



UNIFACS
UNIVERSIDADE SALVADOR
LAUREATE INTERNATIONAL UNIVERSITIES*

**UNIFACS UNIVERSIDADE SALVADOR
LAUREATE INTERNATIONAL UNIVERSITIES
MESTRADO EM ENERGIA**

IRAN TALIS VIANA SANTOS

**DETERMINAÇÃO DO TEOR DE BODIESEL EM SUAS MISTURAS COM ÓLEO
DIESEL POR CROMATOGRÁFIA A GÁS**

Salvador
2015

IRAN TALIS VIANA SANTOS

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE BIODIESEL EM SUAS MISTURAS COM ÓLEO DIESEL POR CROMATOGRAFIA A GÁS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Energia da UNIFACS Universidade Salvador, Laureate Internacional Universities, como requisito parcial, para a obtenção do título de Mestre em Energia.

Orientadores: Prof. Dr. Luiz Antônio Magalhães Pontes.

Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira.

Salvador
2015

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da UNIFACS Universidade Salvador,
Laureate Internacional Universities

Santos, Iran Talis Viana

Determinação do teor de biodiesel em suas misturas com diesel por cromatografia a gás / Iran Talis Viana Santos – Salvador–Ba, 2015.

122 f. : il.

Dissertação (mestrado) - UNIFACS Universidade Salvador, Laureate Internacional Universities, Mestrado em Energia, 2015.

Orientadores: Prof. Dr. Luiz Antônio Magalhães Pontes.

Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira.

1. Cromatografia. 2. Biodiesel. I. Pontes, José Luiz Antônio Magalhães, orient. II. Teixeira, Leonardo Sena Gomes, orient. II. Título.

CDD: 545

IRAN TALIS VIANA SANTOS

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE BODIESEL EM SUAS MISTURAS COM ÓLEO DIESEL POR CROMATOGRÁFIA A GÁS

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Energia, UNIFACS Universidade Salvador, Laureate Internacional Universities pela seguinte banca examinadora:

Luiz Antônio Magalhães Pontes - Orientador _____
Doutor em Engenharia Química, Universidade de Campinas (UNICAMP)
UNIFACS Universidade Salvador, Laureate Internacional Universities

Leonardo Sena Gomes Teixeira - Orientador _____
Doutor em Química pela Universidade Federal da Bahia - UFBA
Universidade Federal da Bahia - UFBA

Paulo Roberto Britto Guimarães _____
Doutor em Engenharia Química pela University of Leeds, Inglaterra
UNIFACS Universidade Salvador, Laureate Internacional Universities

Jackson da Silva Albuquerque _____
Doutor em Engenharia Química pelo Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia
Agência Nacional do Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis - ANP

Salvador, 29 de outubro de 2015.

Dedico esse trabalho à minha esposa Sandra, minhas filhas Ana, Marina, Mariana e Maria, pelo apoio incondicional em todos os momentos vividos, por ter compartilhado de todo o meu empenho para vencer mais uma luta.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me concedido perseverança para vencer mais esta batalha.

A minha família, pela força e por acreditarem na importância que representa este trabalho para mim.

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio Luiz Antônio de Magalhães Pontes, pela sua orientação, paciência, compreensão e incentivo para realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Britto Magalhães pelo apoio junto ao programa de monitoramento de qualidade de combustíveis (ANP/Unifacs), pois foi de grande importância para viabilizar tecnicamente o meu propósito analítico deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira, pelo incentivo constante, orientação presteza e dedicação à causa “Analítica”, com o qual pude contar sempre que senti necessidade.

A todos os companheiros da coordenação de química da Unifacs e do laboratório que de alguma forma contribuiu com a minha formação.

A Unifacs pelo apoio de toda a sua equipe administrativa, por ter ajudado na consolidação de mais uma etapa de crescimento profissional.

RESUMO

O biodiesel participa da matriz energética nacional como aditivo ao óleo diesel mineral. Para controle da proporção de biodiesel na mistura, a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) estabeleceu o método EN-14078:2003, que emprega a espectrometria na região do infravermelho médio (IR-mid). No método, determina-se, indiretamente, o teor de éster no combustível, através da banda de absorção do grupamento (C=O) presente somente no biodiesel. O método apresenta vulnerabilidade em relação à identificação dos triacilglicerídeos do óleo vegetal e/ou gordura animal *in natura*, pois o grupamento (C=O) também está presente no óleo mineral. Estudos mostram que as propriedades físico-químicas do combustível são alteradas em função do tipo e quantidade de ésteres do biodiesel. Assim, estes parâmetros devem ser monitorados, uma vez que a composição do biodiesel é função da matéria-prima utilizada em sua produção, influenciando na qualidade final do produto. Visando resolver esse problema, nesse trabalho foi desenvolvido um método analítico primário, empregando a cromatografia a gás unidimensional e detector de ionização de chama (DIC), para a determinação direta de cada tipo de éster no combustível, identificando a matéria-prima de origem e o teor dos ésteres presente no biodiesel, em suas misturas com óleo diesel. O método desenvolvido é livre de interferências do óleo ou gordura *in natura*. Desta forma, é possível, facilmente, identificar adulterações ou contaminações por óleo vegetal ou animal no combustível comercializado. Verificou-se que o método foi eficaz na separação, na identificação e na quantificação de ésteres em amostras de B1 a B20, podendo ser usado como método primário para análise do biodiesel nacional.

Palavras-chave: Cromatografia. Biodiesel. Misturas.

ABSTRACT

Biodiesel participates in the national energy matrix as an additive to mineral diesel. To control the proportion of biodiesel in the blend, the National Agency of Petroleum, Natural Gas, and Biofuels (ANP) established method EN-14078:2003, employing spectrometry in the mid infrared (IR-mid) region. In the method, the ester content in the fuel is determined indirectly through the absorption band of the grouping (C=O) present only in the biodiesel. The method is vulnerable to the identification of triacylglycerides from the vegetable oil and/or animal fat in nature, as the grouping (C=O) is also present in the mineral oil. Studies show that the physicochemical properties of the fuel are changed depending on the type and amount of biodiesel esters. Thus, these parameters should be monitored, as biodiesel is a function of the composition of the raw material used in its production, influencing the quality of the final product. In order to solve this problem, a primary analytical method employing chromatography using dimensional gas and a flame ionization detector (FID) for the direct determination of each type of ester in the fuel was developed, identifying the raw material source and content of esters present in the biodiesel in its mixtures with diesel oil. The developed method is free of oil or fat interference in nature. Therefore, it is possible to easily identify tampering or contamination with vegetable oil or animal fat in marketed fuel. It has been found that the method was effective in the separation, identification, and quantification of esters in B1 to B20 samples, and can be used as the primary method for analyzing national biodiesel.

Key words: Chromatography. Biodiesel. Mixtures.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Produção e consumo de petróleo no Brasil	24
Figura 2.2 – Participação das matérias primas na produção do biodiesel (%)..	26
Figura 2.3 – Etapas das reações de produção do biodiesel.....	28
Figura 2.4 Apresentação genérica de um cromatograma.....	37
Figura 2.6 – Efeitos da resolução nas separações de picos cromatográficos ..	39
Figura 2.7 – Injetor <i>split / splitless</i>	42
Figura 2.8 – Injetor <i>on column</i> com sistema de resfriamento para injeção	43
Figura 2.9 – Detector de ionização de chama	45
Figura 4.1 – Cromatograma do B20 (20% (m/m)) a 200°C	74
Figura 4.2 – Cromatogramas do diesel A puro e contaminado com nC19.....	75
Figura 4.3 – Isoterma do nº de carbonos da normal parafina do diesel x Tempo de retenção	75
Figura 4.4 – Testes da coluna de DBWax com variação de temperatura	78
Figura 4.5 – Comparação da separação variando o tipo de fase móvel.....	80
Figura 4.6 – Padrão de B20 nas condições do método proposto	81
Figura 4.7 – Padrões de confirmação da identificação dos metil ésteres no B20 82	
Figura 4.8 – Isoterma do nº de carbono da série homóloga metil ésteres saturados x Tempo de retenção	83
Figura 4.9 – Cromatograma do B100 de Soja com o Método Proposto.....	84
Figura 4.10 – Cromatogramas do diesel A sem biodiesel a 210°C.....	91
Figura 4.11 – Curva de Calibração do Teor de B0,5 a B20.....	95
Figura 4.12 – Curva de Calibração do BX em Área (counts) x % (v/v).....	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Relação dos ensaios para especificação do biodiesel.....	29
Tabela 2.2 – Classificação dos Métodos Cromatográficos Planar.....	35
Tabela 2.4 – Classificação dos Métodos Cromatográficos quanto à Coluna.....	36
Tabela 2.4 – Fator de correção teórico (FCT) para ésteres metílicos de ácidos graxos de referência como padrão interno.....	47
Tabela 2.5 – Fator de resposta experimental e teórico em relação ao padrão interno (PI) metil tricosanoato (MEC23:0).....	48
Tabela 2.6 – Composição das matérias-primas utilizadas para biodiesel no Brasil	48
Tabela 2.7 – Avaliação da polaridade da coluna através das constantes de McReynolds	50
Tabela 2.8 – Efeito do diâmetro da coluna.....	51
Tabela 2.9 - Condições analíticas para as normas ASTM 6584 e EN 14105.....	57
Tabela 2.10 – Condições analíticas para as normas EN 14103:2003, EN 14103:2011 e ABNT NBR 15764:2003	59
Tabela 3.1 - Seleção das colunas para serem testadas.....	67
Tabela 3.2 – Planejamento para preparação dos padrões em % (m/m).....	69
Tabela 3.3 - Preparação das misturas padrão para validação do método	69
Tabela 3.4 - Preparação de misturas para identificação da origem do biodiesel	70
Tabela 4.1 – Condições analíticas da norma EN 14103:2003 para teor de éster em % (m/m) em B100	73
Tabela 4.2 – Condições analíticas do método proposto com He como fase móvel.	77
Tabela 4.3 – Condições analíticas do método proposto com hidrogênio como fase móvel.....	79
Tabela 4.4 – Determinação do teor de éster para o B100	85
Tabela 4.5 – Resultados do teor de MEC16:0 e do teor de éster, com <i>split</i> e <i>on column</i>	87
Tabela 4.6 – Valores corrigidos com os fatores de resposta do DIC.....	88
Tabela 4.7 – Comparação dos valores com e sem os fatores de resposta para o DIC	89
Tabela 4.8 – Determinação das percentagens de BX em cada padrão após diluição em diesel tipo A	92
Tabela 4.9 – Concentração dos padrões para calibração externa.....	93
Tabela 4.10 – Parâmetros referentes à curva analítica dos ésteres	94

Tabela 4.11 – Determinação para o LOD e o LOQ	97
Tabela 4.12 - Determinação da precisão para um padrão de concentração de 8,10% (m/m)	99
Tabela 4.13 – Determinação do Intervalo de confiança a 95%	99
Tabela 4.14 – Determinação do teor de biodiesel % (v/v) em amostras de B5 pelo método cromatográfico proposto e pela norma de referência EN 14078:2003	101
Tabela 4.15 – Determinação da composição % (v/v) dos metil ésteres em amostras de B5 pelo método cromatográfico proposto.....	101
Tabela 4.16 – Padrão para validação do método em % (m/m).....	101
Tabela 4.17 - Resultados comparativos de amostras de BX de postos de gasolina entre metodologia espectrométrica e pelo método proposto	102
Tabela 4.18 – Determinação da origem do biodiesel	104

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIOV	Associação Brasileira de Indústria de Óleo Vegetal
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AEPT	Altura Equivalente a um Prato Teórico
AGL	Ácido Graxo Livre
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível
AOCS	American Oil Chemists Society
ASTM	American Society for Testing and Materials
ATR	Refletância Total Atenuada (attenuated total reflectance)
B100	Biodiesel Puro
BX	Mistura Óleo Diesel e Biodiesel
BEN	Balanço Energético Nacional
BNDS	Banco Nacional de Desenvolvimento Sustentável
BS EN	British Standard European Norm
BSTFA	N- <i>o</i> Bis(trimetil)sililtrifluoacetamida
CEN	Comité Européen de Normalisation
CG	Cromatografia a gás
CGAR	Cromatografia gás de alta resolução
CIEB	Comissão Executiva Interministerial de Biodiesel
CNPE	Conselho Nacional de Pesquisa Energética
DIC	Detector de Ionização de Chama
DMF	Dimetilformamida
DSM	Detector Seletivo de Massa
EMPRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FT-IR	Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier
CGEM	Cromatografia a Gás com detector de Espectrometria de Massa
GLP	Gás Liquefeito do Petróleo
HCA	Análise Hierárquica de Agrupamento (<i>Hierarchical Cluster Analysis</i>)
IC	Índice de Cetano
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LOD	Limite e Detecção Analítica
LOQ	Limite de Quantificação
ME	Metil Éster

mid-IR	Infravermelho Médio
MME	Ministério de Minas e Energia
MSI	Monitoramento por seleção de Íon
MSTFA	N-Metil-N-trifluoacetamida
NBR	Norma Brasileira
NC	Número de Cetano
NIR	Infravermelho Próximo
NPT	Números de Pratos Teóricos
L	Comprimento da Coluna
OGR	Óleo e Gorduras Residuais
PEG	Poliétileno glicol
PCA	Análise de Componentes Principais (<i>Principal Components Analysis</i>)
PCR	Regressão em Componentes Principais (<i>Principal Components Regression</i>)
PLS	mínimos quadrados parciais (<i>partial least square</i>)
PMQC	Programa de Monitoramento de Combustíveis Líquidos
PNPB	Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel
RMN	Ressonância Magnética
R	Coefficiente de Determinação
S	Desvio padrão
(IC)	Intervalo de confiança

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVO GERAL	19
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1 ÓLEO DIESEL.....	21
2.2 O PROGRAMA BRASILEIRO DE BIOCOMBUSTÍVEIS	22
2.2.1 Matérias-primas para a produção do biodiesel brasileiro	24
2.2.2 Influência da origem da matriz na qualidade do biodiesel	26
2.3 O BODIESEL E SUA CARACTERIZAÇÃO	27
2.4 TÉCNICAS PARA ANÁLISES DO ÓLEO DIESEL E SUAS MISTURAS COM BODIESEL	31
2.5 MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS.....	32
2.5.1 Espectroscopia na região do infravermelho médio (mid-IR).....	32
2.5.2 Espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR)+	33
2.5.3 Espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C	34
2.6 METODOS CROMATOGRÁFICOS	34
2.6.1 Classificação da cromatografia quanto à fase móvel	35
2.6.2 Determinação da eficiência de uma coluna cromatográfica	36
2.6.3 Evolução de cromatografia líquida de CL para CLAE.....	40
2.6.4 Evolução da cromatografia a gás de alta resolução CGAR.....	41
2.6.5 Sistemas de injeção utilizados em cromatografia a gás.....	42
2.6.6 Detector de ionização de chama.....	44
2.6.7 Escolha de uma fase estacionária	49
2.6.8 Escolha do gás de arraste (fase móvel)	52
2.6.9 Análise qualitativa em cromatografia a gás.....	53
2.6.10 Análise quantitativa em cromatografia a gás	53
2.7 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS COMUNS EM ANÁLISES DE BODIESEL E SUAS MISTURAS COM DIESEL	54
2.7.1	54
Uso da CLAE para análise de biodiesel e suas misturas diesel	54
2.7.2 Normas técnicas cromatográficas aplicadas para análise de Biodiesel ...	56
2.7.3 O uso da CG para análise de biodiesel e suas misturas	60
2.7.4 O uso da CGAR-EM para análise de biodiesel e suas misturas.....	61

2.7.5 O uso da CG-DIC unidimensional para análise de biodiesel e suas misturas	62
3 EXPERIMENTAL	66
3.1 MATERIAIS E MÉTODOS.....	66
3.1.1 Materiais e Equipamentos	66
3.1.2 Reagentes e Padrões	66
3.2 ESCOLHA DAS COLUNAS.....	66
3.3 PROCEDIMENTO PARA ESCOLHA DO B100 UTILIZADO NA PREPARAÇÃO DAS MISTURAS PADRÃO	67
3.4 PROCEDIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE BIODIESEL E DA COMPOSIÇÃO DOS METIL ÉSTERES DO B100.....	67
3.5 PROCEDIMENTO PARA PREPARO DE MISTURAS PADRÃO	68
3.5.1 Preparo de mistura padrão de 20% (m/m) de biodiesel em diesel A	68
3.5.2 Preparo do padrão de misturas de metil ésteres de C8 a C24	68
3.5.3 Preparo do padrão de misturas da normal parafina nC19 em diesel A	68
3.5.4 Preparo dos padrões de calibração do método proposto	68
3.5.5 Preparo de soluções de MEC19:0 para validação do método	69
3.5.6 Preparo de misturas para identificação da origem do biodiesel	70
3.6 CONDIÇÕES OPERACIONAIS DO CROMATÓGRAFO	70
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
4.1 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES ANALÍTICAS.....	72
4.1.1 Influência da temperatura da coluna na resolução analítica	77
4.1.2 Avaliação da massa molar da fase móvel na resolução analítica.....	79
4.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE METIL ÉSTER NO B100.	83
4.2.1 Determinação da composição do B100 pelo método proposto	85
4.2.2 Confirmação da composição do teor de éster em sistema <i>on column</i>	86
4.2.3 Correção da composição do B100 pelos fatores de resposta do DIC	88
4.3 PREPARAÇÃO DOS PADRÕES PARA CALIBRAÇÃO DO MÉTODO	90
4.4 DETERMINAÇÃO DAS CURVAS ANALÍTICAS PARA CADA METIL ÉSTER .	93
4.5 VALIDAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO.....	95
4.5.1 Determinação da seletividade	95
4.5.2 Determinação da linearidade.....	96
4.5.3 Determinação do limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ)	96
4.5.4 Determinação da precisão para o método proposto.....	98
4.5.5 Determinação da exatidão analítica do método proposto	100
5 CONCLUSÃO	105

5.1 PERSPECTIVAS.....	105
REFERÊNCIAS.....	107
APÊNDICE A - Curvas dos metil ésteres.....	115

1 INTRODUÇÃO

O óleo diesel é o combustível de maior consumo brasileiro, com crescimento contínuo a cada ano desde 2004, conforme o Balanço Energético Nacional (BEN, 2014). Espera-se que essa tendência continue, uma vez que a produção e a venda de equipamentos com motores de ciclo diesel continuam aumentando, impulsionando a demanda.

A Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, em seu Art. 2º, estabeleceu a introdução do biodiesel na matriz energética nacional e fixou a adição de 5% (v/v) ao diesel comercializado em todo o território nacional. Ficou estabelecido o ano de 2013 como prazo máximo para o seu cumprimento. Definiu ainda, a partir de 2008, o percentual mínimo de 2% (v/v). A lei determinou também que, a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (ANP) deveria definir os limites de variação admissíveis para efeito de medição e aferição desses percentuais. Os principais objetivos da lei eram a redução da dependência do petróleo e a diminuição da emissão de gases poluentes. Também foi previsto que a variação do teor de biodiesel deveria obedecer às condicionantes, tais como: a disponibilidade de oferta de matéria-prima, a capacidade industrial para produção de biodiesel, a participação da agricultura familiar na oferta de matérias-primas, a redução das desigualdades regionais, o desempenho dos motores com a utilização do combustível e as políticas industriais e de inovação tecnológica.

A Resolução Nº 7/2008 da ANP determinou a obrigatoriedade da proporção de 5% (v/v) de biodiesel no diesel que passou a valer a partir de janeiro de 2010, antecipando em três anos a previsão legal. Isso foi possível graças ao bom desempenho na produção deste combustível conforme previsto na Resolução de Nº 6 (2009), do Conselho Nacional de Pesquisa Energética (CNPE). Através da Medida Provisória de nº 647/2014 de maio de 2014, convertida posteriormente na Lei 13.033 de setembro de 2014, foi alterado o artigo 2º da Lei 11.097/2005, estabelecendo a adição mínima de 6% (v/v) a partir de 1º julho de 2014 e 7% (v/v) a partir de novembro de 2014. As fundamentações técnicas que justificaram a antecipação do aumento do teor de biodiesel ao diesel foram o crescimento da produção de soja nacional, principal fonte para produção 1º do biodiesel, além de outros fatores de mercado. Na exposição de motivos do MME (2014), além da produção, o fator econômico foi determinante. Verificou-se que cada ponto percentual de biodiesel

adicionado ao diesel implicava na redução anual de 600 milhões de litros de óleo diesel importado, que correspondiam a uma economia direta de 500 milhões de dólares (RELATÓRIO TÉCNICO da ANP Nº 03/2014/SBQ/RJ (2014)). Esse relatório trata-se de um resumo técnico sobre os usos experimentais da mistura óleo diesel/biodiesel em teores superiores aos determinados por lei.

A Lei 12411/2011 em seu artigo 1º atribuiu à ANP a competência para atuar em todo o setor de biocombustíveis para garantir a qualidade e estabelecer os limites da adição do biodiesel no diesel. Em seu inciso II do Art.2º, prevê a dispensa da adição mínima do biodiesel em diesel, em caráter excepcional, tal como em critérios de aplicabilidade, razoabilidade e segurança do abastecimento nacional de combustíveis. O Art. 3º determina o uso preferencial do óleo obtido pela agricultura familiar.

A ANP, através da Resolução nº 65 de 09/12/2011, estabeleceu os parâmetros mínimos de qualidade para o [óleo diesel de uso rodoviário, diesel A e B, enquanto que o biodiesel puro foi regulamentado pela Resolução ANP nº 45/2014. Para assegurar a confiabilidade analítica, tomou como base os métodos analíticos desenvolvidos pelas instituições ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), ASTM (*American Society for Testing and Materials*) e CEN (*Comité Européen de Normalisation*). Por orientação da ANP, se o combustível analisado estiver com algum parâmetro em desacordo com os limites preestabelecidos na referida resolução, o mesmo será classificado como “não conforme” e não poderá ser comercializado.

O biodiesel precisa ser produzido a partir de óleos vegetais, uma vez que esses últimos não podem ser diretamente adicionados ao diesel.

A presença de óleo *in natura* no diesel B comercializado é danosa à sociedade e deve ser evitada. Considerando que eles podem ser usados diretamente como combustível, Prado et al. (2009) levantaram como positivo o seu alto poder calorífico e como desvantagem o aumento da viscosidade. O óleo provoca problemas tais como a combustão incompleta, a formação de depósitos de carbono nos sistemas de injeção, a diminuição da eficiência de lubrificação, a obstrução nos filtros de óleo e sistemas de injeção e, conseqüentemente, no comprometimento da durabilidade do motor. Além dos impactos técnicos da qualidade combustível, impactos ambientais podem ocorrer provenientes de

emissões do craqueamento térmico do óleo, com a formação de compostos oxigenados.

Neste contexto, a transesterificação do óleo é uma alternativa viável para o uso do óleo como combustível, uma vez que o produto obtido, biodiesel, tem suas propriedades mais próximas às do óleo diesel. De acordo com Alptekin e Canakc (2009) as propriedades físico-químicas do biodiesel estão diretamente relacionadas com a sua composição química, sua natureza, processo de refino do óleo vegetal e dos aditivos que melhoram a qualidade do combustível, inclusive o teor e a composição do éster. Zuninga et al. (2011) e Knothe et al. (2006) mostraram que a composição do biodiesel em relação ao número de carbonos, as insaturações e o tipo de isomeria cis/trans do éster influenciam diretamente em propriedades físico-químicas do combustível, tais como: viscosidade, número de cetano, ponto de entupimento, ponto de fulgor e estabilidade oxidativa. Para atender a esta demanda e assegurar a qualidade desse combustível torna-se necessária a análise da composição do biodiesel na mistura.

A adulteração do biodiesel com adição de óleo *in natura* é um problema a ser solucionado. Para garantir qualidade do combustível em todo o território nacional, a ANP mantém o Programa de Monitoramento da Qualidade dos Combustíveis – PMQC, através de contratos com universidades e institutos de pesquisas, com o objetivo de monitorar de forma padronizada a conformidade dos combustíveis comercializados no Brasil.

