



Avaliação do extrato de lab lab (*Lablab purpureus*) como aditivo antioxidante para biodiesel

Chreyverson Kauan Fortunato de Oliveira*; Letícia Thaís Chendynski*; Elis Daiane Pauli**; Karina Benassi Angilelli**; Gisele Fernanda Mouro*

*Instituto Federal do Paraná- IFPR, Ivaiporã, Brasil.

**Universidade Estadual de Londrina- UEL, Brasil.

*Autor para correspondência e-mail:- leticiachendynski@gmail.com

Palavras-chave

Biocombustível
Lab lab
Compostos fenólicos

Keywords

Biofuel
Lab lab
Phenolic compounds

Resumo: Há um interesse crescente em avançar no desenvolvimento de biocombustíveis com a entrada do biodiesel no mercado nacional brasileiro. A estabilidade oxidativa do biodiesel, ou período de indução (IP), é um dos fatores importantes para determinar a qualidade deste biocombustível, permitindo assim sua comercialização e garantindo sua validade durante o armazenamento. O biodiesel é formado por ésteres metílicos ou etílicos com a presença de insaturações da matéria-prima utilizada na síntese, tornando-o suscetível à reação de oxidação. Extratos naturais estão substituindo aditivos antioxidantes de origem sintética. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a influência da adição de extrato de folhas de lab lab como aditivo antioxidante natural na estabilidade oxidativa do biodiesel e parâmetros cinéticos. Amostras contendo extrato apresentaram maiores períodos de indução e menores constantes de velocidade quando comparadas ao controle no teste à temperatura de 110°C. Como as folhas têm baixo custo, o extrato de lab lab com propriedades antioxidantes tem potencial para aplicação comercial para aumentar a estabilidade oxidativa do biodiesel.

Evaluation of lab lab extract (*Lablab purpureus*) as an antioxidant additive to biodiesel

Abstract: There is a growing interest in advancing the development of biofuels, with biodiesel entering the Brazilian national market. The oxidative stability of biodiesel, or induction period (IP), is one of the important factors for determining the quality of this biofuel, thus allowing its commercialization and ensuring its validity during storage. Biodiesel is formed by methyl or ethyl esters with the presence of unsaturations from the raw material used in the synthesis, making it susceptible to the oxidation reaction. Natural extracts are replacing antioxidant additives of synthetic origin. This research aimed to evaluate the influence of adding lab lab leaves extract as a natural antioxidant additive on the oxidative stability of biodiesel and kinetic parameters. Samples containing extract showed higher induction periods and lower rate constants when compared to the control in the test at a temperature of 110°C. Since the leaves have low costs, lab lab extract with antioxidant properties has potential for commercial application to increase the oxidative stability of biodiesel.



Introdução

O biodiesel é listado como uma fonte alternativa de energia com a crescente preocupação mundial de minimizar o impacto ambiental e fornecer energia de forma sustentável, renovável e biodegradável. A estabilidade oxidativa do biodiesel, ou período de indução (PI), é um dos fatores importantes para determinar a qualidade deste biocombustível, permitindo assim sua comercialização e garantindo sua validade durante o armazenamento. Este parâmetro deve seguir as especificações estabelecidas pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. A estabilidade oxidativa do biodiesel é normalmente realizada pelo método de degradação acelerada utilizando equipamento Rancimat, a uma temperatura de 110°C, que fornece o período de indução (PI), cujo valor em horas é estabelecido pela resolução ANP n° 798. A legislação brasileira exige um mínimo de 12h (BRASIL, 2019) e a norma internacional EN 14214 exige 8 h para a comercialização deste biocombustível.

A estabilidade oxidativa do biodiesel também está relacionada à quantidade de carbonos insaturados presentes na matéria-prima utilizada em sua síntese, à presença de contaminantes inorgânicos (SUI *et al.*, 2021; CHENDYNSKI *et al.*, 2019), assim como às condições em que foi submetido o produto durante o processamento e armazenamento e à adição de moléculas ou extratos com propriedades antioxidantes (CLEMENTE *et al.*, 2023; CORREIA *et al.*, 2020). Muitos antioxidantes têm sido estudados e comercializados com o propósito de retardar e inibir a reação radicalar oxidativa de óleos, gorduras e biodiesel. Compostos sintéticos são comumente utilizados, como terc-butilhidroquinona (TBHQ), butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT) e propilgalato (PG). Os problemas com antioxidantes sintéticos são seu alto custo, baixa biodegradabilidade e alta toxicidade (BRANCO *et al.*, 2024).

Extratos de plantas que são compostos por substâncias com propriedades antioxidantes são uma alternativa aos antioxidantes sintéticos, como os produzidos a partir de cascas e sementes de frutas (WITT *et al.*, 2022), especiarias (RÉ; DEL JORGE, 2012), frutas (CHENDYNSKI *et al.*, 2019; CORREIA *et al.*, 2020; SOUSA *et al.*, 2014), folhas (BRANCO *et al.*, 2024) e flores (CLEMENTE *et al.*, 2023; SOUSA *et al.*, 2014). Adicionar pequenas quantidades de extratos antioxidantes para diminuir a constante de velocidade da reação de oxidação é a forma mais econômica para atender a legislação vigente.

A composição química do biodiesel varia de acordo com a matéria-prima utilizada e é necessário estudar alternativas para que se encontre a opção mais adequada para aumentar o tempo de armazenamento deste produto (SOUSA *et al.*, 2020). Segundo Branco *et al.* (2024), a utilização de extratos produzidos a partir de matérias-primas não comestíveis como cascas, folhas e flores é uma alternativa interessante para o biodiesel atender à legislação vigente, aumentando a qualidade deste biocombustível e o tempo de armazenamento, favorecendo a comercialização.

