:			
C18:1 Oléico (ômega 9)	34,46 Bc	41.86 Ba	35,01 Bb
Polinsaturados:			
C18:2 Linoléico (ômega 6)	57,49 Aa	49.92 Ac	54,37 Ab
Outros	0,59	0.65	1,35
Saturados	7,94 Cb	8,07 Cb	9,81 Ca
Monoinsaturados	34,57 Bc	41,93 Ba	35,09 Bb
Polinsaturados	57,49 Aa	50,00 Ac	55,10 Ab

* Médias aritméticas simples, de três repetições, seguidas por letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, e letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância (P<0,05).

Os principais ácidos graxos encontrados nos óleos de girassol são: Palmítico, esteárico, oléico e linoléico (Tab. 14). Os ácidos graxos encontrados e suas

concentrações estão entre os limites especificados na resolução nº. 482 da ANVISA (1999) para o óleo de girassol, exceto para o óleo bruto de girassol que foi encontrado um conteúdo menor de ácido graxo linoléico (ômega 6) que o especificado pela ANVISA (55%), em consequência deste resultado o conteúdo do ácido graxo oléico (ômega 9) aumentou e ultrapassou o limite máximo (35%) para este ácido graxo.

Os diferentes métodos de extração e refino dos óleos de girassol alteram a relação entre os ácidos graxos monoinsaturados, polinsaturados e saturados. O processo de prensagem na obtenção do óleo vegetal bruto pode ser responsável pela diminuição dos ácidos graxos polinsaturados, ocorrendo uma retenção dos mesmos devido a baixa eficiência do processo de extração, comparado com a extração química, ou a degradação dos ácidos graxos pelo calor gerado pelo atrito e o contato com metais que podem agir como catalisadores pró-oxidantes durante o processo de extração física alterando o conteúdo de ácidos graxos do óleo (MORETTO & FETT, 1989).

A proporção de ácidos graxos saturado-insaturados, 1-11,6; 1-11,4; 1-9,2; ficaram acima dos valores encontrados por Bruzzetti (1999), e a proporção de ácidos graxos oléico-linoléico, 1-1,7; 1-1,2; 1-1,6; dos grãos, do óleo bruto e do óleo refinado de girassol, respectivamente, ficaram abaixo dos valores encontrados pelo autor anterior.

4.1. Estudo 1

Estudo 1: Efeitos do tempo de armazenamento dos grãos sobre a estabilidade do óleo de arroz, canola e girassol.

As Fig. 11 e 12 contêm a comparação dos ácidos graxos saturados monoinsaturados, polinsaturados, tocoferóis individuais e totais, índice de peróxido, índice de p-anisidina (aldeídos) e índice de acidez dos grãos de arroz durante 12 meses de armazenamento com condições psicrométricas do ambiente de 25°C com UR a 55%. Alguns dos intervalos de confiança dos resultados apresentados nessas figuras não são visíveis, devido ao seu valor reduzido em relação a escala adotada para o eixo vertical.

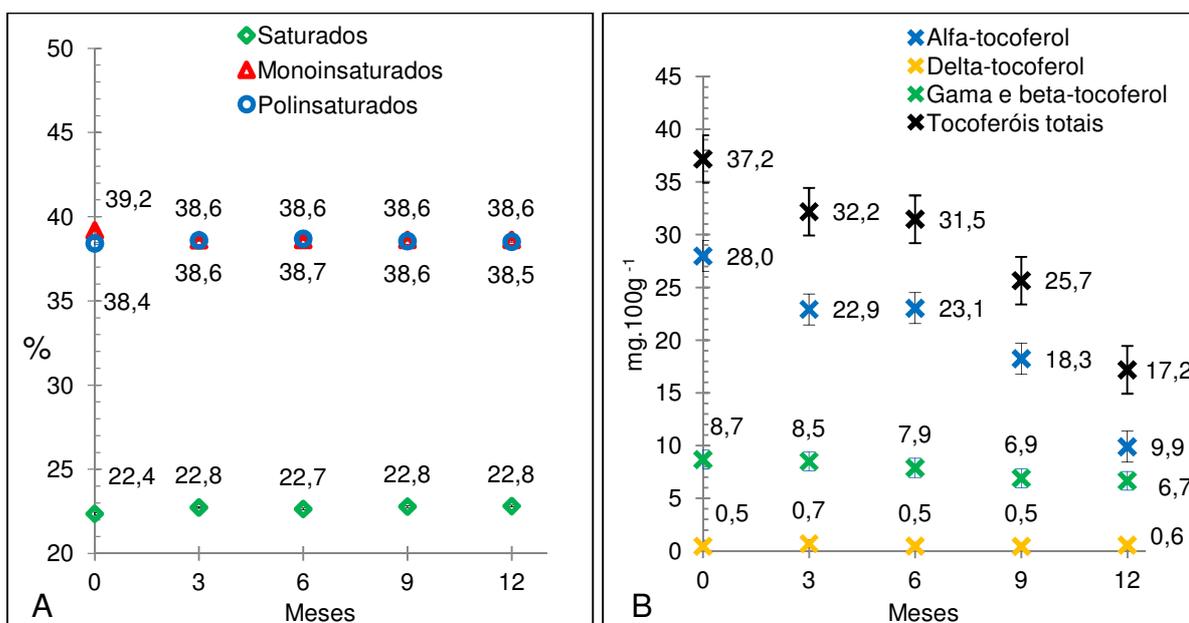


Figura 11. Teores* de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) dos grãos de arroz armazenados durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

Os grãos de arroz tiveram uma variação dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados entre o início do armazenamento até o 3º mês, os monoinsaturados diminuiriam significativamente devido a oxidação das ligações duplas, enquanto os saturados aumentaram proporcionalmente e não foram detectadas alterações nos períodos subsequentes até o 12º mês. Nos polinsaturados não foram encontradas variações significativas durante os 12 meses de armazenamento (Fig. 11A).

Os tocoferóis totais dos grãos de arroz diminuiriam em 54% o seu conteúdo ao longo dos 12 meses de armazenamento, sendo verificada uma taxa variável entre os períodos de armazenamento, diminuindo 13% do início do armazenamento até o 3º mês, não significativo do 3º ao 6º mês, 18% do 6º ao 9º mês e 33% do 9º ao 12º mês (Fig. 11B).

Dentre os tocoferóis, o alfa-tocoferol teve a maior redução, 65% do seu conteúdo, refletindo no resultado dos tocoferóis totais. Este comportamento pode ser justificado devido os tocoferóis totais terem em sua composição 3/4 de alfa-tocoferol (76%). O gama e beta-tocoferol tiveram perdas significativas ao longo dos 12 meses de armazenamento, diminuindo 23% do seu conteúdo. Não foram detectadas variações significativas durante o armazenamento do conteúdo do delta-tocoferol. O gama e beta-tocoferol (23%), e delta-tocoferol (1%) representaram aproximadamente 1/4 da composição dos tocoferóis totais.

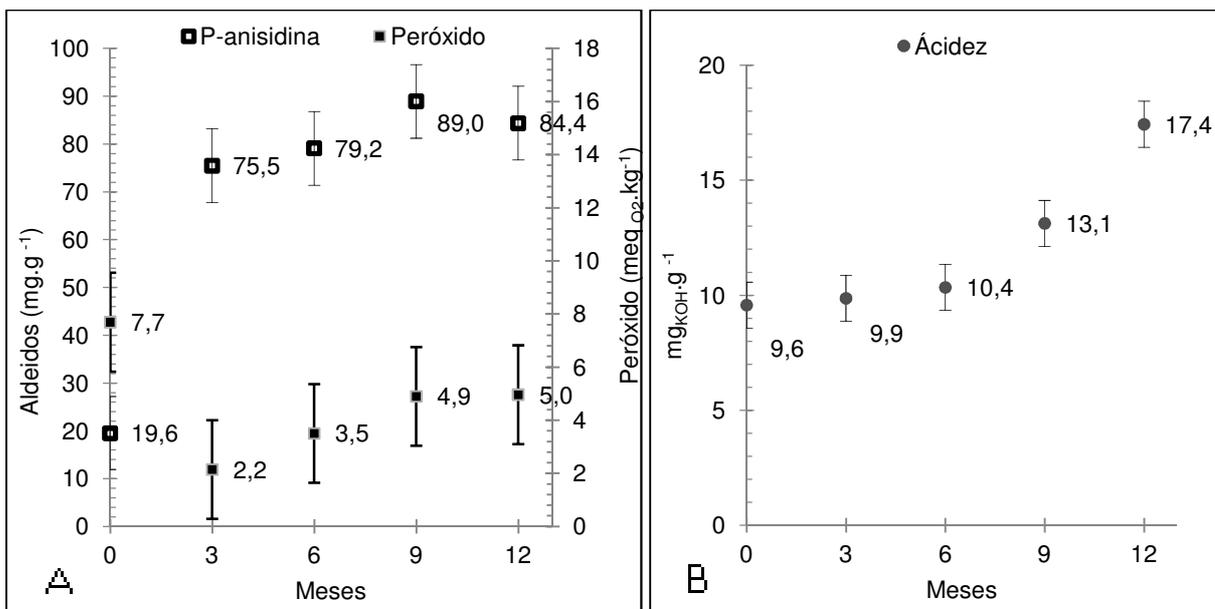


Figura 12. Peróxidos*, aldeídos* (A) e acidez* (B) dos grãos de arroz armazenados durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

Foi detectada uma diminuição significativa dos peróxidos de 71% do seu valor inicial até o 3º mês de armazenamento, e após este período foi verificado um aumento de 123% até o 9º mês e não significativo do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 12A).

A diminuição dos peróxidos foi proporcional ao aumento de 285% dos aldeídos no 1º trimestre do armazenamento, correspondente a uma razão de $5,5 \text{ meq}_{\text{O}_2} \cdot \text{kg}^{-1} / 55,9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (degradação dos peróxidos - oxidação primária / formação de aldeídos - oxidação secundária). Para este mesmo período também foi observado uma redução significativa dos tocoferóis totais (Figura 11B), os quais possivelmente inibiram a formação de novos peróxidos.

No índice de p-anisidina (aldeídos) verificou-se um aumento a uma taxa variável até o 9º mês de armazenamento; aumentando 285% do seu valor inicial até o 3º mês, não significativo do 3º ao 6º mês, 12% do 6º ao 9º mês, e uma diminuição não significativa do 9º ao 12º mês, tendo um aumento de 331% do seu valor inicial durante os 12 meses de armazenamento (Fig. 12A).

O índice acidez teve um aumento crescente durante todo o armazenamento, num total de 81% do seu valor inicial, mas não significativo até o 6º mês de armazenamento; aumentando 26% do 6º ao 9º mês e 33% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 12B).

Os valores iniciais elevados dos peróxidos e da acidez em relação aos seus óleos (Fig. 12A e 12B) podem caracterizar uma conduta inadequada nas etapas de pós-colheita (demora na recepção) ou na pré-colheita (colheita tardia), ocasionando consumo do material de reserva dos grãos pela respiração devido ao metabolismo acelerado ocasionado pela alta umidade dos grãos de arroz.

As Fig. 13 e 14 contêm a comparação dos ácidos graxos saturados monoinsaturados, polinsaturados, tocoferóis individuais e totais, índice de peróxido, índice de p-anisidina (aldeídos) e índice de acidez dos grãos de canola durante 12 meses de armazenamento com condições psicrométricas do ambiente de 25°C com UR a 55%. Alguns dos intervalos de confiança dos resultados apresentados nessas figuras não são visíveis, devido ao seu valor reduzido em relação a escala adotada para o eixo vertical.

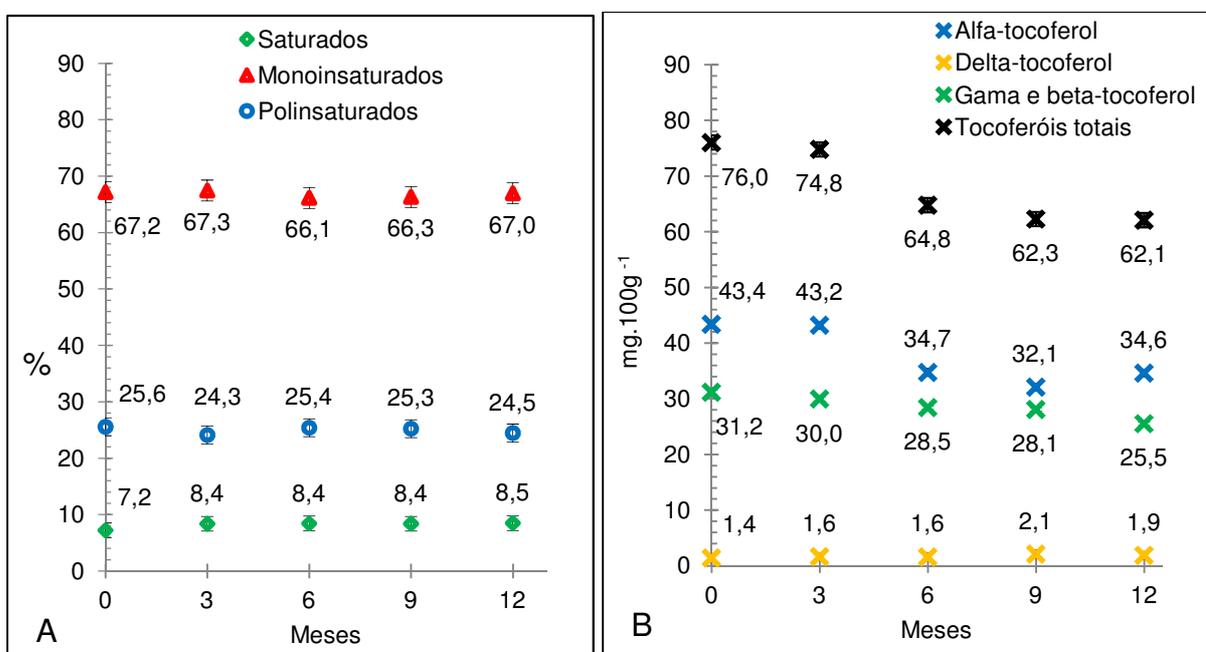


Figura 13. Teores* de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) dos grãos de canola armazenados durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

Nos grãos de canola não foi detectada nenhuma variação significativa do perfil dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados durante os 12 meses de armazenamento (Fig. 13A).

A composição dos tocoferóis totais detectada no grão de canola foi de 57% de alfa-tocoferol, 41% de gama e beta-tocoferol e 2% de delta-tocoferol. Nos tocoferóis totais foi detectada uma diminuição de 18% do seu conteúdo durante o

armazenamento, e foi verificada uma taxa variável entre os períodos de armazenamento, não foram detectadas variações significativas do início do armazenamento até o 3º mês, diminuindo 13% do 3º ao 6º mês, e não houve variação significativa do 6º ao 12º mês (Fig. 13B).

No alfa-tocoferol foi detectada uma perda de 20% do seu conteúdo durante todo o armazenamento, no decorrer do armazenamento verificou-se uma perda significativa entre o 3º e o 6º mês, e para os demais períodos as variações não foram significativas (Fig. 13B). O gama e beta-tocoferol tiveram perdas significativas de 18% ao longo dos 12 meses de armazenamento, com maior intensidade no último trimestre. No delta-tocoferol não foram detectadas variações significativas durante os 12 meses de armazenamento (Fig. 13B).

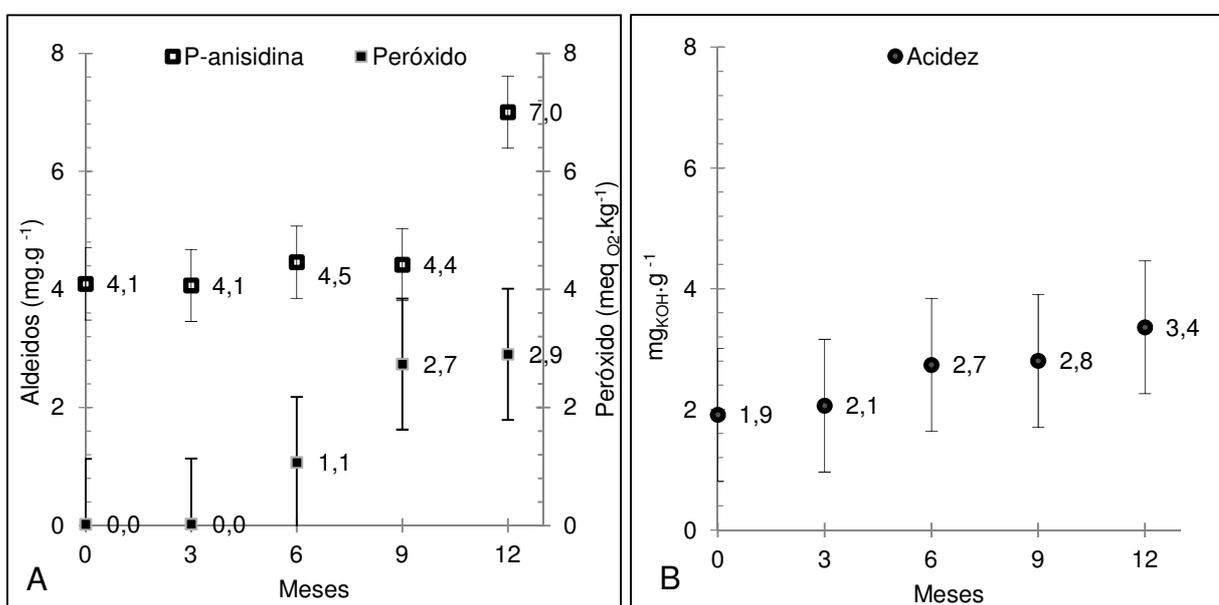


Figura 14. Peróxidos*, aldeídos* (A) e acidez* (B) dos grãos de canola armazenados durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

O índice de peróxidos dos grãos permaneceu nulo até o 6º mês de armazenamento e teve um aumento de 156% do 6º ao 9º mês e não foi significativo do 9º ao 12º mês (Fig. 14A). Os valores próximos a zero dos tocoferóis indicam uma grande estabilidade lipídica dos grãos de canola, também vista no seu conteúdo de ácidos graxos e na degradação dos tocoferóis. A diminuição da intensidade na formação dos peróxidos no último trimestre é resultado de sua degradação e o aumento na formação de aldeídos neste período.