Os métodos espectrométricos EN-14078:2003 ou ABNT NBR 15568:2008 foram os escolhidos pela ANP para monitorar o teor de biodiesel no diesel. Esse método prevê a determinação indireta do biodiesel presente no diesel mineral, através da absorção na região do infravermelho médio (IR-mid), promovida pela absorção do grupamento (C=O) existente no éster (biodiesel), conforme (SILVERSTEIN, 2010). Como a matéria-prima (óleo ou gordura animal) e o produto biodiesel são formados por ésteres (mesmo grupamento (C=O)), verifica-se que este método é vulnerável a adulterações por adição de óleo *in natura*.

Diversos outros métodos têm sido propostos com o objetivo de determinar o teor de biodiesel em diesel por cromatografia a gás: Seeley et al. (2011) utilizaram sistemas analíticos complexos usando sistemas multicolumnas e detector de ionização de chama (GCxGC-DIC); Moraes et al. (2011) compararam o sistema (CGxCG-DIC) com detectores espectrométricos por tempo de voo (CGxCG/TOFMS); Faria (2007)

e Tang (2008) usaram sistema unidimensional com detectores espectrométricos de massa (CGAR-EM) no modo seletivo de íons (MSI); Pauls (2011) usou sistema unidimensional (CG-DIC) usando o pré-tratamento da amostra, com extração em fase sólida (SPE), antes da injeção da mesma; Wawrzyniak et al. (2005) validaram uma metodologia usando sistemas (CG-FID), sem tratamento prévio da amostra, mas com etapa de diluição; e Ragonese et al. (2009) compararam a coluna de polietileno glicol e a de líquido iônico (SLB-IL 100) em sistemas (CG-DIC) sem tratamento prévio da amostra, porém também com etapa de diluição. Os métodos propostos apresentaram respostas satisfatórias tanto dos pontos de vista qualitativo quanto quantitativo. A complexidade da amostra implica em uso de sistemas analíticos multicolumnas e/ou detectores também de uso complexo e caros ou de um pré-tratamento da amostra. O uso de sistema unidimensional (CG-DIC) foi pouco explorado e não foi encontrada uma solução analítica sem tratamento prévio e sem a etapa de diluição da amostra, para reduzir tempo, custo de análise e geração de resíduo analítico (PAULS, 2011). Tudo isso indica a necessidade de pesquisas que possam resultar no desenvolvimento de método analítico que capaz de responder as essas demandas.

1.1 OBJETIVO GERAL

Esse trabalho teve como objetivo geral desenvolver um método analítico primário empregando a cromatografia a gás unidimensional e detector de ionização de chama (DIC), para a determinação direta do teor de biodiesel no óleo diesel, bem como o teor de cada tipo de éster presente no biocombustível de forma a identificar a matéria prima de origem do biodiesel.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver uma metodologia para escolha das colunas e determinação das condições analíticas para separar e identificar, por cromatografia a gás, os alquil ésteres na mistura do biodiesel em diesel mineral através de coluna capilar de alta resolução e uso de padrões conhecidos.

- Desenvolver metodologias para preparar curva de calibração para o método cromatográfico, com misturas de biodiesel de B0,5 com 0,5% (m/m) a B20 com 20% (m/m) em diesel mineral tipo A, utilizando biodiesel de soja, com especificação que atenda à mistura biodiesel comercial.

- Avaliar os resultados dos testes comparativos entre amostras analisadas pelo método desenvolvido e pela norma BS EN 14078:2014, adotada pela ANP.

- Validar o método através dos resultados comparativos obtidos para amostras e padrões de concentrações conhecidas.

- Avaliar a método desenvolvido para a identificação da origem do biodiesel existente na mistura BX através dos resultados obtidos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ÓLEO DIESEL

Pode-se definir o óleo diesel como um combustível derivado do petróleo, composto de uma complexa mistura de hidrocarbonetos. Tendo como origem o refino de petróleo, o óleo diesel tem formulação baseada na mistura de várias correntes, como gasóleos, nafta pesada, diesel leve e diesel pesado, originados das diversas etapas de refino do petróleo (PETROBRAS, 2014).

Na composição do óleo diesel podem ser encontrados diversos hidrocarbonetos que variam, em média, de 8 a 28 átomos de carbono, tendo basicamente: parafinas, olefinas, naftênicos, aromáticos e ainda a presença de compostos oxigenados, nitrogenados, sulfurados e metais em menor quantidade. As proporções de cada um variam em função da origem do petróleo refinado ou mesmo do processo e tratamento dado durante o refino. As proporções entre os hidrocarbonetos que compõem o óleo diesel devem ser tais que mantenham as propriedades físico-químicas preestabelecidas para o seu consumo como combustível (SOUZA, 2006).

O óleo diesel nacional está especificado quanto à presença ou não de biodiesel em tipo A, sem biodiesel, e tipo B com biodiesel. Em relação à presença de enxofre é especificado em S500 para o diesel com 500 ppm (m/m) de enxofre, e S10 para o diesel com teor máximo de 10 ppm (m/m) de enxofre (ANP, 2014)

No setor de transportes, o óleo diesel utilizado aumentou o seu consumo em 49,6%, entre 2004 e 2013 (BEN, 2014), incluindo o biodiesel a partir de 2005. No mesmo período, o consumo do diesel tipo A diminuiu de 42,2% em 2010, correspondendo a uma redução de 7,4% em relação a 2004. A diferença foi compensada pelo biodiesel adicionado ao diesel. O uso do biodiesel promoveu uma redução de emissões de gases e particulados ao meio ambiente, mas aumentou a participação de NO_x (KENOTHE, 2006). Embora a composição do biodiesel no diesel ainda seja pequena ele promove uma redução de 7% na liberação de emissões de enxofre presentes no diesel mineral (ABIOV, 2013).

Como mencionado por Silva (2013), alguns aspectos previstos, como desenvolvimento regional nos setores produtores das matérias-primas e o próprio biodiesel, redução das emissões de particulados, reforço das atividades agrícolas,

inclusive agricultura familiar, são fortes argumentos que comprovam o êxito do Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel (PNPB).

Para Bueno (2007), o biodiesel pode ser substituído em até 20% (v/v), sem que seja necessário grande alteração nos motores de ciclo diesel, devido à proximidade das especificações entre os mesmos. Entretanto, quando a matriz do biodiesel é de origem animal, devido a alterações em sua composição, com maiores teores de ésteres saturados, as suas propriedades são alteradas, implicando em limitações de seu uso como combustível, devido a alteração no ponto de entupimento a frio.

A adição do biodiesel ao diesel mineral, segundo Mattei (2008), além de reduzir a dependência do uso do combustível fóssil, atua na redução de emissões de enxofre, no aumento do crescimento do mercado de oleaginosas, no aumento da disponibilidade de combustível renovável e também no incentivo à agricultura familiar no Brasil.

2.2 O PROGRAMA BRASILEIRO DE BIOCOMBUSTÍVEIS

As variações dos preços do petróleo geram instabilidade política e econômica em todo o mundo. Suprir a demanda energética se tornou um grande desafio para a sociedade mundial.

O Brasil, logo após suas pesquisas com fontes renováveis do programa Proálcool, lançou em 1980 o Plano de Produção de Óleos Vegetais para fins Carburentes (Pro-óleo) elaborado pela Comissão Nacional de Energia, que foram reações do governo brasileiro frente às crises dos anos 1970 e 1980. O objetivo do programa governamental Pro-óleo era a obtenção do óleo para ser utilizado na transesterificação de fontes de diversos óleos e gorduras do setor extrativo e da atividade agrícola e pecuária (GOLDERBERG et al. 2007)

Através do Pro-óleo, previa-se regulamentar a substituição gradativa de uma mistura até 30% (v/v) de óleo ou produtos deste derivado ao diesel. Esta substituição deveria ocorrer a longo prazo. O produto da transesterificação de diversos óleos era a base tecnológica alternativa, tendo o setor extrativo da atividade agrícola como um dos fornecedores de matéria-prima (ABREU, 2004).

Segundo Schuchardt et al. (2006) a baixa volatilidade do óleo *in natura* leva o motor a diesel a ter uma combustão incompleta, gerando depósito de carbono, que

por sua vez pode obstruir os bicos de injeção do motor, reduzindo a sua eficiência, comprometendo assim a durabilidade do motor, além de produzir acroleína (substância cancerígena). O funcionamento de motores com óleo vegetal ou gordura animal é comprometido pela presença dos triglicerídeos insaturados de alto peso molecular, pois existe grande possibilidade de ocorrer polimerização dos mesmos.

A transesterificação do óleo com um álcool de cadeia curta altera substancialmente as propriedades dos produtos, permitindo que seja consumido juntamente com o diesel como fonte alternativa potencial importante de um combustível renovável, em adição ao diesel mineral (SCHUCHARDT et al. 2006).

Com a queda dos preços do petróleo, o programa foi abandonado em 1986. Porém, com a crescente demanda por energia em todo o mundo, as buscas por alternativas capazes de supri-la passou a ser uma constante em vários países. No Brasil, fomentada pelo governo, a busca por alternativas energéticas renováveis culminou com a elaboração do Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel (PROBIODIESL) em 2002 (TREVISANI et al. 2007).

Segundo Parente (2003) e Abreu (2006) a decisão do uso do etanol para produção do biodiesel pela Comissão Interministerial foi de encontro a aspectos limitantes do ponto de vista técnico, uma vez que o uso do metanol era tecnicamente mais viável na sua produção, do ponto de vista cinético, implicando em menores custos com energia no processo produtivo.

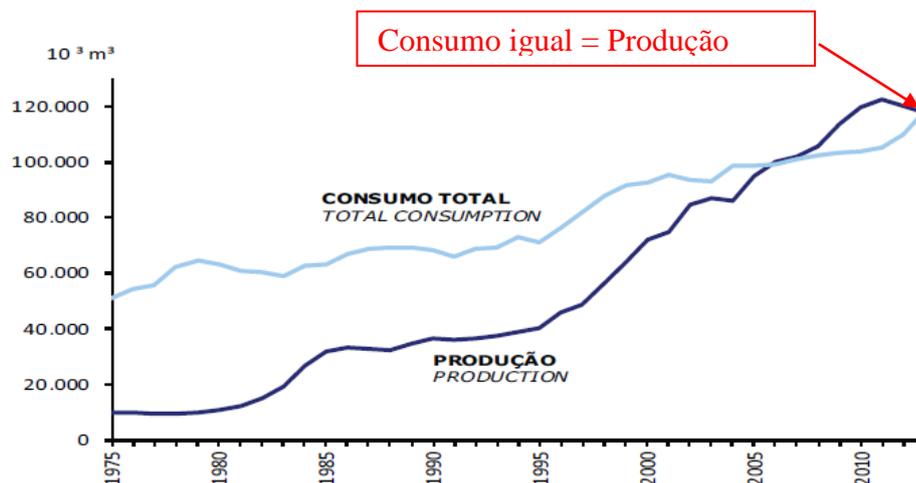
Conforme Silva (2013), o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), só foi introduzido no Brasil em 2004, após muitas discussões na Comissão Executiva Interministerial do Biodiesel (CIEB), coordenada pela casa civil e tendo como membros o Ministério de Minas e Energia (MME) e outros ministérios afins, além de membros da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), Banco Nacional de Desenvolvimento Sustentável (BNDS) e a Petrobras.

Diante dos fatos, o biodiesel se apresentou como uma opção para substituição do óleo diesel, por ser um recurso renovável e poder ser utilizado em qualquer motor de ignição por compressão sem a necessidade de modificações (LEUNG, 2010).

A produção do petróleo no Brasil cresceu 40% entre os anos de 2004 e 2012, ultrapassando pela primeira vez o consumo em 2006, conforme Figura 2.1. Em 2010 houve uma pequena queda – em torno de 10% – na produção, enquanto o consumo

continuou a crescer, chegando a igualar-se novamente em 2013 (BEN, 2014), abrindo uma nova perspectiva para o aumento do teor de biodiesel no diesel.

Figura 2.1 - Produção e consumo de petróleo no Brasil



Fonte: Adaptado pelo autor do BEN (2014).

2.2.1 Matérias-primas para a produção do biodiesel brasileiro

A produção da soja no Brasil tem crescido de forma contínua nos três últimos anos assim como a produção do óleo (ABIOVE, 2015). Este aumento assegura ainda mais o uso de um maior percentual de soja na produção do biodiesel nacional.

Por ter um dos maiores rebanhos comerciais de bovino do mundo, conforme a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne Bovina (ABIEC, 2014), o Brasil torna-se também um potencial produtor de biodiesel a partir do sebo animal, agregando valor a esse subproduto. O uso dos óleos residuais de frituras é também uma fonte usada para a produção do biodiesel, contribuindo com a redução da poluição provocada pelo descarte nos rios (Figura 2.2)

A grande diversidade de matrizes para produção do biodiesel, se por um lado traz aspectos positivos na diversidade de sua produção, por outro cria um problema, tanto na especificação como no controle da qualidade, para atender ao mercado nas quantidades e qualidades necessárias para o seu uso como combustível.

A estrutura química e o teor dos ésteres presentes na matéria-prima são de fundamental importância, pois refletirão nas propriedades físico-químicas do biocombustível produzido, implicando diretamente no bom funcionamento do motor,

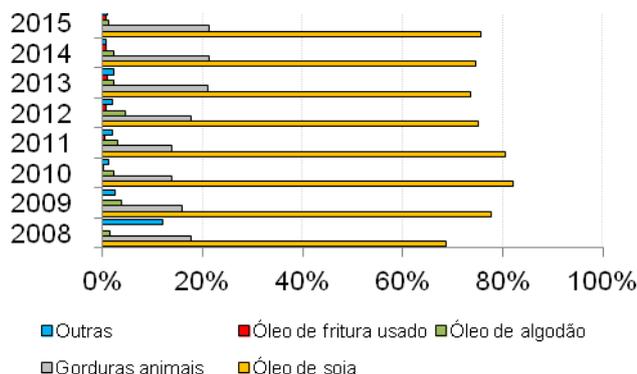
podendo promover a formação de depósitos no sistema de injeção e ainda o tipo e a quantidade de substâncias ou gases poluentes emitidos (ANTCZAK et al., 2009).

De qualquer forma, a disponibilidade de óleos ou gorduras em grande quantidade e a preços competitivos são desafios a serem vencidos, sendo maiores que qualquer limitação científica ou tecnológica que possa existir na atualidade. Em longo prazo, cultivos perenes e de elevados rendimentos por unidade de área são desejáveis e preferíveis em relação a cultivos anuais e de ciclo curto como matérias-primas para a produção de bioenergia, pois não precisam ser replantadas a cada estação e porque também requerem menor uso de fertilizantes.

Diante da análise, verifica-se que ainda existem necessidade e oportunidades de pesquisas no campo acadêmico e industrial, tanto na busca pelo recurso natural mais adequado e disponível em larga escala para a produção de biodiesel, como em técnicas analíticas para as especificações do produto. É importante levar em consideração que os óleos vegetais como matérias-primas para biodiesel competem com o uso dos mesmos como alimentos e no setor químico, além da pouca experiência agrônômica com a maioria das oleaginosas, exigindo investimentos em estudos de impactos socioeconômicos e em pesquisas agrônômicas.

Apesar das várias possibilidades de matérias-primas existentes no Brasil, os produtos mais utilizados na produção do biodiesel comercial, desde 2008, são variados, como mostra a Figura 2.2. Os produtos que têm se firmado a cada dia na direção das matérias-primas são: soja, algodão e gordura animal, ficando apenas 1% para outras oleaginosas, observando que nos três últimos anos a contribuição de parte do percentual do algodão tem sido substituído por gordura animal, seguindo a rota metílica ou etílica com catálise básica homogênea (ANP/ABIOVE, 2015).

Figura 2.2 – Participação das matérias primas na produção do biodiesel (%)



Fonte: Elaborado pelo autor com dados da ANP/ABIOVE (2015).

Verifica-se que a preferência brasileira pela soja e o sebo bovino como matérias-primas para a produção do biodiesel é devida à grande produção de soja no país, embora não tenha a maior produtividade, e o sebo bovino por ser um grande produtor mundial (ABIOVE, 2015).

2.2.2 Influência da origem da matriz na qualidade do biodiesel

Os ácidos graxos podem formar biodieseis de diferentes composições através de reações de transesterificação, com diferentes propriedades na qualidade como combustível, uma vez que são formados de triglicerídeos de cadeiras carbônicas que variam entre 4 e 24 átomos de carbono saturadas e insaturadas (MORETO, 1998).

O biodiesel, definido quimicamente como uma mistura de ésteres de ácidos graxos de origem lipídica, pode ser produzido em conjunto com a glicerina, através de reações de triglicerídeos com etanol ou metanol, tendo um catalisador básico ou ácido (SCHUCHARDT et al., 1998). Para o seu uso como combustível, puro ou em misturas com o diesel sem que fossem necessárias alterações substanciais nos motores convencionais a diesel, foi imprescindível que se determinasse as especificações desse biocombustível (RAMOS, 1999, 2003).

As composições dos ésteres podem variar tanto em tamanho da cadeia quanto na quantidade e posição das insaturações (LOBO et al., 2009), as quais influenciam diretamente nas características físico-químicas, que variam em decorrência do tipo de estruturas e ligações moleculares, saturadas e insaturadas,

dos ésteres presentes na sua composição e durante o estoque do biodiesel (ALBUQUERQUE et al., 2008).

Analisando as características das matérias-primas que são utilizadas na produção do biodiesel é possível perceber que a diferença básica entre gorduras e óleos, na temperatura ambiente, está na proporção dos ésteres saturados e insaturados presentes nos triglicerídeos. Em grande parte, os trigliceróis que são constituídos de ácidos graxos saturados têm altos pontos de fusão, e à temperatura ambiente são sólidos. Esses são formados com uma quantidade de átomos de carbono, que podem variar, na sua maioria, sendo saturados quando são somente formados das ligações simples entre os carbonos, ou insaturados como mono, di, tri e poli-insaturados, de acordo com o número de ligações duplas (MORETTO et al.1989).

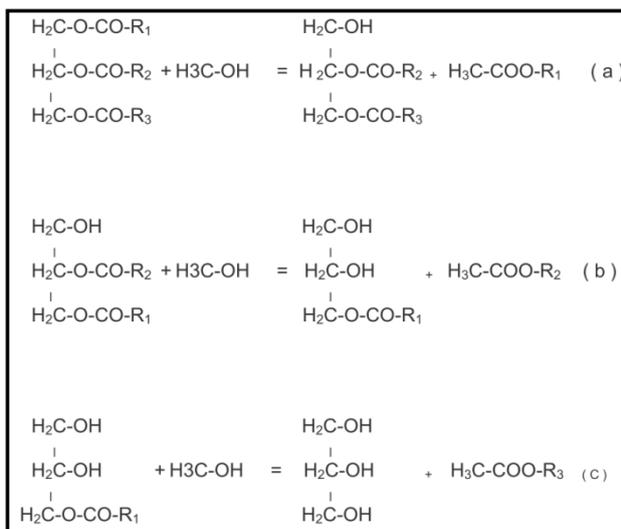
As diferenças entre os pontos de fusão dos triacilgliceróis podem ser explicadas pelas insaturações separadas por grupos metilênicos (CH_2) sob configuração espacial cis (Z) existentes nessas moléculas, provocando uma curva rígida à cadeia de carbono, que irá implicar na redução da atração de Van der Waals e provocar uma desorganização na estrutura cristalina destes, reduzindo assim seus pontos de fusão, quando comparados aos triacilgliceróis saturados. Tudo isso implicará diretamente nas suas propriedades como combustível (SOLOMONS et al., 2006). Diante disso, fica evidente a importância da determinação da composição do biodiesel para assegurar ainda mais a garantia da qualidade do combustível, através de informações necessárias para decisões quanto à escolha da matriz, controle das emissões ambientais e cuidados especiais em relação à estabilidade oxidativa, para manutenção da sua qualidade durante o armazenamento.

2.3 O BIODIESEL E SUA CARACTERIZAÇÃO

Para o controle da produção e especificação do biodiesel, são importantes as informações sobre a composição da matéria-prima, reagentes, catalisadores e todo o seu processo de produção.

O biodiesel produzido tanto pela rota metálica ou etílica com catálise alcalina, conforme Figura 2.3, além do produto final, todos os compostos envolvidos no processo devem ser monitorados, para assegurar a qualidade do biodiesel formado.

Figura 2.3 – Etapas das reações de produção do biodiesel



Fonte: Elaborado pelo autor 2015.

Na reação de transesterificação, além do biodiesel produto, são formados subprodutos como glicerol, monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos, proveniente das reações intermediárias, assim como do metanol e triglicerídeo residual.

A ANP, através da Resolução N° 45, de 25.8.2014, estabeleceu os parâmetros para garantir a qualidade do produto final do B100, ou seja, o biodiesel puro. O biodiesel, para ser usado em mistura com diesel mineral, recebeu o nome de “BX”, sendo “B” correspondente ao biodiesel adicionado ao diesel e o “X” a porcentagem de alquil éster adicionada. Assim, B2 e B30 correspondem, respectivamente a 2% e 30% (v/v) de biodiesel adicionado ao diesel mineral, e o biodiesel puro recebeu a denominação de B100. Na Tabela 2.1 estão listados os ensaios, unidades, limites e as respectivas normas pré-definidas pela a ANP, para serem utilizadas na especificação do B100. Na parte final da Tabela 2.1 estão os valores conformes para ponto de entupimento, para as unidades da Federação em relação ao mês do ano, pois este irá variar em função das condições climáticas.

Tabela 2.1 – Relação dos ensaios para especificação do biodiesel

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	LIMITE	MÉTODO		
			ABNT NBR	ASTM D	EN/ISO
Aspecto	-	L II (1) (2)	-	-	-
Massa específica a 20° C	kg/m³	850 a 900	7148	1298	EN ISO 3675
Viscosidade Cinemática a 40°C	mm²/s	3,0 a 6,0	14065	4052	EN ISO 12185
Teor de água - máx.	mg/kg	200,0 (3)	10441	445	EN ISO 3104
Contaminação total - máx.	mg/kg	24	-	6304	EN ISO 12937
Ponto de fulgor - mín. (4)	°C	100,0	15995	-	EN 12662 (5)
Teor de éster - mín.	% massa	96,5	14598	93	EN ISO 3679
Cinzas sulfatadas - máx. (6)	% massa	0,020	15764	-	EN 14103 (5)
Enxofre total - máx.	mg/kg	10	6294	874	EN ISO 3987
			15867	5453	EN ISO 20846
Sódio + Potássio - máx.	mg/kg	5	15554	-	EN ISO 20884
			15555		EN 14108 (5)
			15553		EN 14109 (5)
			15556		EN 14538 (5)
Cálcio + Magnésio - máx.	mg/kg	5	15553	-	EN 14538 (5)
			15556		
Fósforo - máx. (7)	mg/kg	10	15553	4951	EN 14107 (5)
Corrosividade ao cobre - 3h a 50 °C - máx. (6)	-	1	14359	130	EN 16294 (5)
Número Cetano (6)	-	Anotar	-	613	EN ISO 5165
				6890 (8)	
Ponto de entupimento de filtro a frio - máx.	°C	(9)	14747	6371	EN 116
Índice de acidez - máx.	mg KOH/g	0,50	14448	664	EN 14104 (5)
			-	-	
Glicerol livre - máx.	% massa	0,02	15771	6584 (5)	EN 14105 (5)
			15908 (5)	-	EN 14106 (5)
			-		
Glicerol total - máx. (10)	% massa	0,25	15344	6584 (5)	EN 14105 (5)
			15908 (5)	-	
Monoacilglicerol - máx.	% massa	0,7	15342 (5)	6584 (5)	EN 14105 (5)
			15344		
			15908 (5)		
Diacilglicerol - máx.	% massa	0,20	15342 (5)	6584 (5)	EN 14105 (5)
			15344		
			15908 (5)		
Triacilglicerol - máx.	% massa	0,20	15342 (5)	6584 (5)	EN 14105 (5)
			15344		
			15908 (5)		
Metanol e/ou Etanol - máx.	% massa	0,20	15343	-	EN 14110 (5)
Índice de Iodo	g/100g	Anotar	-	-	EN 14111 (5)
Estabilidade à oxidação a 110°C - mín. (11)	H	6 (12)	-	-	EN 14112 (5)
					EN 15751 (5)

Notas: (1) Límpido e isento de impurezas, com anotação da temperatura de ensaio. Em caso de disputa, o produto só poderá ser considerado como não especificado no Aspecto, caso os parâmetros teor de água e/ou contaminação total estejam não conformes. (2) Para efeito de fiscalização, nas autuações por não conformidade no Aspecto, deverão ser realizadas as análises de teor de água e contaminação total. O produto será reprovado caso pelo menos um desses dois últimos parâmetros esteja fora de especificação. (3) Para efeito de fiscalização, nas autuações por não conformidade, será admitida variação de +50 mg/kg no limite do teor de água no biodiesel para o produtor e de +150 mg/kg para o distribuidor. (4) Quando a análise de ponto de fulgor resultar em valor superior a 130°C, fica dispensada a análise de teor de metanol ou etanol. (5) Os métodos referenciados demandam validação para os materiais graxos não previstos no método e rota de produção etílica. (6) 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 mudança de tipo de material graxo, o Produtor deverá analisar número de amostras correspondente ao número de tipos de materiais graxos utilizados. (7) Em caso de disputa, deve ser utilizado o método EN 14107 como referência. (8) O método ASTM D6890 poderá ser utilizado como método alternativo para determinação do número de cetano. (9) Limites conforme Tabela II. Para os estados não contemplados na tabela o ponto de entupimento a frio permanecerá 19°C. (10) Poderá ser determinado pelos métodos ABNT NBR 15908, ABNT NBR 15344, ASTM D6584 ou EN14105, 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. (11) O limite estabelecido deverá ser atendido em toda a cadeia de abastecimento do combustível. (12) A estabilidade à oxidação a 110 °C terá seu limite mínimo de 8 horas, a partir de 1º de novembro de 2014.