O lab lab *Lablab purpureus*, leguminosa escolhida para este projeto, é uma espécie de origem africana, de ciclo anual ou bianual, hábito de crescimento indeterminado, clima tropical, não tolera geadas, temperaturas adequadas para crescimento entre 18 e 25° C, com notável estimativa de fixação biológica de nitrogênio de até 180 kg/ha/ano (WUTKE; CALEGARI; WILDNER, 2014). Calegari (2014) descreve a importância da promoção da conservação e recuperação de solos degradados, redução da perda de umidade do solo, economia de mão de obra e energia durante o ano agrícola, reequilíbrio de nutrientes no solo e redução dos custos de produção. Segundo Simioni *et al.* (2014), a fixação biológica de nitrogênio por bactérias simbióticas e sua transferência para as gramíneas, direta ou indiretamente, com aumento da fertilidade do solo, melhorias na produção animal e redução dos custos de produção, são destaques entre os benefícios que as leguminosas podem trazer aos sistemas de produção animal. O lab lab é uma espécie versátil que pode ser utilizada para alimentação animal na forma de pastejo ou corte para servir no cocho e é considerada uma excelente fonte de proteínas vegetais, pois suas sementes e vagens contêm de 20% a 28% de proteína. Pode ser utilizada como feno ou silagem e, além das folhas e talos, também podem ser utilizados grãos, raízes e vagens. A cultura também é fonte de carboidratos, gorduras, fibras e minerais (fósforo, cálcio, ferro) (NAEEM *et al.*, 2023).

Silva *et al.* (2006), estudando a produção e composição química da parte aérea de diferentes plantas de cobertura do solo, verificaram que o lab lab tem um potencial de produção em torno de 22



e 6,3 toneladas/ha de massa verde e massa seca, respectivamente. Os mesmos autores verificaram que a composição química em nitrogênio é próxima de 1,7% (10,62% de proteína bruta), 2,65% de cálcio e 0,23% de fósforo. Benício *et al.* (2011) constataram que a leguminosa lab lab apresentou melhores resultados em termos de produção de biomassa fresca e seca e justificaram esses resultados pela espécie possuir ciclo vegetativo mais longo.

Lab lab é uma leguminosa multifuncional, fonte de produtos comestíveis (grão e vagem), utilizada como forragem, adubo verde, como fonte de compostos com potencial farmacêutico e possui grande importância econômica (NAEEM *et al.*, 2023). Também pode ser utilizada na alimentação humana conforme Silva (2022): “Quando utilizada na alimentação humana, é consumida na forma de vagens verdes ou sementes maduras e as folhas como vegetais”.

O lab lab é popularmente conhecido no Brasil pelos nomes: feijão mangalô, feijão lablab ou orelha-de-padre, sendo utilizada na adubação verde, para recuperação de terras degradadas, fonte de sustento na agricultura familiar e como forragem nos meses de inverno (SANTOS *et al.*, 2017; MURPHY; COLUCCI, 1999). O presente trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência do extrato natural lab lab, quando adicionado ao biodiesel, por meio do monitoramento da reação de oxidação, na temperatura de 110 °C, pois o lab lab é uma leguminosa de baixo custo comumente cultivada em território brasileiro. Além disso, foi possível avaliar a constante de velocidade da reação de oxidação do biodiesel.

Materiais e métodos

a) Plantio do lab lab

O presente trabalho foi desenvolvido em uma unidade familiar rural cedida por um aluno vinculado ao projeto e aos Laboratórios de Agroecologia e Homeopatia do Instituto Federal do Paraná (IFPR) Campus Ivaiporã. As sementes de Lab Lab (*Lablab purpureus*) foram oriundas de estudantes Guardiões de Sementes que estão cultivando a espécie na safra 2021/2022. No presente projeto foram avaliados os produtos alternativos no tratamento das sementes e das plantas da leguminosas forrageiras Lab lab (*Lablab purpureus*).

O delineamento experimental utilizado foi DIC (delineamento inteiramente casualizado) em esquema bi fatorial (7x2), com 5 repetições por tratamento. Os fatores utilizados foram: Homeopatia, Testemunha (água destilada), *Carbo vegetabilis* 6 e 30 CH, *Phosphorus* 6 CH e *Arsenicum album* 6 e 30 C e Super magro. Água destilada foi utilizada como controle. As avaliações com o fator homeopatia foram conduzidas às cegas. As homeopantias foram preparadas conforme as normas da Farmacopeia Homeopática (BRASIL, 2011a) a partir de matrizes adquiridas em farmácias. Foram preparadas e utilizadas no mesmo dia, utilizando água destilada como diluente inerte. A Solução Eficiente de Microrganismos utilizada foi preparada conforme metodologia proposta por Casali (2020).