No índice de p-anisidina foi detectado um aumento de 70% do seu conteúdo inicial a uma taxa variável durante todo o armazenamento, até o 3º mês o valor permaneceu constante, aumentando 10% do 3º ao 6º mês, com uma diminuição não significativa do 6º ao 9º mês e aumentando 60% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 14A). Os aldeídos permaneceram inalterados nos três primeiros trimestres devido ao baixo teor de peróxidos, não detectado até o 6º mês. Já com a formação mais intensa de peróxido só após o 6º mês de armazenamento, a formação de aldeídos teve maior intensidade no ultimo trimestre do armazenamento.

Foi observado um aumento total de 79% no índice de acidez dos grãos de canola durante os 12 meses, os incrementos trimestrais da acidez não foram significativos até o 9º mês de armazenamento, aumentando 21% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 14B).

As Fig. 15 e 16 contêm a comparação dos ácidos graxos saturados monoinsaturados, polinsaturados, tocoferóis individuais e totais, índice de peróxido, índice de p-anisidina (aldeídos) e índice de acidez dos grãos de girassol durante 12 meses de armazenamento com condições psicrométricas do ambiente de 25°C com UR a 55%. Alguns dos intervalos de confiança dos resultados apresentados nessas figuras não são visíveis, devido ao seu valor reduzido em relação a escala adotada para o eixo vertical.

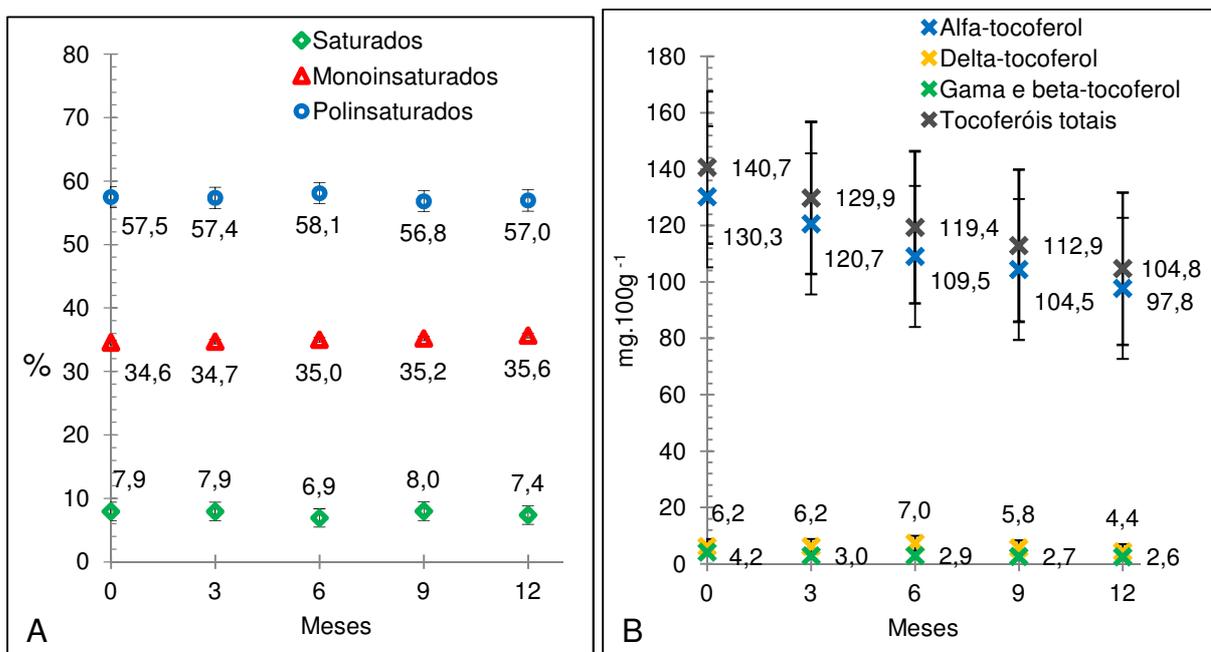


Figura 15. Teores* de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) dos grãos de girassol armazenados durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

Nos grãos de girassol não foram detectadas variações significativas no perfil dos ácidos graxos ao longo dos 12 meses de armazenamento (Fig. 15A).

A composição dos tocoferóis totais detectada no grão de girassol foi de 93% de alfa-tocoferol, 3% de gama e beta-tocoferol e 4% de delta-tocoferol. O conteúdo dos tocoferóis totais diminuiu 26% ao longo do armazenamento e apenas o valor acumulado no 12º mês do armazenamento foi significativo (Fig. 15B).

O alfa-tocoferol dos grãos de girassol diminuiu 30% durante os 12 meses de armazenamento, ocorrendo perdas significativas somente no 12º mês do armazenamento, similar ao observado nos tocoferóis totais. O gama e beta-tocoferol diminuiram 38% durante todo o armazenamento, e foi detectada uma diminuição significativa apenas no primeiro trimestre do armazenamento. No delta-tocoferol não foi detectado variações significativas até o 9º mês, diminuindo 29% ao longo do armazenamento (Fig. 15B).

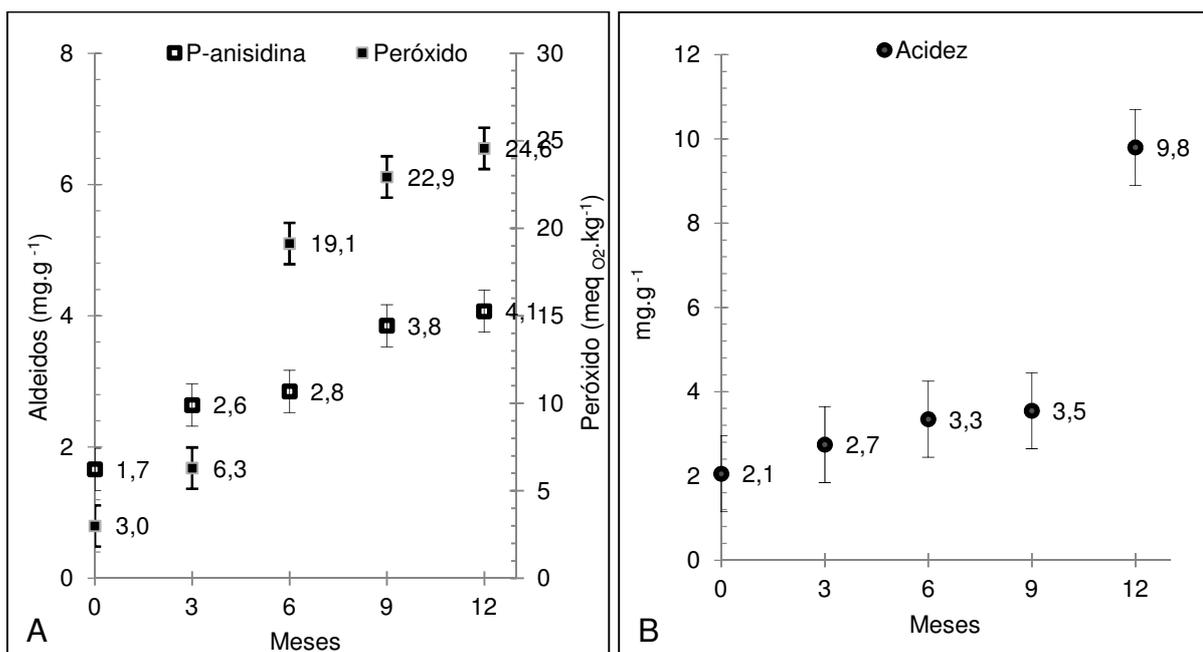


Figura 16. Peróxidos*, aldeídos* (A) e acidez* (B) dos grãos de girassol armazenados durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

No índice de peróxido do óleo dos grãos de girassol foi detectado um aumento de 720% do seu valor inicial a uma taxa variável durante todo o armazenamento, aumentando 110% até o 3º mês, 203% do 3º ao 6º mês, 20% do 6º ao 9º mês e 7% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 16A). O valor acumulado até o 6º mês do

armazenamento ultrapassou o limite ($10\text{meq}_{\text{O}_2}\cdot\text{kg}^{-1}$) permitido pela ANVISA para consumo humano.

No óleo dos grãos de girassol foi observado um aumento de 141% do índice de p-anisidina durante todo o armazenamento, aumentando 53% até o 3º mês e 36% do 6º ao 9º mês e não foi significativo para os demais períodos do armazenamento (Fig. 16A).

No índice de acidez do óleo dos grãos de girassol foi detectado um aumento de 367% durante os 12 meses do armazenamento, aumentando 57% até o 6º mês, não significativo do 6º ao 9º mês e 180% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Figura 16B). O valor acumulado até o 3º mês ficou abaixo de $3\text{mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$, que segundo Ferrari (2005) é o limite máximo recomendado para uma transesterificação sem perdas significativas.

Dos grãos estudados, o grão de canola manteve a maior estabilidade da fração lipídica durante os 12 meses de armazenamento nas condições psicrométricas de 25°C a UR 55% (razão de mistura de 10,89g de água por quilogramas de ar e volume específico do ar de $0,86\text{m}^3\cdot\text{Kg}^{-1}$).

No grão de arroz foi verificada a menor estabilidade da fração lipídica durante o armazenamento, este resultado pode ser justificado devido aos triglicerídeos estarem localizados nas camadas mais periféricas do grão de arroz, na camada de aleurona e no gérmen (WALTER et al., 2008), onde ocorrem trocas gasosas com maior intensidade entre o grão e o ambiente, o que não ocorre na mesma intensidade com a canola e o girassol que tem os triglicerídeos mais uniformemente distribuídos em seus grãos.

4.2. Estudo 2

Efeitos do processamento industrial e do tempo de armazenamento sobre a estabilidade do óleo bruto e do óleo refinado de arroz, canola e girassol.

As Fig. 17 e 18 contêm a comparação dos ácidos graxos saturados monoinsaturados, polinsaturados, tocoferóis individuais e totais, índice de peróxido, índice de p-anisidina (aldeídos) e índice de acidez do óleo bruto de arroz durante 12 meses de armazenamento com condições psicrométricas do ambiente de 25°C com UR a 55%. Alguns dos intervalos de confiança dos resultados apresentados nessas figuras não são visíveis, devido ao seu valor reduzido em relação a escala adotada para o eixo vertical.

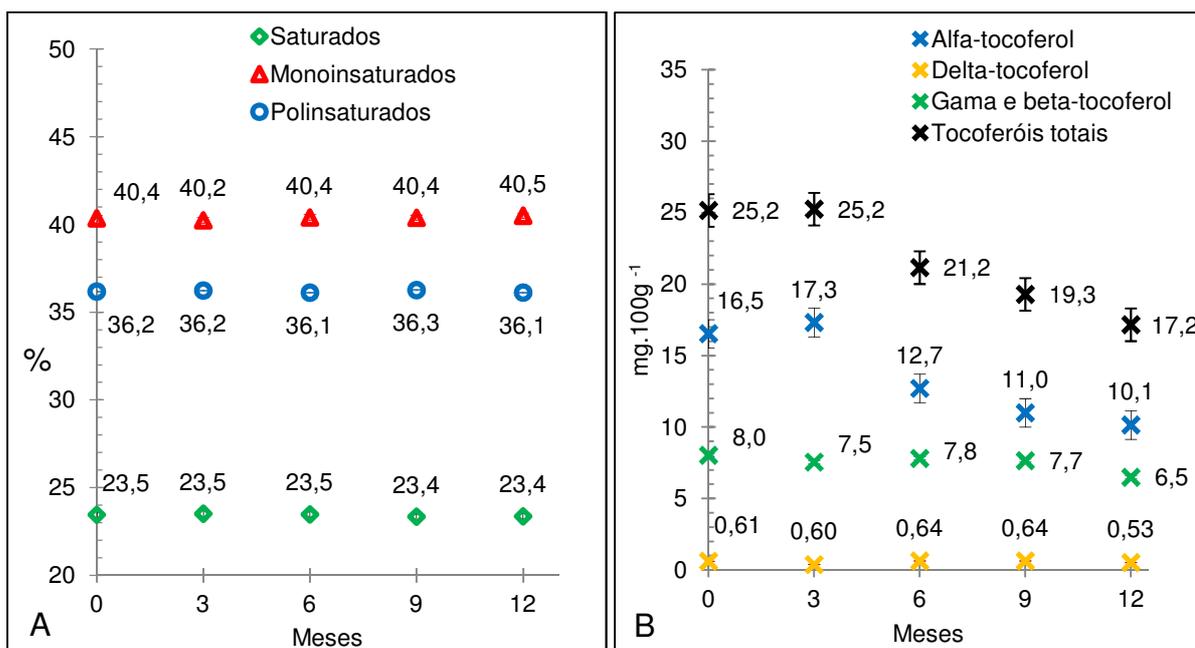


Figura 17. Teores* de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo bruto de arroz armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

No óleo bruto de arroz não foi detectada nenhuma variação dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados durante os 12 meses de armazenamento (Fig. 17A).

A distribuição inicial dos tocoferóis totais detectada no óleo bruto de arroz foi de 65% de alfa-tocoferol, de 32% de gama e beta-tocoferol e de 3% de delta-tocoferol. Os tocoferóis totais diminuíram em 32% do seu conteúdo entre o 3º e o 12º mês de armazenamento, e foi verificada uma taxa variável ao longo destes períodos de armazenamento, onde os tocoferóis totais permaneceram estáveis do início do armazenamento até o 3º mês, diminuindo (16%) do 3º ao 6º mês, 9% do 6º ao 9º mês e 11% do 9º ao 12º mês (Fig. 17B).

O alfa-tocoferol teve a maior perda do seu conteúdo (39%), a partir do 3º mês de armazenamento, similar ao comportamento dos tocoferóis totais. O gama e beta-tocoferol tiveram 19% de perdas ao longo dos 12 meses de armazenamento, mas somente a partir 9º mês a perda foi significativa, onde diminuiu 16% do seu conteúdo. Não foram detectadas variações significativas do delta-tocoferol durante o armazenamento até o 9º mês, e a perda de 17% ocorrida em todo armazenamento se deu no último período (Fig. 17B).

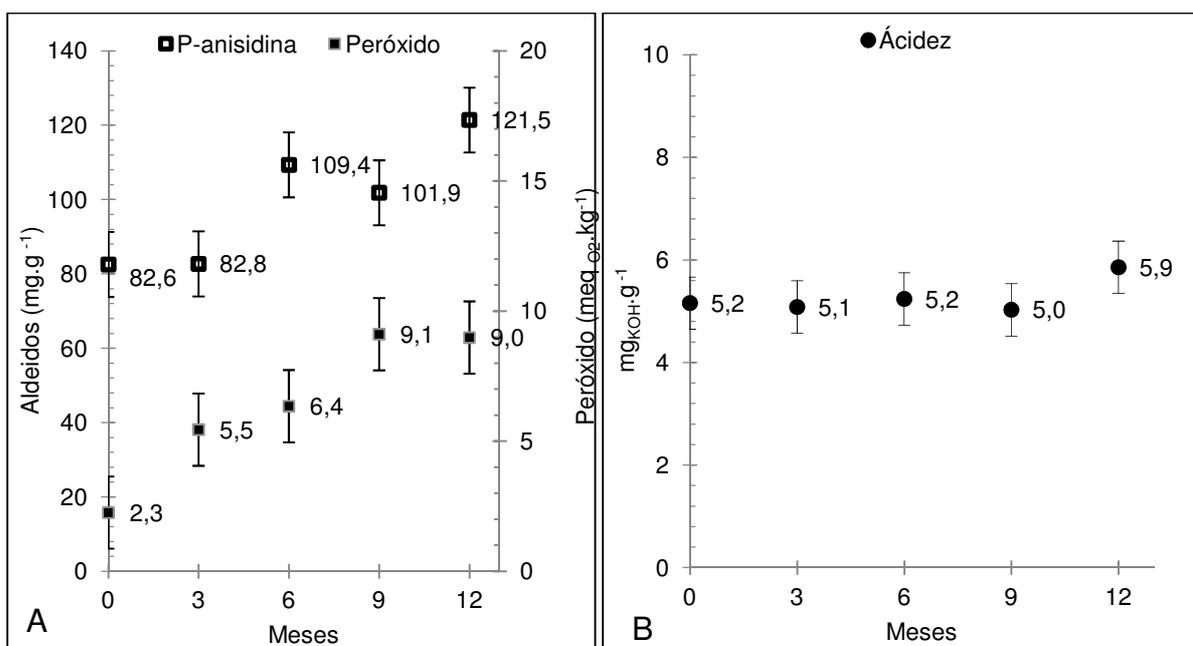


Figura 18. Peróxidos*, aldeídos* (A) e acidez* (B) do óleo bruto de arroz armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

Foi observada uma taxa variável no índice de peróxidos do óleo bruto de arroz até o 9º mês de armazenamento, aumentando 139% do seu valor inicial até o 3º mês, não significativo do 3º ao 6º mês, 42% do 6º ao 9º mês e não ocorreram variações significativas do 9º ao 12º mês de armazenamento, e um aumento durante todo o armazenamento de 291% em relação ao seu valor inicial (Fig. 18A).

No índice de p-anisidina foi detectada uma taxa variável na formação de aldeídos de 47% durante todo o armazenamento, não houve um aumento significativo até o 3º mês, do 3º ao 6º mês o aumento foi de 32%, do 6º ao 9º mês houve uma diminuição não significativa e do 9º ao 12º mês o aumento foi de 19% (Fig. 18A). Os períodos de maior aumento dos aldeídos foram alternados aos períodos de maior aumento de peróxidos, e nos mesmos períodos enquanto os aldeídos aumentavam a uma taxa significativa os peróxidos não aumentavam significativamente, demonstrando a consequência da degradação dos peróxidos e a posterior formação de aldeídos no período subsequente.

O óleo bruto de arroz teve variações não significativas do índice de acidez até o 9º mês de armazenamento e foi detectado um aumento de 18% entre o 9º e o 12º mês.

As Fig. 19 e 20 contêm a comparação dos ácidos graxos saturados monoinsaturados, polinsaturados, tocoferóis individuais e totais, índice de peróxido,

índice de p-anisidina (aldeídos) e índice de acidez do óleo refinado de arroz durante 12 meses de armazenamento com condições psicrométricas do ambiente de 25°C com UR a 55%. Alguns dos intervalos de confiança dos resultados apresentados nessas figuras não são visíveis, devido ao seu valor reduzido em relação a escala adotada para o eixo vertical.