Valores conformes para Ponto de Entupimento de Filtro a Frio

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

Fonte: Adaptado pelo autor da ANP (2014).

O teor de éster no biodiesel previsto na especificação pode ser determinado pelas normas ABNT NBR 15764 ou EN 14103. Em ambas, os ésteres são determinados pela soma dos alquil ésteres, sem apresentar a identificação dos mesmos. Estudos mostram que as composições dos ésteres no biodiesel influenciam suas propriedades e, conseqüentemente, nas suas misturas com o diesel (LOBO et al., 2009).

Vários trabalhos foram realizados (DUARTE FILHO; ANDRADE; MENEZES, 2009) com o objetivo de avaliar as propriedades necessárias para o uso do biodiesel como: combustível automotivo, tais como estabilidade oxidativa, importante dado para o armazenamento, enquanto os valores para o ponto de entupimento a frio podem ser um agente limitante para o uso do biodiesel em regiões mais frias.

Os ácidos graxos saturados, ácidos palmítico (16:0) e esteárico (18:0), com pontos de fusão (415-8°C) e (442-2°C) respectivamente, presentes no óleo de soja, interferem na qualidade do ponto de entupimento a frio, pois têm pontos de ebulições relativamente altos. Por outro lado, os metil ésteres de ácidos graxos poli-insaturados, por terem valores mais baixos de ponto de fusão, (SOLOMONS, 2006) melhoram de forma significativa a propriedade de fluxo deste combustível, porém são extremamente sensíveis à oxidação, o que torna o biodiesel vulnerável em relação à estabilidade no armazenamento, daí a importância de um controle não simplesmente do teor de biodiesel como também de sua composição (KNOTHE, 2005).

As propriedades físico-químicas do biodiesel foram estudadas por Zuninga et al. (2011). Verificou-se que a composição dos alquil ésteres presentes no biodiesel, o tamanho dos radicais presentes, assim como as insaturações existentes, exercem grande influência em suas propriedades, como viscosidade, massa específica, número de cetano, ponto de fulgor, ponto de fluidez e de névoa e poder calorífico, as quais compõem o escopo da especificação da mistura biodiesel e diesel comercial e

resultam na qualidade combustível desse energético. A viscosidade do diesel é uma propriedade a ser controlada, pois se muito baixa implicará em vazamento entre a câmara e o pistão do motor, enquanto se muito alta implica em maior dificuldade de trabalho para a bomba injetora pulverizar o combustível, promovendo assim uma contaminação do óleo lubrificante e a produção de uma fumaça preta.

Sendo a soja a matriz de maior uso no Brasil para a produção do biodiesel, isso tem mantido suas propriedades físico-químicas com pouca variação. Os maiores problemas encontrados são em função da oxidação facilitada pelo alto teor de ésteres insaturados. Enquanto se trabalha com valores baixos de adição de biodiesel ao diesel, não se verificam variações perceptíveis nas propriedades físico-químicas da mistura. Com a possibilidade do aumento da proporção do teor de biodiesel as propriedades do combustível serão afetadas e tecnologias analíticas deverão estar prontas para atender a essa demanda.

2.4 TÉCNICAS PARA ANÁLISES DO ÓLEO DIESEL E SUAS MISTURAS COM BODIESEL

Verificou-se que várias técnicas foram e continuam sendo testadas para a especificação do biodiesel B100 e da sua mistura BX em diesel mineral. Destacam-se as técnicas cromatográficas e espectrométricas (MONTEIRO et. al, 2008) com suas respectivas vantagens e desvantagens de uso:

Espectrométricas:

- espectrometria na região do infravermelho médio (IR–mid);
- espectrometria na região do infravermelho próximo (IR–NIR);
- espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C .

Cromatográficas:

- cromatografia líquida de alta resolução (CLAR);
- cromatografia a gás com detector seletivo de massa (modo CG-SM) e (CGxCG-MS);
- cromatografia a gás multidimensional (CGxCG-DIC);
- cromatografia a gás unidimensional (CG-DIC).

2.5 MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS

A espectroscopia, segundo Skoog (2006), é uma técnica que relaciona matéria e energia e que tem ampla aplicação tanto na análise qualitativa, na elucidação de estruturas químicas, quanto na análise quantitativa, relacionando a energia absorvida por uma molécula e a quantidade da mesma.

Segundo Siesler et al. (2002), a espectroscopia, quando usada para fins analíticos, tem a capacidade de fornecer importantes informações a respeito das propriedades e composição de materiais, através do uso de diferentes regiões do espectro eletromagnético.

2.5.1 Espectroscopia na região do infravermelho médio (mid-IR)

Esta técnica é a indicada pela ANP para quantificar o percentual de biodiesel presente em misturas biodiesel e diesel através das normas EN14078:2003/11 ou ABNT NBR 15568.

Os métodos espectrométricos (IR-mid) se baseiam na interação entre matéria e energia. Na região do espectro eletromagnético, o infravermelho médio se dá entre 4000 cm^{-1} e 400 cm^{-1} . Esta região corresponde a uma faixa de energia de $4,8\text{ kJ.mol}^{-1}$ a $48,0\text{ kJ.mol}^{-1}$, de interação entre a energia e as moléculas dos analitos.

Segundo Pasquini (2003), a aplicação do infravermelho vem sendo usada desde 1900 na identificação de grupos funcionais de moléculas orgânicas. A técnica espectrométrica na região do infravermelho (IR) já vinha sendo usada há bastante tempo na indústria, com o advento da quimiometria e a aplicação da transformada de Fourier (FT-IR). De acordo com Mueller et al., (2013) através de trabalho o qual avaliou-se a combinação do FTIR conjuntamente com as ferramentas de análise de agrupamento hierárquico, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis* (HCA), e análise de componentes principais, do inglês *Principal Component Analysis* (PCA), resultou numa experiência exitosa na classificação de biodiesel de várias origens.

Oliveira et al. (2006), Lobo et al. (2009), Ruschel et al. (2014) e outros apresentaram trabalhos que buscaram introduzir a quimiometria associadas ao FT-IR-mid para a consolidação da quantificação do éster do biodiesel associado à sua identificação.

A literatura científica apresenta ainda vários relatos sobre o uso de espectroscopia no infravermelho para avaliar a adulteração de óleos vegetais e misturas de biodiesel em diesel (SILVERSTEIN, 2010; KNOTHE, 2006; TEIXEIRA et al., 2006).

2.5.2 Espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR)+

O avanço da técnica espectroscópica na região do infravermelho próximo (NIR) foi determinado pela aplicação da quimiometria e pelo desenvolvimento de novas tecnologias (PASQUINE et al., 2003).

A excitação das moléculas através da radiação NIR é maior que a excitação para colocá-las num estado vibracional e menor que a energia necessária para promover a excitação dos elétrons nas moléculas. A aplicação da técnica promove vantagens em relação à rapidez e alta taxa de penetração adequada para controle de processo, uma vez que pode ser colocado em linha, sem que haja necessidade de tratamento prévio da amostra.

Segundo Gemperline (2006), quando se trabalha na região do infravermelho próximo NIR, o espectro gerado será a soma das absorções das várias regiões absorvidas. Isso, se por um lado melhora no aspecto quantitativo, termina dificultando em relação ao aspecto qualitativo. Para tratar o grande número de informações obtidas no espectro, a associação da NIR a um tratamento matemático através da quimiometria tem sido uma saída, proporcionando bons resultados.

Uma vantagem no uso da espectrometria na região do NIR é observada no processo de acompanhamento das reações de transesterificação para produção do biodiesel, uma vez que ele consegue diferenciar as bandas de absorção dos triglicerídeos e do éster metílico produzido. Percebe-se que os espectros gerados para os ésteres metílicos se apresentam como picos finos e bem definidos e os espectros obtidos pelos dos triglicerídeos se apresentam graficamente como “ombros”. Como limitações, estão as determinações quantitativas dos contaminantes do biodiesel, que não conseguem ser determinados nos níveis das especificações legais exigidas. Embora seja uma técnica bastante útil em pesquisa, a sua aplicabilidade em controle da qualidade do combustível é dificultada pelo alto custo do equipamento, manutenção e a alta complexidade de manuseio (KENOTHE, 2000).

2.5.3 Espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C

A técnica espectrométrica de ressonância magnética do hidrogênio (MMN H^1) é importante para a determinação do teor de biodiesel em diesel, pois ela monitora o hidrogênio do radical metila ou etila do biodiesel formado, podendo quantificar o biodiesel como também identificar possíveis adulterações provocadas por adição de óleo vegetal ao diesel. Segundo Gelbard et al. (1995), esta potencialidade analítica pode ser usada na determinação tanto da cinética das reações de transesterificação como no cálculo do rendimento. Nos trabalhos avaliados percebem-se precisões e exatidões analíticas, aceitáveis quando comparados aos métodos cromatográficos. O que inviabiliza o uso da técnica para uma rotina analítica são os custos com equipamentos insumos e manutenções (KNOTHE, 2006).

2.6 METODOS CROMATOGRÁFICOS

A cromatografia é uma técnica analítica utilizada para de separar e quantificar os componentes de uma amostra quando esta é diluída em uma fase móvel, que passa continuamente por uma fase estacionária capaz de promover interações diferenciais entre os componentes (forças intermoleculares), retardando alguns componentes em relação aos outros e estabelecendo assim a separação entre eles (SKOOG, 2006).

Essa técnica tanto pode identificar os componentes da amostra por tempo de retenção (TR) dentro da coluna ou através de detectores específicos de fragmentos de massa (SM). A quantificação pode ser através do uso de detectores como condutividade térmica, ionização de chama, captura de elétrons, seletivos de massa ou outros. A fase móvel pode ser um líquido ou um gás, sendo classificada como cromatografia líquida ou gasosa, respectivamente, ou ainda com um fluido em uma condição supercrítica. Em relação à fase estacionária, pode ser sólida ou líquida. Na fase estacionária sólida a separação se dá por interações físico-químicas baseadas em fenômenos de adsorção, enquanto na fase estacionária líquida prevalecem os fenômenos de partição como responsáveis pelas separações dos componentes de uma amostra (LANÇAS, 1993).

2.6.1 Classificação da cromatografia quanto à fase móvel

A cromatografia pode ser classificada quanto à fase móvel como cromatografia a gás, cromatografia com fluido supercrítico ou cromatografia líquida, sendo esta a clássica, ou cromatografia líquida de alta eficiência CLAE (LANÇAS, 1993).

Como pode ser observado tanto na Tabela 2.2 quanto na Tabela 2.3, a cromatografia pode ser classificada como planar e de coluna, respectivamente. Em cada uma delas recebe uma classificação de acordo os tipos de fases estacionárias e fases móveis utilizadas. As Tabelas 2.2 e 2.3 mostram também os métodos específicos aplicados para cada tipo, a fase e o tipo de equilíbrio físico-químico existente.

Tabela 2.2 – Classificação dos Métodos Cromatográficos Planar

Classificação Geral	Método específico	Fase estacionária	Tipo de equilíbrio
Cromatografia de Papel (CP)	Líquido – Sólido (CP)	Poros de um papel específico	Fase móvel desloca-se através da fase estacionária, por ação de capilaridade sob influência da gravidade.
Cromatografia de Papel e de camada delgada (CCD)	Líquido – Sólido (CP)	Sólido específico sob uma placa de vidro	A separação se dá por diferença de afinidade dos componentes com a fase estacionária.

Fonte: Adaptado de Skoog (2006).

Praticamente todos os tipos de cromatografia apresentadas na Tabela 2.3 podem ser utilizadas para análises de biodiesel e suas misturas, como mostram LOBO et al. (2009), cada uma delas com suas vantagens e limitações.

Tabela 2.4 – Classificação dos Métodos Cromatográficos quanto à Coluna

Classificação Geral	Método específico	Fase estacionária	Tipo de equilíbrio
Cromatografia a gás (CG- colunas empacotadas)	Gás-Líquido (CGL)	Líquido adsorvido ou ligado à superfície de um sólido.	Partição entre gás e líquido.
Cromatografia a gás de alta resolução (CGAR- colunas capilares)	Gás- Sólido	Sólido	Adsorção
Cromatografia Líquida Clássica (Fluxo de fase móvel por gravidade) e Cromatografia líquida de alta eficiência (Fluxo de fase móvel por bombas de alta pressão)	Líquido – Líquido	Líquido adsorvido ou ligado à superfície de um sólido.	Partição entre líquidos miscíveis.
	Líquido- sólido	Sólido	Adsorção
	Troca iônica	Resina trocadora de íons	Troca iônica
	Exclusão por tamanho	Líquido nos interstícios de um sólido polimérico	Partição/Penetração
	Afinidade	Líquido específico para determinado grupo ligado a uma superfície sólida.	Partição entre líquido superficial e líquido móvel.
Cromatografia supercrítica (CS) (Fase móvel é um líquido supercrítico)		Espécies orgânicas ligadas a uma superfície sólida	Partição entre fluido supercrítico e fase ligada.

Fonte: Adaptado de Skoog (2006).

2.6.2 Determinação da eficiência de uma coluna cromatográfica

Adaptações feitas aos parâmetros utilizados para descrever uma separação em colunas de destilação fracionada proporcionaram aos cientistas A. J.P. Martin e R.L.M. Synge, o Prêmio Nobel de 1952, por desenvolverem o modelo matemático descrito na Equação 01, que permitisse determinar a eficiência de uma coluna cromatográfica. Para o método por eluição, aplicando a “teoria de pratos teóricos” observou-se que o gráfico de uma análise cromatográfica tinha comportamento gaussiano, conforme Figura 2.4, do qual foi possível avaliar as dispersões ocorridas para o mesmo analito em relação ao tempo médio de sua permanência na coluna. Mesmo sabendo-se que no sistema dinâmico de uma análise cromatográfica há uma

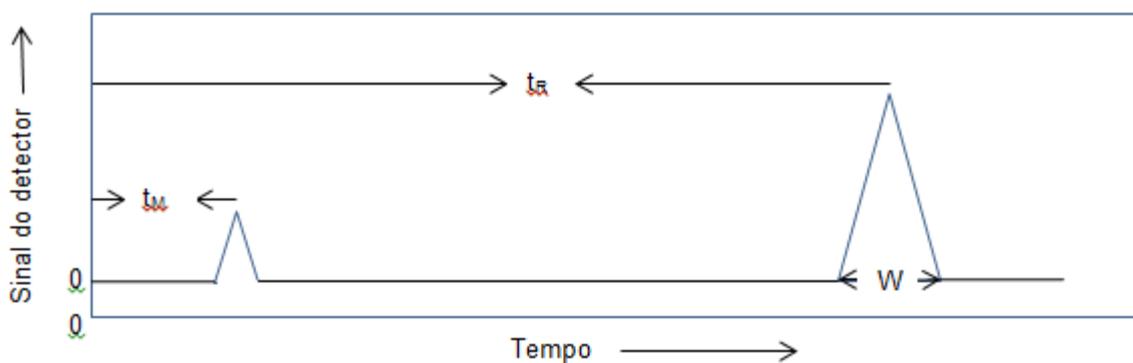
variação nos equilíbrios durante a passagem do analito pela coluna, o número de pratos teóricos (N) continua sendo a forma prática de se avaliar a eficiência de uma coluna cromatográfica (McNAIR et al., 2011).

$$N = 16 (T_r/W)^2$$

Equação 01

sendo, N é o número de pratos teóricos
 Tr é tempo de retenção do analito na coluna cromatográfica
 W é largura da base do pico.

Figura 2.4 Apresentação genérica de um cromatograma

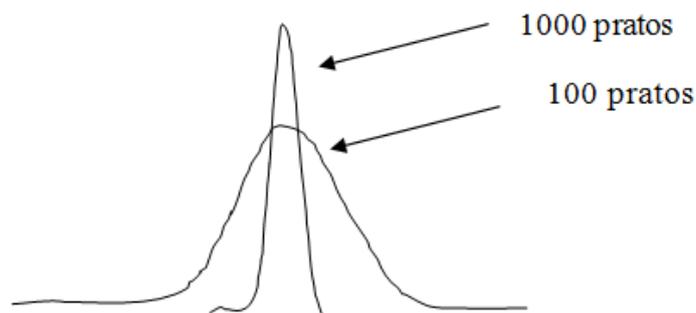


Fonte: Adaptada pelo autor de Skoog (2006).

A Figura 2.5 apresenta o cromatograma de um analito obtido de duas análises feitas em colunas de mesma fase, tamanho e condições analíticas. Pode-se observar que, embora os tempos de retenção sejam iguais, as larguras das bases são diferentes, refletindo diretamente no número de pratos teóricos, ou seja, na eficiência da coluna.

Segundo McNair (2011), é possível observar que vários fatores, como o tamanho das partículas da fase estacionária (coluna de enchimento), quantidade de amostra injetada, espessura do filme líquido da fase estacionária, diâmetro do tubo e/ou diâmetro da fase estacionária (colunas capilares), temperatura e forças de interação do analito entre as fases poderão promover o aumento da dispersão observada na Figura 2.5.

Figura 2.5 – Influência de N na eficiência da coluna



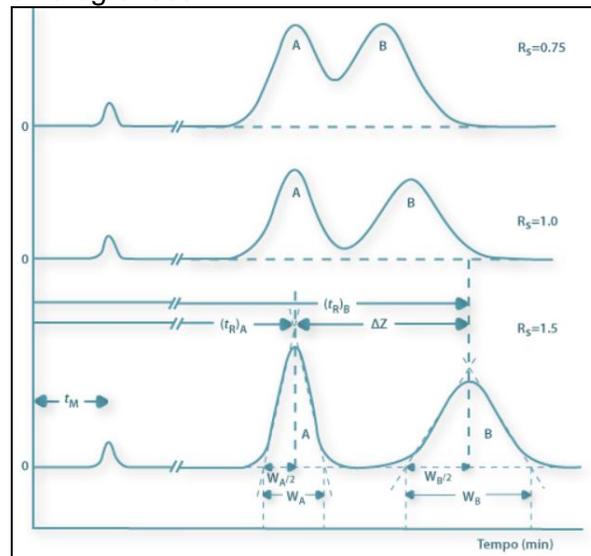
Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

O alargamento da banda de eluição irá interferir substancialmente na separação dos compostos que tenham tempos de retenções próximos, ocasionando sobreposição dos mesmos em um único pico. Os desenvolvimentos de técnicas analíticas cromatográficas buscam sempre encontrar o ponto de equilíbrio para essas variáveis. A avaliação da eficiência de uma coluna cromatográfica pode ser obtida através da aplicação da Equação 01, conhecido como número de pratos teóricos.

Quanto menor a dispersão em torno do tempo médio de retenção dos componentes de um determinado analito em uma coluna (W) para o mesmo tempo de retenção T_r , maior será o número de pratos teóricos e, conseqüentemente, será maior a medida da eficiência da coluna.

Outros fatores importantes usados para avaliar a eficiência de separação da fase estacionária são o fator de separação (FS), constante de distribuição, K_c , o fator de retenção (k) e a resolução. Essas variáveis podem ser obtidas na prática através de um cromatograma, como, por exemplo, o da Figura 2.6, aplicando para isso as Equações 02, 03, 04 e 05, respectivamente.

Figura 2.6 – Efeitos da resolução nas separações de picos cromatográficos



Fonte: Collins (2006).

O FS mede a relação entre o tempo de retenção do componente (b) de maior tempo de retenção e o tempo de retenção do componente (a) de menor tempo de retenção para picos adjacentes de acordo com a Equação 02.

$$FS = Tr(b) / Tr(a)$$

Equação 02

A constante de distribuição K_c indica a proporção entre a concentração média do analito na fase estacionária e na fase móvel, conforme Equação 03. Esse fator é importante, pois a fase estacionária deve reter o analito um tempo necessário e suficiente para que ela possa atuar na separação dos componentes da amostra.

$$K_c = C(e) / C(m)$$

Equação 03

O fator de retenção K pode ser determinado pelo cromatograma da Figura 2.6 e está relacionando o tempo de retenção ajustado do analito ($Tr - T_m$) e o tempo de retenção (T_m) de um componente não retido na fase estacionária, conforme a Equação 04.

$$K = (Tr - T_m) / T_m$$

Equação 04

As variações dos tempos de retenção entre os componentes de uma amostra estão diretamente relacionadas com as interações diferenciais destes com a fase estacionária de uma coluna cromatográfica.

A resolução (R), que pode ser também determinada pelo cromatograma da Figura 2.6, através da Equação 05,

$$R = [2 (Tr_{(b)} - Tr_{(a)}) / (W_b + W_a)] \quad \text{Equação 05}$$

sendo, W_b e W_a as larguras das bases dos analitos a e b, respectivamente, é de grande importância para avaliação tanto da eficiência da coluna como da seletividade (FS).

Segundo Collins (2006), o valor de resolução aceitável para fins quantitativos em cromatografia deve ser maior que 1,5, pois neste caso há uma garantia de separação total entre os componentes adjacentes. Valores menores que 1,5 indicam que a separação é parcial quando a relação entre os componentes esteja maior que 16:1. Para valores maiores que 1,5 entre os picos dos componentes adjacentes, o ensaio tende a ter um tempo maior que o necessário.

2.6.3 Evolução de cromatografia líquida de CL para CLAE

A técnica cromatográfica foi inventada pelo botânico russo Mikhael Semenovich Tswett em 1906, inicialmente com a cromatografia líquida por adsorção. Só após a década de 1970 foi possível obter avanços consideráveis da cromatografia líquida moderna, ou seja, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), devido aos avanços tecnológicos.

Conforme Lanças (2003), desde os primeiros ensaios com a cromatografia líquida o tempo de análise sempre foi um agente limitante desta técnica. Com o advento da tecnologia e o desenvolvimento de sistemas mais eficientes de bombas, colunas cromatográficas específicas e detectores, essa técnica tem avançado substancialmente, inclusive com a possibilidade do detector seletivo de massa após a introdução de sistemas modernos de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

O avanço das técnicas tanto da cromatografia Líquida CL para a CLAE como a cromatografia a gás CG e para a cromatografia a gás de alta resolução CGAR,

teve sempre como objetivo encontrar condições para evitar ao máximo as dispersões ocorridas na eluição dos componentes, o que certamente irá refletir na redução da base dos picos, proporcionando aos sistemas cromatográficos as melhores condições para atuar de forma efetiva na separação dos componentes de uma mistura (LANÇAS, 1993).