O experimento foi instalado em área exposta a pleno sol com 0,60 m entre cada unidade experimental. As sementes adquiridas em laboratório estavam isentas de qualquer tratamento e uso de inoculantes. As plantas foram cultivadas em vasos com volume aproximado de 5 litros. O substrato utilizado para o cultivo foi solo (30%), areia (20%), substrato (30%) e esterco bovino (20%). O solo utilizado é caracterizado como latossolo vermelho, retirado da propriedade rural Josiane localizada em Lunardeli-PR. Foram semeadas três sementes em cada vaso e posteriormente desbastadas. As aplicações dos preparados homeopáticos foram realizadas como tratamento de sementes, no momento do plantio e nas plantas semanalmente e com uso de pulverizador manual, simulando uma situação de campo de pulverização. Para cada tratamento foi utilizado um borrifador específico e devidamente identificado durante todo o período do experimento. A solução aplicada foi composta por 2% do medicamento homeopático e 98% de água isenta de cloro (água de poço artesiano). O tratamento controle para o fator homeopatia foi água destilada dinamizada (diluição + sucussão) com o mesmo soluto inerte utilizado em medicamentos homeopáticos. As folhas foram colhidas no estágio vegetativo 80 dias após o plantio.

As análises estatísticas dos resultados foram realizadas utilizando o aplicativo Excel® por meio



de análise de variância, ANOVA, e quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com $p \leq 0,05$. Foram utilizadas cinco repetições por tratamento.

b) Obtenção de extratos naturais

Foram preparados extratos alcoólicos de folhas de lab lab (*Lablab purpureus*). As folhas de lab lab foram coletadas de uma unidade familiar rural. Primeiramente, as amostras de folhas de lab lab foram secas em estufa a 50°C até peso constante. Em seguida, as amostras foram trituradas. Foram pesados 5 g de amostras secas, misturadas com 125 mL de álcool etílico absoluto ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, Anidrol, 99,8%) e deixadas em repouso ao abrigo da luz por 48 h. Em seguida, os extratos foram filtrados com papel quantitativo de banda azul (ROMAGNOLI *et al.*, 2018).

c) Análise quantitativa de compostos fenólicos totais

A quantificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos alcoólicos naturais preparados foi realizada no laboratório de microbiologia do Instituto Federal do Paraná (IFPR) Campus Ivaiporã por espectrometria UV-Vis em equipamento Thermo Scientific (modelo: Evolution 60), na faixa de 760 nm, utilizando o método de Folin-Ciocalteu. A metodologia de Kumazawa *et al.* (2004) foi adaptada para as concentrações dos extratos. Foi utilizada concentração do reagente de Folin (0,2 N) e para a solução de carbonato de sódio (7,5% (m/m)). Os extratos foram diluídos para adequar as leituras de absorvância no equipamento. Os volumes foram estipulados por estudos preliminares para que os valores de absorvância fossem quantificados dentro da faixa da curva analítica. Uma alíquota de 0,5 mL foi adicionada a 5 mL de água destilada em um tubo de ensaio. Para o branco, foram adicionados ao tubo de ensaio: 0,5 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente Folin Ciocouteau 0,2 N e 0,5 mL de solução de Na_2CO_3 a 10%. Para padrões ou amostras, foram adicionados aos tubos de ensaio: 0,5 mL de padrão ou amostra, 0,5 mL de reagente Folin Ciocouteau 0,2 N e 0,5 mL de solução de Na_2CO_3 a 10%. As amostras foram homogeneizadas e mantidas longe da luz por uma hora e então centrifugadas e a análise de absorvância foi realizada a 760 nm. O conteúdo fenólico total foi expresso em equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de matéria seca (ROMAGNOLI *et al.*, 2018).

Os valores do teor de compostos fenólicos totais das amostras foram comparadas pelo teste de Tukey com $p \leq 0,05$ pelo software Statistica v.12.

d) Preparo da amostra

A reação de transesterificação de triglicerídeos de óleo de palma comercial (50% m/m) com óleo de soja comercial (50% m/m) foi realizada com metanol absoluto (CH_3OH , FMaia, 99,8%) e hidróxido de potássio (KOH, SIGMA-ALDRICH, 95%) como catalisador. Foi utilizada uma concentração de KOH de 0,8 g em 50 mL de metanol, sob refluxo, aquecimento a 60 °C e agitação por 2 h. As fases foram separadas em um funil de separação e então o biodiesel foi lavado, primeiramente, com uma solução aquosa de ácido clorídrico e depois com água, ambas a 80 °C, até pH neutro. Então, o biodiesel foi desumidificado em estufa a 140 °C. Amostras com adição de extrato de folhas de lab lab foram preparadas individualmente adicionando 20 mL de cada extrato a 50 g de biodiesel e mantidas em repouso por 24 horas. A estabilidade oxidativa do biodiesel controle e de cada amostra contendo o extrato natural foi analisada utilizando o equipamento Rancimat modelo 743 (Metrohm Instruments®) de acordo com as especificações estabelecidas pela norma EN14112.

e) Constante de velocidade da reação de oxidação

As constantes de velocidade (k) foram determinadas para cada ensaio considerando a reação de primeira ordem com os dados ajustados do logaritmo natural (\ln) da condutividade elétrica vs tempo, fornecidos pelo teste de estabilidade oxidativa acelerada (EN14112), a uma temperatura de 110 °C (CLEMENTE *et al.*, 2023). De acordo com a equação 2, a inclinação corresponde à constante de velocidade (k) da reação de oxidação do biodiesel.



$$\ln \Lambda_0 = k(t_f - t_i) + \ln \Lambda \quad (2)$$

Onde Λ é a condutividade elétrica no tempo t ; Λ_0 é a condutividade inicial e t_i e t_f correspondem ao tempo inicial e final, respectivamente.