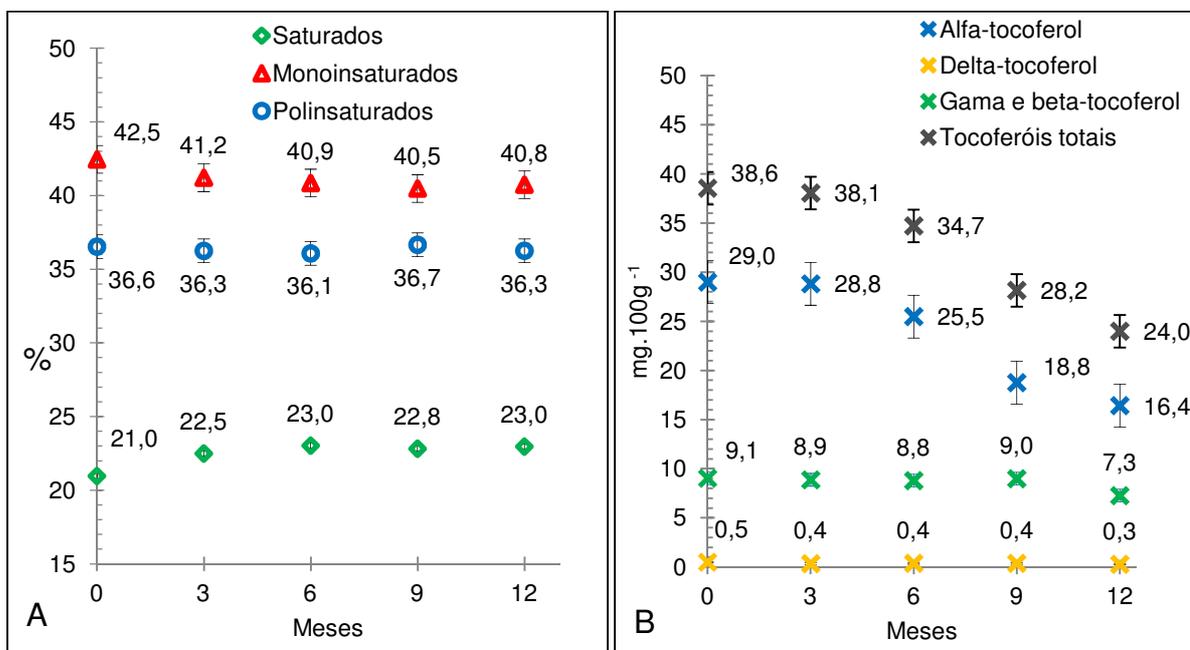


Figura 19. Teores* de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo refinado de arroz armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

O conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados do óleo refinado de arroz diminuiu até o 3º mês de armazenamento, podendo este ser o resultado da oxidação primária acentuada e da redução dos tocoferóis (não significativa) que ocorreu durante este período. Proporcionalmente o conteúdo de saturados teve um aumento significativo até o 6º mês de armazenamento, com uma intensidade maior nos três primeiros meses. Nos polinsaturados não foram observadas variações significativas do seu conteúdo durante o armazenamento (Fig. 19A).

A distribuição inicial dos tocoferóis totais detectada no óleo refinado de arroz foi de 3/4 de alfa-tocoferol, e 1/4 de gama e beta-tocoferol (24%) e delta-tocoferol (1%). Nos tocoferóis totais foi detectada uma diminuição de 38% do seu conteúdo durante todo o armazenamento, e foi verificada uma taxa variável entre os períodos de armazenamento, os tocoferóis totais diminuiram um valor não significativo do início

do armazenamento até o 3º mês, 10% do 3º ao 6º mês, 23% do 6º ao 9º mês e 18% do 9º ao 12º mês (Fig. 19B).

No alfa-tocoferol foi detectada uma perda de 43% do seu conteúdo durante o armazenamento. Até o 9º mês verificou-se um aumento na intensidade das perdas, a partir deste período as perdas dos demais tocoferóis diminuiu de intensidade (Fig. 15B). O gama e beta-tocoferol tiveram variações ao longo dos 12 meses de armazenamento, mas somente entre o 9º e o 12º mês a perda foi significativa, diminuíram 19% do seu conteúdo de um total de 20% de perdas durante o armazenamento (Fig. 19B).

No delta-tocoferol foram detectadas as maiores perdas, 45% do seu conteúdo durante o armazenamento, nos três primeiros meses foi de 20% e entre o 9º ao 12º mês foi de 25%, entre o 3º e o 9º mês permaneceu estável, mas vale lembrar que o delta-tocoferol é apenas 1% da composição total dos tocoferóis (Fig. 19B).

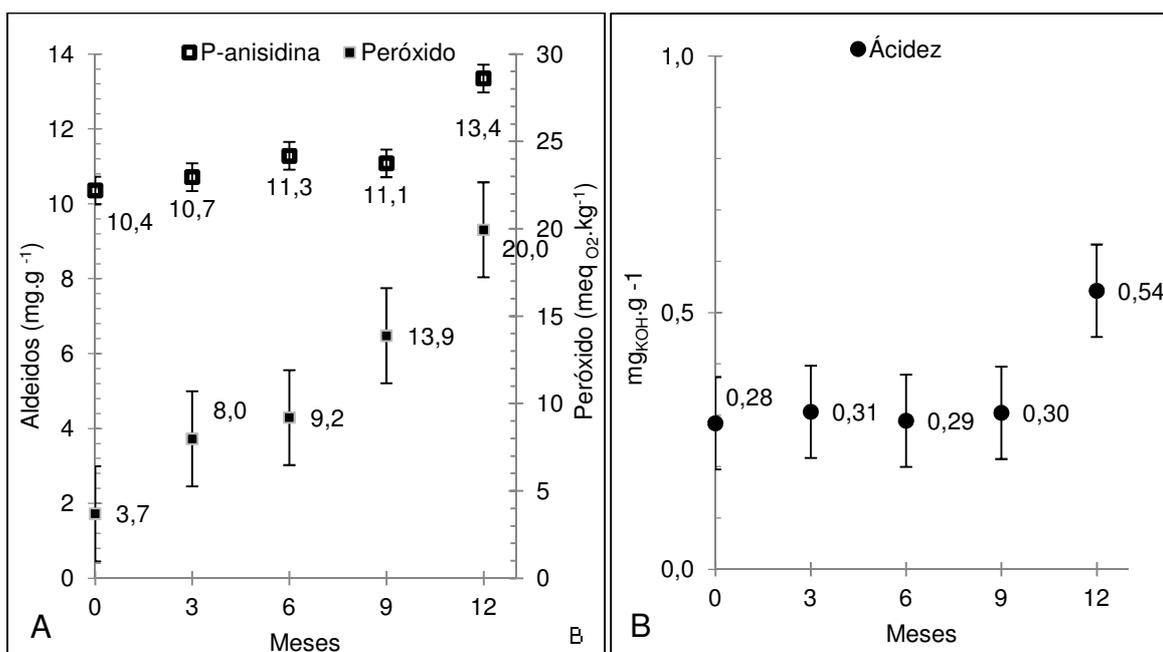


Figura 20. Peróxidos*, aldeídos* (A) e acidez* (B) do óleo refinado de arroz armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

No óleo refinado de arroz foi detectado o aumento de 441% do índice de peróxidos durante todo o armazenamento; aumentando 116% o seu valor inicial até o 3º mês, não significativo do 3º ao 6º mês, 51% do 6º ao 9º mês e 44% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 20A).

A formação intensa e os valores elevados durante o armazenamento do índice peróxidos no óleo refinado podem ser atribuídos a oxidação dos ácidos graxos monoinsaturados que ocorreram com maior intensidade nos três primeiros meses do armazenamento (Fig. 20A). Concomitantemente ocorreu pouca redução dos tocoferóis e baixa formação de aldeídos para este mesmo período. No primeiro trimestre foi detectado o maior aumento de peróxidos durante todo o armazenamento. O valor acumulado até o 9º mês ultrapassou o limite ($10\text{meq}_{\text{O}_2}.\text{kg}^{-1}$) permitido pela ANVISA para consumo humano.

Foi observado no índice de p-anisidina do óleo refinado um aumento de 29% durante todo o armazenamento, mas com uma taxa variável não significativa até o 9º mês de armazenamento; e houve um aumento de 21% do 9º ao 12º mês (Fig. 16A).

O índice de acidez do óleo refinado de arroz teve variações não significativas até o 9º mês de armazenamento e foi detectado um aumento de 80% entre o 9º e o 12º mês (Fig. 16B). O valor acumulado até o 12º mês ultrapassou o limite ($0,5\text{mg}.\text{g}^{-1}$) permitido pela ANVISA para consumo humano.

As Fig. 21 e 22 contêm a comparação dos ácidos graxos saturados monoinsaturados, polinsaturados, tocoferóis individuais e totais, índice de peróxido, índice de p-anisidina (aldeídos) e índice de acidez do óleo bruto de canola durante 12 meses de armazenamento com condições psicrométricas do ambiente de 25°C com UR a 55%. Alguns dos intervalos de confiança dos resultados apresentados nessas figuras não são visíveis, devido ao seu valor reduzido em relação a escala adotada para o eixo vertical.

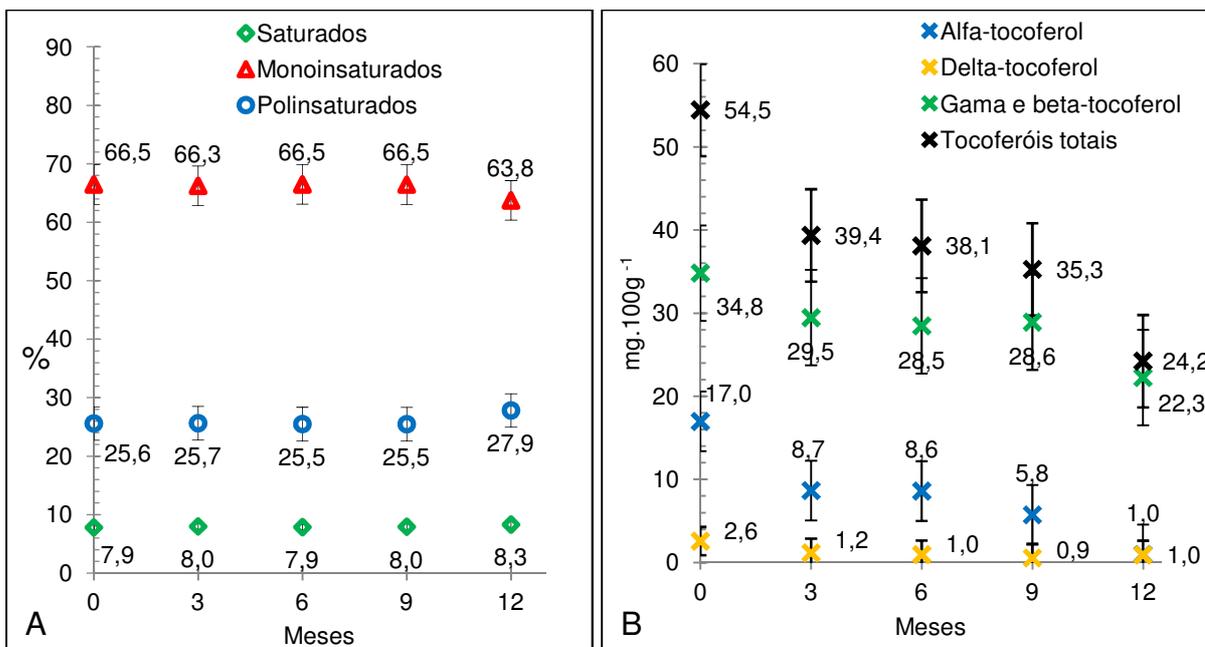


Figura 21. Teores* de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo bruto de canola armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

No óleo bruto de canola foi detectada uma pequena alteração no perfil dos ácidos graxos insaturados do 9º ao 12º mês de armazenamento, mas nenhuma das alterações foram significativas durante os 12 meses do armazenamento (Fig. 21A).

A composição dos tocoferóis totais detectada no óleo bruto foi de 31% de alfa-tocoferol, 64% de gama e beta-tocoferol e 5% de delta-tocoferol. Os tocoferóis totais diminuíram 56% do seu conteúdo a uma taxa variável durante todo o armazenamento, diminuindo 28% do início do armazenamento até o 3º mês, 31% do 9º ao 12º mês e não houve variação significativa do 3º ao 9º mês de armazenamento (Fig. 21B).

O alfa-tocoferol do óleo bruto de canola teve o seu conteúdo quase totalmente reduzido (diminuiu 94%) durante os 12 meses de armazenamento, tendo perdas significativas no primeiro e no último trimestre do armazenamento e nos demais períodos as perdas detectadas não foram significativas. O gama e beta-tocoferol diminuíram 36% durante todo o armazenamento com perdas significativas somente no primeiro e no último trimestre. O delta-tocoferol diminuiu 62% durante os 12 meses com perdas significativas apenas no primeiro trimestre (Fig. 21B).

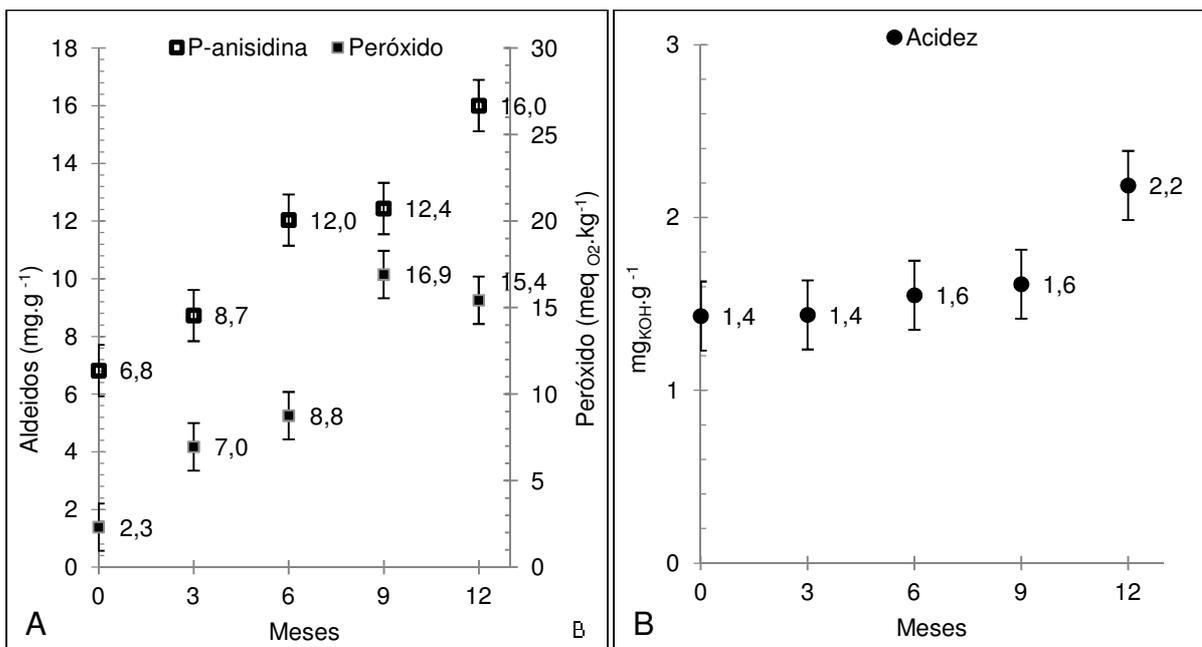


Figura 22. Peróxidos*, aldeídos* (A) e acidez* (B) do óleo bruto de canola armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

O índice de peróxidos do óleo bruto de canola foi detectado um aumento de 570% do seu valor inicial a uma taxa variável durante todo o armazenamento, aumentando 204% até o 3º mês, 26% do 3º ao 6º mês, 92% do 6º ao 9º mês e uma diminuição de 9% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 22A). O valor acumulado até o 9º mês do armazenamento ultrapassou o limite (10 meq_{O₂}.kg⁻¹) permitido pela ANVISA para consumo humano.

A diminuição dos peróxidos no último trimestre do armazenamento pode ser resultado da inibição da sua formação pelos tocoferóis que diminuíram significativamente no mesmo período, e somada a isto ocorreu a formação significativa de aldeídos no mesmo trimestre. No primeiro trimestre do armazenamento os percentuais de perdas dos tocoferóis e formação de aldeídos foram próximos aos do último trimestre, entretanto o aumento elevado dos peróxidos observado no primeiro trimestre não se repetiu, sugerindo que no início do armazenamento a propagação dos peróxidos é maior que a inibição e a degradação dos mesmos, e no final do armazenamento (após 9 meses) ocorre o oposto.

O índice de p-anisidina do óleo bruto de canola teve um aumento de 135% do seu valor inicial durante todo o armazenamento, aumentando 28% até o 3º mês, 38% do 3º ao 6º mês, não se alterou do 6º ao 9º mês e de 29% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 22A).

O índice de acidez do óleo bruto de canola aumentou 57% durante os 12 meses de armazenamento, mas com incrementos não significativos até o 9º mês de armazenamento, aumentando 38% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 22B). Que pode explicar a variação do perfil dos ácidos graxos no ultimo trimestre.

As Fig. 23 e 24 contêm a comparação dos ácidos graxos saturados monoinsaturados, polinsaturados, tocoferóis individuais e totais, índice de peróxido, índice de p-anisidina (aldeídos) e índice de acidez do óleo refinado de canola durante 12 meses de armazenamento com condições psicrométricas do ambiente de 25°C com UR a 55%. Alguns dos intervalos de confiança dos resultados apresentados nessas figuras não são visíveis, devido ao seu valor reduzido em relação a escala adotada para o eixo vertical.