Embora existam várias formas de se classificar a cromatografia, neste trabalho será priorizada a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia a gás de alta resolução (CGAR), por serem as técnicas mais utilizadas para análises de biodiesel em diesel.

Os sistemas de detecção e quantificação dos analitos na CL são pelo recolhimento manual das frações. Na CLAE utilizam-se sistemas automatizados, de introdução, transporte e detecção dos compostos separados pelas colunas, promovendo maior precisão e exatidão analítica, em menores tempos de análises. Com a hifenação que promoveu o uso do detector seletivo de massa para a cromatografia líquida (CLAE-SM), houve uma considerável ampliação nas possibilidades para o uso da técnica.

2.6.4 Evolução da cromatografia a gás de alta resolução CGAR

Com o aparecimento da cromatografia a gás capilar, iniciada por Golay (1960), segundo McNair et al. (1969), foi possível reduzir bastante a diversidade de fases estacionárias para a separação da grande maioria dos compostos existentes em várias amostras, uma vez que esta coluna reuniu uma série de vantagens em relação à coluna empacotada, implicando em uma maior eficiência na capacidade de separação dos componentes de uma amostra.

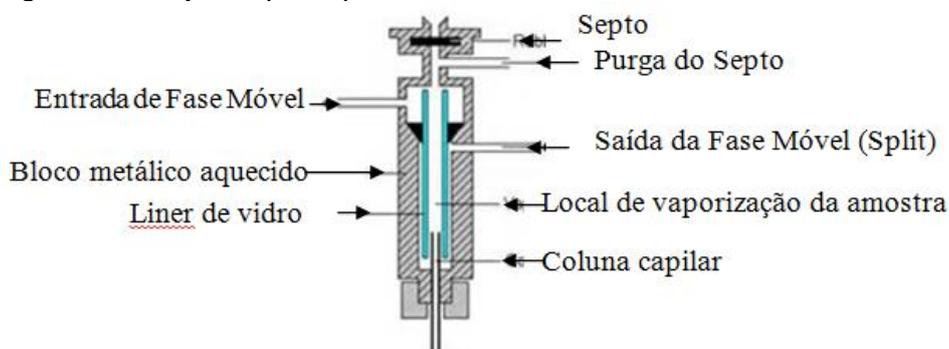
A partir do uso de colunas capilares, que cresceu em harmonia com os avanços tecnológicos em técnicas de injeção e de detectores usados na cromatografia a gás, vários trabalhos foram desenvolvidos para consolidação do uso das colunas capilares em cromatografia a gás. Contribuições expressivas surgiram na década de 1970 e 1980, como a de Grob et al. (1979), que discutiam sobre a discriminação de componentes leves ao testar análises de triglicerídeos em injetores *split-splitless* em injetores capilares, onde argumentavam que devido aos altos pontos de ebulição desses compostos, poderia ocorrer discriminação de leves durante a injeção da amostra na coluna, levando assim a erros analíticos, por falta

de representatividade da amostra analisada. Segundo seu estudo, foi observada uma discriminação de até 9 a 13% no modo *split-less* e de 15 a 30% no modo *split*. Várias outras contribuições foram importantes, como, dentre outras, as publicações de McNair (1969), relacionadas a metodologias para avaliar a polaridade das colunas capilares.

2.6.5 Sistemas de injeção utilizados em cromatografia a gás

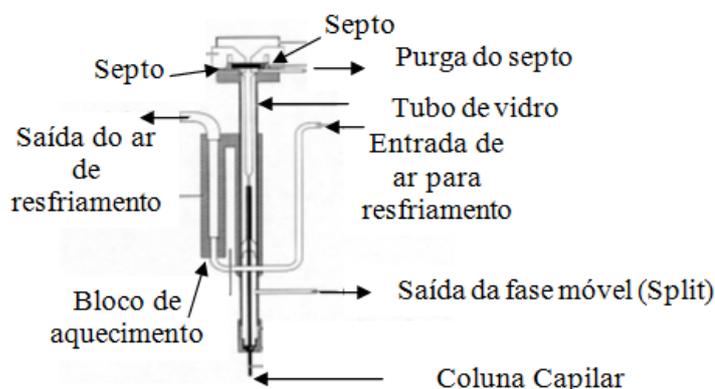
Para trabalhar com cromatografia a gás com colunas capilares, usam-se pequenas quantidades de amostras, em função da pequena quantidade de fase estacionária existente, que é da ordem de $0,1\mu\text{m}$ a $1\mu\text{m}$ de um filme líquido aderido na parte interna do tubo. Por esta razão, sistemas especiais de introdução de amostra foram desenvolvidos. Dentre eles estão os injetores com divisão de amostra *split-splitless* (Figura 2.7) e injetores *on column* (Figura 2.8).

Figura 2.7 – Injetor *split / splitless*



Fonte: Adaptado pelo autor do Manual de Cromatografia (AGILENT, 2014).

Figura 2.8 – Injetor *on column* com sistema de resfriamento para injeção



Fonte: Adaptado do Manual da Varian (2010).

Os injetores *split-splitless* foram desenvolvidos com um *layout* capaz de homogeneizar a amostra de tal forma que, quando ocorre a divisão da mesma, não haja “discriminação de leves”, ou seja, a parte da amostra que entra na coluna seja representativa. A quantidade de amostra que entra na coluna será determinada pela divisão usada no *split* e a vazão da fase móvel. Para 1 μL de amostra injetada em um cromatógrafo com *split* de 100:1 e vazão da coluna em 1 ml/min, deve-se injetar 0,01 μL da amostra na coluna cromatográfica (GROB, 1979).

Uma importante observação publicada por Ackman (1991) mostra que a depender do modelo utilizado para o sistema de injeção *split-splitless*, pode-se promover discriminação de leves nas análises dos ésteres. Sendo assim, caso haja comprovação desta limitação, sugere-se o uso de injetores *on column* (Figura 2.8). Neste caso é necessário o uso de solventes.

Quando se trabalha com injeção *on column*, usa-se um solvente adequado, que não tenha tempo de retenção coincidente com os tempos de retenção dos analitos de interesse na amostra analisada. A alternativa do uso do solvente é muito comum quando se utiliza a injeção *on column*, pois neste caso, por não ter divisão da amostra, quando se trabalha com colunas capilares de diâmetros inferiores a 0,5 mm, pode-se saturar a coluna, que assim perde sua capacidade de separação. Para colunas capilares com diâmetros internos maiores ou iguais a 0,5 mm, é possível injetar um volume de até a 1 μL em sistemas *on column*. Para a análise de contaminantes, tais como glicerina livre e mono, di e triglicerídeos em biodiesel, as normas ASTM 6584 ou EN 14105 recomendam esse procedimento.

Outro recurso tecnológico usado em cromatografia é a possibilidade de se fazer a programação linear de temperatura no injetor. No injetor *on column* da Figura

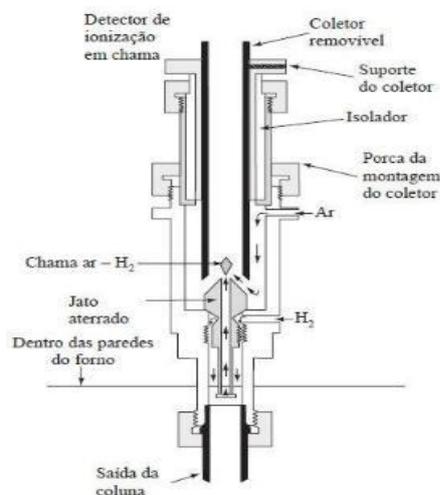
2.8 existe um sistema de circulação de gás que é controlado por uma válvula solenoide. O gás circula pelo injetor, resfriando rapidamente o mesmo entre uma análise e outra, caso contrário o tempo de resfriamento aumentaria bastante o tempo necessário para uma nova análise no mesmo equipamento. Com a programação de temperatura para o injetor, é possível analisar amostras que tenham compostos voláteis. Para tanto, coloca-se o injetor inicialmente em temperatura baixa, e após a eluição dos voláteis, direciona os componentes da amostra injetada para uma coluna analítica, enquanto é feita uma reversão no fluxo do injetor, com aquecimento do mesmo para expulsar os pesados, reduzindo assim o tempo de análise.

2.6.6 Detector de ionização de chama

O detector de ionização de chama (DIC) é usado rotineiramente na cromatografia a gás. Esse detector apresenta uma quantidade mínima detectável de aproximadamente 10^{-12} g (para alcanos), uma resposta quase universal, faixa de linearidade ampla, simples de operar e de resposta rápida.

Desde a sua introdução em sistemas analíticos na Nova Zelândia por Willian et al. (1958), conforme Holm (1999), é utilizado principalmente em amostras de compostos orgânicos. O DIC responde diretamente com a massa do composto queimado em uma chama à base de hidrogênio e ar sintético, situada entre dois eletrodos. Quando o carbono ativo proveniente dos compostos orgânicos separados pela coluna passa pela chama, queima, produzindo íons e fechando o circuito elétrico com maior intensidade do que o da chama base, emitindo assim um sinal elétrico proporcional à massa do carbono queimada, conforme Figura 2.9.

Figura 2.9 – Detector de ionização de chama



Fonte: Skoog (2006).

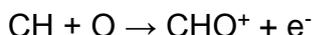
De acordo com Ciola (1990), a resposta deste detector é diretamente proporcional à ionização de uma chama base de hidrogênio e a ionização adicional formada pela combustão do componente que sai da coluna cromatográfica, conforme a Figura 2.9, e matematicamente mostrado pela Equação 06.

$$R = k \, dm/dt$$

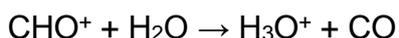
Equação 06

sendo k é a constante de proporcionalidade que depende do analito
 dm é a fração de massa queimada
 dt é a fração de tempo

A sensibilidade do DIC ao fluxo de massa pode ser representada pela reação abaixo, o qual mostra a ionização química que ocorre no detector de ionização em chama (HOLM,1999).



Quando formado, o íon CHO^+ , que é instável, reage rapidamente com água na chama para gerar o hidroxônio, conforme a reação:



Esta reação ocorre para 100.000 átomos de carbono introduzidos na chama. Logo, a resposta do DIC é proporcional ao número de átomos de carbono que são queimados (Holm, 1999). O sinal gerado pelo DIC é proporcional ao número de átomos de carbono e hidrogênio na molécula que está sendo analisada, ou seja, é proporcional aos átomos de carbonos ligados a átomos de hidrogênios (carbono ativo C^*), porém, a presença de heteroátomos afeta substancialmente a sua

resposta. Um exemplo disto é a presença de oxigênio nas moléculas de ésteres, que diminui a resposta do DIC. O átomo de carbono do grupo carboxilato (COO) não é ionizado apreciavelmente durante a combustão e não é considerado como carbono ativo. Além disso, existem diferentes comportamentos na combustão, entre cadeia saturada e insaturada, devido à redução de átomos de hidrogênio nas duplas ligações (CHRISTIE, 1994).

Visentainer (2012) fez uma análise dos fatores de resposta teórico e experimental para os ésteres de ácidos graxos existentes no biodiesel. Nos dados apresentados na Tabela 2.4 e na Tabela 2.5, os fatores de resposta para o DIC sofreram maiores variações para os metil ésteres de menor massa molar, explicado pelo efeito da maior contribuição negativa da presença do heteroátomo oxigênio, uma vez que a resposta do DIC é diretamente proporcional ao carbono ativo. Foi possível ainda verificar a contribuição negativa para as respostas em função das insaturações existentes nos ésteres insaturados, aumentando esse efeito com o número de insaturações. Foi feita uma avaliação relacionada aos aspectos analíticos quantitativos para o uso do detector de ionização de chama em análises de metil ésteres de biodiesel. As Tabelas 2.4, 2.5 e 2.6, apresentam os fatores de resposta dos ésteres presentes nas matérias-primas mais utilizadas no Brasil na produção do biodiesel, como soja (80%), sebo (17%) e algodão (3%), de acordo com os dados da ABIOVE (2013). Com exceção do sebo, que apresenta o teor de metil éster com 14 átomos de carbono (mirístico), os valores para os fatores de resposta, tanto teórico quanto experimental, sofrem pouca variação para todos os padrões internos a partir de 17 carbonos em suas estruturas, desde que seja usado um padrão de massa molar mais próximo possível dos metil ésteres existentes no biodiesel quando se utiliza o detector de ionização de chama.

A diminuição do sinal se deve à redução de átomos de hidrogênio na molécula do éster insaturado (HOLM, 1999).

O biodiesel atualmente comercializado no Brasil possui diferentes composições de metil ésteres, de acordo com a matéria-prima usada, que podem promover alterações nos resultados analíticos, mesmo que sua composição básica varie entre 14 e 24 átomos de carbono, conforme marcação na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 – Fator de correção teórico (FCT) para ésteres metílicos de ácidos graxos de referência como padrão interno

*Ésteres metílicos	18:0Me Estearato de metila	12:0 Me Dodecanoato de metila	17:0Me Heptadecanoato de metila	18:1Me Oleato de metila	19:0Me Nonadecanoato de metila	21:0Me Heneicosanoato de metila	23:0Me Tricosanoato de metila
04:0	1,5396	1,4294	1,5257	1,5501	1,5522	1,5742	1,5930
05:0	1,4009	1,3006	1,3883	1,4105	1,4123	1,4324	1,4495
06:0	1,3084	1,2147	1,2966	1,3174	1,3191	1,3378	1,3538
07:0	1,2423	1,1534	1,2311	1,2508	1,2524	1,2702	1,2854
08:0	1,1927	1,1073	1,1820	1,2009	1,2024	1,2195	1,2340
09:0	1,1542	1,0716	1,1438	1,1621	1,1636	1,1802	1,1942
10:0	1,1233	1,0429	1,1132	1,1310	1,1325	1,1486	1,1622
11:0	1,0981	1,0195	1,0882	1,1056	1,1071	1,1228	1,1361
12:0	1,0771	1,0000	1,0674	1,0845	1,0859	1,1013	1,1144
12:1	1,0670	1,9906	1,0574	1,0743	1,0757	1,0910	1,1040
13:0	1,0593	1,9835	1,0497	1,0666	1,0680	1,0831	1,0960
14:0	1,0441	1,9694	1,0347	1,0512	1,0526	1,0676	1,0803
14:1	1,0354	1,9613	1,0261	1,0425	1,0439	1,0587	1,0713
15:0	1,0308	1,9570	1,0215	1,0379	1,0392	1,0540	1,0665
15:1	1,0227	1,9495	1,0135	1,0297	1,0311	1,0457	1,0581
16:0	1,0193	1,9463	1,0101	1,0263	1,0276	1,0422	1,0546
16:1	1,0117	1,9393	1,0026	1,0186	1,0200	1,0345	1,0468
16:2	1,0041	0,9322	0,9951	1,0110	1,0123	1,0267	1,0389
16:3	0,9965	0,9252	0,9875	1,0033	1,0046	1,0189	1,0310
16:4	0,9889	0,9181	0,9799	0,9957	1,9970	1,0111	1,0232
17:0	0,0091	0,9369	1,0000	1,0160	1,0173	1,0318	1,0440
17:1	0,0019	0,9302	0,9929	1,0088	1,0101	1,0244	1,0366
18:0	1,0000	0,9284	0,9910	1,0068	1,0082	1,0225	1,0347
18:1	0,9932	0,9221	0,9842	1,0000	1,0013	1,0155	1,0276
18:2	0,9865	0,9159	0,9776	0,9933	0,9946	1,0087	1,0207
18:3	0,9797	0,9096	0,9709	0,9864	0,9877	1,0017	1,0137
18:4	0,9730	0,9034	0,9642	0,9797	0,9809	1,9949	1,0067
19:0	0,9919	0,9209	0,9830	0,9987	1,0000	1,0142	1,0263
20:0	0,9846	0,9141	0,9757	0,9913	0,9926	1,0067	1,0187
20:1	0,9785	0,9085	0,9697	0,9852	0,9865	1,0005	1,0124
20:2	0,9724	0,9028	0,9636	0,9791	0,9803	0,9943	1,0061
20:3	0,9663	0,8971	0,9576	0,9729	0,9742	0,9880	0,9998
20:4	0,9603	0,8916	0,9516	0,9669	0,9681	0,9819	0,9936
20:5	0,9542	0,8859	0,9456	0,9607	0,9620	0,9757	0,9878
21:0	0,9780	0,9080	0,9692	0,9847	0,9860	1,0000	1,0119
22:0	0,9720	0,9024	0,9632	0,9787	0,9799	0,9939	1,0057
22:1	0,9664	0,8972	0,9577	0,9730	0,9743	0,9881	0,9999
22:2	0,9609	0,8921	0,9522	0,9675	0,9687	0,9825	0,9942
22:3	0,9554	0,8870	0,9468	0,9619	0,9632	0,9769	0,9885
22:4	0,9499	0,8819	0,9413	0,9564	0,9577	0,9713	0,9828
22:5	0,9443	0,8767	0,9358	0,9508	0,9520	0,9655	0,9770
22:6	0,9388	0,8716	0,9303	0,9452	0,9465	0,9599	0,9713
23:0	0,9665	0,8973	0,9578	0,9731	0,9744	0,9882	1,0000
24:0	0,9615	0,8927	0,9528	0,9681	0,9694	0,9831	0,9948
24:1	0,9564	0,8879	0,9478	0,9629	0,9642	0,9779	0,9896

Fonte: Marcação do autor de figura de Visentainer (2012).

Notas: *A simbologia representa a cadeia principal do EMAG. Massas Atômicas consideradas : C = 12,0110; H = 1,0079; O = 15,9994. Os isômeros dos EMAGs posicionais e geométricos e os ésteres metílicos ramificados apresentam o mesmo FCT desde que apresentem o mesmo número de Carbono ativo C*.

Tabela 2.5 – Fator de resposta experimental e teórico em relação ao padrão interno (PI) metil tricostanoato (MEC23:0)

EMAGs	Fator de resposta		Coeficiente (C)
	Experimental (FCE) ^a	Teórico (FCT) ^b	C = FCE / FCT
12:0Me	1,0535 ± 0,0095	1,1144	0,9454
14:0Me	1,0653 ± 0,0093	1,0803	0,9861
16:0Me	1,0491 ± 0,0092	1,0546	0,9948
18:0Me	1,0282 ± 0,0094	1,0347	0,9937
18:1n-9Me	1,0329 ± 0,0098	1,0276	1,0052
18:2n-6Me	1,0524 ± 0,0189	1,0207	1,0311
18:3n-3Me	1,0505 ± 0,0168	1,0137	1,0363
20:0Me	1,0274 ± 0,0083	1,0187	1,0085
20:4n-6Me	1,0484 ± 0,0198	0,9936	1,0552
20:5n-3Me	1,0443 ± 0,0239	0,9878	1,0572
22:0Me	0,9905 ± 0,0092	1,0057	0,9849
22:6n-3Me	1,0442 ± 0,0278	0,9713	1,0751
23:0Me	1,0000 ± 0,0000	1,0000	1,0000
24:0Me	0,9874 ± 0,0104	1,9948	0,9926

Fonte: Adaptado de Visentainer (2007).

^aValores médios ± estimativas dos desvios padrão (n=6) EMAGs
– Ésteres metílicos de ácidos graxos

Tabela 2.6 – Composição das matérias-primas utilizadas para biodiesel no Brasil

Ácido Graxos	C:=	Algodão	Babaçu - amendoa	Mamona	Milho	Palmístico dendê	Pinhão manso	Soja	Sebo
Butírico	4:0								
Caporóico	6:0								
Caprílico	8:0		6,8			2,7			
Capríco	10:0		6,3			7			
Laurico	12:0		41			46,9			
Mirístico	14:0	1	16,2			14,1		0,08	3,2
Palmitico	16:0	25	9,4	0,05	11,1	8,8	14,3	10,3	26,5
Palmitoleico	16:1	0,7		1,4	0,1		1,3		
Margarato	17:0			0,8				4,7	1,54
Esteárico	18:0	2,8	3,4	3,8	1,8	1,3	5,1	23,4	29,1
Oleico	18:1	17,1	14,2	89,3	28,4	18,5	41,1		37,2
Ricinoleico	18:1			4,3				53,1	0
Linoleico	18:2	52,7	2,5	0,35	57	0,7	38,1	7,3	2,4
Linolênico	18:3				1		0,2	0,3	
Eicosanoico	20:0							0,2	
Gadoleico	20:1							0,21	
Behenico	22:0							0,3	
Eurico	22:1							0,2	
Lignocérico	24:0								

Fonte: Coletânea da ABIOVE (2014) e EMBRAPA (2014).

2.6.7 Escolha de uma fase estacionária

Grob et al. (2004) comentaram sobre a importância de quatro fatores na escolha de uma coluna cromatográfica: fase, diâmetro interno, espessura da fase e comprimento da coluna.

Em relação à escolha da fase, leva-se em conta o termo “semelhante dissolve semelhante”. Fases apolares promovem melhores separações em amostras apolares, enquanto fases polares promovem melhores separações entre compostos polares. No caso de compostos que são formados somente por carbono e hidrogênio com ligações do tipo $\pi \times \pi$ em duplas ou triplas, as fases ditas polarizáveis e assim requerem fases específicas para as suas separações (SOLOMONS, 2006).

A avaliação da polaridade de uma coluna pode ser determinada através dos índices de retenção, de acordo com Collins (2006). A determinação do índice de retenção iniciou-se com Kovats em 1959 e posteriormente foi ampliado com outras substâncias utilizadas como referência por McReynolds e Rohrscheuder. Por definição, entende-se por índice de retenção de Kovats (KI), como sendo cem vezes o número de átomos de um alcano saturado de cadeia normal com tempo de retenção igual ao tempo de retenção ajustado (t'_R) que o composto, para o qual se quer determinar o índice (Equação 07).

$$KI = 100n + 100 \left(\frac{\log t'_R(i) - \log t'_R(n)}{\log t'_R(n+1) - \log t'_R(n)} \right) \quad \text{Equação 07}$$

sendo,

$t'_{R(i)}$ o tempo de retenção do analito, ajustado em relação ao tempo de retenção de uma substância não retida pela coluna.

$t'_{R(n)}$ o tempo de retenção da normal parafina que elui antes do analito.

$t'_{R(n+1)}$ o tempo de retenção da normal parafina que elui depois do analito.

A Equação 07 é aplicável quando se determina o índice a temperatura constante. Para temperatura programada usa-se a Equação 08,

$$LTPRI = 100n + 100 \left(\frac{t'_{R(i)} - t'_{R(n)}}{t'_{R(n+1)} - t'_{R(n)}} \right) \quad \text{Equação 08}$$

uma vez que, neste caso, a programação linear de temperatura compensa a variação logarítmica dos tempos de retenção e, conseqüentemente, dos valores para os índices calculados.

Na Tabela 2.7 pode ser observada uma aplicação prática das constantes de McReynolds, através da comparação de fases em função da polaridade. Quanto maiores os valores das constantes, maior será a polaridade da fase. Pode-se verificar que a fase líquida iônica SBL-IL100, segundo Ragonese et al. (2009) é no momento a fase de maior polaridade, chegando ao dobro da polaridade da DBWax, que é uma das fases bastante usadas com esta característica e ainda que tenha uma faixa de temperatura para trabalho bem ampla, variando de 50°C a 270°C. Isto sugere uma boa escolha para separação de misturas de biodiesel em diesel.

Tabela 2.7 – Avaliação da polaridade da coluna através das constantes de McReynolds

Coluna	Benzeno	n-Butanol	2-Pentanona	1-Nitropropano	Piridina	Temp min/Max °C
Nukol	311	572	374	572	520	60/200
DBwax	322	536	368	572	510	60/250
SBL-IL 100	766	930	957	2292	1093	50/270

Fonte: Elaborado pelo autor, tendo como fonte Catálogos Sigma Aldrich e Agilent.