Os valores da constante de velocidade de reação das amostras foram comparadas pelo teste de Tukey com $p \leq 0,05$ pelo software Statistica v.12.

f) Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de arranjo de fotodiodos (HPLC-PDA)

A análise cromatográfica foi realizada em um cromatógrafo líquido Finnigan Surveyour Thermo Scientific equipado com um detector de arranjo de fotodiodos (HPLC-PDA). A separação foi feita em gradiente de eluição a uma temperatura controlada de 20 °C e vazão de 1,0 L min⁻¹. O sistema solvente da fase móvel consistiu de água ultrapura (A) e acetonitrila (B), com um gradiente de eluição de 5 a 70% B em 28 min, 70% B entre 28 e 40 min, e 70 a 100% B entre 40 e 60 min. A coluna utilizada foi ACE5 C 18 (250 mm x 4,6 mm i.d., tamanho de partícula: 5 µm) e volume de injeção de 20 µL. Em seguida, 10 µL do extrato foram adicionados em 1990 µL de água ultrapura (A) (18,2 MΩcm) e filtrados através de uma membrana de PTFE-20/25-0,20 µm (Chromafil Xtra®). Os dados foram processados usando o programa ChromQuest 4.2.

Resultados e Discussão

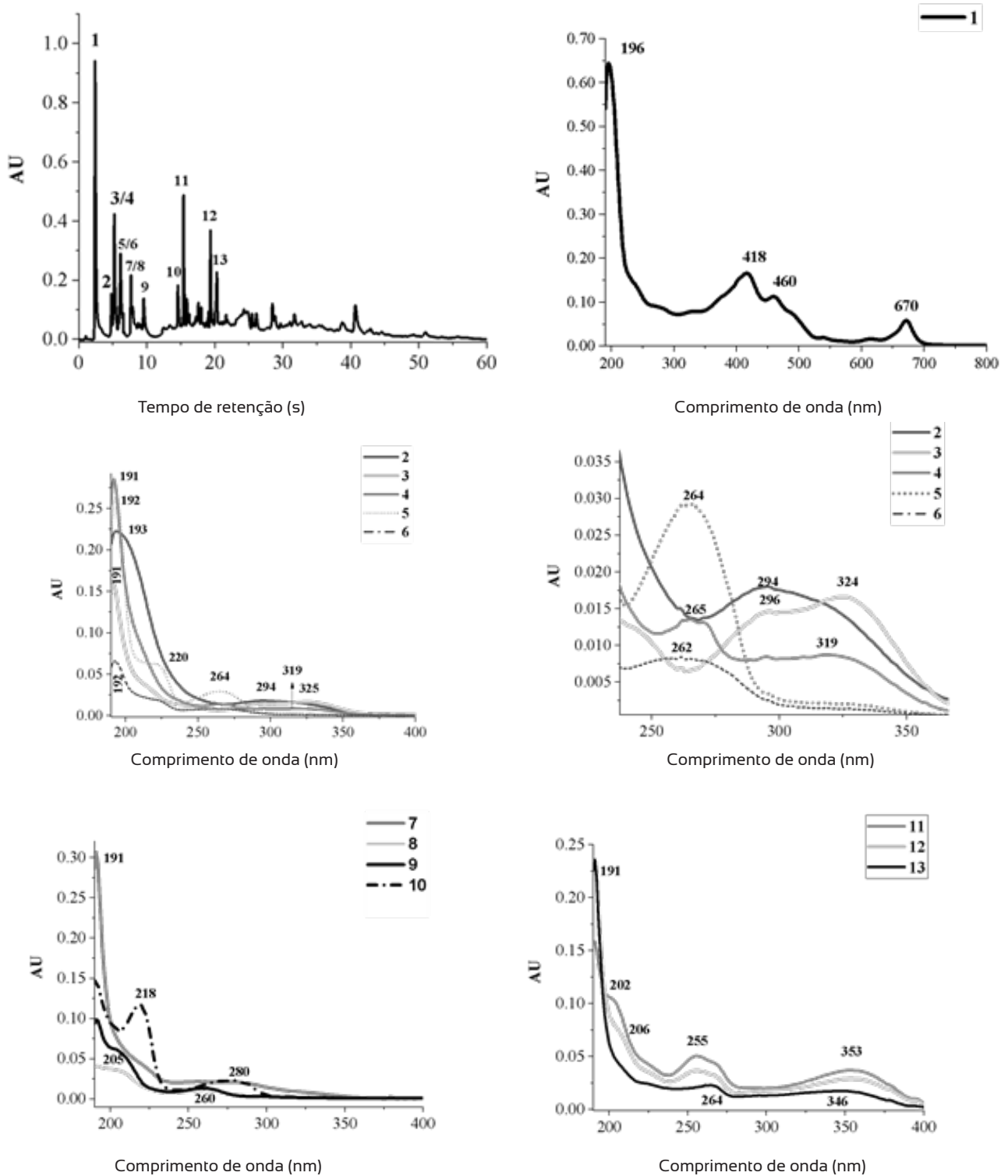
Compostos de origem vegetal podem apresentar grupos fenólicos com propriedades antioxidantes. Essas substâncias podem estar retardando ou inibindo reações de oxidação radicalar quando adicionadas aos produtos (CORREIA *et al.*, 2020). A extração de compostos fenólicos de plantas é influenciada pela polaridade do solvente. A extração com etanol se destaca por apresentar menor toxicidade quando comparada a outros solventes orgânicos (ALARA *et al.*, 2021).