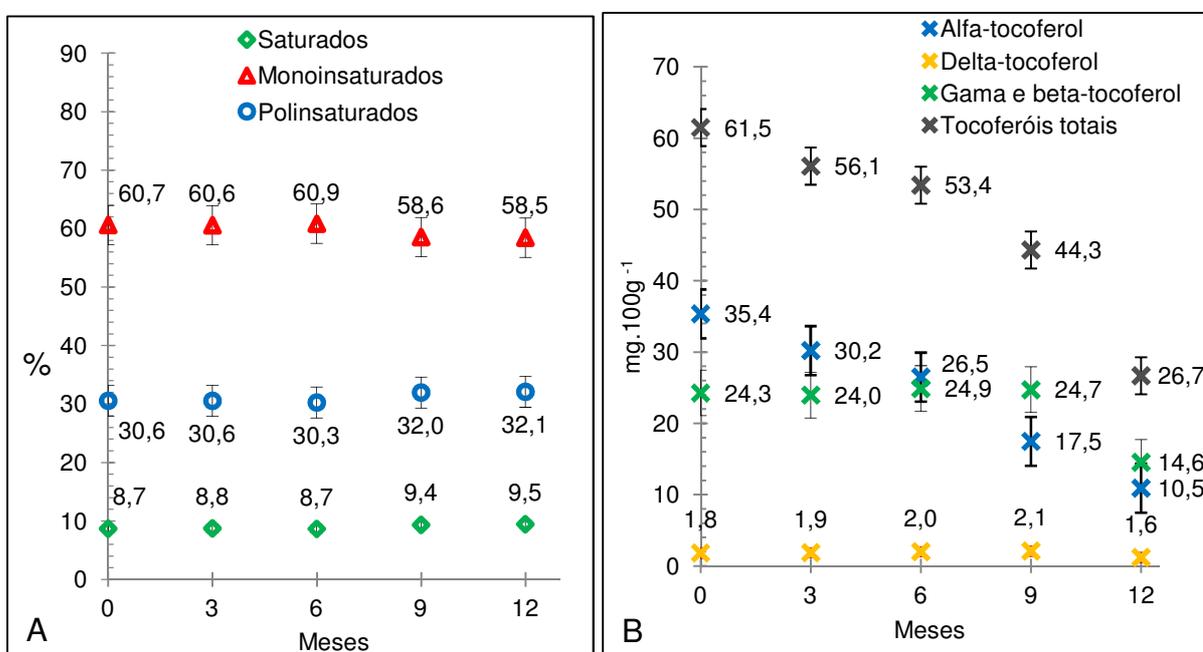


Figura 23. Teores* de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo refinado de canola armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

No óleo refinado de canola foi detectada uma pequena alteração no perfil dos ácidos graxos monoinsaturados, correspondente a alteração dos demais a partir do 6º mês do armazenamento, entretanto, nenhuma das alterações foram significativas durante os 12 meses de armazenamento, (Fig. 23A).

A composição dos tocoferóis totais detectada no óleo refinado foi de 56% de alfa-tocoferol, 40% de gama e beta-tocoferol e 4% de delta-tocoferol. Nos tocoferóis totais foi detectada uma diminuição de 57% do seu conteúdo durante todo o

armazenamento, e foi verificada uma taxa variável entre os períodos de armazenamento, diminuindo 9% do início do armazenamento até o 3º mês, não significativo do 3º ao 6º mês, 17% do 6º ao 9º mês e 40% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 23B).

No alfa-tocoferol do óleo refinado de canola foi observada uma perda decrescente de 69% durante os 12 meses de armazenamento, ocorrendo perdas significativas ao longo de todo o armazenamento. O gama e beta-tocoferol não tiveram variações significativas até o 9º mês, diminuindo 41% no ultimo trimestre do armazenamento. No delta-tocoferol não foi detectado variações significativas ao longo do armazenamento (Fig. 23B).

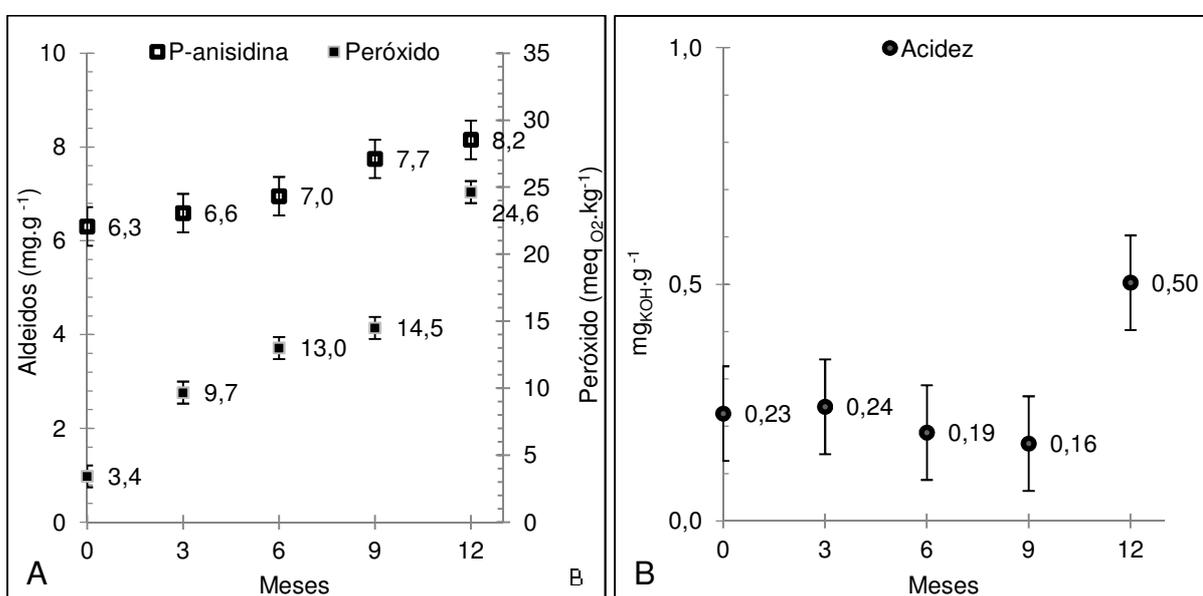


Figura 24. Peróxidos*, aldeídos* (A) e acidez* (B) do óleo refinado de canola armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

No índice de peróxidos do óleo refinado de canola foi detectado um aumento de 624% do seu valor inicial a uma taxa variável durante todo o armazenamento, aumentando 185% até o 3º mês, 34% do 3º ao 6º mês, 12% do 6º ao 9º mês e 70% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 24A). O valor acumulado até o 6º mês do armazenamento ultrapassou o limite ($10 \text{ meq}_{\text{O}_2} \cdot \text{kg}^{-1}$) permitido pela ANVISA para consumo humano.

No óleo refinado de canola foi observado um aumento crescente (30%) do índice de p-anisidina durante todo o armazenamento, aumentando 10% do 6º ao 9º

mês e não foram encontrados incrementos significativos para os demais períodos de armazenamento (Fig. 24A).

O índice de acidez do óleo refinado de canola teve um aumento de 213% entre o 9º e o 12º mês do armazenamento e para os demais períodos não foi detectado variações significativas (Fig. 24B). O valor acumulado até o 12º mês chegou ao limite ($0,5 \text{ mg.g}^{-1}$) permitido pela ANVISA para consumo humano.

As Fig. 25 e 26 contêm a comparação dos ácidos graxos saturados monoinsaturados, polinsaturados, tocoferóis individuais e totais, índice de peróxido, índice de p-anisidina (aldeídos) e índice de acidez do óleo bruto de girassol durante 12 meses de armazenamento com condições psicrométricas do ambiente de 25°C com UR a 55%. Alguns dos intervalos de confiança dos resultados apresentados nessas figuras não são visíveis, devido ao seu valor reduzido em relação a escala adotada para o eixo vertical.

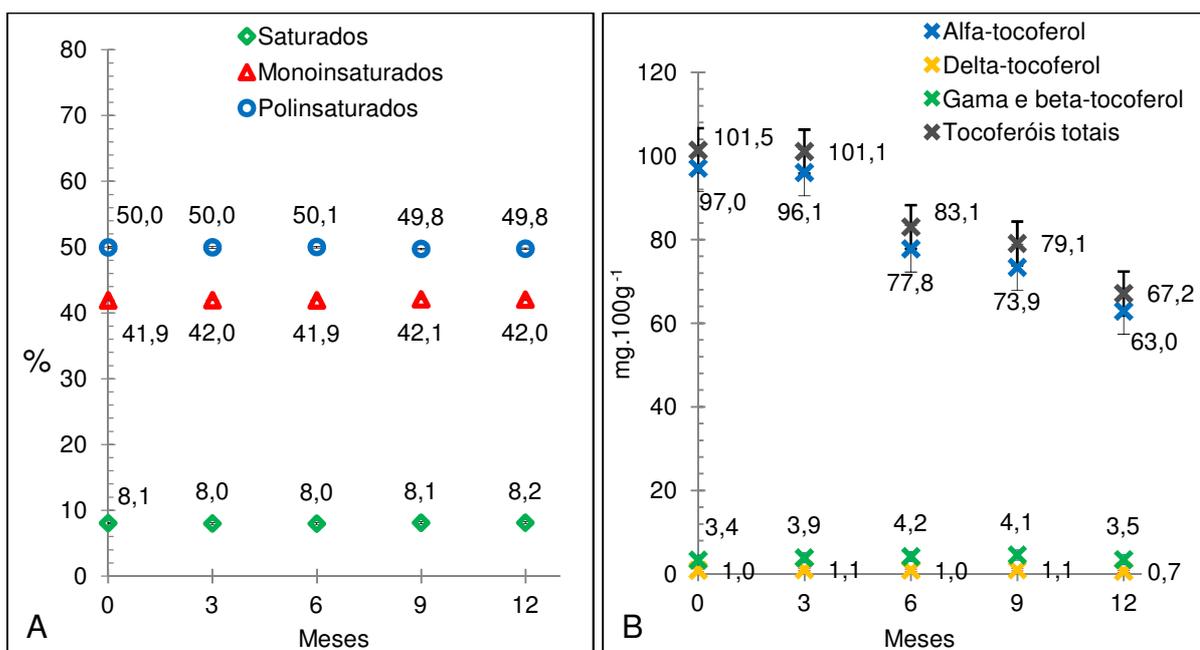


Figura 25. Teores* de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo bruto de girassol armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

No óleo bruto de girassol não foi observado variações significativas no perfil dos ácidos graxos ao longo dos 12 meses de armazenamento (Fig. 25A).

A composição dos tocoferóis totais detectada no óleo bruto de girassol foi de 96% de alfa-tocoferol, 3% de gama e beta-tocoferol e 1% de delta-tocoferol. Nos tocoferóis totais foi detectada uma diminuição de 34% do seu conteúdo durante o

armazenamento, e as perdas detectadas não foram significativas do início do armazenamento até o 3º mês, 18% do 3º ao 6º mês, não significativa do 6º ao 9º mês e 15% do 9º ao 12º mês do armazenamento (Fig. 25B).

No alfa-tocoferol foi detectada uma perda de 35% do seu conteúdo ao longo do armazenamento, foram verificadas algumas perdas significativas no segundo e no quarto trimestre e para os demais períodos do armazenamento as variações não foram significativas, similar ao comportamento dos tocoferóis totais. No gama e beta-tocoferol não foram detectadas variações significativas durante os 12 meses de armazenamento. O delta-tocoferol teve perdas significativas apenas no último trimestre (36%) do armazenamento (Fig. 25B).

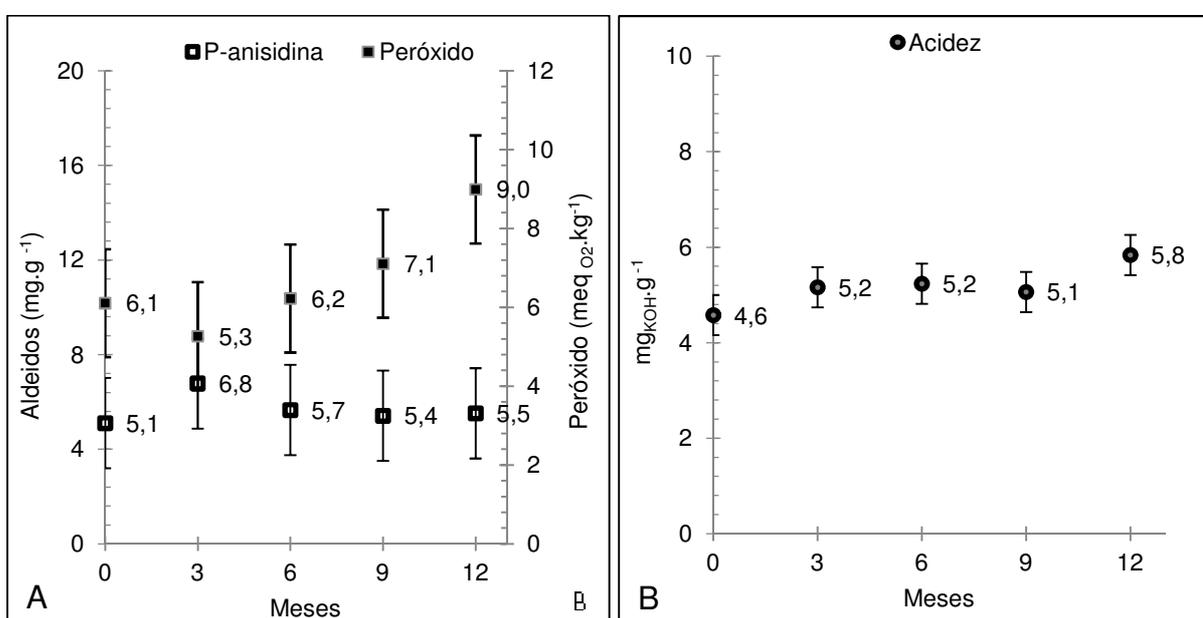


Figura 26. Peróxidos*, aldeídos* (A) e acidez* (B) do óleo bruto de girassol armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

Foi observado no índice de peróxidos do óleo bruto de girassol um aumento de 48% durante todo o armazenamento, e o único incremento significativo foi do 9º ao 12º mês (27%) e até o 9º mês do armazenamento não foram encontradas variações significativa (Figura 26A).

No óleo bruto de girassol não foi detectada nenhuma variação significativa do índice de p-anisidina durante os 12 meses de armazenamento (Fig. 20A). A estabilidade dos aldeídos observada na Figura 26A pode ser resultado da baixa formação dos peróxidos durante os três primeiros trimestres do armazenamento, com

aumento significativo apenas no ultimo trimestre, não possibilitando uma formação significativa dos aldeídos durante o armazenamento.

O índice de acidez do óleo bruto de girassol teve um aumento de 26% ao longo do armazenamento, aumentando 13% até o 3º mês, não foi significativo do 3º ao 9º mês e 13% entre o 9º e o 12º mês do armazenamento (Fig. 26B).

As Fig. 27 e 28 contêm a comparação dos ácidos graxos saturados monoinsaturados, polinsaturados, tocoferóis individuais e totais, índice de peróxido, índice de p-anisidina (aldeídos) e índice de acidez do óleo refinado de girassol durante 12 meses de armazenamento com condições psicrométricas do ambiente de 25°C com UR a 55%. Alguns dos intervalos de confiança dos resultados apresentados nessas figuras não são visíveis, devido ao seu valor reduzido em relação a escala adotada para o eixo vertical.

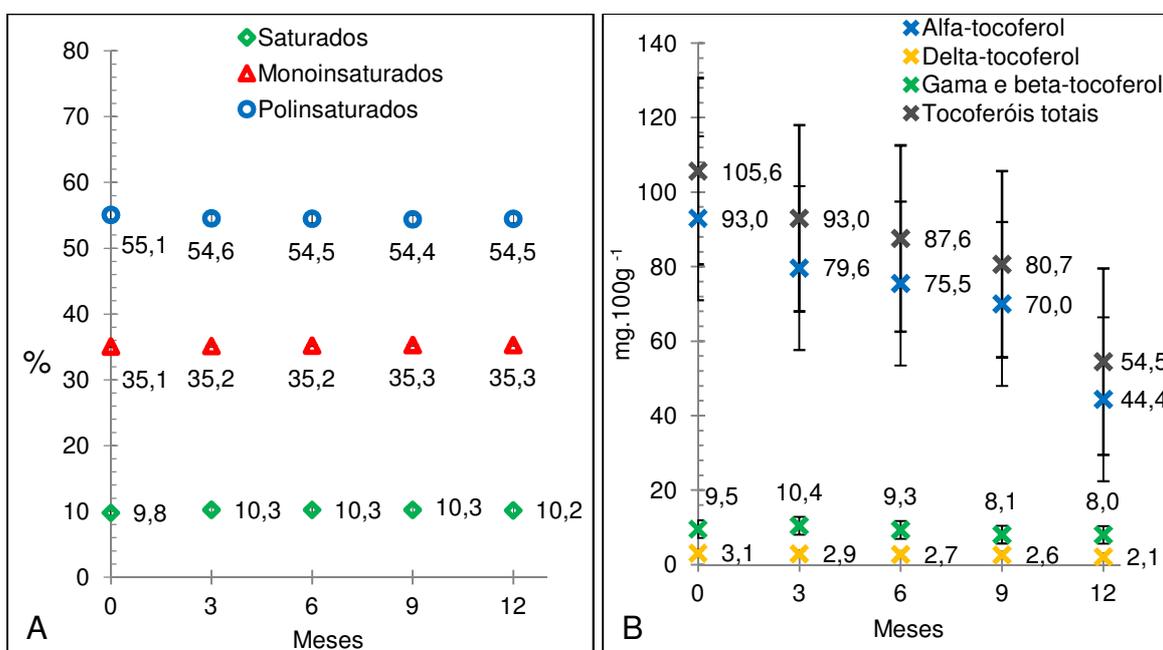


Figura 27. Teores* de ácidos graxos (A) e tocoferóis (B) do óleo refinado de girassol armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

No óleo refinado de girassol não foi observada variações significativas no perfil dos ácidos graxos ao longo dos 12 meses de armazenamento (Fig. 27A).

A composição dos tocoferóis totais detectada no óleo refinado de girassol foi de 88% de alfa-tocoferol, 9% de gama e beta-tocoferol e 3% de delta-tocoferol. Nos tocoferóis totais foi detectada uma diminuição de 48% do seu conteúdo durante todo

o armazenamento sendo apenas significativa no 12^o mês, e para os períodos anteriores não foram observadas perdas significativas (Fig. 27B).

No alfa-tocoferol foi detectada uma perda de 52% do seu conteúdo durante todo o armazenamento, ao decorrer do armazenamento foram verificadas perdas significativas somente no ultimo trimestre, e para os demais períodos do armazenamento as variações não foram significativas, similar ao comportamento dos tocoferóis totais. No gama e beta-tocoferol não foram detectadas variações significativas durante os 12 meses de armazenamento. O delta-tocoferol diminuiu 32% ao longo de todo o armazenamento, e teve perdas significativas apenas no ultimo trimestre do armazenamento (Fig. 27B).