Em um recente trabalho apresentado por Yahaya et al. (2013) foi possível observar que a coluna SBL-IL-100, quando comparada com a de Supelcowax (Polietileno Glicol – PEG) de mesmo comprimento, mostra coerência entre a constante de Mc Reynolds e a ordem de eluição dos ésteres presentes no biodiesel, uma vez que na coluna de Supelcowax o métil éster de dezesseis carbonos MEC16 elui depois da normal parafina de vinte de dois carbonos nC22, enquanto na SBL-IL-100 o mesmo éster C16 elui após a normal parafina de vinte e cinco carbonos nC25, o que teoricamente sugere uma melhor separação para a mistura complexa da mistura biodiesel/diesel, nesta segunda coluna.

Segundo Pauls (2011), na escolha do diâmetro da coluna, dois fatores são de extrema importância para serem observados: eficiência da coluna e quantidade de amostra injetada. Esses dois fatores são inversamente proporcionais e o que se busca sempre é o equilíbrio entre ambos. O valor médio de 0,25 mm é o uso mais comum na cromatografia a gás. Para ensaios onde a quantidade de amostra injetada é crítica faz-se a opção por uma coluna de diâmetro de 0,32 mm ou mesmo

0,53 mm; entretanto, quando a eficiência da coluna é imperativa, pode-se fazer uso de coluna de 0,1 mm, o que garante uma eficiência de separação muito grande (alto número de pratos teóricos) possibilitando-se trabalhar com colunas extremamente curtas, reduzindo substancialmente o tempo de análise (análises rápidas). A Tabela 2.8 apresenta uma boa base para uma análise da escolha do diâmetro da coluna.

Tabela 2.8 – Efeito do diâmetro da coluna

Diâmetro interno (mm)	Eficiência: Pratos/metro (N/m)	Eficiência Total: Pratos (N)	Capacidade p/cada analito (ng)
0,53	1.300	39.000	1500
0,32	2.300	69.000	450
0,25	2.925	87.750	75
0.10	7.300	219.000	<10

Fonte: Adaptado de Catálogo Supelco.

Nota: Valores teóricos para uma coluna de 30 m com $k=600$ e 85% de eficiência da fase estacionária.

Em relação às colunas capilares, McNair (1998), já alertava que a espessura do filme de fase estacionária estava diretamente relacionada à capacidade da coluna e à natureza da amostra. Para amostras leves ou de alta concentração do analito, faz-se opção pelas espessuras de filmes (quantidade de fase estacionária) menores, enquanto que para compostos de massa molar maiores ou para análises de traços, faz-se a opção de colunas com menores espessuras para as fases estacionárias. Amostras com compostos de alta massa molar e, conseqüentemente, maiores pontos de ebulição, implicam em maior temperatura da coluna, provocando sangria, perda de fase e, conseqüentemente, problemas de contaminação do detector e perda da coluna.

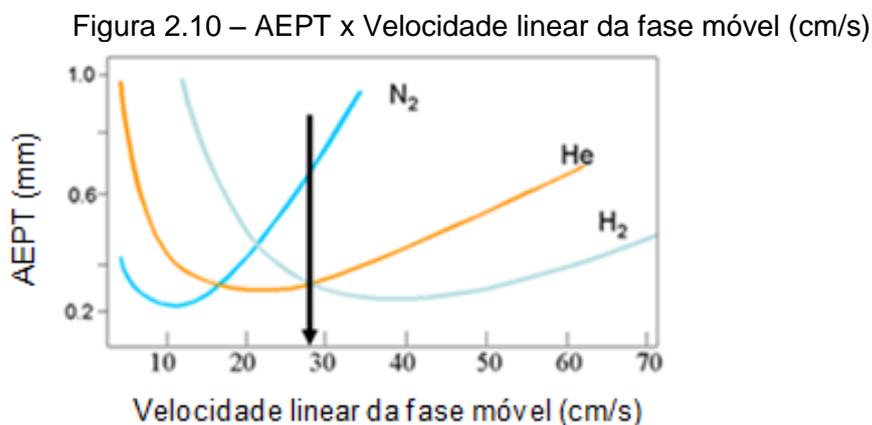
Outro fator que contribui positivamente para a eficiência da coluna capilar além, das dimensões que variam de 0,530 a 0,100 mm de diâmetro interno é a ausência de enchimento, o que possibilita se trabalhar com colunas maiores, aumentando assim o número de pratos da coluna e, conseqüentemente, a sua eficiência, sem que seja necessário trabalhar com altas pressões para compensar a perda de carga durante a transferência de massa dentro da coluna.

O comprimento da coluna, segundo McNair et al. (1998), está condicionado à eficiência que se deseja na coluna, uma vez que os números de pratos teóricos são diretamente proporcionais ao comprimento da coluna e inversamente proporcional à altura equivalente a um prato teórico (AEPT), $N = L/AEPT$.

A cromatografia a gás de alta resolução (CGAR) representou um avanço substancial para esta técnica, uma vez que, por não ter enchimento, e sim ser um tubo oco, a coluna capilar reduz as possibilidades de caminhos preferenciais durante a passagem do analito, evitando assim o alargamento da banda de eluição, implicando diretamente no aumento do número de pratos teóricos (Equação 03), ou seja, eficiência da coluna, possibilitando separações mais efetivas para os componentes de uma amostra (SKOOG, 2006).

2.6.8 Escolha do gás de arraste (fase móvel)

Analisando a Figura 2.10 em relação à escolha da fase móvel que confira a melhor condição analítica cromatográfica, percebe-se que para a cromatografia a gás capilar, na qual a área da seção transversal é muito pequena, implica em maiores velocidades lineares para o gás que por ela passa. Partindo de uma coluna de mesmo comprimento, pode-se determinar a altura equivalente a um prato teórico (AEPT), tendo o número de pratos teóricos para um dado gás de arraste. O ponto ótimo para a máxima eficiência de uma coluna será tanto maior (menor AEPT), quanto maior for a massa molar da fase móvel. Pode-se então concluir que, especialmente para colunas capilares, nas quais as velocidades lineares são maiores se conseguem melhores resultados com fase móvel de menor massa molar, explicando o uso preferencial por gases de baixa massa molar para uso em cromatografia capilar. A partir de um valor próximo a 30 cm/s, a AEPT ou (HEPT) é maior para o gás hélio do que para o gás hidrogênio (Figura 2.10).



Fonte: Adaptado pelo autor de Coolins (2006).

2.6.9 Análise qualitativa em cromatografia a gás

Em análises cromatográficas qualitativas, podem-se usar os tempos de retenção dos componentes das amostras, retenção relativa dele em relação a um componente como referência, índice de Kovats ou detectores seletivos. O índice de Kovats, além de favorecer a identificação do componente, pode ser útil na comparação entre fases estacionárias. O detector seletivo de massa CGSM é capaz de identificar compostos em função de uma propriedade espectrométrica (IR), detectando fragmentos de massas gerados no próprio detector, dos analitos que eluíram da coluna, gerando um espectro característico. O espectro gerado é confrontado automaticamente com espectros existentes em uma biblioteca de espectros instalada na CPU, que gerenciam os dados do equipamento, identificando-os. O detector de massa, além do avanço tecnológico do próprio detector, tem a cada dia aumentado a sua biblioteca de espectros, facilitando cada vez mais a identificação de componentes, uma vez que há bibliotecas específicas para cada segmento analítico, como, por exemplo, para análise de derivados de petróleo, análise de alimentos e ambientais etc., tanto para a cromatografia a gás quanto a líquida (LANÇAS, 1993).

2.6.10 Análise quantitativa em cromatografia a gás

A análise quantitativa por cromatografia, tanto a gás quanto líquida, pode ser feita de quatro formas: percentagem área, normalização de área, padronização externa e padronização interna.

O uso da percentagem área tem a vantagem de não exigir padrões quantitativos e independe do volume de amostra injetada, porém existem algumas restrições para sua aplicação: todos os componentes das amostras devem ser eluídos da coluna e detectados pelo detector ou deve-se saber a concentração do componente não detectado, pois o cálculo é feito pela relação de área de cada analito obtida pelo equipamento. Logo, considera-se que as respostas serão função apenas das massas dos componentes presentes na mistura.

O cálculo por normalização de área é semelhante ao cálculo por percentagem área, porém, quando se conhece as respostas relativas dos componentes, pode-se usá-las para corrigir as diferentes respostas dos detectores.

Esse método de cálculo tem vantagem em relação ao anterior, pois a partir do momento em que se usa um fator de correção para a resposta do detector as áreas corrigidas podem ser relacionadas.

Para o cálculo por padronização externa tem-se a vantagem de não ser necessário se conhecer as áreas dos componentes da amostra, somente os de interesse analítico. Porém, é necessário que se tenha padrões de concentrações conhecidas para construir uma curva de calibração para cada componente de interesse. Outro fator importante é que os volumes de injeção, tanto do padrão quanto da amostra, devem ser rigorosamente iguais para que seja possível a sua comparação. Logo, não é indicado para injeções manuais de amostras líquidas e sim para injetores automáticos.

O cálculo por padronização interna tem as mesmas vantagens da padronização externa, e por utilizar um padrão interno tanto no padrão quanto na amostra, a correção do volume de amostra injetada é feita no cálculo, tornando-se a forma mais eficaz de análise cromatográfica, uma vez que, independe do volume de amostra injetada, podendo a injeção ser tanto manual quanto automatizada.

2.7 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS COMUNS EM ANÁLISES DE BIODIESEL E SUAS MISTURAS COM DIESEL

2.7.1 Uso da CLAE para análise de biodiesel e suas misturas diesel

Dentre os vários trabalhos encontrados na literatura em relação ao uso da cromatografia líquida para análise de óleo, percebe-se que a técnica cromatográfica tem bastante abrangência. Várias técnicas são usadas, desde a cromatografia de camada fina TLC (*Thin-layer chromatography*), até a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia de fluido supercrítico (CFS). Para esses tipos de cromatografia vários tipos de detectores são aplicáveis, como o ultra violeta (UV), o *evaporative light scattering detection* (ELSD) e o detector seletivo de massa (EM), se configurando como técnicas de uso comum em análise de ácidos graxos e ésteres presentes em óleos de uma maneira geral (KANYA, 2007).

As primeiras publicações em relação ao uso do TLC/FID foram de autoria de Freedman (1984) e Lozano et al. (1996). Um ponto positivo para o uso deste tipo de cromatografia em análise de biodiesel é o fato de se trabalhar com baixas

temperaturas, não sendo assim necessário o pré-tratamento da amostra como, por exemplo, o uso de derivatizantes. No entanto, alguns detectores, como o UV, não apresentaram bons resultados devido aos acilgliceróis não serem absorvidos nesta região espectral, implicando assim na necessidade de uso de detectores mais sofisticados, mais caros e de uso mais complexo, como o ELSD (*Evaporative Light Scattering Detection*), (HOLCAPEK et al., 1999).

Outro estudo comparativo entre detectores UV e ELCD, publicado por Foglia et al. (2005), aplicados em análises de biodiesel, mostraram que embora ambos tivessem respostas equivalentes, o ELCD era menos sensível à variação na composição dos ésteres presentes, uma vez que o UV é sensível ao número de insaturações presentes nos ésteres presentes no biodiesel, tornando-se assim uma vulnerabilidade analítica para análise de biodiesel. A complexidade analítica e custos com equipamentos e manutenção são fatores que devem ser vistos na definição do custo analítico (LANÇAS et al., 2004).

Kaminski et al. (2006), apresentaram interessantes resultados utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência CLAE, em análise de misturas de biodiesel em diesel. Em seus experimentos foi feita uma adaptação nas normas EN 12916 ou ASTM 6591, que são aplicadas para determinação de hidrocarbonetos polinucleares em diesel combustível. Na modificação consta um sistema de válvulas que permite fazer a retrolavagem do sistema após a eluição de todos os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Para confirmação de baixos teores de hidrocarbonetos e a presença dos ésteres no diesel, foi utilizado um sistema de diodos de ultravioleta.

Em relação à TLC/FID, os pioneiros na metodologia aplicada para análise de biodiesel foram Freedman, Pryde, Kowolk (1984) e tiveram dificuldades em relação à exatidão e sensibilidade analítica e a influência da umidade.

Bondioli e Della Bella (2005) desenvolveram um método químico-espectrométrico para análise de glicerina livre em biodiesel, com resultados, segundo eles, comparáveis aos obtidos por cromatografia a gás.

Carvalho et al. (2012) apresentaram resultados de trabalhos com o uso do APLC com detector UV tanto com sistema com gradiente das fases móveis metanol e propanol hexano (método A) para análise totais de mono, di e tri glicerídeos e ácidos graxos, como também com sistema isocrático, tendo como fase móvel a acetonitrila (método B), para análise da composição de ácidos graxos através da composição dos seus ésteres. Os resultados, segundo os autores, foram

comparáveis aos obtidos pela cromatografia a gás com detector DIC, de acordo com a metodologia oficial da *American Oil Chemists' Society* (AOCS).

Diehl et al. (2007) demonstraram a viabilidade técnica do uso da cromatografia por fluido supercrítica CFS, para análise do biodiesel numa mistura com diesel. Foram encontrados bons resultados após junções de técnicas já usadas para análises de aromáticos em combustíveis e com sistemas analíticos complexos com válvulas, colunas e injetores automáticos.

2.7.2 Normas técnicas cromatográficas aplicadas para análise de Biodiesel

As normas ASTM 6584 ou EN 14105, ambas utilizadas para determinação de impurezas residuais no biodiesel B100, são baseadas em padronização interna tanto para determinação do glicerol quanto para a determinação do mono, di e tri glicerídeos. As duas normas usam diluição da amostra em solventes para injeção *on column*, uma vez que, por menor que seja o volume de injeção direta na coluna, implicará em uma quantidade muito grande de amostra para uma coluna capilar de diâmetro menor que 0,5 mm, evitando assim a sua saturação.

O padrão interno utilizado para determinação da glicerina é o butano triol, enquanto para os glicerídeos é a tricaprina, para garantir assim que os padrões externos tenham a menor diferença possível em sua composição e resposta para o DIC, em relação ao analito em questão.

Na Tabela 2.9 estão apresentadas as condições analíticas para as normas ASTM 6584 e EN 14105. Embora as normas sugiram colunas de 10 a 15 metros, pode também ser usada a coluna de 30 metros para se conseguir melhor separação, principalmente para a monoglicerina.

Tabela 2.9 - Condições analíticas para as normas ASTM 6584 e EN 14105

Normas	ASTM 6584	EN 14105
Coluna	95% dimetilpolisiloxano + 5% de fenilpolidimetilsiloxano, HT. 10m/15m x 0,32 x 0,1µm.	100% dimetilpolisiloxano ou 95% dimetilpolisiloxano + 5% defenilpolisiloxano, HT – 10 m x 0,32 mm x 0,1 µm
Forno	50°C(1min) 15°C/min =>180°C (0min) 7°C/min => 230°C 30°C/min => 380°C (10 min)	50°C(1min) 15°C/min =>180°C (0min) 7°C/min => 230°C 10°C/min => 370°C (5 min)
Injetor	Injeção <i>on column</i> com temperatura programada que acompanha o forno	Injeção <i>on column</i> com temperatura programada que acompanha o forno
Detector	380°C	380°C
Gás de arraste	Hidrogênio ou Hélio 3 mL/min	Hidrogênio Pressão : 80 kPa 1 mL/min
Vol. de amostra	1,0 µL	1,0 µL

Fonte: Elaborado pelo autor

A identificação e a quantificação da glicerina livre são feitas através de resposta relativa e padronização interna, respectivamente, tendo o butano triol como referência, enquanto a identificação e quantificação dos acilgliceróis, mono, di e tri, são feitas, também, através de resposta relativa e padronização interna, tendo a tricaprina como referência.

Embora a ASTM 6584 seja a mais utilizada para as análises de glicerina livre e ligada a mono, di e triglicérides residuais em biodiesel, várias contribuições a todo instante estão sendo experimentadas com o objetivo de se ter uma análise mais rápida e de menor custo, mantendo a precisão e com o objetivo de atender às variedades de origem de biodiesel.

A presença de grupamentos hidroxilados na glicerina, mono, di e triglicérides elevam as forças de interações do tipo ponte de hidrogênio e, conseqüentemente, seus pontos de ebulição. Para tornar possível o uso da cromatografia a gás nesses casos, principalmente em amostras com baixos teores, a derivatização através da silanização através do uso do agente silanizante N,O-bis (trimetilsilil) trifluoracetamida (BSTFA) ou de outra forma, tem sido uma prática comum, conforme Naglic (1997) e (KNOTHE, 2006). Segundo estes autores, a silanização melhora a eluição dos compostos hidroxilados, devido à obtenção dos derivados trimetilsilil das hidroxilas presentes no biodiesel. Tanto a norma ASTM 6584 como a

EN 14105 indicam o uso do (N-metil-N-trifluoacetamida) (trimetsilil) (MSTFA) como agente silanizante. O uso da pré-coluna de 1 a 2 metros, conforme orientação observada nas referidas normas, além de facilitar a injeção *on column*, evita que fragmentos de septos, assim como resíduos, cheguem até a coluna, aumentando assim o seu tempo de vida.

Para atender à diversidade brasileira de matérias-primas disponíveis para a produção do biodiesel, são utilizadas com sucesso as normas ASTM 6584 e EN 14105, com exceção para o biodiesel de mamona. A limitação está na determinação dos triglicerídeos residuais, uma vez que a presença da hidroxila no mesmo irá comprometer a silanização da mono, di e glicerina livre. Para atender analiticamente por cromatografia ao biodiesel de mamona, são indicadas três normas brasileiras: ABNT NBR 14341 para determinação de glicerina livre; ABNT NBR 15342 para determinação de monoglicerídeos, diglicerídeos e ésteres totais, e ainda a 15344 para determinação de triglicerídeo. A norma ASTM NBR 15908:2012, além de poder ser utilizada como alternativa às normas ASTM 6584 e EN15105, atende também a biodiesel de óleos de menor massa molar, como também pode ser parte das normas cromatográficas para atender à diversidade brasileira de origens de biodiesel.

Em recente trabalho, Faria (2012) apresenta uma alternativa analítica para a análise de glicerina residual no biodiesel, substituindo o butanotriol pelo etileno glicol, uma vez que além de sua resposta e da glicerina no DIC serem bem próximas, reduz o custo analítico, pois este é muito mais caro. É importante lembrar, porém que, como o eteno diol (etileno glicol) elui antes que o propano triol (glicerina), ao contrário do butanotriol, a coluna cromatográfica deve ser de 30 metros, para evitar coeluição com os hidrocarbonetos presentes no solvente.

As normas BS EN 14103:2003, BS EN 14103:2011 e ABNT NBR 15764, (Tabela 2.10), são aplicadas para determinação do teor de ésteres do biodiesel no B100.

Tabela 2.10 – Condições analíticas para as normas EN 14103:2003, EN 14103:2011 e ABNT NBR 15764:2003

Normas	EN 14103:2003	EM 14103:2011	ABNT NBR 15764:2003
Coluna	Polietileno glicol 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m	Polietileno glicol 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m	95% dimetilpolisiloxano + 5% de fenilpolidimetilsiloxano, HT. 30 m x 0,32 x 0,1 μ m.
Forno	200°C	60°C(2min) 10°C/min =>200°C (0min) 5°C/min => 240°C (7 min)	50°C(1min) 15°C/min =>180°C (0min) 7°C/min => 230°C 20°C/min => 380°C (10 min)
Injetor	Split/Splitless T = 250°C Split = 100:1	Split/Splitless T = 250°C Split = 100:1	Injeção <i>on column</i> com temperatura programada que acompanha o forno
Detector	250°C	250°C	380°C
Gás de arraste	Hidrogênio ou Hélio de 1 mL/min a 2 mL/min	Pressão H2 = 70kPa	Hidrogênio ou Hélio 3 mL/min
Volume de amostra	1 μ L	1 μ L	0,5 μ L

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

A norma ABNT NBR 15764 é equivalente às normas ASTM 6584 e BS EN 14105, variando apenas na programação de temperatura e comprimento da coluna cromatográfica, conforme Tabelas 2.9 e 2.10. Nesta norma há uma previsão de variação de padrão interno em função da origem do biodiesel, uma vez que variando a composição, como já mencionado anteriormente, pode-se observar a variação dos resultados analíticos. Além disso, a norma ABNT NBR 15764 prevê o uso de padrão interno diferenciado quando necessário, uma vez que acil ésteres de menor massa molar têm o seu sinal mais fortemente influenciado negativamente pela presença do heteroátomo, durante a queima no detector de ionização de chama. Isto também justifica o uso de fatores de correção das áreas para os ésteres de diferentes massas molares do biodiesel (VISENTAINER, 2012).

No Brasil, as normas técnicas utilizadas como referência para determinação de metanol residual são EN 14110 ou ABNT NBR 15343. A norma europeia EN14110 sugere um sistema analítico baseado na análise de um sistema em equilíbrio (*headspace*), com coluna capilar apolar (DB1, SE30) ou polar (DBWAX, CARBOWAX). Sendo um sistema automático, pode-se utilizar padronização externa, porém, se o sistema *headspace* não for automático a norma orienta o uso de

padronização interna para corrigir as possíveis variações de volume injetado. Outro fator importante a ser observado no uso deste método é a resolução mínima de 1,5 entre o metanol e o padrão interno, para assegurar uma eficiente separação. A menor repetitividade aceita para este método é 1% e, se os valores forem maiores, a orientação prevista é refazer a análise, obedecendo criteriosamente todos os passos. A norma ABNT NBR 15343 é semelhante, porém com injeção direta e reversão de fluxo após a saída do padrão interno.

2.7.3 O uso da CG para análise de biodiesel e suas misturas

A cromatografia a gás se destaca dentre as outras técnicas analíticas instrumentais porque continua sendo uma alternativa que consegue reunir segurança analítica e simplicidade de uso, e quando associada ao detector seletivo de massa potencializa em muito a sua aplicabilidade na caracterização de óleos e biodiesel, como na identificação dos seus contaminantes.

O recurso do uso de sistemas multicolumnas é uma alternativa analítica para análise de misturas complexas, sendo, através de arranjos de colunas de fases estacionárias específicas, com sistema sofisticado de válvulas ou controladores de pressão, é possível direcionar os fragmentos de uma amostra para uma coluna, que fará a separação dos componentes, desviando o restante da amostra que não for de interesse analítico. Sistemas como esses já eram usados com colunas empacotadas e válvulas de 4, 6 ou 10 vias, que faziam os direcionamentos dos fragmentos da amostra injetada. Com o advento da coluna capilar e dos sistemas de redirecionamento de fluxo por controle de pressão, foi possível o retorno dos sistemas analíticos, uma vez que os volumes internos das válvulas usadas nos sistemas para colunas empacotadas são muito grandes para sistemas analíticos, implicando em dificuldades técnicas de operação. Outro fator que vem contribuindo fortemente em sistemas multicolumnas é a possibilidade de uso da cromatografia tridimensional.

A cromatografia multicolumna GCxGC, aplicada em análises de caracterização de biodiesel em diesel (MORAES et al., 2011), demonstra ser possível o uso de cromatografia a gás com detector de ionização de chama (GCXGC-DIC) como alternativa analítica mais viável economicamente, quando comparado ao sistema de cromatografia a gás multicolumnas com detector de espectrometria de massa por

tempo de voo (GCxGC/TOFMS), sem prejuízos na qualidade analítica. O uso de sistemas analíticos multicolumnas e detector DIC é uma promissora técnica para análises de amostras de misturas complexas por cromatografia a gás. Importantes contribuições foram dadas por pesquisadores da Universidade de Oakland EUA, Agilent Technologies USA e da Universidade de Kettering USA, onde Seeley, Bates e Mc Curry (2011), publicaram trabalhos utilizando esta técnica, envolvendo seleção de colunas, equipamentos e *softwares* complexos. Neste trabalho foi possível prestar excelentes resultados qualitativos e quantitativos, resultantes de combinações de várias colunas e condições analíticas com o uso de sistemas multicolumnas e através do isolamento dos grupos para análises em colunas capazes de determinar as concentrações individuais dos ésteres no biodiesel em torno de 2 ppm.