O extrato alcoólico de folhas de *Lablab* foi submetido à análise da concentração de fenólicos totais usando o método de Folin-Ciocalteu. Os fenóis possuem um ou mais grupos hidroxila em suas estruturas químicas, proporcionando proteção ao biodiesel, gorduras e óleos contra reações oxidativas. Os dados de absorvância das amostras foram correlacionados com a curva analítica de $Abs = 0,00623 [\text{fenóis}] + 0,00493$ e $R = 0,999$. O teor médio total de fenólicos, expresso em equivalente de ácido gálico (EAG), no extrato obtido foi de 5,14 EAG g⁻¹ (massa seca) e os valores variaram de 3,40 a 6,62 EAG g⁻¹(massa seca). O teor de umidade da amostra final foi calculado e inserido no cálculo dos compostos fenólicos totais. Os diferentes tratamentos não apresentaram diferença significativa no nível de 95% pelo teste de Tukey com $p=0,11$ para os oito tratamentos e as cinco repetições, variando $0,058 < p < 1,000$. Para o teste de Levene, a hipótese da homogeneidade das variâncias foi aceita porque $p = 0,12$, ou seja, $p > 0,05$ (CALADO, MONTGOMERY, 2003).

É possível verificar a diferença da impressão digital metabólica no extrato de *Lablab purpureus* através da separação cromatográfica mostrada na Figura 1. Os espectros de absorção molecular para os respectivos picos cromatográficos demonstram a presença de diferentes classes metabólicas. O extrato das folhas de *Lablab purpureus* exibiu 13 picos cromatográficos principais (Fig 1A). O pico 1 é característico do pigmento como clorofila a ou seu derivado com absorção na região visível (670 nm) (CUI *et al.* 2016, MARCHEFAVE *et al.* 2019). Os picos 2 e 3 são característicos do derivado hidroxilado do ácido cinâmico, uma subclasse de ácidos fenólicos, como ácido p-cumárico (pico 2) (MIYAGUSUKU-CRUZADO *et al.*, 2020; GAO *et al.*, 2017) com absorção na região de 294 nm; e ácidos clorogênicos ou ácidos trans-cinâmicos (pico 3) com bandas de absorção em 296 e 323 nm (ANOUAR *et al.*, 2009; GAO *et al.*, 2017; MIYAGUSUKU-CRUZADO *et al.*, 2023). Os picos 5 a 8 podem ser de ácidos fenólicos com bandas em 260-265 nm como de sua subclasse derivada de ácido benzoico. Os picos 4, 11-13 têm perfis espectrais característicos para flavonoides. O espectro UV para esta classe consiste em dois máximos de absorção, um no intervalo de 240-285 nm.



Figura 1 - Cromatograma HPLC-PDA do extrato da planta *Lablab purpureus*.



Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

A Tabela 1 mostra os valores do período de indução (PI), em h, na temperatura de 110° C para as amostras de biodiesel com adição de extratos de lab lab com diferentes tratamentos e para a amostra controle. Pode-se observar que as amostras de biodiesel com adição de extrato de folhas



de Lab Lab obtiveram aumento no período de indução quando comparadas ao controle (Tabela 1). Os diferentes tratamentos não foram significativos ao nível de 95% pelo Teste de Tukey empregando o software STATISTICA v.12, apresentando um valor médio de PI de 5,63. Além disso, é possível verificar que os valores de PI com adição de extratos são próximos, indicando que não houve diferença significativa ($p = 0,88$) em relação ao valor médio no nível de 95% pelo teste de Tukey nos compostos fenólicos totais obtidos nas folhas com diferentes tratamentos de cultivo das plantas. Houve diferença significativa entre o controle e as demais amostras com $p = 1,45 \times 10^{-5}$ no nível de 95% pelo teste de Tukey.

Tabela 1 - Período de indução (PI) obtido para controle e amostras com extrato de lab lab.

Amostra	PI(h)
Controle (Apenas biodiesel)	1,94
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Sulphur 6CH)	5,66
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Phosphorus 6CH)	5,70
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Ácido giberélico 6CH)	5,72
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Água destilada 1CH)	5,71
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Sulphur 30CH)	5,68
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Ácido giberélico 30CH)	5,82
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Super Magro)	5,34
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Super Magro)	5,40
Média das amostras com extrato	5,63

Fonte: Elaborado pelos autores.

Diferentemente dos combustíveis derivados do petróleo, que são inertes, o biodiesel é degradado pelo oxigênio devido à presença de ésteres com ligações duplas presentes em sua composição, oriundos das matérias-primas utilizadas na síntese. Luz, temperatura, umidade, pigmentos e elementos metálicos podem catalisar a diminuição da estabilidade do biodiesel durante seu armazenamento e comercialização. Portanto, reduzir a constante de velocidade de reação de oxidação (k) sem alterar os parâmetros físico-químicos do biodiesel é necessário para produtores e fornecedores de combustível, aumentando a vida útil do produto (SOUSA *et al.*, 2014).

Segundo Branco *et al.* (2024), a análise do período de indução permite estimar o tempo de armazenamento do biodiesel sem comprometer a qualidade. A taxa de reação indica a velocidade da reação de oxidação do biodiesel, uma reação radicalar e irreversível. Portanto, valores baixos da taxa reacional permitem tempos de armazenamento maiores.

Compostos com propriedades antioxidantes podem ocorrer em frutas, vegetais, sementes, folhas e cascas (AKBARIRAD *et al.*, 2016). Extratos naturais produzidos com plantas podem substituir antioxidantes sintéticos, pois são constituídos por compostos fenólicos e apresentam baixa toxicidade. Orégano, manjeriço e alecrim (SPACINO *et al.*, 2016), gergelim, grão-de-bico, manjeriço doce, café (JEYAKUMAR *et al.*, 2022), folhas de sálvia e café arábica (GREGÓRIO *et al.*, 2018), amora, folhas de sene e hibisco (ROMAGNOLI *et al.*, 2018) podem ser destacados na produção de extratos com propriedades antioxidantes.