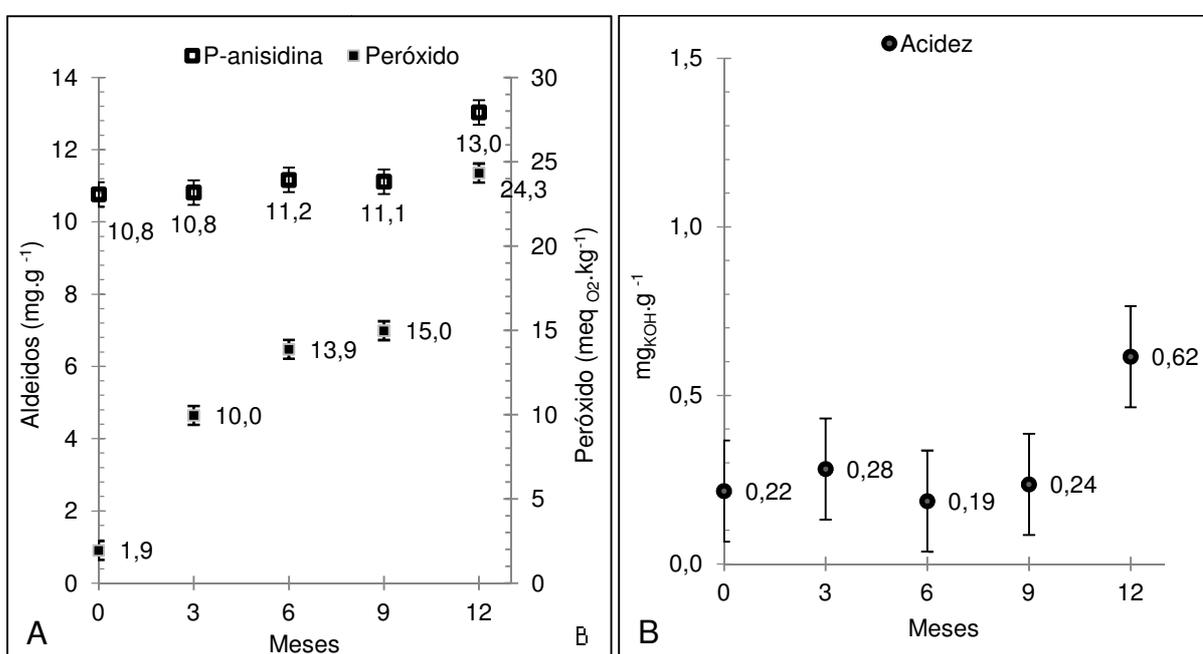


Figura 28. Peróxidos*, aldeídos* (A) e acidez* (B) do óleo refinado de girassol armazenado durante 12 meses a 25°C com UR a 55%.

*Médias aritméticas simples, de três repetições, fora do intervalo de confiança, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

No índice de peróxido do óleo refinado de girassol foi detectado um aumento de 1280% o seu valor durante todo o armazenamento, aumentando 426% até o 3^o mês, 39% do 3^o ao 6^o mês, 8% do 6^o ao 9^o mês e 62% do 9^o ao 12^o mês de armazenamento (Fig. 28A). O valor acumulado até o 3^o mês de armazenamento alcançou o limite ($10 \text{ meq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$) permitido pela ANVISA para consumo humano.

No óleo refinado girassol foi observado um aumento de 20% do índice de p-anisidina durante todo o armazenamento, mas não foram detectadas variações significativas até o 9^o mês e houve um aumento de 17% do 9^o ao 12^o mês de

armazenamento (Fig. 28A), apesar da grande formação de peróxidos durante todo o armazenamento.

No índice de acidez do óleo refinado de girassol foi detectado um aumento de 182% durante os 12 meses do armazenamento, mas não foram detectadas variações significativas até o 9º mês e houve um aumento de 158% do 9º ao 12º mês de armazenamento (Fig. 28B). O valor acumulado até o 12º mês ultrapassou o limite ($0,5 \text{ mg.g}^{-1}$) permitido pela ANVISA para consumo humano.

Entre os óleos brutos armazenados, a maior estabilidade da fração lipídica foi encontrada no óleo bruto de girassol. Os óleos refinados de canola e girassol tiveram comportamentos semelhantes ao longo do armazenamento, onde nenhum dos dois se sobressaiu ao outro nos quesitos que determinaram a estabilidade da fração lipídica de ambos. Sendo o óleo bruto de girassol o mais indicado para armazenar por um período de 12 meses nas condições psicrométricas de 25°C a UR 55% (razão de mistura de 10,89 g de água por quilogramas de ar e volume específico do ar de $0,86\text{m}^3.\text{Kg}^{-1}$).

No óleo bruto e no óleo refinado de arroz foi verificada a menor estabilidade da fração lipídica entre os óleos armazenados, este comportamento pode ser justificado devido ambos serem oriundos do farelo do grão de arroz, cuja obtenção passa pela operação de polimento do grão de arroz, onde o envoltório da cariopse, a capa de aleurona e o gérmen são removidos na forma de farelo (HOSENEY, 2010; LAKKAKULA et al, 2004), e este processo pode degradar o óleo antes de sua extração.

O farelo “in natura” é pouco estável, especialmente devido à ação enzimática que leva a decomposição dos triacilgliceróis, com conseqüente geração de ácidos graxos livres (CARVALHO; VIEIRA, 1999; RODRIGUES et al., 2006).

4.3. Comparativo entre os Estudos 1 e 2

4.3.1. Grãos e óleos de arroz

O perfil de ácidos graxos dos lipídeos armazenados durante 12 meses se manteve inalterado no óleo bruto de arroz (Fig. 17A) e foi verificada uma redução dos ácidos graxos monoinsaturados do óleo refinado (Fig. 19A). Este resultado pode ter ocorrido devido que no óleo refinado foi encontrado o maior percentual de ácidos graxos monoinsaturados e estes foram mais degradados que os saturados e polinsaturados. E o grão de arroz esta mais sujeito a ação de enzimas (lípase, peroxidase) que acarretam na degradação dos ácidos graxos, considerando que os

óleos refinados não contêm enzimas e no óleo bruto podem estar inativadas devido ao aumento da temperatura no processo de prensagem.

Comparativamente a maior perda de tocoferóis totais foi detectada no óleo do grão de arroz (54%) e a menor no óleo bruto (32%) ao longo dos 12 meses de armazenamento. Entretanto o valor de tocoferol totais encontrado após 12 meses de armazenamento para o grão e o óleo extra-virgem de arroz foi idêntico ($17,2\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$).

Dentre os tocoferóis o alfa-tocoferol se manteve alinhado com as perdas dos tocoferóis totais, e também foi encontrado inicialmente em maior quantidade no grão e no óleo refinado de arroz e o menor no óleo bruto (Fig. 17B). Isto salienta que o processo de extração física do óleo bruto (prensagem ou extrusão) pode acarretar na diminuição dos antioxidantes, o óleo ao ser extraído por este método é exposto a pró-oxidantes (clorofila), calor e uma concentração de oxigênio maior que a encontrada no interior dos grãos.

Já o óleo refinado manteve os tocoferóis próximos aos valores encontrados no grão de arroz, este resultado também foi encontrado por outro autor, Pestana (2007) verificou que as etapas de refino não geram perdas expressivas de tocoferóis no óleo de arroz. Entretanto, o mesmo autor verificou que o processo de refino foi responsável pela perda de 98% do conteúdo de gama-orzanol presente no óleo bruto, sendo a etapa de neutralização a responsável pela maior perda (96%). Devido a este relato não foi mensurado este antioxidante por seu conteúdo estar reduzido drasticamente no óleo refinado.

As perdas dos tocoferóis individuais nos grãos e nos óleos de arroz estão próximas aos percentuais descritos para a atividade biológica como vitamina E, relatados por Moraes (2003), onde cita que o gama-tocoferol apresenta somente 50% da atividade do alfa-tocoferol. O beta e o delta-tocoferol possuem respectivamente 40% e 10% de atividade do alfa-tocoferol.

A degradação dos peróxidos e a formação dos aldeídos que ocorreram durante o armazenamento do óleo refinado de arroz (Fig. 20A) ficou bem abaixo dos mesmos índices para o óleo dos grãos e o óleo bruto de arroz. Considerando que se trata de um óleo refinado, possivelmente as etapas de desodorização e clarificação do refino de óleos vegetais contribuíram para que o valor inicial dos aldeídos detectados sejam inferiores.

O maior incremento na acidez foi detectado no óleo do grão de arroz (81%). O óleo bruto e o refinado mantiveram-se estáveis até o 9º mês e sofreram incrementos de 18 e 80% no último trimestre do armazenamento respectivamente. Cabe salientar que a quantidade de água presente nos grãos (12% de umidade) afeta mais o índice

de acidez do seu óleo, que no armazenamento de óleos vegetais extraídos (com umidade abaixo de 1%), promovendo uma maior hidrólise dos triglicerídeos.

O óleo refinado foi o único em que a acidez detectada permaneceu abaixo de 3 mg.g⁻¹, que segundo Ferrari (2005) é o limite máximo recomendado para uma transesterificação sem perdas significativas. Este valor reduzido de acidez também se deve a neutralização no refino do óleo, entretanto, ultrapassou o limite (0,5mg.g⁻¹) permitido pela ANVISA para consumo humano.

A fração lipídica do óleo bruto de arroz teve a menor degradação durante o armazenamento, foi verificado que a estabilidade dos seus ácidos graxos teve a menor redução relativa do conteúdo de tocoferóis e a segunda menor taxa de oxidação primária (peróxidos) e secundária (aldeídos) durante os 12 meses monitorados.

Para os óleos armazenados em grãos de arroz, e os oriundos do processo de prensagem e refino, o óleo bruto de arroz manteve maior estabilidade a oxidação, sendo o mais indicado para armazenar por um período de 12 meses.

4.3.2. Grãos e óleos de canola

O perfil dos ácidos graxos dos óleos bruto, refinado e dos grãos de canola não foi observada nenhuma alteração significativa durante todo o armazenamento, assim para este aspecto não pode se afirmar qual o tratamento tem o melhor resultado.

Comparativamente a maior perda de tocoferóis totais foi detectada nos óleos refinado (57%) e extra-virgem (56%) de canola, aonde ambos chegaram ao fim do armazenamento com o conteúdo de tocoferóis totais muito próximos, 26,7 e 24,2mg.g⁻¹ (Fig. 19B e 21B), respectivamente. E a menor perda foi detectada no grão (32%) de canola, e o conteúdo de tocoferóis totais de 62,1mg.g⁻¹ (Fig. 13B) que foi encontrado ao final dos 12 meses de armazenamento é maior que os conteúdos iniciais dos óleos refinado e extra-virgem (61,5 e 54,5mg.g⁻¹, respectivamente).

Dentre os tocoferóis o alfa-tocoferol se manteve alinhado com as perdas dos tocoferóis totais no grão e nos óleos de canola, e também foi encontrado inicialmente em maior quantidade no grão de canola (76,0mg.g⁻¹) e o menor no óleo extra-virgem (17,0mg.g⁻¹). Isto salienta que o processo de extração física do óleo extra-virgem (prensagem) pode acarretar na diminuição dos antioxidantes, o óleo ao ser extraído por este método é exposto a pró-oxidantes (clorofila), calor e uma concentração de oxigênio maior que a encontrada no interior dos grãos, e como este processo tem um rendimento de extração menor, alguns componentes como os tocoferóis podem ficar retidos na torta em maior concentração. Este valor reduzido de alfa-tocoferol pode

explicar a redução extrema (94%) do seu conteúdo (Fig. 21B), devido a sua alta atividade biológica como antioxidante em relação aos demais tocoferóis, também relatada por Moraes (2003).

As perdas do gama e beta-tocoferol nos grãos e nos óleos de canola ocorreram somente após grandes perdas de alfa-tocoferol, estas perdas ocorreram geralmente no ultimo trimestre do armazenamento, mas o óleo dos grãos também apresentou perdas no primeiro trimestre do armazenamento, neste foi encontrado o maior conteúdo de gama e beta-tocoferol ($34,8\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) e as maiores perdas entre os óleos de canola, 94% do seu conteúdo (Fig. 21B).

No delta-tocoferol não foi detectado variações significativas ao longo do armazenamento no conteúdo dos grãos e do óleo refinado, mas para o óleo bruto ocorreram perdas de 62% do seu conteúdo, mas somente no primeiro trimestre do armazenamento, influenciadas pelas perdas dos demais tocoferóis e a elevada oxidação ocorrida neste mesmo período (Fig. 21B).

A menor taxa detectada de formação de peróxido se deu no grão de canola (156%), seguido do óleo bruto (570%) e do óleo refinado (624%). Foi detectado o maior aumento do índice de p-anisidina (aldeídos) no óleo bruto de canola, seguido dos grãos (70%) e do óleo refinado (30%), apesar dos grãos conter o menor valor ($7,0\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) ao final dos 12 meses de armazenamento entre os óleos de canola.

O maior incremento na acidez foi detectada no óleo refinado de canola (213%), seguido dos grãos (70%) e do óleo bruto (57%), o óleo bruto e o refinado mantiveram-se estáveis até o 9º mês de armazenamento. O óleo dos grãos foi o único em que a acidez detectada superou os $3,0\text{mg}\cdot \text{g}^{-1}$ durante o armazenamento, que segundo Ferrari (2005) é o limite máximo recomendado para uma transesterificação sem perdas significativas, mas este valor foi alcançado apenas no ultimo trimestre e tendo ao inicio do armazenamento o valor de $1,9\text{mg}_{\text{KOH}}\cdot \text{g}^{-1}$.

Cabe salientar que a quantidade de água presente nos grãos de canola (8% de umidade) afeta mais o índice de acidez do seu óleo, que no armazenamento de óleos vegetais extraídos (com umidade abaixo de 1%), promovendo uma maior hidrólise dos triglicerídeos.

A fração lipídica do óleo dos grãos de canola teve a menor degradação durante o armazenamento, foi verificada a estabilidade do perfil dos ácidos graxos durante os 12 meses monitorados, teve a menor redução relativa do conteúdo de tocoferóis, a menor taxa de oxidação primária (peróxidos), a segunda menor taxa de oxidação secundária (aldeídos) e acidez do óleo.

O óleo dos grãos de canola manteve maior estabilidade a oxidação, em relação aos demais óleos de canola, sendo o mais indicado para ser armazenado por um período de 12 meses nas condições psicométricas de 25°C a UR 55% (razão de mistura de 10,89 g de água por quilogramas de ar, com volume específico do ar de 0,86m³.Kg⁻¹).

4.3.3. Grãos e óleos de girassol

O perfil dos ácidos graxos dos óleos bruto, refinado e dos grãos de girassol não foi observada nenhuma alteração significativa durante todo o armazenamento, assim para este aspecto não pode se afirmar qual o tratamento tem o melhor resultado.

Comparativamente as maiores perdas de tocoferóis totais foi detectada nos óleos refinado (48%) e bruto (34%) de girassol, a menor perda ocorreu nos grãos de girassol (26%), neste também foi detectado o maior conteúdo de tocoferóis totais 140,7mg.100g⁻¹ (Fig. 15B).

Dentre os tocoferóis o alfa-tocoferol se manteve alinhado com as perdas dos tocoferóis totais no grão e nos óleos de girassol, e também foi encontrado inicialmente em maior quantidade no grão de girassol (130,3mg.g⁻¹), o conteúdo de 97,8mg.g⁻¹ de alfa-tocoferol encontrado no grão ao final dos 12 meses de armazenamento é maior que os conteúdos iniciais dos óleos bruto e refinado (97,0 e 93,0mg.g⁻¹, respectivamente).

Isto salienta que o processo de extração física e o refino do óleo de girassol podem acarretar na diminuição dos antioxidantes, principalmente o alfa-tocoferol, o qual tem maior atividade biológica como antioxidante em relação aos demais tocoferóis (MORAES, 2003).

As perdas do gama e beta-tocoferol ocorreram apenas nos grãos de girassol, para os demais óleos de girassol não ocorreram perdas significativas durante o armazenamento. No delta-tocoferol não foi detectado variações significativas ao longo do armazenamento no conteúdo dos grãos, mas para os óleos bruto e refinado ocorreram perdas de 36% e 32% do seu conteúdo, respectivamente.

A menor taxa detectada de formação de peróxido se deu no óleo bruto de girassol (48%), seguido do óleo extra-virgem (720%) e do óleo refinado (1024%). Foi detectado o maior aumento do índice de p-anisidina (aldeídos) no grão de girassol (141%), apesar dos grãos conter o menor valor (4,1mg.100g⁻¹) ao final dos 12 meses de armazenamento entre os óleos de girassol, seguido do óleo refinado (20%), e no

óleo extra-virgem não foi observado nenhuma alteração significativa durante todo o armazenamento.

O maior incremento na acidez foi detectado no óleo dos grãos de girassol (367%), seguido do óleo refinado (182%) e do óleo bruto (26%), os grãos e o óleo refinado mantiveram-se estáveis até o 9º mês de armazenamento. O índice acidez dos grãos e do óleo bruto superaram os $3,0\text{mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$ durante o armazenamento, que segundo Ferrari (2005) é o limite máximo recomendado para uma transesterificação sem perdas significativas.

A fração lipídica do óleo bruto de girassol teve a menor degradação durante o armazenamento, teve a segunda menor redução relativa do conteúdo de tocoferóis, a menor taxa de oxidação primária (peróxidos), a menor taxa de oxidação secundária (aldeídos) e foi verificada a estabilidade dos seus ácidos graxos durante os 12 meses monitorados.

O óleo bruto de girassol manteve maior estabilidade a oxidação, em relação aos demais óleos de girassol, sendo o mais indicado para armazenar por um período de 12 meses nas condições psicométricas de 25°C a UR 55% (razão de mistura de $10,89\text{g}$ de água por quilogramas de ar, com volume específico do ar de $0,86\text{m}^3\cdot\text{Kg}^{-1}$).

4.3.4. Arroz, canola e girassol

O grão e os óleos de arroz não se sobressaíram as demais fontes lipídicas, apesar de possuírem menor conteúdo de ácidos graxos insaturados, mais propensos a oxidação, onde os grãos e os óleos de canola e girassol possuem 3 a 4 vezes mais ácidos graxos insaturados que o grão e os óleos de arroz em média (Tab. 12, 13 e 14). Este resultado indica que não é o conteúdo de ácidos graxos insaturados o principal fator que define a maior ou menor estabilidade lipídica, ou não isoladamente. Também foi verificado nos óleos do grão e no refinado de arroz que os ácidos graxos monoinsaturados são preferencialmente degradados, em maior quantidade que os polinsaturados (Fig. 11A, 19A).