A técnica cromatográfica multicolumnas com detectores de chama ou espectrométricos de massa é eficaz, mas implica em custo analítico considerável e sistemas extremamente complexos para ser aplicado no controle de qualidade do biodiesel brasileiro, em que esses limites em torno de 2 ppm não são exigidos para atender ao objeto deste trabalho, uma vez que a tolerância da especificação do teor de BX é de 0,5% (v/v).

2.7.4 O uso da CGAR-EM para análise de biodiesel e suas misturas

Faria et al. (2007) apresentaram resultados de validação de metodologia analítica com o uso da cromatografia a gás de alta resolução com detector de espectrometria de massa (CGAR-EM), operando com monitoramento seletivo de íon (MSI). Neste, após identificação qualitativa potencializada pelo uso do modo de monitoramento por íon seletivo, foram determinados os teores dos ésteres presentes no biodiesel, através de calibração por padronização interna com o propanoato de n-pentadecanoíla. A validação do método foi confirmada com o teste de recuperação do produto, sendo o erro obtido menor que 10% para uma mistura de 1,9% de biodiesel no diesel. Na avaliação da repetitividade, observou-se uma variação inferior a 2% para a faixa escolhida para os padrões (0,7 a 4,3 % (m/m)).

Outra aplicação do detector de massa para análise de biodiesel foi apresentada por Tang et al. (2008). No trabalho, utilizou-se a cromatografia a gás, coluna de polietileno glicol (PEG) e, através do detector de massa, foi possível,

usando o modo de monitoramento de íon seletivo (MSI), determinar o teor de biodiesel em diesel.

A complexidade dos sistemas, os elevados custos de aquisição e manutenção do equipamento e a exigência de maiores cuidados e conhecimentos em seu manuseio de uso restringem a utilização do CGEM em controle da qualidade de combustíveis e, principalmente, o biodiesel, tornando-se evidente a necessidade de métodos alternativos viáveis, tanto analítica como financeiramente, para atender a esta demanda.

2.7.5 O uso da CG-DIC unidimensional para análise de biodiesel e suas misturas

A cromatografia a gás é uma técnica que já vem sendo utilizada há muito tempo em análise de óleos. Jernejcic e Premu (1969) utilizaram o recurso da transesterificação de óleos para viabilizar a sua caracterização do mesmo por cromatografia a gás, uma vez que os produtos formados mantinham as características do óleo. No sistema foram utilizadas colunas empacotadas e detector DIC, apresentando bons resultados.

Bondioli et al. (1992) descreveram a utilização de uma coluna empacotada para determinação de glicerina livre em biodiesel B-100, através de um método de preparação da amostra com uso da extração da glicerina. Após dissolver a amostra em hexano e etanol, a glicerina foi extraída com uma solução aquosa de ácido fórmico contendo o 1,4-butanotriol como padrão interno. Em seguida, a amostra foi analisada por cromatografia a gás. Esse método apresentou problemas de interferências para amostras de biodiesel produzido a partir de óleos de baixo peso molecular.

Mittelbach (1993) apresentou os resultados de análise cromatográfica do biodiesel feita diretamente em éster metílico de ácidos graxos, após reação com bis trimetilsilil trifluoracetamida (BSTFA) em solvente dimelformamida (DMF). Em seu método ele usou 1,4 butanotriol como padrão interno, e a separação foi feita em coluna de DB-5 de 60 metros de comprimento, semelhante à coluna do ASTM 6584, variando apenas o comprimento.

Como visto, muitos são os métodos cromatográficos para caracterização do biodiesel, porém, para análise de suas misturas com diesel mineral em sistemas unidimensionais, poucas publicações foram encontradas.

Pauls (2011) propõe uma metodologia rápida para a determinação de biodiesel em misturas com diesel. A metodologia aplicada é muito parecida com a norma EN 14103, mudando o diâmetro, comprimento da coluna, conseqüentemente as condições analíticas, mantendo como fase estacionária o polietileno glicol. Em seu trabalho a coluna proposta foi de 0,1 mm de diâmetro interno, comprimento de 20 m e espessura de filme da fase de 0,1 μm . Para tanto, ele empregou um *split* de 500:1 para um volume de 0,2 μL de amostra injetada. Para a amostra de biodiesel em misturas com diesel, empregou-se inicialmente um procedimento de tratamento da amostra para injeção, usando a norma EN 14331. Segundo esta norma, a separação prévia dos metil ésteres é realizada em sílica gel, aplicando a técnica de extração em fase sólida (SPE), para retenção dos metil ésteres, que posteriormente são extraídos com diclometano e analisados por cromatografia. Esse trabalho de preparação da amostra para análise é mais uma etapa que dificulta e prolonga a determinação analítica, além de torná-la mais cara.

Wawrzyniak et al. (2005), mostraram que a análise de biodiesel em misturas com diesel pode ser feita por cromatografia a gás com detector de ionização de chama, tendo uma coluna capilar de polietileno glicol J&W INNOWAX de 30 metros por 0,25 mm de diâmetro interno e 0,5 μm de espessura de filme. As condições analíticas foram: temperatura do forno isotérmica a 170 $^{\circ}\text{C}$ por 5 minutos e com uma rampa de aquecimento de 6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 230 $^{\circ}\text{C}$; o gás de arraste foi o hélio com vazão de 2,5 ml/min; o sistema de injeção estava configurado com um sistema de injeção *split-splitless*. Para calibração foi preparada uma solução padrão interno de heptadecanoato de metila de concentração igual a 10 mg/mL em heptano e misturas padrão dos metil ésteres de concentração variando de 0,7 a 1,2% em óleo diesel, isento de biodiesel. Utilizou-se 1,0 mL da solução do padrão interno e 1,0 mL de cada uma das misturas padrão e após diluição em heptano, foram injetadas com o objetivo de se determinar os fatores de resposta através dos cálculos através da Equação 09:

$$f_i = G_i A_w / G_w A_i$$

Equação 09

sendo, G_i e G_w são as massas de cada metil éster presente no biodiesel e a massa do padrão interno (heptadecanoato de metila), respectivamente e, A_i e A_w correspondem às áreas obtidas nos cromatogramas para cada metil éster e a área do padrão interno, respectivamente. Após determinação dos fatores de respostas para cada um dos componentes foi preparada uma amostra de biodiesel em diesel, diluindo 1,0 mL desta e 1,0 mL da solução de padrão interno para 10,0 mL com heptano. A amostra preparada foi analisada no cromatógrafo e os valores foram calculados através da equação Equação 10:

$$\%w_i = (m_w A_{i f_i} / m_i A_w) \times 100 \quad \text{Equação 10}$$

sendo, m_i e m_w são as massas de padrão interno e de amostra respectivamente, A_i e A_w são as área do padrão interno e da amostra, respectivamente, e f_i o fator de resposta para o metil éster (i). Os resultados foram obtidos com desvio padrão relativo variando entre 1% e 5% para valores que variaram de 0,2% a 2,53% para uma série de quatro determinações. A avaliação da incerteza foi calculada tomando como base a análise gravimétrica, o qual se verificou a consistência dos dados obtidos, tendo como referência as recomendações da GUM empregando GUM Workbench fornecida pela Metrodata, através da Equação 11:

$$|x - x_{ref}| < 2\sqrt{u(x)^2 + u(x_{ref})^2} \quad \text{Equação 11}$$

Sendo, x é o valor medido; x_{ref} é valor do padrão referência; $u(x)$ incerteza do resultado obtido pela determinação do éster; $u(x_{ref})$ incerteza conhecida do material de referência. Através dos resultados obtidos foi possível verificar que os valores obtidos para os vários ésteres analisados se confirmaram, uma vez que $|x - x_{ref}|$ foram menores que $2\sqrt{u(x)^2 + u(x_{ref})^2}$.

Ragonese et al. (2009) discutiram seus resultados tendo como enfoque a determinação por CG-DIC dos ésteres metílicos em misturas com diesel. Neste trabalho foi usada uma coluna de fase estacionária de líquido iônico, que é um dicatiônico, 1,9-di (3-vinilimidazolium) nonano *bis* (trifluorometihyl) sulfonilimate SLB-IL 100. A alta polaridade da fase permitiu uma boa separação dos

hidrocarbonetos menos retidos, evitando assim a etapa de pré-tratamento da amostra para análise do CG.

Os resultados obtidos a partir de uma coluna de 30m x 0,25 mm x 0,2 μ m, de espessura de filme, foram comparados aos resultados obtidos em uma coluna capilar de polietileno glicol de dimensões semelhantes. Para a validação observou-se um coeficiente de variação (CV) inferiores a 0,08% a 4,9% na avaliação dos tempos de retenção e área dos picos para os ésteres analisados.

Os padrões analisados variaram de 1% a 40% (m/m) e foi utilizado o heptadecanoato de metila como padrão interno. Um dado importante a ser observado neste trabalho é que devido à polaridade foi possível promover a eluição do nC25 antes do metil éster MEC16:0, enquanto na coluna de DBWAX (polietileno glicol), antes de MEC16:0 sai o hidrocarboneto nC22. Isso garante uma análise mais segura na separação desta mistura complexa.

Após avaliação dos trabalhos já desenvolvidos para determinação de biodiesel e de biodiesel em diesel e por entender a importância de se conhecer a composição dos ésteres presentes no biodiesel associado ao uso de uma das técnicas analíticas de fácil acesso pela indústria, foi feita a opção de se trabalhar com cromatografia a gás unidimensional e detector de ionização de chama.

As vantagens do uso da cromatografia a gás unidimensional com detector de ionização de chama são, além da precisão, exatidão e o baixo tempo de análise e a simplicidade de uso, e por ser uma técnica bastante difundida nos laboratórios de análises químicas, principalmente na petroquímica.

3 EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1 Materiais e Equipamentos

Foram utilizados balões volumétricos de 10 mL limpos e calibrados, frascos de 10 mL, micropipetas calibradas de volumes de 0 a 1000 μ L, micro seringas de 1, 10, 100, 250 e 500 μ L, frascos de 2 mL, pipetas graduadas de 10 mL, balança analítica de precisão de $\pm 0,1$ mg, cromatógrafo à gás com detector de ionização de chama (DIC) (varian 3800) injetor automático, CPU com software de aquisição e tratamento de dados (*star*), coluna cromatográfica capilar de (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) de polietileno glicol (DB WAX).

3.1.2 Reagentes e Padrões

Para as análises foram utilizados padrões de metil ésteres saturados (ME) de MEC8:0 a MEC24:0 (99,9%) Sigma Aldrich, nanodecanoato de metila 99,99% Sigma Aldrich, heptadecanoato de metila 99,99% Sigma Aldrich, biodiesel de soja 98,3% (m/m), biodiesel de sebo 99,0 % (m/m), biodiesel de mamona 98,7% (m/m) e diesel mineral tipo A, amostras de óleo diesel B de postos de combustíveis, heptano 99,5%, gás hidrogênio 5.0, padrão de normal parafina nC19 99,99%, gás nitrogênio 5.0, gás hélio 5.0, ar sintético SS.

3.2 ESCOLHA DAS COLUNAS

Através da literatura, buscou-se encontrar uma coluna de alta polaridade capaz de promover a retenção dos metil ésteres no biodiesel, permitindo assim que todos ou praticamente todos os hidrocarbonetos presentes no diesel tivessem menores tempo de retenção que o éster de menor massa molar do biodiesel.

A seleção das colunas foi fundamentada em pesquisas de índices de retenção de McReynolds (COLLINS, 2006). O critério estabelecido na pesquisa foi selecionar as colunas com maiores índices de retenção, para assegurar uma máxima polaridade e assim conseguir a máxima separação dos ésteres no biodiesel

do diesel mineral. Para tanto, buscou-se na literatura e catálogos de fabricantes de colunas capilares as que tivessem maiores polaridades, conforme a Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Seleção das colunas para serem testadas.

Colunas	Nukol	SBIL-111	CP Wax	DBwax	Db Wax
Comprimento (m)	30	30	30	30	10
Diâmetro interno (mm)	0,25	0,25	0,53	0,25	0,1
Esp. Filme μm	0,2	0,2	0,50	0,25	0,2

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Dentre as colunas avaliadas, Nukol, SBL-IL e Wax foram escolhidas para avaliações, por serem as fases mais polares.

3.3 PROCEDIMENTO PARA ESCOLHA DO B100 UTILIZADO NA PREPARAÇÃO DAS MISTURAS PADRÃO

O biodiesel usado para construção das misturas padrão foi o de soja, pois representa a maior participação no biodiesel nacional conforme dados da ANP e da ABIOVE, 2015. Para os testes de determinação da origem do biodiesel foram usados o biodiesel de soja e o biodiesel de mamona.

3.4 PROCEDIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE BODIESEL E DA COMPOSIÇÃO DOS METIL ÉSTERES DO B100

Para a determinação da composição do B100 foi empregada a norma EN 14103:2003/11 com algumas alterações, tanto para condições analíticas e identificações quanto para composição dos metil ésteres.

Foram pesados em balança analítica 0,0848g do B100 e 0,0860 do padrão interno, nonadecanoato de metila (MEC19:0), diluindo-se em tolueno 99,5% (m/m) para 10 mL. Desta mistura foi injetado 1 μL em um cromatógrafo varian 3800 com DIC e injetor automático, nas condições preestabelecidas pela norma BS EN 14103:2003, tendo o hélio como gás de arraste. O *software star* foi utilizado para o tratamento dos dados analíticos obtidos. As concentrações individuais dos ésteres presentes no B100 foram determinadas através do padrão interno aplicado separadamente para cada um e, o teor de éster a soma dos mesmos. Os resultados obtidos foram também corrigidos pelos fatores de resposta do DIC.

3.5 PROCEDIMENTO PARA PREPARO DE MISTURAS PADRÃO

3.5.1 Preparo de mistura padrão de 20% (m/m) de biodiesel em diesel A

Para a preparação do padrão de óleo diesel BX de 20,00 % (m/m), uma massa de 2,000g de B100 de soja foi pesada e diluída em uma de 8,000g de diesel tipo A, tendo como base a composição percentual do B100 de soja de concentração (98,2% (m/m)).

3.5.2 Preparo do padrão de misturas de metil ésteres de C8 a C24

A mistura padrão de metil éster que foi usada para confirmação dos seus tempos de retenções (identificações) nas colunas escolhidas foi preparada a partir de um padrão sintético Sigma Aldrich, contendo metil ésteres variando de oito a vinte e quatro átomos de carbonos, representados por MEC8:0 a MEC24:0, respectivamente. Para tanto foi pesada uma massa de 0,1000 g de cada éster e diluído para 10 mL, com solvente heptano 99,5% (m/m).

3.5.3 Preparo do padrão de misturas da normal parafina nC19 em diesel A

Foram pesados 0,0500 g de normal parafina nC19 e diluído em 1,0 mL de diesel mineral tipo A.

3.5.4 Preparo dos padrões de calibração do método proposto

A partir do B100 (soja) e das suas concentrações em metil ésteres, foram preparados, em 14 balões de 10 mL, padrões com concentrações entre 0,5 e 20% (m/m) de biodiesel em diesel, faixa estabelecida para esse estudo. No procedimento, foram pesadas as massas de biodiesel (B100), como também as massas do diesel adicionado para um volume final de 10 mL de solução, medidos em balões volumétricos, conforme Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Planejamento para preparação dos padrões em % (m/m)

Padrões	Massa de B100 (g)	Massa de B100 corrigida (98,01%) (g)	Massa de diesel (g)	Massa Total (g)	% BX (m/m)
1	0,0433	0,0424	8,2038	8,2471	0,51
2	0,0887	0,0869	8,1710	8,2597	1,05
3	0,1753	0,1718	7,9745	8,1498	2,11
4	0,2622	0,2570	7,8703	8,1325	3,16
5	0,3402	0,3334	7,8758	8,2160	4,06
6	0,4408	0,4320	7,8030	8,2438	5,24
7	0,5299	0,5194	7,6807	8,2106	6,33
8	0,7086	0,6945	7,5524	8,2610	8,41
9	0,8868	0,8692	7,4094	8,2962	10,48
10	1,0630	1,0418	7,2391	8,3021	12,55
11	1,2332	1,2087	7,1241	8,3573	14,46
12	1,4109	1,3828	6,9168	8,3277	16,61
13	1,5403	1,5096	6,7430	8,2833	18,23
14	1,7679	1,7327	6,5751	8,3430	20,77

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Nota: Os resultados em % (v/v) foram calculados a partir dos valores de % (m/m) e das massas específicas do B100 e da mistura. As massas específicas foram determinadas pela norma NBR ABNT 14065.

3.5.5 Preparo de soluções de MEC19:0 para validação do método

A escolha do nonadecanoato de metila para a validação método proposto foi por ele ter características próximas aos ésteres de maiores concentrações na composição do biodiesel usado neste trabalho e por este ser um padrão certificado.

A partir das soluções padrão de nonadecanoato de metila em diesel tipo A foram preparadas as misturas padrão, pesando massas do nonadecanoato de metila em massas de diesel tipo A. As concentrações de biodiesel em diesel para a validação foram escolhidos valores na faixa estabelecida no trabalho, conforme mostra a Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Preparação das misturas padrão para validação do método

	Massa MEC19:0 (g)	Massa Diesel A (g)	Diesel A+ MEC19:0 (g)	MEC19 % (m/m)
Pad. 1	0,0180	0,8191	0,8371	2,15
Pad. 2	0,0511	0,8489	0,9000	5,68
Pad. 3	0,2119	0,8265	1,0384	20,40

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

3.5.6 Preparo de misturas para identificação da origem do biodiesel

Foram preparadas três misturas contendo biodiesel de soja, sebo e mamona diluídos em diesel A, de concentrações iguais a 8,10, 8,46 e 8,55 % (m/m) respectivamente, com o objetivo de identificar suas origens através do método proposto. Para tanto foram pesadas as massas apresentadas na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 - Preparação de misturas para identificação da origem do biodiesel

Origem do biodiesel	Bio Soja	Bio Sebo	Bio Mamona
Massa Biodiesel (g)	0,0814	0,0857	0,0865
Massa de Diesel A (g)	0,9231	0,9269	0,9255
Massa da mistura (g)	1,0045	1,0126	1,0120
% do Biodiesel	8,10	8,46	8,55

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

3.6 CONDIÇÕES OPERACIONAIS DO CROMATÓGRAFO

As condições analíticas para separações dos ésteres entre si e destes com os hidrocarbonetos presentes no diesel foram determinadas tendo como base a norma EN 14103:2003. Foi feita a injeção de 1 μ L do padrão contendo 20% (m/m) da mistura biodiesel x diesel, em um cromatógrafo Varian 3800, mantendo-se as condições previstas na norma, para avaliar as separações obtidas. A melhor condição operacional do cromatógrafo foi obtida através de variações de temperatura da coluna, do volume de injeção da amostra e da variação da vazão e massa molar da fase móvel. A resposta esperada era a maior resolução para os componentes de maior grau de dificuldade de separação, em um menor tempo de análise.

A identificação dos metil ésteres na mistura foram confirmados através da injeção de 1 μ L da solução de padrão de metil éster. O metil éster MEC23:0, que não estava presente na mistura padrão foi determinado pelo gráfico da isoterma dos tempos de retenções versus número de carbonos dos metil ésteres presentes em um padrão composto de MEC8 a MEC24. Igualmente foi feito para com as normais parafinas, a qual a isoterma foi da série homóloga versus tempo de retenções.

A padronização externa foi usada na calibração do método proposto. Para tanto, foi injetado em triplicata 0,5 μ L de cada mistura padrão da Tabela 3.2 no

cromatógrafo, configurando com as condições estabelecidas para o método proposto. As curvas de calibrações para cada metil éster foram determinadas pelos valores médios das áreas e das suas respectivas concentrações.

A validação do método proposto foi feita obedecendo aos parâmetros orientados pela DOQ-CGCRE-8 ver-03-2010:

- A seletividade foi determinada para os metil ésteres entre MEC14:0 e MEC24:0 em misturas com diesel A.

- A linearidade foi avaliada para a faixa de 0,5 a 20% (m/m) de biodiesel em diesel A.

- Os limites de detecção e quantificação foram determinados para os ésteres de concentrações menores entre 0,01 e 1%. Os ésteres com concentrações menores que 0,01 não foram avaliados quantitativamente, pois o objeto do método não prevê a determinação de elementos traços.

- A precisão foi avaliada através de oito replicatas para uma amostra de B8.

- A exatidão do método proposto foi determinada através da análise de três padrões obtidos pela diluição do MEC19:0 (99,99% (m/m)) em diesel A.

- O método foi ainda avaliado através da comparação de resultados analíticos obtidos pelo método proposto CG-DIC e pelo método espectrométrico (EN 14078:2011) de uma série de amostras, e em uma série de amostras adquiridas em postos de combustíveis.

- Foram feitos os testes para identificação da origem do biodiesel adicionado ao diesel. Para tanto, foram preparadas três misturas contendo óleo de soja, sebo e mamona e analisadas pelo método proposto. A partir dos resultados obtidos para os metil ésteres presentes em cada biodiesel, os seus resultados foram normalizados para 100% e comparados a uma tabela contendo a composição dos óleos testados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES ANALÍTICAS

Dentre as colunas selecionadas na Tabela 2.7 foram feitas as avaliações para a escolha da coluna utilizada para o método analítico proposto e foi possível identificar que:

- A coluna de líquido iônico, SBL-IL 100, conforme avaliação apresentou uma maior polaridade, o que promoveu uma melhor separação entre os hidrocarbonetos e os metil ésteres, pois, a n-parafina nC25 conseguiu, nessa coluna, eluir antes do metil éster MEC16:0 (YAHAYA et al., 2013). Apesar da coluna SBL-IL 100, promover uma melhor separação dos hidrocarbonetos e dos metil ésteres, proporcionada pela sua alta polaridade, alguns picos de ésteres saturados (menos polares) tendem a inverter seus tempos de retenção, dificultando a separação deles com ésteres insaturados (mais polares) de menores massas molares. Isto pode ser observado ao utilizar o nonadecanoato de metila (MEC19:0) como padrão interno, o mesmo elui entre o MEC18:1 e MEC18:2, comprometendo a separação dos ésteres do biodiesel com maiores concentrações de MEC18:1 como também entre o MEC18:3 e o MEC20:0 (YAHAYA et al., 2013), o que compromete o objetivo deste trabalho quanto a separação dos ésteres presentes no biodiesel.

- A coluna de Nukol, embora polar, tem a temperatura máxima de operação limitada em 200°C, inviabilizando assim o seu uso em amostras de alto ponto de ebulição, como biodiesel.

- A coluna de DBWax (polietileno glicol) foi escolhida devido a esta apresentar uma separação satisfatória dos hidrocarbonetos desde MEC16 ao MEC24, presentes no biodiesel nacional e ainda por ser uma coluna de uso normal em laboratórios de cromatografia.

Após definição da coluna, iniciou-se o procedimento de determinação das melhores condições analíticas para separar a mistura biodiesel/diesel.