A adição de moléculas com propriedades antioxidantes inibe as etapas de iniciação e propagação de radicais livres, minimizando assim a formação de peróxidos, aldeídos, cetonas e



polímeros. Aditivos antioxidantes são amplamente utilizados em alimentos processados, produtos farmacêuticos, combustíveis, lubrificantes e petroquímicos. Aditivos sintéticos são incorporados para aumentar o tempo de armazenamento do biodiesel, bem como atender à legislação vigente. Butil-hidroxianisol (BHA), terc-butil-hidroquinona (TBHT), butil-hidroxitolueno (BHT) e galato de propila (PG) são alguns exemplos. Como os aditivos antioxidantes comerciais são geralmente caros, produzidos a partir de materiais não renováveis e tóxicos, há um interesse crescente em desenvolver alternativas aos aditivos de baixo custo obtidos a partir de biomassa ou resíduos. Os componentes fenólicos presentes nos extratos naturais permitem um aumento no tempo de armazenamento do biodiesel (CORREIA *et al.*, 2020).

A Tabela 2 apresenta os valores da constante de velocidade (k) obtidos no ensaio a 110°C. A constante de velocidade das reações de oxidação do biodiesel diminuiu com a adição do extrato de lab lab, portanto o aditivo tem atividade antioxidante, retardando a reação de oxidação. O controle e as amostras apresentaram diferença significativa pelo teste de Tukey a nível de 95% com $p = 0,001$. Os diferentes tratamentos não foram significativos no nível de 95% pelo teste de Tukey com $p = 0,64$, considerando um valor k médio de 0,49. Valores pequenos indicam uma reação de oxidação lenta e, conseqüentemente, um tempo maior de armazenamento do biodiesel (CHENDYNSKI *et al.*, 2019). Essa atividade antioxidante é explicada devido à presença de compostos fenólicos no extrato de lab lab, e esse resultado concorda com outras plantas listadas na literatura.

Tabela 2 - Constante de velocidade da reação de oxidação do biodiesel com a adição do extrato e do controle.

Amostra	k (s ⁻¹)
Controle (Apenas biodiesel)	1,57
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Sulphur 6CH)	0,51
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Phosphorus 6CH)	0,44
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Ácido giberélico 6CH)	0,47
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Água destilada 1CH)	0,45
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Sulphur 30CH)	0,50
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Ácido giberélico 30CH)	0,50
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Super Magro)	0,52
Biodiesel + extrato de lab lab (Tratamento com Super Magro)	0,49
Média das amostras com extrato	0,49

Fonte: Elaborado pelos autores.

A atividade antioxidante dos compostos naturais se deve às composições químicas, com destaque para os ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas, ácidos orgânicos, quinonas, pigmentos. Os compostos fenólicos possuem um ou mais anéis benzênicos com um ou mais grupos hidroxila originários do metabolismo vegetal, sendo classificados como metabólitos secundários. Os flavonóis, flavanonas, isoflavonas, flavan-3-óis, flavonas e antocianinas são classificados como flavonoides, com as antocianinas fornecendo cores alaranjadas, avermelhadas, azuladas e arroxeadas. Os ácidos fenólicos são representados por subclasses de ácidos hidroxicinâmicos como os ácidos cafeico e *p*-cumárico, e ácidos hidroxibenzóicos como o ácido gálico (HAMINIUK *et al.*, 2012).

Conclusões

Não houve diferença significativa no teor de fenóis totais entre os tratamentos homeopáticos e o controle no nível de 95% pelo Teste de Tukey com $p = 0,11$. O teor de fenóis totais no extrato alcoólico da planta de laboratório foi em média 5,14 EAG g⁻¹(massa seca). O extrato obtido tem potencial



como aditivo antioxidante natural na redução da constante de velocidade da reação de oxidação do biodiesel, possibilitando aumento do período de indução e, conseqüentemente, aumento do período de armazenamento deste biodiesel. Para atingir o mínimo legislado, recomenda-se que maiores quantidades do extrato sejam adicionadas, pois o período de indução varia conforme a quantidade de insaturações presentes nas matérias-primas utilizadas na síntese.

Agradecimentos

Agradecemos à Pró-Reitoria de Extensão, Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação do Instituto Federal do Paraná pela concessão de bolsa de Iniciação Científica e recursos para a pesquisa. Além disso, agradecemos aos Laboratórios de Quimiometria em Ciências Naturais e de Pesquisa e Análise de Combustíveis (LPAC) da Universidade Estadual de Londrina (UEL), CNPq e Capes pelas análises.