Os tocoferóis influenciaram diretamente na oxidação secundária, este comportamento foi detectado no grão e nos óleos de arroz e no óleo bruto de canola (Fig. 11B, 12A, 17B, 18A, 19B, 20A, 21B e 22A), onde o baixo conteúdo de tocoferóis permitiu que a formação de aldeídos pelos peróxidos chegassem a valores superiores a $10\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (para o grão e óleo extra-virgem de arroz acima de $100\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), mas para os demais grãos e óleos este valor não foi ultrapassado.

O alto valor de tocoferóis totais encontrado nos grãos e nos óleos de girassol ($140,7$ a $101,5\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) permitiu que nestes fossem detectados o menor incremento de

aldeídos entre todos os estudados, principalmente no óleo bruto de girassol cujo aumento não foi significativo ao longo de todo o armazenamento (Fig. 26A), mas teve o seu conteúdo de tocoferóis totais e alfa-tocoferol reduzido em 34,3 e 34,0mg.g⁻¹ do seu conteúdo inicial, respectivamente.

Um comportamento que foi verificado nos resultados dos óleos refinados de arroz, canola e girassol, no óleo bruto de canola e no grão de girassol, foi que quando o valor do índice de peróxido alcançou 24meq_{O₂}.kg⁻¹ (Fig. 24A, 16A e 28A) ocorreu um aumento significativo do índice de acidez na ordem de 128 a 367% (Fig. 24A, 16A e 28A), mas este fenômeno também ocorreu a 20meq_{O₂}.kg⁻¹ com um aumento de 45% (Fig. 20A e 20B) e a 15,4meq_{O₂}.kg⁻¹ com um aumento de 38% (Fig. 22A e 22B). Estes resultados comprovam que a oxidação primária dos óleos é precursora da acidez (hidrólise), como visualizada na Fig. 3, onde ao final da reação de propagação dos peróxidos são formadas moléculas de água, que propiciam a hidrólise dos triacilgliceróis formando ácidos graxos livres (acidez).

4.4. Estudo 3

Efeitos do tempo de armazenamento sobre a estabilidade do biodiesel obtido de óleo bruto e de óleo refinado de arroz, canola e girassol.

A Tab. 15 contém os resultados do teor de ésteres, glicerol livre e total, teor de sódio e potássio, ponto de fusão, cristalização e congelamento dos biodieseis produzidos a partir dos óleos bruto e refinado de arroz, canola e girassol, e analisados antes do armazenamento.

Tabela 15. Teor de ésteres, glicerol livre e total, teor de sódio e potássio, ponto de fusão, cristalização e congelamento dos biodieseis* de arroz, canola e girassol produzidos e analisados antes do armazenamento.

Análises	Biodiesel de Arroz		Biodiesel de Canola		Biodiesel de Girassol	
	Óleo bruto	Óleo refinado	Óleo bruto	Óleo refinado	Óleo bruto	Óleo refinado
Teor de ésteres (%)	95,3 a	96,9 a	100,0 a	99,0 a	100,0 a	100,0 a
Glicerol livre (%)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
Glicerol total (%)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
Monoacilglicerol (%)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
Diacilglicerol (%)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
Triacilglicerol (%)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
Potássio (mg.kg ⁻¹)	0,28 cd	0,23 d	0,87 a	0,32 bc	0,39 b	0,40 b
Sódio (mg.kg ⁻¹)	0,12 a	0,12 a	0,50 a	0,13 a	0,12 a	0,12 a
Potássio+Sódio (mg.kg ⁻¹)	0,40 b	0,36 b	1,37 a	0,45 b	0,51 b	0,53 b
Ponto fusão (°C)	3,17 c	7,16 b	-8,99 f	-8,23 e	8,64 a	-5,12 d
Ponto cristalização (°C)	-3,08 d	-2,07 b	-44,99 f	-21,96 e	11,10 a	-2,88 c
Ponto congelamento (°C)	-3,31 c	-2,43 b	-45,78 f	-24,79 e	4,74 a	-8,86 d

* Médias aritméticas simples, de três repetições, seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$).

Estes resultados permitiram avaliar a eficiência da transesterificação, neutralização e lavagem dos biodieseis, quanto a remoção dos insumos utilizados e do co-produto gerado, os quais devem atender as especificações e os limites determinados pela resolução ANP nº. 14 (ANP, 2012).

O conteúdo de ésteres encontrado para o biodiesel de óleo bruto de arroz (Tab. 15) ficou abaixo do limite inferior de 96,5% determinado pela resolução ANP nº. 14 (ANP, 2012). Para os demais biodieseis os valores encontrados ficaram maiores que o limite determinado pela ANP (Tab. 4). Apesar do resultado do biodiesel de óleo bruto de arroz, os demais resultados indicam que a transesterificação dos óleos vegetais em biodiesel foi satisfatória, com uma eficiência muito alta para os óleos de canola e girassol.

Os teores de glicerol livre e total, monoacilglicerol, diacilglicerol e triacilglicerol (Tab. 15), ficaram bem abaixo dos limites máximos de 0,02; 0,25; 0,8; 0,2 e 0,2%, respectivamente, determinados pela resolução ANP nº. 14, não sendo detectados em quantidades que possam ser quantificadas em partes por milhão (ppm). Os resultados anteriores indicam que a etapa de centrifugação/decantação após transesterificação foi satisfatória, pois nesta etapa é removida a glicerina (co-produto) do biodiesel.

O conteúdo de potássio e sódio encontrado em todos os biodieseis foi menor que o limite máximo de 5 mg.kg⁻¹ (potássio + sódio) determinado pela resolução ANP nº. 14. Estes resultados indicam que a etapa de lavagem, responsável pela remoção

de traços destas substâncias durante o processo de produção do biodiesel foi eficiente.

O ponto de cristalização de ésteres encontrado para o biodiesel de óleo bruto de girassol (Tab. 15) ficou acima do limite superior de 5°C determinado pela resolução ANP nº. 14 (ANP, 2012) para as regiões mais frias, mas para as regiões mais quentes do Brasil o valor encontrado fica abaixo do limite superior de 10°C. Para os demais biodieseis os valores encontrados ficaram abaixo do limite superior determinado pela ANP (Tab. 4). Os valores encontrados para o ponto de fusão foram maiores que os limites determinados pela ANP, entretanto, este determina a passagem do estado sólido para o líquido, ou seja, quando o biodiesel já está congelado, ao contrário do ponto de cristalização e congelamento, onde o primeiro apresenta uma interface líquido/líquido, as moléculas dos ésteres começam a formar cristais e o biodiesel perde fluidez, e o segundo determina a temperatura que os ésteres se encontram totalmente no estado sólido.

A Tab. 16 contém os resultados do conteúdo de ésteres saturados, monoinsaturado, polinsaturados, tocoferóis totais e individuais dos biodieseis produzidos a partir dos óleos bruto e refinado de arroz, canola e girassol, armazenados durante 6 meses em condições psicrométricas de 25°C com umidade relativa a 55%.

Tabela 16. Conteúdo de ésteres saturados, monoinsaturados e polinsaturados, tocoferóis individuais e totais dos biodieseis* de arroz, canola e girassol armazenados durante 6 meses a 25°C com umidade relativa a 55%.

Análises	Tempo (meses)	Biodiesel de Arroz		Biodiesel de Canola		Biodiesel de Girassol	
		Óleo bruto	Óleo refinado	Óleo bruto	Óleo refinado	Óleo bruto	Óleo refinado
Esteres saturados (%)	0	B 23,91 a	A 23,88 a	A 8,00 e	A 8,97 c	A 8,78 d	A 10,80 b
	3	A 24,38 a	C 23,26 b	A 8,01 e	A 8,87 d	A 8,76 d	A 10,80 c
	6	C 23,67 a	B 23,44 b	A 7,99 f	A 8,90 d	A 8,78 e	A 10,80 c
Esteres monosaturados (%)	0	B 40,87 d	B 40,39 e	A 66,77 a	A 60,84 b	A 41,96 c	B 35,04 f
	3	C 40,55 e	A 40,65 d	A 66,77 a	A 60,88 b	B 41,92 c	B 35,03 f
	6	A 41,03 d	A 40,73 e	A 66,79 a	A 60,89 b	A 41,97 c	A 35,07 f
Esteres polinsaturados (%)	0	B 35,22 d	B 35,73 c	A 25,23 f	A 30,19 e	B 49,26 b	AB 54,16 a
	3	C 35,07 d	A 36,09 c	A 25,21 f	A 30,25 e	A 49,32 b	A 54,18 a
	6	A 35,30 d	B 35,83 c	A 25,22 f	A 30,21 e	B 49,25 b	B 54,13 a
Tocoferóis totais (mg.100g ⁻¹)	0	A 16,89 e	A 26,11 d	A 44,99 c	A 48,09 c	A 88,66 a	A 79,40 b
	3	B 10,46 f	A 24,53 e	B 35,27 d	B 41,34 c	A 86,84 a	B 70,97 b
	6	C 3,44 f	B 13,14 e	C 19,62 d	C 22,31 c	B 39,34 a	C 30,22 b
Alfa tocoferol (mg.100g ⁻¹)	0	A 9,87 e	A 18,48 cd	A 17,60 d	A 24,26 c	A 83,29 a	A 67,36 b
	3	B 5,22 f	A 17,55 d	B 10,98 e	B 19,91 c	A 81,44 a	B 58,92 b
	6	C 0,17 e	B 7,79 c	C 0,87 e	C 5,43 d	B 35,13 a	C 20,67 b
Beta e gama tocoferol (mg.100g ⁻¹)	0	A 6,25 e	A 7,12 d	A 26,43 a	A 21,84 b	A 4,38 f	A 9,32 c
	3	B 4,53 e	B 6,48 d	B 23,59 a	B 20,23 b	A 4,41 e	A 9,38 c
	6	C 2,74 f	C 5,02 d	C 17,96 a	C 15,46 b	B 3,75 e	B 7,76 c
Delta tocoferol (mg.100g ⁻¹)	0	A 0,76 d	A 0,52 e	A 0,95 c	A 1,99 b	A 0,98 c	A 2,72 a
	3	A 0,71 bc	A 0,50 c	A 0,70 bc	B 1,20 b	A 0,99 bc	A 2,66 a
	6	B 0,52 b	B 0,33 f	A 0,79 c	AB 1,42 b	B 0,46 e	B 1,80 a

* Médias aritméticas simples, de três repetições, seguidas por letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, e letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância (P<0,05).

O biodiesel de óleo bruto de arroz teve variações significativas durante o armazenamento no conteúdo dos ésteres saturados, monoinsaturado e polinsaturados. Ao final dos 6 meses de armazenamento o conteúdo de ésteres saturados diminuiu significativamente enquanto o conteúdo de ésteres monoinsaturado e polinsaturados aumentou significativamente. No biodiesel de óleo bruto de arroz foi detectado o maior conteúdo de ésteres saturados e o quarto maior conteúdo de ésteres monoinsaturado e polinsaturados entre os biodieseis armazenados (Tab. 16).

No biodiesel de óleo bruto de arroz foi detectado o menor valor de tocoferóis totais entre os biodieseis armazenados, com uma distribuição de 58% de alfa-tocoferol, 37% de gama e beta-tocoferol e 5% de delta-tocoferol. Os tocoferóis totais, o alfa-tocoferol, o gama e beta-tocoferol tiveram reduções significativas do seu conteúdo, 80, 98 e 56% respectivamente, durante todo o armazenamento. O delta-tocoferol teve reduções significativas do seu conteúdo (31%) apenas no último trimestre do armazenamento (Tab. 16).

O biodiesel de óleo refinado de arroz teve variações significativas durante o armazenamento no conteúdo dos ésteres saturados, monoinsaturado e polinsaturados. Ao final dos 6 meses de armazenamento o conteúdo de ésteres saturados diminuiu significativamente, o conteúdo de ésteres monoinsaturado aumentou significativamente e o conteúdo de ésteres polinsaturados manteve o valor inicial. No biodiesel de óleo refinado de arroz foi detectado o segundo maior conteúdo de ésteres saturados, o quinto maior conteúdo de ésteres monoinsaturado e o terceiro maior conteúdo de ésteres polinsaturados entre os biodieseis armazenados (Tab. 16).

No biodiesel de óleo refinado de arroz foi detectado o quinto maior valor de tocoferóis totais entre os biodieseis armazenados, com uma distribuição de 71% de alfa-tocoferol, 27% de gama e beta-tocoferol e 2% de delta-tocoferol. Os tocoferóis totais, o alfa-tocoferol e o delta-tocoferol tiveram reduções significativas do seu conteúdo, 50, 57 e 63% respectivamente, apenas no último trimestre do armazenamento. O gama e beta-tocoferol apresentaram reduções significativas do seu conteúdo (70%) durante todo o armazenamento (Tab. 16).

O biodiesel de óleo bruto de canola não teve variações significativas durante o armazenamento no conteúdo dos ésteres saturados, monoinsaturado e polinsaturados. No biodiesel de óleo bruto de canola foi detectado o menor conteúdo de ésteres saturados, o maior conteúdo de ésteres monoinsaturado e o menor conteúdo de ésteres polinsaturados entre os biodieseis armazenados (Tab. 16).

No biodiesel de óleo bruto de canola foi detectado o quarto maior valor de tocoferóis totais entre os biodieseis armazenados, com uma distribuição de 39% de alfa-tocoferol, 59% de gama e beta-tocoferol e 2% de delta-tocoferol. Os tocoferóis totais, o alfa-tocoferol e o gama e beta-tocoverol tiveram reduções significativas do seu conteúdo, 56, 95 e 32% respectivamente, durante todo o armazenamento. O delta-tocoferol não teve reduções significativas do seu conteúdo ao longo do armazenamento (Tab. 16).

O biodiesel de óleo refinado de canola não teve variações significativas durante o armazenamento no conteúdo dos ésteres saturados, monoinsaturado e polinsaturados. No biodiesel de óleo refinado de canola foi detectado o quarto maior conteúdo de ésteres saturados, o segundo maior conteúdo de ésteres monoinsaturado e o quinto maior conteúdo de ésteres polinsaturados entre os biodieseis armazenados (Tab. 16).

No biodiesel de óleo refinado de canola foi detectado o terceiro maior valor de tocoferóis totais entre os biodieseis armazenados, com uma distribuição de 50% de alfa-tocoferol, 45% de gama e beta-tocoferol e 5% de delta-tocoferol. Os tocoferóis totais, o alfa-tocoferol, o gama e beta-tocoferol e o delta-tocoferol tiveram reduções significativas do seu conteúdo, 54, 78, 29 e 29% respectivamente, durante todo o armazenamento. O delta-tocoferol teve reduções significativas do seu conteúdo (29%) apenas no primeiro trimestre do armazenamento (Tab. 16).

Ao final dos 6 meses de armazenamento o biodiesel de óleo bruto de girassol manteve o valor inicial do conteúdo de ésteres saturados, monoinsaturado e polinsaturados, apesar de apresentar variações significativas durante o período do armazenamento. No biodiesel de óleo bruto de girassol foi detectado o quinto maior conteúdo de ésteres saturados, o terceiro maior conteúdo de ésteres monoinsaturado e o segundo maior conteúdo de ésteres polinsaturados entre os biodieseis armazenados (Tab. 16).

No biodiesel de óleo bruto de girassol foi detectado o maior valor de tocoferóis totais entre os biodieseis armazenados, com uma distribuição de 98% de alfa-tocoferol, 5% de gama e beta-tocoferol e 1% de delta-tocoferol. Os tocoferóis totais, o alfa-tocoferol, o gama e beta-tocoferol e o delta-tocoferol tiveram reduções significativas do seu conteúdo, 56, 56, 14 e 53% respectivamente, apenas no último trimestre do armazenamento (Tab. 16).

Ao final de 6 meses de armazenamento o biodiesel de óleo refinado de girassol manteve o valor inicial do conteúdo de ésteres saturados e polinsaturados, porém durante o período de armazenamento houve variações significativas no conteúdo de

polinsaturados. Já os ésteres monoinsaturados aumentaram significativamente no segundo trimestre. No biodiesel de óleo refinado de girassol foi detectado o terceiro maior conteúdo de ésteres saturados, o menor conteúdo de ésteres monoinsaturado e o maior conteúdo de ésteres polinsaturados entre os biodieseis armazenados (Tab. 16).

No biodiesel de óleo refinado de girassol foi detectado o segundo maior valor de tocoferóis totais entre os biodieseis armazenados, com uma distribuição de 84% de alfa-tocoferol, 12% de gama e beta-tocoferol e 3% de delta-tocoferol. Os tocoferóis totais e o alfa-tocoferol tiveram reduções significativas do seu conteúdo, 62 e 69% respectivamente, durante todo o armazenamento. O gama e beta-tocoferol e o delta-tocoferol tiveram reduções significativas do seu conteúdo, 17 e 34% respectivamente, apenas no último trimestre do armazenamento (Tab. 16).

Os resultados dos perfis de ácidos graxos dos ésteres metílicos encontrados na Tab. 15 comprovam que estes seguem o mesmo perfil de ácidos graxos dos óleos que serviram de matéria prima para sua fabricação (Tab. 12, 13 e 14).

Na Tab. 16 foi verificado que a diminuição dos tocoferóis totais durante os processos de transesterificação, neutralização, lavagem e secagem dos biodieseis de óleo bruto e óleo refinado de arroz, canola e girassol foram de 33, 32, 17, 21, 12 e 25%, respectivamente.

A Tab. 17 contém os resultados do Índice de peróxido, Índice de p-anisidina, Índice de acidez, Índice de iodo, Índice de cetano e viscosidade cinemática dos biodieseis produzidos a partir dos óleos bruto e refinado de arroz, canola e girassol, armazenados durante 6 meses em condições psicrométricas de 25°C com umidade relativa a 55%.

Tabela 17. Índice de peróxido, p-anisidina, acidez, iodo e cetano, e viscosidade cinemática dos biodieseis* de arroz, canola e girassol armazenados durante 6 meses a 25°C com umidade relativa a 55%.