Foram escolhidas as condições analíticas da norma EN 14103:2003, como ponto de partida, conforme Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Condições analíticas da norma EN 14103:2003 para teor de éster em % (m/m) em B100

Norma	EN 14103:2003
Coluna	Polietileno glicol (DB Wax) 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm
Forno	200°C
Injetor	<i>Split/Splitless</i> T = 250°C <i>Split</i> = 100:1
Detector	250°C
Gás de arraste	Hidrogênio ou Hélio 1 mL/min
Vol. de amostra	1 µL

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

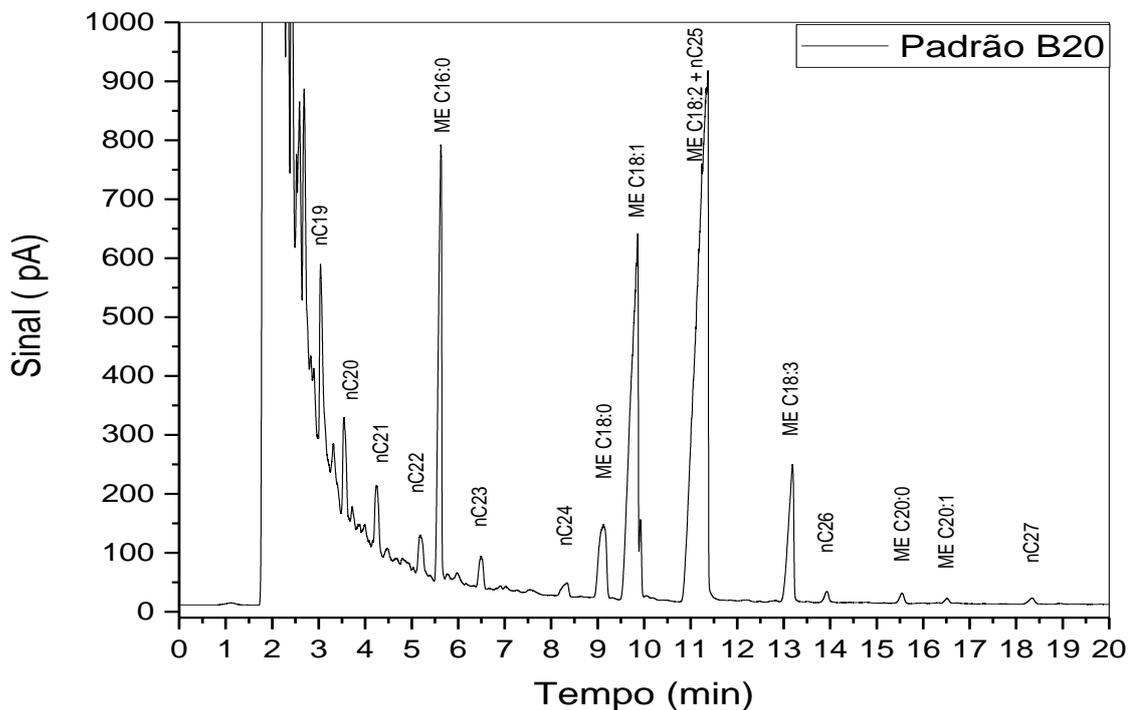
Após a injeção da mistura preparada de acordo com o item 3.5.1 obteve-se o cromatograma apresentado na Figura 4.1.

O B20 foi escolhido por este ser o limite superior da faixa pré-estabelecida neste trabalho, em que o atual valor adicionado de biodiesel ao diesel em 7% (v/v), e corresponde aproximadamente ao ponto central para os valores estudados, assegurando uma faixa de calibração do método. Ao se conseguir a separação dos componentes de interesse nesse padrão, certamente em faixas de menores concentrações conseguir-se-ia a separação, uma vez que ocorreria menor dispersão na base dos picos, aumentando assim o número de pratos teóricos e, conseqüentemente a eficiência da coluna para as referidas separações.

Ainda na Figura 4.1, fazendo uma comparação entre os resultados obtidos com os dados mostrados nas pesquisas realizadas por Yahaya et al. (2013), usando uma coluna de polietileno glicol e o perfil da composição observada para ésteres presentes no biodiesel de soja, (Tabela 2.6), verificou-se que a normal parafina nC22 (tempo de retenção 5,2 min) eluiu antes do MEC16:0 (tempo de retenção de 5,6 min), e em seguida aparecem os picos dos ésteres MEC18:0, MEC18:1, MEC18:3, MEC20:0 e MEC20:1 completamente separados e o MEC18:2 coeluinto com a normal parafina nC25.

Pode-se ainda observar no cromatograma que, além das normais parafinas, os hidrocarbonetos que aparecem após a normal parafina nC22, apresentaram baixo teores, (<0,001%), não impactando quantitativamente os resultados.

Figura 4.1 – Cromatograma do B20 (20% (m/m)) a 200°C

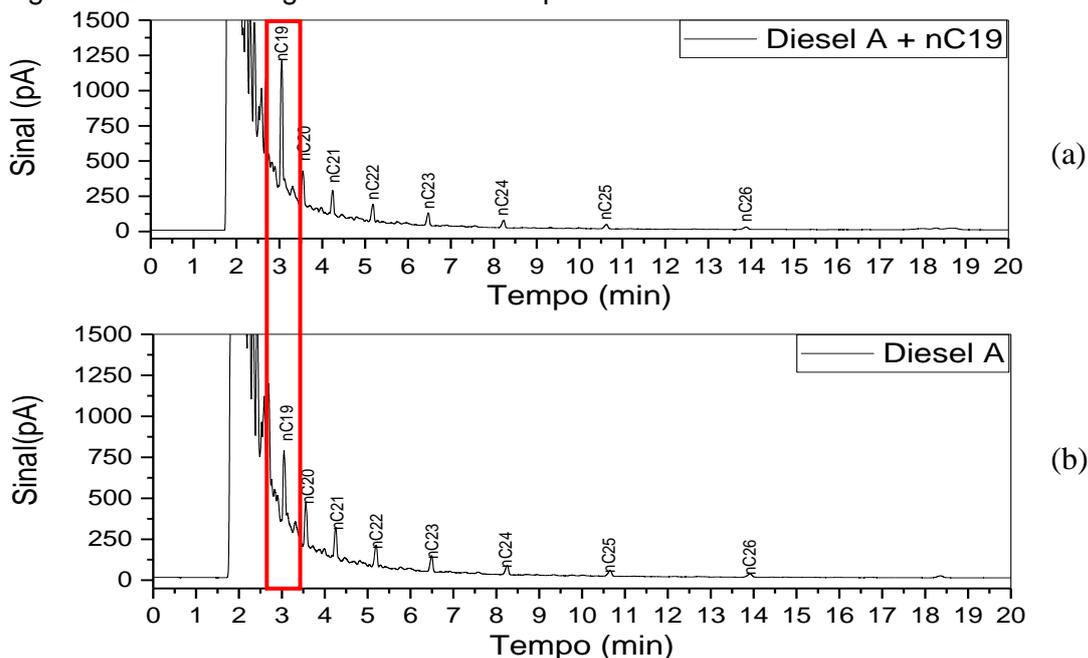


Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Para confirmação dos tempos de retenção das normais parafinas foi injetado 1 μ L do diesel A contaminado com a normal parafina de dezenove carbonos (nC19) e do diesel A puro obtendo os cromatogramas apresentados nas Figuras 4.2a e 4.2b, respectivamente.

Pode-se constatar que o pico de tempo de retenção igual a 3,1 min da Figura 4.2a aumentou o seu tamanho em relação ao mesmo tempo na Figura 4.2b, o que confirma assim o tempo de retenção da normal parafina nC19, e possibilita a sua identificação por adição de padrão conhecido.

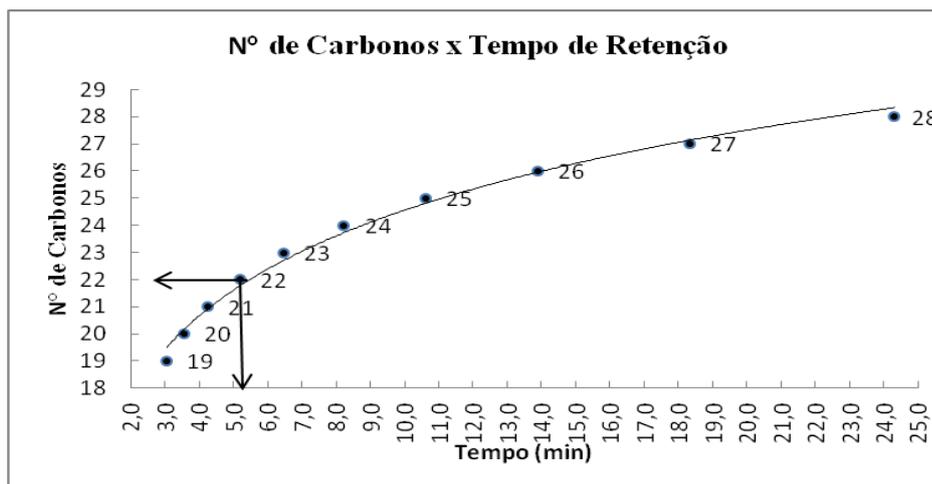
Figura 4.2 – Cromatogramas do diesel A puro e contaminado com nC19



Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

As demais parafinas da série homóloga eluem da coluna descrevendo uma função logarítmica com o tempo para um sistema isotérmico, logo foi possível encontrar os tempos das demais parafinas através da isoterma apresentada na Figura 4.3, cuja equação foi $y = 4,2526 \ln(x) + 14,764$, com coeficiente de correlação igual a R^2 igual a 0,99. Para o pico de tempo de retenção de 5,18 min o valor encontrado para o número de carbono da normal parafina foi 21,7, ou seja, a normal parafina nC22, conforme a série homóloga das normais parafinas proveniente do diesel A (Figura 4.2a e Figura 4.2b).

Figura 4.3 – Isoterma do nº de carbonos da normal parafina do diesel x Tempo de retenção



Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Ainda em relação à Figura 4.1, usando a isoterma no tempo aproximadamente igual a 11 min, não foi identificado o pico da normal parafina nC25, mas foi possível identificar tanto a nC24 como a nC26 saindo antes e depois do MEC18:2. A ausência de picos nesta região sugere que, na condição base da norma EN14103:2003, não consegue separar o nC25 do metil éster C18:2 presente no biodiesel.

Observando-se os tempos de retenção das parafinas do diesel e do cromatograma do B20, e tendo como referência o cromatograma padrão para a norma EM 14103:2003, pode-se concluir que os metil ésteres MEC16:0, MEC18:0, MEC18:1, MEC18:3, MEC20:0 e MEC20:1 tiveram uma boa resolução, e que o C18:2 provavelmente coeluiu com a normal parafina nC25. Como a condição testada não foi eficiente para a separação de todos os ésteres de interesse, buscou-se encontrar novos parâmetros analíticos que fosse capaz de resolver a separação do nC25 do MEC18:2, sem prejuízo nas outras separações. Para tanto, foi executado um planejamento variando as temperaturas de coluna de 190, 200, 210 e 230°C, e alterando o volume injetado para 0,5µL. As outras variáveis foram mantidas, conforme Tabela 4.2 e denominada a nova condição analítica como método proposto.

Tabela 4.2 – Condições analíticas do método proposto com He como fase móvel.

Normas	Método Proposto (He)
Coluna	DB Wax 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm
Forno	190°C / 200 °C / 210 °C / 230 °C <i>Split-Splitless</i>
Injetor	T = 250°C <i>Split</i> = 100:1
Detector	250°C
Gás de arraste	Hélio 1 mL/min
Vol. de amostra	0,5 µL

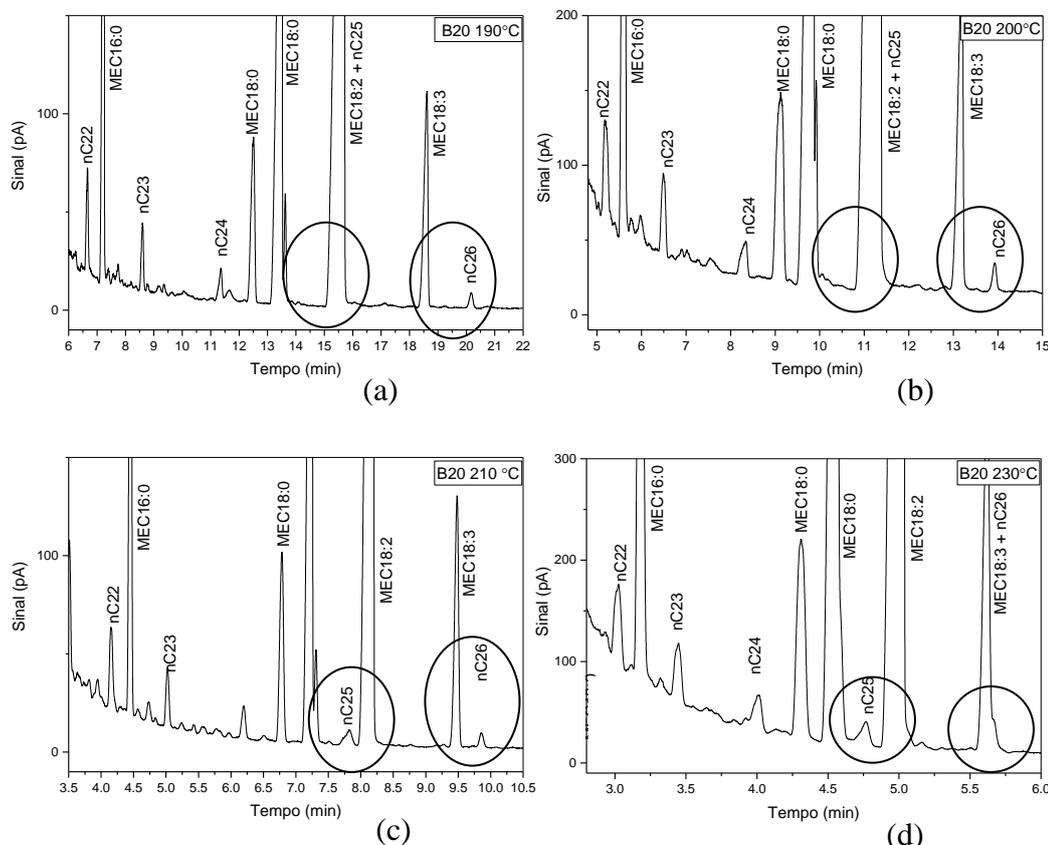
Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

4.1.1 Influência da temperatura da coluna na resolução analítica

Ao injetar 0,5 µL do padrão B20, utilizando o método proposto, e variando a temperatura da coluna, obteve-se os resultados para as temperaturas de 190°C, 200°C, 210°C e 220°C, correspondendo, respectivamente, aos cromatogramas (a), (b), (c) e (d) apresentados na Figura 4.4.

Nos cromatogramas da Figura 4.4 (a) e (b), que correspondem às temperaturas 190°C e 200°C respectivamente, a coluna não apresentou uma boa resolução entre a nC25 e o MEC18:2, nos quais os círculos mostram que para 190°C no tempo de 15,5 min (Figura 4.4a), o MEC18:2 que tem tempo de retenção de 15,5 min, coeluiu com a nC25, assim como na temperatura de 200°C no tempo em torno de 11,0 min (Figura 4.4b), embora nas duas condições o MEC18:3, tenha apresentado uma boa separação da normal parafina nC26 com tempos de retenção de 20 e 14 min. Entretanto, para a temperatura da coluna igual a 210°C, foi perceptível esta separação do MEC18:2 (8,0 min) da nC25 (7,7 min) (Figura 4.4c), mantendo também a separação da nC26 (9,7 min) do outro éster MEC18:3 (9,5 min) (Figura 4.4 (c)).

Figura 4.4 – Testes da coluna de DBWax com variação de temperatura



Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

A coluna foi ainda testada à temperatura de 230°C, com o objetivo de se conseguir melhorar ainda mais a separação. Verificou-se que houve melhora na resolução entre a nC25 (4,75 min) e o MEC18:2 (5,0 mn), porém, ocorreu sobreposição entre os picos correspondentes ao nC26 e o MEC18:3. Isso pode ser explicado aplicando-se os conceitos de constante de McReynolds, em que a ordem de eluição para compostos de uma série homóloga, em sistemas isotérmicos, resultam seus tempos de retenção nas colunas saírem em ordem logarítmica. Como tanto para hidrocarbonetos como para metil ésteres existirá uma função química específica, os ésteres e os hidrocarbonetos são influenciados com intensidades diferentes pela temperatura, foram testadas novas condições de temperatura de equilíbrio, uma vez que uma melhor resolução analítica entre o nC25 e o MEC18:2 implicaria em uma pior resolução entre o MCC18:3 e o nC26, pois os mesmos têm tempos de retenção inversos.

O MEC18:2 é de uma importância muito grande por ser o componente de concentração expressiva no biodiesel de soja.

4.1.2 Avaliação da massa molar da fase móvel na resolução analítica

A fase móvel hélio foi substituída pelo hidrogênio, mantendo-se as demais condições analíticas anteriores (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 – Condições analíticas do método proposto com hidrogênio como fase móvel

Normas	Método Proposto (H ₂)
Coluna	DB Wax 30 m x 0,25 mm x0,25 µm
Forno	210 °C <i>Split/ Splitless</i>
Injetor	T = 250°C <i>Split</i> = 100:1
Detector	250°C
Gás de arraste	Hidrogênio 1 mL/min
Vol. de amostra	0,5 µL

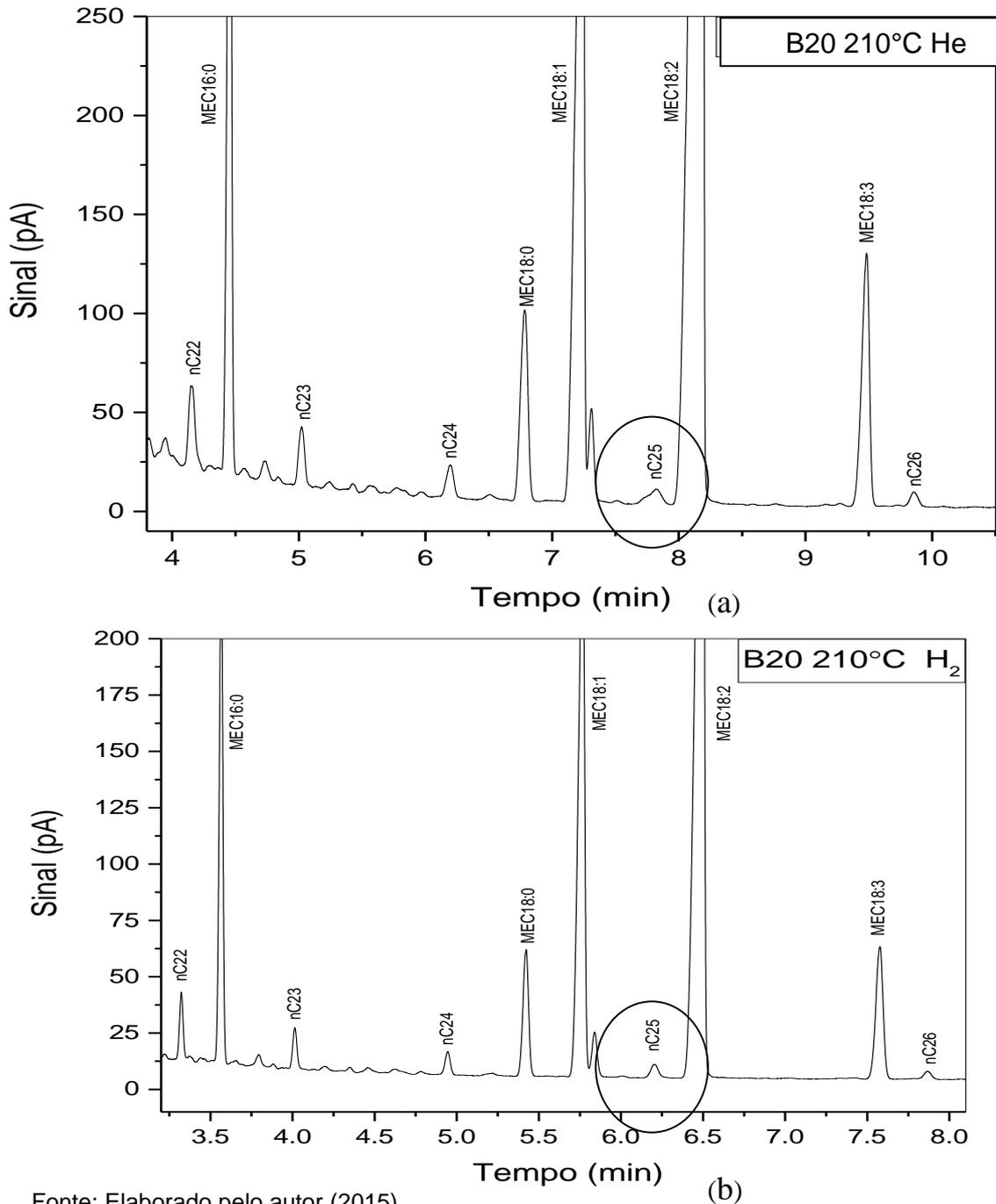
Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Os resultados estão apresentados pelos cromatogramas (a) e (b) correspondendo, respectivamente, às análises com fase móvel hélio e hidrogênio (Figura 4.5).

As separações obtidas entre a nC25 e o MEC18:2 da Figura 4.5 (b) foram melhores, além de um ganho substancial no tempo de análise, com redução de 10%, definida esta como a melhor condição para o método proposto. O maior valor para a resolução entre os picos do nC25 e metil éster C18:2 têm uma grande importância analítica, uma vez que se pode aumentar o volume de amostra sem comprometer a separação, se houver necessidade de aumento do limite de detecção, ou em situações em que os valores dos ésteres presentes na mistura venham a variar em função da origem do biodiesel.

O fato pode ser explicado pela teoria cromatográfica, pois conforme mostrado na Figura 2.10, a menor altura equivalente a um prato teórico (AEPT), que representa maior eficiência de coluna, é favorecida pela maior velocidade linear do gás de arraste. O hidrogênio, comparado ao hélio, por ter menor massa molar, consegue, para a mesma vazão, uma maior velocidade linear. Logo, isto explica a melhoria da eficiência da coluna, ao se utilizar o hidrogênio como fase móvel.

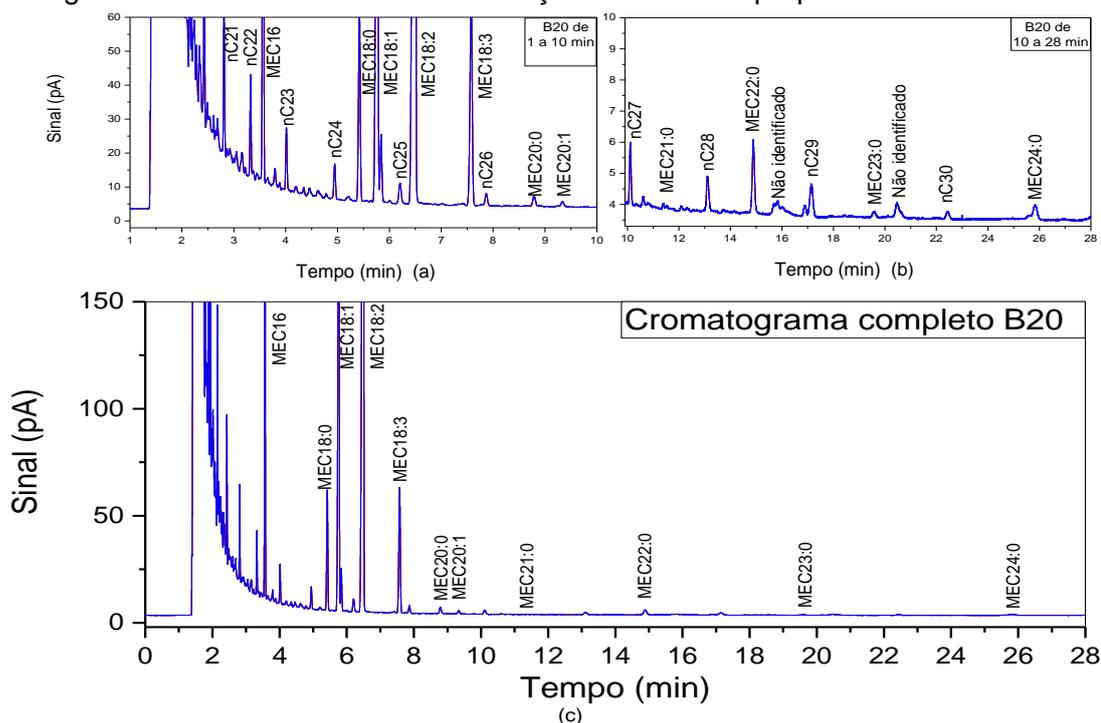
Figura 4.5 – Comparação da separação variando o tipo de fase móvel



Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

A Figura 4.6 apresenta o resultado da injeção de 0,5 μL do padrão B20 usando as condições analíticas do método proposto. O cromatograma completo foi dividido também em duas partes, com escalas diferentes, sendo a Figura 4.6 (a) com escala de 1 a 10 min versus 0 a 60 pico amperes (pA) e a Figura 4.6 (b) com escala de 10 a 26 min versus 0 a 10 pA, para uma melhor visualização.