Referências

AKBARIRAD, H.; ARDABILI, A. G.; KAZEMEINI, S. M., & KHANEGHAH, A. M. An overview on some of important sources of natural antioxidants. **International food research journal**, v. 23, n. 3, 2016. ([http://www.ifrj.upm.edu.my/23%20\(03\)%202016/\(3\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/23%20(03)%202016/(3).pdf))

ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; UKAEGBU, C. I.I. Extraction of phenolic compounds: A review. **Current research in food science**, v. 4, p. 200-214, 2021. (doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011)

ANOUAR, E.; KOŠINOVÁ, P.; KOZLOWSKI, D.; MOKRINI, R.; DUROUX, J. L.; TROUILLAS, P. New aspects of the antioxidant properties of phenolic acids: a combined theoretical and experimental approach. **Physical chemistry chemical physics**, v. 11, n. 35, p. 7659-7668, 2009. (doi.org/10.1039/b904402g)

AKBARIRAD, H.; ARDABILI, A. G.; KAZEMEINI, S. M.; KHANEGHAH, A. M. An overview on some of important sources of natural antioxidants. **International food research journal**, v. 23, n. 3, 2016. ([http://ifrj.upm.edu.my/23%20\(03\)%202016/\(3\).pdf](http://ifrj.upm.edu.my/23%20(03)%202016/(3).pdf))

BRANCO, I. G.; CAMPOS, J. W.; SILVA, N. F.; CLEMENTE, M. A. J.; MANTOVANI, A. C. G.; CHENDYNSKI, L. T.; BORSATO, D. Mathematical modeling of the biodiesel oxidation process in the presence of natural ethanolic extracts of jaboticaba peels, gabirola leaves, and hibiscus flowers. **Química Nova**, v. 47, p. e-20230090, 2024. (doi.org/10.21577/0100-4042.20230090)

BRASIL. RESOLUÇÃO, ANP N°. 798, Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis de 01.08.2019–DOU 02.08. 2019

BENÍCIO, L. P. F.; MOREIRA, V. F.; LIMA, S. D. O.; PEREIRA, A. J.; RODRIGUES, H. V. M.. Productivity of aboveground and protein value forage legume species, cultured in the cerrado tocantinense.2011.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. **Planejamento de experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro: E-Papers Serviços Editoriais, 2003.

CALEGARI, A. Perspectivas e estratégias para a sustentabilidade e aumento da biodiversidade em sistemas agrícolas com o uso de adubos verdes. In: LIMA FILHO, O. F. *et al.* (ed) **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 1 v. p 21 - 36. Cap. 01. (ISBN 978-65-86056-63-1 v. 1/ <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1161208/adubacao-verde-e-plantas-de-cobertura-no-brasil-fundamentos-e-pratica-volume-1>)

CLEMENTE, M. A., MARCHEFAVE, G. G., BRANCO, I. G., CANESIN, E. A., MANTOVANI, A. C. G., CHENDYNSKI, L. T., BORSATO, D. (2023). Study of the addition of Gabirola leaves extract in the biodiesel oxidation reaction in the presence of metal ions. **Biofuels**, 1-6. (doi.org/10.1080/17597269.2023.2191388)

CHENDYNSKI, L. T., ROMAGNOLI, É. S., MANTOVANI, A. C. G., KIMURA, M., MARQUES, L. C., & BORSATO, D. Influence of copper and metallic alloys on the oxidation reaction of commercial biodiesel in mixture with natural antioxidant. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 90-96, 2019. (doi.org/10.21577/0103-5053.20180157)



- CORREIA, I. A. S.; BORSATO, D.; SAVADA, F. Y.; PAULI, E. D., MANTOVANI, A. C. G., CREMASCO, H.; CHENDYNSKI, L. T. Inhibition of the biodiesel oxidation by alcoholic extracts of green and black tea leaves and plum pulp: Application of the simplex-centroid design. **Renewable Energy**, v. 160, p. 288-296, 2020. (doi.org/10.1016/j.renene.2020.06.118)
- DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Spices as natural antioxidants: their application in food and implication for health. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 14, p. 389-399, 2012. (doi.org/10.1590/S1516-05722012000200021)
- EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. EN 14112: Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test). 2016.
- EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. EN 14214: Automotive fuels. Fatty acid methyl esters (FAME) for diesel engines-Requirements and test methods. 2019.
- GAO, Y.; MA, S.; WANG, M.; FENG, X.-Y. Characterization of free, conjugated, and bound phenolic acids in seven commonly consumed vegetables. **Molecules**, v. 22, n. 11, p. 1878, 2017. (doi.org/10.3390/molecules22111878)
- GRASEL, F. S.; FERRÃO, M. F.; WOLF, C. R.. Ultraviolet spectroscopy and chemometrics for the identification of vegetable tannins. **Industrial Crops and Products**, v. 91, p. 279-285, 2016. (doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.022)
- GREGÓRIO, A. P. H.; ROMAGNOLI, E. S.; BORSATO, D.; GALVAN, D.; SPACINO, K. R. Kinetic and thermodynamic parameters in biodiesel oxidation reaction in the presence of coffee leaves and sage extracts. **Sustainable Energy Technologies and Assessments**, v. 28, p. 60-64, 2018. (doi.org/10.1016/j.seta.2018.06.008)
- HAMINIUK, Charles W. *et al.* Phenolic compounds in fruits—an overview. *International Journal of Food Science & Technology*, v. 47, n. 10, p. 2023-2044, 2012. (doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x)
- JEYAKUMAR, N., HUANG, Z., BALASUBRAMANIAN, D., LE, A. T., NGUYEN, X. P., PANDIAN, P. L., & HOANG, A. T. Experimental evaluation over the effects of natural antioxidants on oxidation stability of binary biodiesel blend. **International Journal of Energy Research**, 2022. (doi.org/10.1002/er.7956)
- KUMAZAWA, S., HAMASAKA, T., & NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food chemistry**, v. 84, n. 3, p. 329-339, 2004. (doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00216-4)
- MANTOVANI, A. C. G.; CHENDYNSKI, L. T.; GALVAN, D.; BORSATO, D.; MAURO, E. D. Evaluation of the oxidation degradation process of biodiesel via ¹H NMR spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 1661-1667, 2020. (doi.org/10.21577/0103-5053.20200052)
- MIYAGUSUKU-CRUZADO, Gonzalo *et al.* Monitoring hydroxycinnamic acid decarboxylation by lactic acid bacteria using high-throughput UV-Vis spectroscopy. **Molecules**, v. 25, n. 14, p. 3142, 2020. (doi.org/10.3390/molecules25143142)
- MIYAGUSUKU-CRUZADO, Gonzalo *et al.* High yield production of cyanidin-derived pyranoanthocyanins using 4-vinylphenol and 4-vinylguaiacol as cofactors. **Food Chemistry**, v. 427, p. 136705, 2023. (doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136705)
- MURPHY, A. M.; COLUCCI, P. E. A tropical forage solution to poor quality ruminant diets: A review of *Lablab purpureus*. **Livestock Research for Rural Development**, v. 11, n. 2, p. 1999. (<https://lrrd.cipav.org.co/lrrd11/2/colu12.htm>)
- NAEEM, M. *et al.* Lablab bean (*Lablab purpureus* L.)—An untapped resilient protein reservoir. **Neglected and Underutilized Crops**, p. 391-411, 2023. (doi.org/10.1016/B978-0-323-90537-4.00018-1)
- ROMAGNOLI, É. S., BORSATO, D., SILVA, L. R. C., CHENDYNSKI, L. T., ANGILELLI, K. G., & CANESIN, E. A. Kinetic parameters of the oxidation reaction of commercial biodiesel with natural antioxidant additives. **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 59-64, 2018. (doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.077)
- SANTOS, W. P.; RIBEIRO, N. M.; GERREIRO, E. S.; NANO, R. M.; BENEVIDES, C. M.; LOPES, M. V.; MIRANDA, K. E. Prospecção tecnológica de leguminosas na produção de alimentos funcionais destinados ao setor de panificação e confeitaria. **Cadernos de Prospecção**, v. 10, n. 4, p. 919-919, 2017. (doi.org/10.9771/cp.v10i4.23091)
- SILVA, S. dos A. B. E.; SILVA, M. S. L. da, FERREIRA, G. B. **Produção e composição nutricional de espécies para cobertura do solo**. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA, 16., 2006, Aracaju. Resumos e palestras... Aracaju: SBCS; UFS: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. Disponível em: <