Análises	Tempo (meses)	Biodiesel de Arroz		Biodiesel de Canola		Biodiesel de Girassol	
		Óleo bruto	Óleo refinado	Óleo bruto	Óleo refinado	Óleo bruto	Óleo refinado
Índice de Peróxido (meq g _{O2} ·Kg ⁻¹)	0	B 31,64 a	B 19,21 c	B 14,65 e	B 15,89 d	B 30,92 a	B 29,21 c
	3	B 32,44 a	B 20,07 c	B 15,41 d	A 20,48 c	A 32,57 a	B 29,59 d
	6	A 34,84 a	A 26,84 d	A 16,93 f	A 21,62 e	A 32,92 b	A 30,79 c
Índice de P-anisidina (mg.g ⁻¹)	0	B 43,28 a	B 8,95 b	C 9,45 b	C 7,73 c	C 3,30 d	C 7,28 b
	3	A 47,75 a	A 10,27 c	B 12,17 b	B 9,14 d	B 4,49 e	B 9,44 e
	6	A 48,05 a	A 10,57 c	A 12,53 b	A 10,98 c	A 5,83 d	A 10,48 c
Índice de Acidez (mg _{KOH} ·g ⁻¹)	0	B 0,48 a	A 0,23 b	B 0,24 b	A 0,26 b	A 0,23 b	A 0,23 a
	3	B 0,46 a	A 0,23 cd	AB 0,30 b	A 0,24 c	A 0,20 de	A 0,17 a
	6	A 0,58 a	A 0,28 c	A 0,39 b	A 0,23 c	A 0,25 c	A 0,22 a
Índice de Iodo (mg _{I2} ·100g ⁻¹)	0	A 97,8 f	A 98,2 e	A 109,6 d	A 110,6 c	A 121,5 b	A 124,6 a
	3	A 97,3 f	A 99,1 e	A 109,5 d	A 110,8 c	A 121,6 b	A 124,6 a
	6	A 98,1 f	A 98,7 e	A 109,6 d	A 110,7 c	A 121,5 b	A 124,6 a
Viscosidade Cinemática (mm ² ·s ⁻¹)	0	B 4,25 ab	C 4,00 bc	B 4,58 a	B 3,67 cd	B 3,75 cd	B 3,42 d
	3	B 4,58 b	B 4,50 b	A 5,67 a	B 4,08 bc	A 5,22 a	B 3,67 c
	6	A 5,97 a	A 5,83 a	A 6,08 a	A 5,08 a	A 5,83 a	A 5,58 a
Índice de Cetano	0	C 36,21 b	B 28,45 e	A 35,88 b	C 38,85 a	A 32,84 d	A 34,52 c
	3	B 47,24 a	A 29,71 e	A 36,40 c	B 40,47 b	B 29,50 e	A 34,17 d
	6	A 48,79 a	A 30,10 d	A 39,59 b	A 41,79 b	C 29,11 d	A 34,20 c

* Médias aritméticas simples, de três repetições, seguidas por letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, e letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença, pelo teste de Tukey a 5% de significância (P<0,05).

No biodiesel de óleo bruto de arroz foi detectado um aumento significativo dos peróxidos, da acidez e da viscosidade cinemática apenas no último trimestre do armazenamento. O índice de p-anisidina (aldeídos) teve um aumento significativo apenas no primeiro trimestre do armazenamento e o índice de iodo não teve variações significativas durante o armazenamento (Tab. 17).

No biodiesel de óleo refinado de arroz foi detectado um aumento significativo dos peróxidos apenas no último trimestre do armazenamento. Os aldeídos tiveram um aumento significativo apenas no primeiro trimestre do armazenamento e os índices de acidez e iodo não tiveram variações significativas durante o armazenamento. A viscosidade cinemática teve um aumento significativo ao longo de todo o armazenamento (Tab. 17).

No biodiesel de óleo bruto de canola foi detectado um aumento significativo dos peróxidos e da acidez apenas no último trimestre do armazenamento. Os aldeídos tiveram um aumento significativo ao longo de todo o armazenamento e o índice de iodo não teve variações significativas durante o armazenamento. A viscosidade cinemática teve um aumento significativo apenas no primeiro trimestre do armazenamento (Tab. 17), ao final do armazenamento o biodiesel de óleo bruto de canola ultrapassou o limite máximo de $6 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ determinado pela resolução ANP nº. 14 (Tab. 4).

No biodiesel de óleo refinado de canola foi detectado um aumento significativo dos peróxidos apenas no primeiro trimestre do armazenamento, os aldeídos tiveram um aumento significativo ao longo de todo o armazenamento e o índice de acidez e iodo não tiveram variações significativas durante o armazenamento. A viscosidade cinemática teve um aumento significativo apenas no último trimestre do armazenamento (Tab. 17).

No biodiesel de óleo bruto de girassol foi detectado um aumento significativo dos peróxidos e da viscosidade cinemática apenas no primeiro trimestre do armazenamento. Os aldeídos tiveram um aumento significativo ao longo de todo o armazenamento e o índice de acidez e iodo não tiveram variações significativas durante o armazenamento (Tab. 17).

No biodiesel de óleo refinado de girassol foi detectado um aumento significativo dos peróxidos e da viscosidade cinemática apenas no último trimestre do armazenamento. Os aldeídos tiveram um aumento significativo ao longo de todo o armazenamento e o índice de acidez e iodo não tiveram variações significativas durante o armazenamento (Tab. 17).

A viscosidade cinemática aumentou significativamente para todos os biodieseis devido ao aumento dos peróxidos e dos aldeídos, mostrando que a oxidação do biodiesel promove o aumento desta propriedade física. Este resultado também foi encontrado por Dantas et al. (2011), que verificou que o aumento da viscosidade cinemática durante o armazenamento de biodiesel de milho em temperatura ambiente foi provocado pelo aumento do índice de peróxido.

Também foi verificado que o valor da viscosidade cinemática do biodiesel é menor quando o conteúdo de ligações duplas dos ésteres metílicos do mesmo é maior, este comportamento foi observado correlacionando o índice de iodo e o conteúdo de ésteres saturados, monoinsaturados e polinsaturados com a viscosidade cinemática. Giakoumis (2013) relatou existir uma correlação entre a viscosidade cinemática e o número médio de ligações duplas, sendo que o maior número de ésteres metílicos saturados apresenta maior viscosidade cinemática. Outros autores encontraram valores semelhantes aos encontrados neste estudo para viscosidade cinemática de biodiesel de arroz, canola e girassol, 4,70. 4,40 e 4,53mm².s⁻¹; respectivamente (GIAKOUMIS, 2013; HOEKMAN et al., 2012; KNOTHE, 2008).

A relação entre os valores detectados no índice de cetano e no conteúdo de ésteres metílicos saturados foi quanto maior o conteúdo de ésteres metílicos saturados, maior o índice de cetano encontrado, porém isto só foi válido para os biodieseis de mesma origem vegetal. Demirbas (2005) relatou que o índice de cetano do biodiesel depende da composição original do óleo usado como matéria-prima, quanto mais saturada e longa a cadeia carbônica do éster, maior é o valor.

Os resultados indicam que o biodiesel com maior estabilidade lipídica, menor oxidação e manutenção das características físico-químicas, principalmente a viscosidade cinemática, foi o biodiesel de óleo refinado de canola. O pior resultado foi detectado no óleo bruto de arroz, pois o baixo rendimento do teor de ésteres e o aumento da acidez podem indicar que outros compostos (fosfolipídios e cerídeos) não identificados neste trabalho possam prejudicar a utilização deste óleo como matéria prima para biodiesel. Foi observado que os biodieseis de óleos refinados tiveram um comportamento mais estável que os de óleos brutos.

Não foi possível realizar um comparativo maior entre os três estudos devido a diferença das metodologias para cromatografia gasosa aplicadas no estudo 3, onde buscavam determinar parâmetros físico-químicos em ésteres metílicos ou etílicos, diferente dos estudos anteriores em que a metodologia foi voltada para análises sobre triacilgliceróis (óleos). Além disso, os períodos de armazenamento do estudo 3 foram mais curtos, já que as amostras não suportaram o armazenamento após 6

meses, pois a viscosidade cinemática descaracterizou estas como biodiesel de acordo com resolução ANP nº. 14 (ANP, 2012).

O armazenamento prolongado nas condições psicrométricas de 25°C e 55% UR, promoveu a degradação dos tocoferóis totais e individuais, diminuindo o seu conteúdo em todos os grãos, óleos e ésteres metílicos de arroz, canola e girassol. Ocorreram alterações no perfil dos ácidos graxos apenas no grão e no óleo refinado de arroz, durante os 12 meses monitorados. Porém, para os ésteres metílicos as alterações no perfil de ácidos graxos ocorreram em todos os biodieseis que tinham como fonte lipídica (matéria prima) os óleos de arroz e girassol, durante os 6 meses monitorados. Os teores elevados de polinsaturados e de antioxidantes em grãos e óleos vegetais retardaram a degradação destes ao longo do armazenamento, mas para os ésteres metílicos esta afirmação não é válida,

A oxidação primária e secundária foi crescente para todos os grãos, óleos e ésteres metílicos de arroz, canola e girassol durante o armazenamento, com exceção do óleo bruto de girassol para a oxidação secundária. A acidez também foi crescente durante os 12 meses de armazenamento de grãos e óleos de arroz, canola e girassol, entretanto, nos ésteres metílicos o aumento foi detectado somente nos óleos brutos de arroz e canola, os demais permaneceram estáveis durante os seis meses de armazenamento.

5. CONCLUSÕES

O armazenamento prolongado promove degradação dos tocoferóis totais e individuais, diminuindo o seu conteúdo em todos os grãos, óleos e ésteres metílicos. Assim como a oxidação primária, a secundária também é crescente para todos os grãos, óleos e biodieseis durante o armazenamento, com a exceção do óleo bruto de girassol (para a oxidação secundária). A acidez também é crescente durante os 12 meses de armazenamento de grãos, óleo bruto e óleo refinado, mas com valores baixos até o 9º mês de armazenamento, sendo seguro para a alimentação (óleo refinado) e para produção de biodiesel (grãos e óleos brutos), entretanto, se mantém estável para os ésteres metílicos durante os 6 meses de armazenamento, com exceção dos biodieseis de óleos brutos de arroz e canola. A estabilidade lipídica nos grãos de canola é maior do que nos de arroz e de girassol. Períodos longos de armazenamento provocam diminuições na estabilidade das frações lipídicas dos grãos, dos óleos e dos biodieseis. As propriedades físico-químicas dos biodieseis são mantidas dentro dos padrões definidos pela ANP por um período máximo de 6 meses.

6. REFERÊNCIAS

- ABBASI, A. R.; HAJIREZAEI, M.; HOFIUS, D.; SONNEWALD, U.; VOLL, L. M. Specific roles of α - and γ -tocopherol in abiotic stress responses of transgenic tobacco. **Plant Physiology**, v. 143, n. 4, p. 1720-1738, 2007.
- ALCANTARA, R.; AMORES, J.; CANOIRA, L.; FIDALGO, E.; FRANCO, M.J.; NAVARRO, A.; Catalytic production of biodiesel from soy-bean oil, used fryind oil and taloow. **Biomass and Bioenergy**, v. 18, p. 515–527, 2000.
- ALI, Y.; HANNA, M.A.; CUPPETT, S.L.; Fuel properties of tallow and soybean oil esters. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, n. 72, p.1557–1564, 1995.
- ALTIPARMAK, D.; KESKIN, A.; KOCA, A.; GÜRU, M.; Alternative fuel properties of tall oil fatty acid methyl ester-diesel fuel blends. **Bioresource Technology**, n. 98, p. 241-246, 2007.
- AMAROWICZ, R., RAAB, B., & SHAHIDI, F. antioxidant activity of phenolic fractions of rapeseed. **Journal of Food Lipids**, n. 10, p. 51–62, 2003.
- ANASTOPOULOS, G.; LOIS, E.; SERDARI, A.; ZANIKOS, F.; STORNAS, S.; KALLIGEROS, S. Lubrication properties of low-sulfur diesel fuels in the presence of specific types of fatty acid derivatives. **Energy Fuels**, n. 15, p. 106-112, 2001.
- ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Resolução Nº. 14 de 11/05/2012 – DOU 18/05/2012, Limites e Normas Técnicas para biodiesel. Brasília, 2012.
- ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS, Boletim mensal do biodiesel, Brasil, 2013.
- ANVISA - Agência Nacional da Vigilância Sanitária, Resolução nº. 482, de 23 de setembro de 1999, Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais, Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, p. 82 - 87, 1999.
- AOCS – AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. Official and tentative methods of the American Oil Chemistss Society. 3 ed. Chicago, 1998.
- ARLESKIND, A. Oils and Fats: Manual, Lavoisier Publish.: Paris, v. 2, p. 1432-1572, 1996.
- BAJPAI, D.; TYAGI, V.K.; J. Biodiesel: Source, Production, Composition, Properties and Its Benefits. **Journal of Oleo Science**, n. 55, p. 487–502, 2006.
- BOBBIO, P. A., BOBBIO, F. O. Química do processamento de alimentos. São Paulo: Varela, p. 397–409, 2001.

BONDIOLI, P.; GASPAROLI, A.; LANZANI, A.; FEDELI, E.; VERONESE, S.; SALA, M.; Storage Stability of Biodiesel. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, n. 72, p. 699–702, 1995.

BOOCOCK, D. G. B.; KONAR, S. K.; MAO, V.; LEE, C.; BULIGAN, S.; J. Fast formation of high-purity methyl esters from vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, n. 75, p. 1167–1172, 1998.

BOSS, E.A. Análise do desempenho de plantas de extração de óleo convencionais e de processos supercríticos. 2000. Dissertação de Mestrado, Unicamp, Campinas.

BOUAID, A.; DIAZ, Y.; MARTINEZ, M.; ARACIL, J.; Pilot plant studies of biodiesel production using *Brassica carinata* as raw material. **Catalysis Today**, 106, 193 – 196, 2005.

BOZBAS, K. Biodiesel as an alternative motor fuel: Production and policies in the European Union. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 12, n. 2, p 542-552, 2008.

BRASIL, Ministério de Minas e Energia. Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/programas/biodiesel/menu/biodiesel/pnpb.html>>. Acesso em: 10 out 2012.

BRUZZETTI, A. R. Cresce produção de girassol. **Óleos & Grãos**, São Bernardo do Campo, ano 8, n. 46, p. 34 - 38, 1999.

CANAKCI, M.; VAN GERPEN, J. Biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids. **Transactions of the ASAE**, n. 44, p. 1429-1436, 2001

CANAKCI, M.; The potential of restaurant waste lipids as biodiesel feedstocks. **Bioresource Technology**, n. 98, p. 183-190, 2007.

CANOLA COUNCIL OF CANADA. Disponível em : <<http://www.canola-council.org>>. Acessado em: 23 nov. 2013.

CARRARETTO, C.; MACOR, A.; MIRANDOLA, A.; STOPPATO, A.; TONON, S.; Biodiesel as Alternative Fuel: Experimental Analysis and Energetic Evaluations. **Energy**, n. 29, p. 2195-2211, 2004.

CARVALHO, M. A., Mercado internacional e nacional de canola. Conab, 37 p., 2013.

CARVALHO, M. A., Mercado internacional e nacional de girassol. Conab, 31 p., 2012.

CARVALHO, J.L.V.de; VIEIRA, N.R. de A. A cultura do arroz no Brasil: Usos alternativos. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, p. 605-621, 1999.

CASTRO, H. F.; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 146-156, 2004.

CLAUSS, J. - Interesterificação de óleo de palma. **Óleos Grãos**, São Paulo, v.5, n.28, p.31-37, 1996.

CHOE, E.; MIN, D. B. Chemistry of deep-fat frying oils. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 5, p. R77-R86, 2007.

CONAB — Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Brasília, v. 1, n.2, 1-66, 2013.

CRAPISTE, G. H.; BREVEDAN, M. I. V.; CARELLI, A. A. Oxidation of sunflower oil during storage. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 76, n. 12, 1999.

COOKSON, D.J.; LLIPOULOS, P.; SMITH, B.E.; Composition-property relations for jet and diesel fuels of variable boiling range. **Fuel**, n. 74, p. 70-78, 1995.

ÇETINKAYA, M.; ULUSOY, Y.; TEKIN, Y.; KARAOSMANOGLU, F.; Engine and winter road test performances of used cooking oil originated biodiesel. **Energy Convers. Manage**, n. 46, p. 1279-1291, 2005.

DANTAS, H. J. Estudo termoanalítico, cinético e reológico de biodiesel derivado do óleo de algodão, 2006. Dissertação de Mestrado, Universidade da Paraíba, João Pessoa.

DANTAS, M. B.; ALBUQUERQUE, A. R.; BARROS, A. K.; RODRIGUES FILHO, M. G.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; SINFRÔNIO, F.S.M.; ROSENHAIM, R.; SOLEDADE, L. E. B.; SANTOS, M. G.; SOUZA, A. G. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. **Fuel**, n. 90, p. 773-778, 2011.

DEMIRBAS, A. Biodiesel production from vegetable oils via catalytic and non-catalytic supercritical methanol transesterification methods. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 31, n. 5, p. 466-487, 2005.

DIOS, C. A. D. Recomendaciones sobre el manejo y postcosecha del girasol. Pergamino: Estación Experimental Agropecuária de Pergamino, INTA, p.251-261, 1984.

DI SERIO, M.; LEDA, M.; COZZOLINO, M.; MINUTILLO, G.; TESSER, R.; SANTACESARIA, E.; Transesterification of soybean oil to biodiesel by using heterogeneous basic catalysts; **Industrial & Engineering Chemistry Research**, n. 45, p. 3009-3014, 2006.

DORADO, M. P.; BALLESTEROS, E.; ALMEIDA, J. A.; SCHELLERT, C.; LOHRLEIN, H. P.; KRAUSE, R. An alkali-catalyzed 855 transesterification process for high free fatty acid oils. **Transactions of the ASAE**, v. 45, p. 525, 2002.

DORADO, M. P.; BALLESTEROS, E.; ARNAL, J. M.; GOMEZ, J.; GIMÉNEZ, F. J. L. Testing waste olive oil methyl ester as a fuel in a diesel engine. **Energy Fuels**, n.17, p.1560-1565, 2003.