<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/157472/1/OPB938.pdf>>. Acesso: 27 jun. 2021

SILVA, E. D.; ROCHA MATOS, H. R.; BARROS, B. G. A.; DE OLIVEIRA, F. J. V. Esterco caprino na composição de substratos para germinação e emergência de *Lablab purpureus*. **Scientific Electronic Archives**, v. 15, n. 1, 2022. (doi.org/10.36560/15120221505)

SIMIONI, T.A. *et al.* Potencialidade da consorciação de gramíneas e leguminosas forrageiras em pastagens tropicais. **PUBVET**, Londrina, v. 8, n. 13, ed. 262, Art. 1742, jul., 2014. (doi.org/10.22256/pubvet.v8n13.1742)

SOUSA, L. S.; DE MOURA, C. V. R.; DE OLIVEIRA, J. E.; DE MOURA, E. M.L. Use of natural antioxidants in soybean biodiesel. **Fuel**, v. 134, p. 420-428, 2014. (doi.org/10.1016/j.fuel.2014.06.007)

SOUSA, L. S.; DE MOURA, C. V. R.; DE MOURA, E. M. Influence of binary, ternary and quaternary mixtures on oxidative stability and study of kinetics and thermodynamic parameters of the degradation process of soybean biodiesel. **Fuel**, v. 259, p. 116235, 2020. (doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116235)

SPACINO, K. R., DA SILVA, E. T., ANGILELLI, K. G., MOREIRA, I., GALAO, O. F., & BORSATO, D. Relative protection factor optimisation of natural antioxidants in biodiesel B100. **Industrial Crops and Products**, v. 80, p. 109-114, 2016. (doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.034)

SUI, M.; CHEN, Y.; LI, F.; WANG, H. Study on transition metal ion Fe³⁺ catalyzed biodiesel oxidation and inhibition mechanism. **Fuel**, v. 303, p. 121288, 2021. (doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121288)

TANIGUCHI, Kenkichi *et al.* Conversion of benzyl phenyl ether to monoaromatics in high-temperature aqueous ethanol solution under high-pressure carbon dioxide conditions. **New Journal of Chemistry**, v. 47, n. 27, p. 12561-12569, 2023. (doi.org/10.1039/D3NJ01773G)

WITT, E. D. P.; JOHANN, G.; TRIQUES, C. C.; DA SILVA, E. A.; SILVA, C.; BORSATO, D.; DA SILVA BAUMGARTNER, T. R. (2022). Potential application of supercritical extract of pomegranate peel as bio-antioxidant for biodiesel. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 41, n. 2, p. e13755, 2022. (doi.org/10.1002/ep.13755)

WUTKE, E. B.; CALEGARI, A.; WILDNER, L. P. Espécies de adubos verdes e plantas de cobertura e recomendações para seu uso. In: LIMA FILHO, O. F. *et al.* (ed) **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. v.1, p 59 - 167. Cap. 03. (ISBN 978-65-86056-63-1 v. 1/ <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1161208/adubacao-verde-e-plantas-de-cobertura-no-brasil-fundamentos-e-pratica-volume-1>)