- DUNN, Robert O. Thermal analysis of alternative diesel fuels from vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 76, n. 1, p. 109-115, 1999.
- DU PLESSIS, L. M.; DE VILLIERS, J. B. M.; VAN DER WALT, W. H.; J. Stability Studies on Methyl and Ethyl Fatty Acid Esters of Sunflowerseed Oil. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, n. 62, p. 748-752, 1985.
- ELIAS, M.C. Manejo tecnológico da secagem e do armazenamento de grãos. Editora Universitária / UFPel: Pelotas, 2008. 363 p.
- EMBRAPA. Definição e histórico de Canola. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/canola/definicao.htm>>. Acessado em: 10 dez. 2010.
- EMBRAPA, Tecnologias de Produção Girassol. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaogirassol/importancia.htm>>. Acessado em: 10 dez. 2010.
- ENCINAR, J. M.; GONZÁLEZ, J. F.; RODRÍGUEZ, J. J.; TEJEDOR, A.; Biodiesel fuels from vegetable oils: Transesterification of *Cynara cardunculus* L. oils with ethanol. **Energy Fuels**, n. 16, p. 443-450, 2002.
- ENOS, T. T.; DAVID, J. M.; VELÁZQUEZ, K. T.; MCCLELLAN, J. L.; DAY, S. D.; CARNEVALE, K. A.; MURPHY, E. A. Influence of dietary saturated fat content on adiposity, macrophage behavior, inflammation, and metabolism: composition matters. **Journal of Lipid Research**, v. 54, p. 152-163, 2013.
- ESTERBAUER, H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, pp. 779S-86S, 1993.
- FARIA, E. A., LELES, M. I. G., IONASHIRO, M., ZUPPA, T. O., ANTONIOSI FILHO, N. R. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA. **Eclética Química**, n. 27, p. 111-119, 2002.
- FERRARI, C.K.B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. **Revista de Nutrição**, v. 11, n. 1, p. 3-14, 1998.
- FERRARI R.A.; OLIVEIRA, V.S.; SCABIO, A. Biodiesel from soybean: characterization and consumption in an energy generator, **Química Nova**, v. 28, p.19-23, 2005.
- FRANKEL, E.N. Lipid oxidation. 2 ed. Bridgewater: Barnes, P.J. & Associates, The Oily Press, 2005.
- FREDDMAN, B.; BUTTERFIELD, R. O.; PRYDE, E. H.; J. Transesterification Kinetics of Soybean Oil. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, n. 63, p. 1375-1380, 1986.

GARCIA, J. M., GUTIERREZ, F., CASTELLANO, J. M., PERDIGUERO, S., MORILLA, A., ALBI, M. A. Storage of olive destined for oil extraction. **Acta Horticulturae**, n. 368, p. 673–681, 1994.

GIAKOUMIS, E.G. A statistical investigation of biodiesel physical and chemical properties, and their correlation with the degree of unsaturation. **Renewable Energy**, n. 50, p. 858-878, 2013.

GOFF, M.J.; BAUER, N.S.; LOPES, S.; SUTTERLIN, W.R.; SUPPES, G.J.; J. Acid-Catalyzed Alcoholysis of Soybean Oil. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, n. 81, p. 415-420, 2004.

GOODRUM, J.W.; Volatility and boiling points of biodiesel from vegetable oils and tallow. **Biomass Bioenergy**, n.22, p. 205-211, 2002.

GUTIERREZ, F. PERDIGUERO, S., GARCIA, J.M., CASTELLANO, J. M. Quality of oils from olives stored under controlled atmosphere. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, n. 69, p. 1215-1218. 1992.

HAAS, M.J. Improving the economics of biodiesel production through the use of low value lipids as feedstocks: vegetable oil soapstock. **Fuel Processing Technology**, v. 86, n. 10, p. 1087-1096, 2005.

HAAS, M.J.; SCOTT, K.M.; ALLEMAN, T.L.; MCCORMICK, R.L.; Engine Performance of Biodiesel Fuel Prepared from Soybean Soapstock: A High Quality Renewable Fuel Produced from a Waste Feedstock. **Energy Fuels**, n. 15, p. 1207-1212, 2001,

HASSAS-ROUDSARI, M., CHANG, P.R., RONALD B. PEGG, R.B., TYLER, R.T. Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction, **Food Chemistry**, n. 114, p. 717-726, 2009.

HICKLING, D. Canola meal nutrient composition. Canola meal feed industry guide, 3 ed. Winnipeg, MB: Canola Council of Canada, p. 8-11, 2001.

HRIBERNIK, A.; KEGL, B.; Influence of biodiesel fuel on the combustion and emission formation in a Direct Injection (DI) diesel engine. **Energy Fuels**, n. 21, p. 1760-1767, 2007.

HOEKMAN S.K., BROCH, A., ROBBINS, C., CENICEROS, E., NATARAJAN, M. Review of biodiesel composition, properties and specifications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, n. 16, p. 143-169, 2012.

HOSENEY, R. C. Principios de ciencia y tecnología de los cereales. Editora: Acribia,S.A. Zaragoza (Espanha), 2010. 321p.

IMAHARA, H.; MINAMI, E.; SAKA, S.; Thermodynamic study on cloud point of biodiesel with its fatty acid composition. **Fuel**, n. 85, p. 1666-1670, 2006.

- IZQUIERDO, I.F., CARAVACA, M.M., ALGUACIL, ROLDN, A. Changes in physical and biological soil quality indicators in a tropical crop system (Havana, Cuba) in response to different agroecological management practices, **Journal of Environmental Management**, n. 32, p. 639-645. 2003.
- KAISERSBERGER, E. DSC investigations of the thermal characterization of edible fats and oils. **Thermochim Acta**, n. 151, p. 81-90, 1989.
- KALAM, M. A.; MASJUKI, H. H. Biodiesel from palm oil - An analysis of its properties and potential. **Biomass and Bioenergy**, v. 23, n. 6, p. 471-479, 2002.
- KEGG PATHWAY. Disponível em: < http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map00130>. Acesso em 10 jan. 2013.
- KERSCHBAUM, S.; RINKE, G.; Measurement of the temperature dependent viscosity of biodiesel fuels. **Fuel**, n. 83, p. 287-291, 2004.
- KESLER, A.; KRISKA, T.; NÉMETH, A. Mechanism of volatile compound production during storage of sunflower oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 12, p. 5981-5985, 2000.
- KIM, H.J; LEE, S.B; PARK, K.A; HONG, I.K. Characterization of extraction and separation of rice bran oil rich in EFA using SFE process. **Separation and Purification Technology**, n. 15, p. 1-8, 1999.
- KIMBER, D.S., MCGREGOR, D.I., The species and their origin, cultivation and world production, IN: D.S. KIMBER, D.I. MCGREGOR, Brassica Oil Seeds; Production and Utilization, CAB International, Wallingford, Oxon, UK, p. 1-7, 1995.
- KNOTHE, G. "Designer" biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. *Energy Fuels*, 22, 1358-1364, 2008.
- KNOTHE G. Analyzing biodiesel: Standards and other methods, *Review. J Am Oil Chem Soc.*, 83, 823-33, 2006.
- KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters, **Fuel Processing Technology**, n. 86, p. 1059-1070, 2005.
- KNOTHE, G.; STEIDLEY, K. R. Kinematic viscosity of biodiesel fuel components and related compounds. Influence of compound structure and comparison to petrodiesel fuel components. **Fuel**, v. 84, p. 1059-1065, 2005.
- KNOTHE, G.; DUNN, R. O.; *Oleochemical Manufacture and Applications*, Academic Press: Sheffield, 2001.
- KUSDIANA, D.; SAKA, S.; Effects of water on biodiesel fuel production by supercritical methanol treatment. **Bioresource Technology**, v. 91, n. 3, p. 289-95, 2004.

KUSDIANA, D.; SAKA, S.; J. Methyl esterification of free fatty acids of rapeseed oil as treated in supercritical methanol. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, v. 34, n. 3, p. 383-387, 2001.

LAKKAKULA, N. R.; LIMA, M.H; WALKER, T. Rice bran stabilization and rice bran oil extraction using ohmic heating. **Bioresource Technology**, v.92, p.157–161, 2004.

LANG, X., DALAI, A.K., BAKHSHI, N.N., REANEY, M.J., HERTZ, P.B. Preparation and characterization of bio-diesels from various bio-oils, **Bioresource Technology**, n. 80, p. 53–62, 2001.

LEDEVAS, S.; VAICEKAUSKAS, A.; LEBEDEVA, G.; MAKAREVICIENE, V.; JANULIS, P.; Use of Waste Fats of Animal and Vegetable Origin for the Production of Biodiesel Fuel: Quality, Motor Properties, and Emissions of Harmful Components. **Energy Fuels**, v. 20, n. 5, p. 2274-2280, 2006.

LEUNG, D.Y.C.; GUO, Y.; Transesterification of neat and used frying oil: optimization for biodiesel production. **Fuel Processing Technology**, n. 87, p. 883-890, 2006.

LIN, Y.C.; LEE, W.J.; HOU, H.C.; PAH emissions and energy efficiency of palm-biodiesel blends fueled on diesel generator . **Atmospheric Environment**, n. 40, p. 3930-3940, 2006.

LORINI, I.; MIIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M. Armazenagem de Grãos. Campinas, SP: Instituto Biogeneziz, 2002. 1000 p.

MA, F.; CLEMENTS, L.D.; HANNA, M.A.; The Effect of Mixing on Transesterification of Beef Tallow. **Bioresource Technology**, n. 69, p. 289-293, 1999.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php>>. Acesso em: 19 nov. 2012.

MAHAJAN, S.; KONAR, S. K.; BOOCOOCK, D.G.B.; Standard biodiesel from soybean oil by a single chemical reaction. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, n. 83, p. 641-644, 2006.

MARAFI, A.; AL-HENDI, A.; AL-MUTAWA, A.; STANISLAUS, A.; Studies on hydro treating of diesel streams from different Kuwait crudes for ultralow sulphur diesel production. **Energy Fuels**, n. 21, p. 3401-3405, 2007.

MASSIERA, F.; BARBRY, P.; GUESNET, P.; JOLY, A.; LUQUET, S.; MOREILHON-BREST, C.; MOHSEN-KANSON, T.; AMRI, E. Z.; AILHAUD, G. A western-like fat diet is sufficient to induce a gradual enhancement in fat mass over generations. **Journal of Lipid Research**, v. 51, p. 2352-2361, 2010.

MATRINGE, M.; KSAS, B.; REY, P.; HAVAUX, M. Tocotrienols, the unsaturated forms of vitamin E, can function as antioxidants and lipid protectors in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 147, n. 2, p. 764-778, 2008.

MENEZES, E.W.; SILVA, R.; CATALUÑA, R.; ORTEGA, R.J.C. Effect of ethers and ether/ethanol additives on the physicochemical properties of diesel fuel on engine tests. **Fuel**, n. 85, p. 815-822, 2006.

MORAES, C. M. B., Vitamina E do destilado da desodorização do óleo de soja e sob forma de fármaco na prevenção à oxidação dos lípideos e da necrose hepática decorrente de dieta deficiente em cistina para ratos. 2003. 70 p. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MORAES, M. S. A., Biodiesel de sebo: Avaliação de propriedades e testes de consumo em motor a diesel. 2008. 104 p. Dissertação de Mestrado, UFRGS, Porto Alegre.

MORALES, M. T., RIOS, J. J., APARICIO, R. Changes in the volatile composition of virgin olive oil during oxidation: flavors and off-flavors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 45, p. 2666–2673. 1997.

MORETTO, E., FETT, R., Óleos e gorduras vegetais: processamento e análises. Florianópolis: Editora da UFSC, 1989. 179 p.

MONKS, J.L.F. Efeitos da intensidade do polimento sobre parâmetros de avaliação tecnológica e bioquímica, perfil lipídico e conteúdo de ácido fólico em grãos de arroz. 2010, 115 p. Tese Doutorado, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MUIR, W.E., SINHA, R.N. Physical properties of cereal and oilseed cultivars grown in western Canada. **Canadian Agricultural Engineering**, v. 30, p. 51-55, 1988.

MUNIYAPPA, P.R.; BRAMMER, S.C.; NOUREDDINI, H.; Improved conversion of plant oils and animal fats into biodiesel and co-product. **Bioresource Technology**, n. 56, p. 19–24, 1996.

NACZK, M., SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n. 41, p. 1523-1542, 2006.

NAVARRO, S.; NOYES, R. The mechanics and physics of modern grain aeration management. New York: CRC press, 2002. 647 p.

NELSON, R.G.; SCHROCK, M.D.; Energetic and economic feasibility associated with the production, processing and conversion of beef tallow to a substitute diesel fuel. **Biomass & Bioenergy**, n. 30, p. 584- 591, 2006.

- NETO P.R.C.; ROSSI, L.F.S. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 531-537, 2000.
- NEWKIRK, R. W., CLASSEN, H. L., TYLER, R. T.; Nutritional evaluation of low glucosinolate mustard meals (*Brassica juncea*) in broiler diets. **Poultry Science**, n. 76, p. 1272-1277, 1997.
- NIERDERNHOFER, L. J.; DANIELS, J. S.; ROUZER, C. A.; GREENE, R. E.; MARNETT, L. J. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 33, p. 31426-31433, 2003.
- NOUREDDINI, H.; MEDIKONDURU, V.; Glycerolysis of fats and methyl esters. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, n. 74, p. 419 – 425, 1997.
- OLIVEIRA, M., Efeitos da umidade, do tempo e de sistemas de armazenamento sobre parâmetros de qualidade e propriedades tecnológicas dos grãos e do óleo de soja. 2011. 131 p. Tese de Doutorado, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas.
- ORDÓÑEZ, J. A., Tecnologia de alimentos. Porto Alegre: Artmed, 2005. 294 p.
- PARENTE, E. J., Biodiesel – Uma aventura tecnológica num país engraçado, 1ª Tecbio, Fortaleza, 2003.
- PASQUALINO, J.C.; MONTANÉ, D.; SALVADÓ, J.; Synergic effects of biodiesel in the biodegradability of fossil-derived fuels. **Biomass & Bioenergy**, n. 30, p. 874 – 879, 2006.
- PENG, C.Y.; LAN, C.H.; DAI, Y.T.; Speciation and quantification of vapor phases in soy biodiesel and waste cooking oil biodiesel *Chemosphere*. 65, 2054 – 2062, 2006.
- PESTANA, V. R., Avaliação da qualidade do óleo de arroz e do conteúdo de tocoferóis e orizanóis durante o processo de refino. 2007. 74 p. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas.
- PUZZI, D. Abastecimento e armazenagens de grãos. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 2000. 603 p.
- RAKOPOULOS, C.D.; ANTONOPOULOS, K.A.; RAKOPOULOS, D.C.; Development and application of multi-zone model for combustion and pollutants formation in direct injection diesel engine running with vegetable oil or its bio- diesel. **Energy Convers. Manage**. n. 48, p. 1881 – 1901, 2007.

- RAMADHAS, A.S.; JAYARAJ, S.; MURALEEDHARAN, C.; Biodiesel production from high FFA rubber seed oil. **Fuel**. n. 84, p. 335 – 340, 2005.
- RIBEIRO, E. P., SERAVALLI, E. A. G. Química de alimentos, São Paulo: Edgard Blucher, Instituto Mauá de Tecnologia, 2007, 184p.
- RODRIGUES, C. E. C.; ONOYAMA M. M.; MEIRELLES, A.J.A. Optimization of the rice bran oil deacidification process by liquid-liquid extraction. **Journal of Food Engineering**. v. 73, n. 4, p. 370-378, 2006.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Assessment of the provitamin A contents of foods – the Brazilian experience. **Journal of Food Composition and Analysis**, n. 9, p. 196-230, 1996.
- RODRÍGUEZA, R. P., PEREZA, L. G., DUARTEB, M. A. M., CAROB, R., GALLEC, J., SCHWARTZ, H.; OLLILAINEN, V.; PIIRONEN, V.; LAMPI, A. M. Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 152-161, 2008.
- SERDARI, A.; EURIPIDES, L.; STOURNAS, S.; Impact of esters of mono- and dicarboxylic acids on diesel fuel quality. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, n. 38, p. 3543, 1999.
- SHARMA, Y. C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S. N.; Advancements in development and characterization of biodiesel: a review. **Fuel**. N. 87, p. 2355 – 2373, 2008.
- SHUCHRDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, M. Transesterification of Vegetable Oils: a Review Journal. **Brazilian Chemistry Society**, v. 9., n. 1, p. 199-210, 1998.
- SKIBSTED, L. H. Light induced changes in dairy products. **Bulletin of the International Dairy Federation**,.n. 345, p 4-9. 2000.
- TAN, C. P.; CHE MAN, Y. B.; Recent developments in differential scanning calorimetry for assessing oxidative deterioration of vegetable oils. **Trends Food Sci. Technology**, n. 13, p. 312 – 318, 2002.
- TAPPEL, A. L.; KNAPP, F. W.; URS, K. Oxidative fat rancidity in food products. II. Walnuts and other nut means. **Journal of Food Science**, v. 22, n. 3, p. 287-295, 1957.
- TURATTI , J.M.; GOMES, R.A.R.; ATHIE, I Lipídeos – Aspectos Funcionais e Novas Tendências, Campinas : ITAL, p. 9-14, p. 58-61, p. 64-65, 2002.
- USDA - United States Department of Agriculture, Economic Research Service (ERS), Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/Briefing/SoybeansOilcrops/Canola.htm>>. Acesso em: 15 nov. 2013.

USDA - United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service (FAS). Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdHome.aspx>>. Acesso em: 15 nov. 2013.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A.. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p. 1184-1192, 2008.

WYATT, V.T.; HESS, M.A.; DUNN, R.O.; FOGLIA, T.A.; HAAS, M.J.; MARMER, W.N.; Fuel properties and nitrogen oxide emission levels of biodiesel produced from animal fats. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, n. 82, p. 585-591, 2005.

VILJANEN, K.; SUNDBERG, S.; OHSHIMA, T.; HEINONEN, M. Carotenoids as antioxidants to prevent photooxidation. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 104, p. 353-359, 2002.

ZAMBIAZI, R.C. The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability. 1997. 304p. Tese (Foods and Nutritional Sciences Interdepartmental Program) University of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada.

ZHENG, S.; KATES, M.; DUBÉ, M.A.; MCLEAN, D.D.; Acid-catalyzed production of biodiesel from waste frying oil. **Biomass & Bioenergy**, n. 30, 267 – 272, 2006.

ZHU, C.; SANAHUJA, G.; YUAN, D.; FARRÉ, G.; ARJÓ, G.; BERMAN, J.; ZORRILLA-LÓPEZ, U.; BANAKAR, R.; BAI, C.; PÉREZ-MASSOT, E.; BASSIE, L.; CAPELL, T.; CHRISTOU, P. Biofortification of plants with altered antioxidant content and composition: genetic engineering strategies. **Plant Biotechnology Journal**, v. 11, n. 2, p. 129-141, 2013.