Figura 4.6 – Padrão de B20 nas condições do método proposto

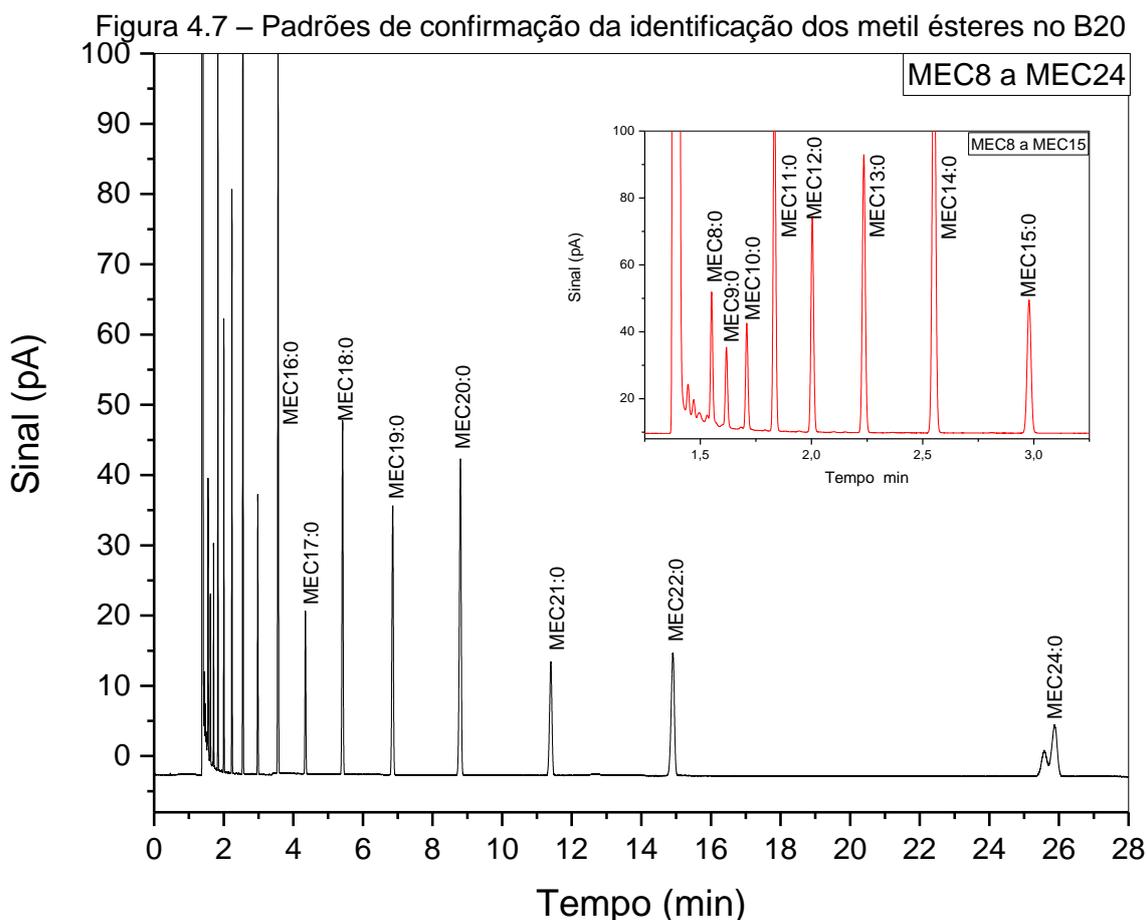


Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Através do método proposto foi possível separar e identificar, com segurança, praticamente todos os ésteres do biodiesel de soja na mistura com diesel A tais como: MEC16:0, MEC18:0, MEC18:1, MEC18:2, MEC18:3, MEC20:0 MEC20:1, MEC22:0, MEC23:0 e MEC24:0, não havendo sobreposição dos picos correspondentes aos hidrocarbonetos de maiores concentrações na faixa entre nC22 até o nC30. O MEC14:0 e o MEC17:0 não foram considerados por estarem em concentrações abaixo do limite de quantificação. Os ésteres de menores massas molares que o MEC14:0, terão maiores limites de detecção e quantificação, uma vez que eles eluem numa região de grande concentração de hidrocarbonetos do diesel, com tempo de retenção inferior a 2,5 min. Para o biodiesel comercializado no Brasil, que tem sua composição basicamente originária de soja, algodão e sebo bovino, o método proposto atende perfeitamente, uma vez que os ésteres de massas molares menores que o MEC16:0 participam na mistura com diesel A em proporções inferiores a 0,01% (v/v) e o resultado analítico para o teor de éster estabelecido pela norma espectrométrica varia em $\pm 2\%$ (v/v).

4.1.3 Confirmação da identificação dos componentes na amostra

Os ésteres do B20 foram identificados através da análise do cromatograma obtido pela injeção de 0,5µL do padrão de metil ésteres MEC8:0 a MEC24:0 (4.5.2) no cromatógrafo, com as condições analíticas do método proposto e comparado ao cromatograma do B20 nas mesmas condições analíticas. O cromatograma (Figura 4.7) foi ampliado nos tempos de 1 a 3,5 min, para uma melhor visualização das separações, para os metil ésteres de menores massas molares.



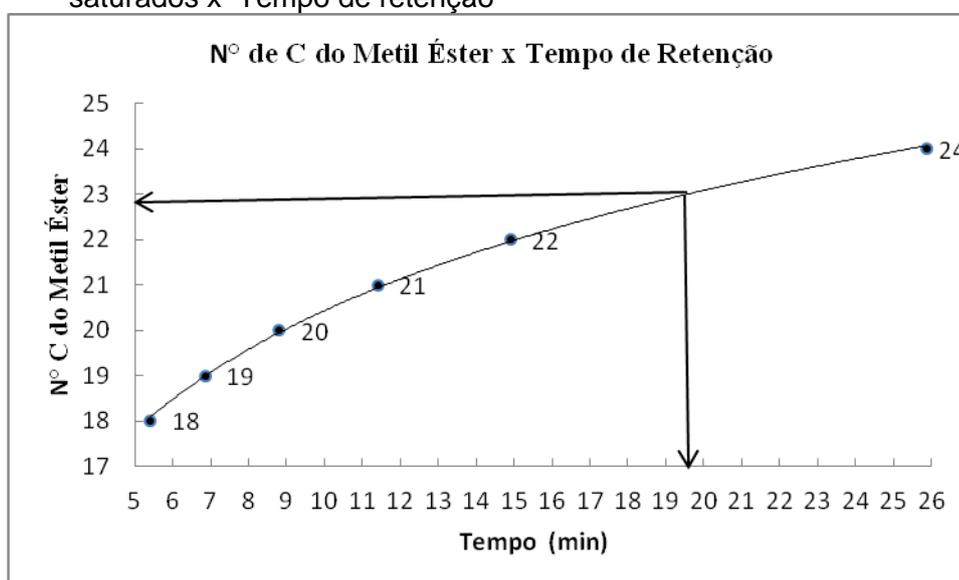
Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

O tempo de retenção do MEC23:0, embora não exista no padrão referência Sigma Aldrich utilizado (vide item 3.5.2), foi identificado através da isoterma que relaciona o número de carbono da série homóloga dos metil ésteres saturados em função dos tempos de retenção (Figura 4.8). Aplicando-se a equação logarítmica obtida da curva ($y = 3,8349\ln(x) + 11,628$), com um coeficiente de correlação (R^2) igual a 0,9991, para MEC23:0, ou seja, 23 carbonos, ($23 = 3,8349\ln(x) + 11,628$),

obteve-se $e^x = (23 - 11,625)/3,8349$, encontrando-se $x =$ igual a 19,55 min, que é o tempo de retenção para o MEC23:0.

O aparecimento de um pico observado na Figura 4.7, junto ao MEC24:0 se deve a presença do ricinoleato de metila no padrão. No trabalho proposto não se caracteriza um problema, pois a participação da matriz momona aparece em proporção no B100 de valores inferiores a 1% e que quando diluídos estarão com valores menores que o limite de 0,01% pré-estabelecido no método proposto.

Figura 4.8 – Isoterma do nº de carbono da série homóloga metil ésteres saturados x Tempo de retenção



Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

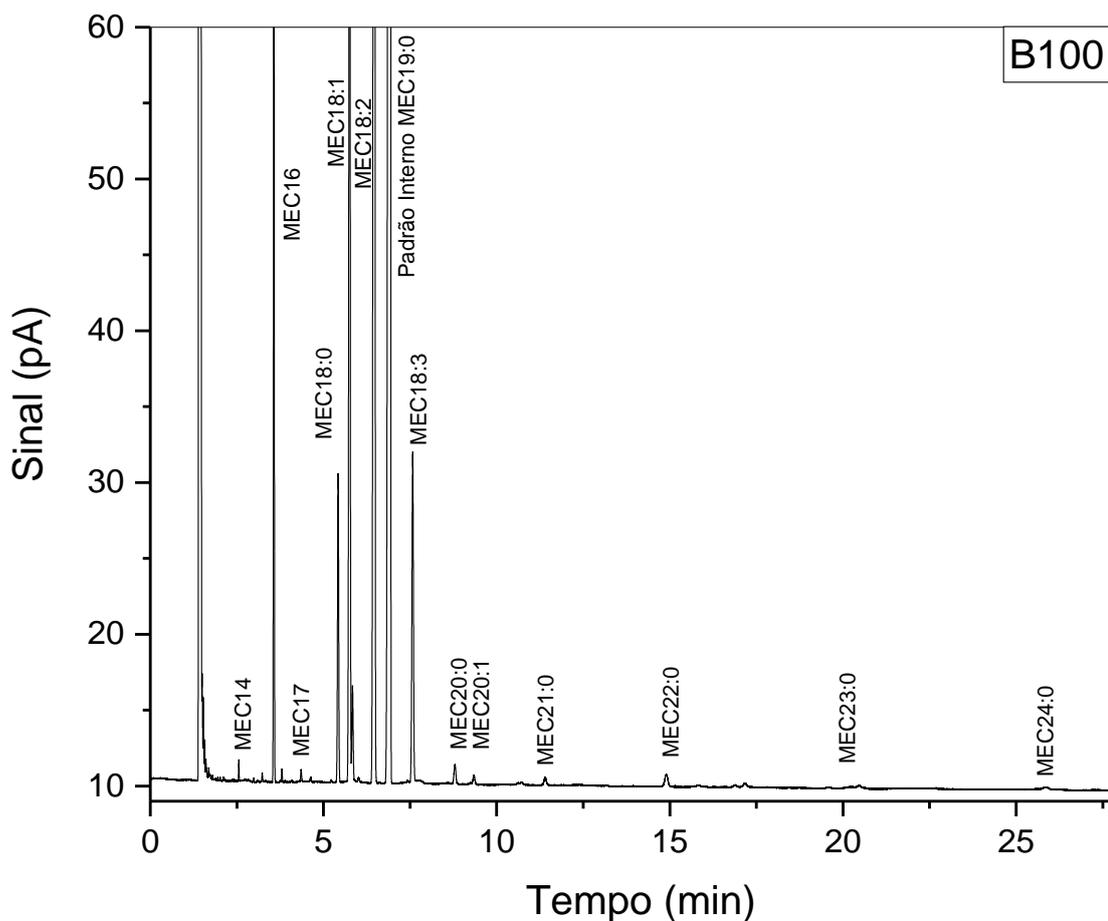
4.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE METIL ÉSTER NO B100.

Para a confirmação do teor de biodiesel de soja (B100), que foi utilizado como base na preparação dos padrões externos usados para calibração do método proposto, foram aplicadas as condições suas condições analíticas (Tabela 4.3) e utilizado o padrão interno nonadecanoato de metila ao invés do heptadecanoato de metila.

O heptadecanoato de metila (MEC17:0) também indicado como padrão interno pela norma EN 14103:2003, foi substituído, uma vez que o mesmo faz parte da composição do biodiesel de soja, principal fonte para o B100 nacional (FARIA, 2013).

Após injeção de 0,5 µL de amostra do B100, foi obtido o cromatograma, o qual foram identificados todos os metil ésteres de MEC14:0 a MEC24:0, conforme apresentado na Figura 4.9, indicando a resposta do DIC e os respectivos tempos de retenção de cada metil éster.

Figura 4.9 – Cromatograma do B100 de Soja com o Método Proposto



Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

A análise qualitativa e quantitativa para o B100 mostram que o método proposto apresenta resultados equivalentes para a fase móvel hidrogênio ou hélio porém, a análise com o uso do hidrogênio permitiu, além de uma melhor separação, uma redução em torno de 10% no tempo de análise, como pode ser observado em relação ao metil éster MEC24, que teve seu tempo de retenção reduzido de 27,66 min. para 25,88 min. Diante disso, optou-se continuar esse trabalho utilizando o hidrogênio como fase móvel.

4.2.1 Determinação da composição do B100 pelo método proposto

A norma EN 14103:2003/11 tem como objetivo determinar o teor de éster aplicando o fator do padrão interno à soma das áreas de todos os ésteres. Neste trabalho, o teor de cada éster foi determinado aplicando o fator do padrão interno para cada éster, uma vez que o objetivo era determinar, também, a composição parcial dos ésteres do biodiesel na mistura com o diesel. O teor total foi obtido pela soma dos valores parciais de cada éster. As concentrações foram determinadas pela Equação 12 e os valores obtidos em triplicata estão apresentados na Tabela 4.4.

$$C_{ME} = (A_{Me} / A_{PI}) \times (M_{PI} / M_{B100}) \times 100 \quad \text{Equação 12}$$

onde,

C_{Me} = concentração do metil éster

A_{Me} = área do metil éster

A_{PI} = área do padrão interno (nonadecanoato de metila)

M_{PI} = massa de padrão interno (nonadecanoato de metila)

M_{B100} = massa do B100

Tabela 4.4 – Determinação do teor de éster para o B100

Metil ésteres	TR	Inj 01	Inj 2	Inj 3	Média	s	CV
		% ME	% ME	% ME	% (m/m)		
ME C14	2,55	0,01	0,01	0,01	0,01	0,002	18,2
ME C16	3,56	11,42	11,70	12,15	11,76	0,370	3,1
ME C17	4,35	0,01	0,01	0,01	0,01	0,002	14,4
ME C18:0	5,42	4,57	4,55	4,57	4,56	0,013	0,3
ME C18:1	5,77	24,34	24,07	24,12	24,18	0,141	0,6
ME C18:2	6,50	49,95	49,50	49,60	49,68	0,235	0,5
ME C18:3	7,58	5,99	5,96	5,96	5,97	0,020	0,3
ME C20	8,80	0,44	0,44	0,44	0,44	0,002	0,4
ME C20:1	9,34	0,25	0,24	0,25	0,24	0,007	2,8
ME C21	11,40	0,23	0,23	0,23	0,23	0,001	0,6
ME C22	14,91	0,49	0,49	0,49	0,49	0,002	0,5
ME C23	19,58	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001	9,7
ME C 24	25,88	0,24	0,25	0,24	0,24	0,003	1,3
Teor de Éster % (m/m)		97,95	97,45	98,08	97,82	0,333	0,3

s = Desvio Padrão

CV = Coeficiente de variação = s / Média *100

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

O teor de B100 encontrado pelo método proposto foi de 97,82% (m/m) e corresponde à soma total dos ésteres do B100. O resultado encontrado para o total de éster no B100 de soja analisado pela norma EN 14103:2011 foi de 98,3% (m/m).

A avaliação da precisão para a determinação do teor de éster no B100 foi realizada através da repetitividade, que, de acordo com o DOQ-CGCRE-08 (2010), determina a variação dos resultados para um ensaio feito em uma amostra nas mesmas condições pelo mesmo analista. A repetitividade encontrada em três repetições pela norma EN 14103:2011 foi de 1,01% (m/m), enquanto que a repetitividade encontrada pelo método proposto foi de 0,33% (m/m) e o coeficiente de variação encontrado igual a 0,3% (m/m), (Tabela 4.4) calculado pela Equação 13.

$$C.V = DRP = s/CMD \times 100, \quad \text{Equação 13}$$

Sendo o CV é o coeficiente de variação, DRP o desvio percentual relativo, s o desvio padrão e CMD a concentração média determinada.

O erro relativo (ER), que é a diferença absoluta entre o valor obtido determinação analítica e o resultado referência conforme orientação do DOQ-CGCRE-08-2010, foi calculado tendo como referência o resultado obtido pela norma aplicada, através da Equação 14, o foi de 0,48%.

$$ER = (V_{am} - V_r / V_r) \times 100 \quad \text{Equação 14}$$

Sendo,

V_{am} = Valor obtido para a concentração do metil éster na amostra

V_r = Valor referência para o metil éster

4.2.2 Confirmação da composição do teor de éster em sistema *on column*

O teor de B100 foi também determinado por outro método, tendo como base a norma ASTM 6584, com o objetivo de confirmar o resultado obtido no item 4.2.1., e ao mesmo tempo avaliar a eficiência do sistema de injeção *split*, aplicado no método proposto comparado ao sistema de injeção *on column*. A determinação foi feita em um cromatógrafo configurado nas mesmas condições estabelecidas para a referida norma, tais como: temperatura da coluna, detector e injetor e vazão da fase móvel.

Para os cálculos do teor de MEC16:0 e do teor total de biodiesel foi utilizado o nonadecanoato de metila como padrão interno. Uma amostra de 0,0100g de B100 foi diluída em 8 mL de heptano antes de injetar. A diluição foi necessária porque a análise foi feita em sistema *on column*, sem divisão de amostra, e o volume direto iria provocar saturação da coluna, além de promover extrapolação da linearidade do detector de ionização de chama.

O MEC16:0 foi quantificado separadamente dos outros ésteres, com o objetivo de comparar a eficiência do sistema de injeção *split* utilizado para o cálculo do teor de B100 pelo método proposto e em sistema *on column*. Os resultados obtidos, apresentados na Tabela 4.5, confirmam o resultado para o teor de éster em 98,2% (m/m), com uma variação dentro dos valores previstos pela norma EN14103:2011, com uma reprodutibilidade de 0,1% (m/m) em relação à concentração do B100.

Os resultados comparativos entre os valores de MEC16:0 e do teor total de ésteres foram utilizados para avaliar a eficiência do sistema de injeção pelo modo *split*. O sistema de injeção com divisão de amostra (*split*) não apresentou discriminação de leves, uma vez que o valor obtido para o MEC16:0 na análise do B100 praticamente não foi alterado, como havia sido observado por Ackman, (1991). Através desta avaliação pode-se assegurar que o modo *split* pode ser usado para a determinação quantitativa dos ésteres, uma vez que a amostra injetada manteve a sua homogeneidade.

Tabela 4.5 – Resultados do teor de MEC16:0 e do teor de éster, com *split* e *on column*

Amostra B100	% área com <i>split</i> com o método proposto	% área <i>on column</i> Coluna da norma ASTM 6584	Erro percentual relativo (ER)
% de MEC16:0	12,1% (m/m)	11,8% (m/m)	2,5%
Teor de éster	97,99% (m/m)	98,2% (m/m)	0,2%

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Na avaliação da tendência para os resultados analíticos foi aplicado o erro percentual relativo, para a confirmação da concentração do teor de B100, como também para avaliação da discriminação de leves, pela análise dos valores do MEC16:0 em relação aos ésteres mais pesados do biodiesel.

4.2.3 Correção da composição do B100 pelos fatores de resposta do DIC

Em função da diferença de sensibilidade do detector de ionização de chama para ésteres de massas molares diferentes, assim como ligações saturadas e insaturadas, nos ésteres do biodiesel de soja e de outras matrizes, a correção de resposta se faz necessária, para tornar os resultados analíticos ainda mais exatos. (VISENTAINER, 2012).

A Tabela 2.4 foi usada na correção das respostas do DIC para os valores de áreas dos ésteres do B100, tendo como referência a coluna do padrão interno, nonadecanoato de metila, pois o biodiesel tem sua maior concentração formada por ésteres de dezoito carbonos. A correção das percentagens foi feita através da Equação 15 aplicada às percentagens da Tabela 4.4.

$$\%MECx = \%MECx(\text{sem correção}) * FMECx \quad \text{Equação 15}$$

sendo,

$\%MECx$ = % corrigida do metil éster Cx,

$\%MECx(\text{sem correção})$ = área do metil éster,

FMECx = Fator de correção do metil éster da Tabela 2.4, tendo como padrão interno o nonadecanoato de metila, fator 1,000.

Os resultados de concentração dos metil ésteres com a correção em função da resposta para cada éster no DIC estão apresentados na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 – Valores corrigidos com os fatores de resposta do DIC

Metil ésteres	Inj 01	Inj 2	Inj 3	Média	s	CV	
	TR	% ME	% ME	% ME			% (m/m)
MEC14:0	2,55	0,01	0,01	0,01	0,002	18,2	
MEC16:0	3,56	11,73	12,02	12,55	0,415	3,4	
MEC17:0	4,35	0,01	0,01	0,01	0,002	14,4	
MEC18:0	5,42	4,61	4,58	4,63	0,023	0,5	
MEC18:1	5,77	24,37	24,10	24,27	0,133	0,6	
MEC18:2	6,50	49,68	49,24	49,58	0,231	0,5	
MEC18:3	7,58	5,92	5,89	5,92	0,020	0,3	
MEC20:0	8,80	0,44	0,43	0,43	0,001	0,2	
MEC20:1	9,34	0,25	0,23	0,24	0,007	2,8	
MEC21:0	11,40	0,23	0,22	0,22	0,001	0,6	
MEC22:0	14,91	0,48	0,48	0,48	0,002	0,5	
MEC23:0	19,58	0,01	0,01	0,01	0,001	6,1	
MEC24:0	25,88	0,23	0,23	0,24	0,002	0,7	
Teor de Ester % (m/m)		97,96	97,47	98,60	98,01	0,565	0,6

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Os teores de ésteres encontrados no B100, em ambos os métodos, com ou sem correção das sensibilidades, continuaram dentro da reprodutibilidade prevista para a norma EN 14103:2011, chegando neste caso a 0,29% (m/m).

Neste trabalho foram considerados os valores com correção da resposta dos diferentes metil ésteres para o DIC da Tabela 2.4.

Através da análise dos resultados comparativos apresentados na Tabela 4.7, entre as concentrações dos metil ésteres, com e sem correção para a resposta do DIC, pode-se verificar que, embora os valores sejam próximos, implicam em mais uma fonte de erro para o ensaio.

Tabela 4.7 – Comparação dos valores com e sem os fatores de resposta para o DIC

Metil ésteres	Média s/ correção % (m/m)	Média c/ correção % (m/m)	EPR
MEC14:0	0,01	0,01	-5,15
MEC16:0	11,75	12,10	-2,85
MEC17:0	0,01	0,01	-1,86
MEC18:0	4,56	4,61	-0,98
MEC18:1	24,18	24,25	-0,29
MEC18:2	49,68	49,50	0,38
MEC18:3	5,97	5,91	1,08
MEC20:0	0,44	0,43	0,58
MEC20:1	0,24	0,24	1,37
MEC21:0	0,23	0,23	1,25
MEC22:0	0,49	0,48	1,88
MEC23:0	0,01	0,01	2,46
MEC 24:0	0,24	0,23	2,99
Total	97,82	98,01	-0,19

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

A correção implica em uma maior segurança na emissão dos resultados analíticos, garantindo maior exatidão, uma vez que, com o aumento da proporção de biodiesel ao diesel, os valores dos erros tendem a ser expressivos, pois estariam sendo aplicados a uma maior massa de biodiesel presente na mistura.

Os erros observados são ainda maiores para os componentes de menor massa (Figura 4.9), e isso está de acordo com o princípio de funcionamento do detector de ionização de chama (DIC), pois como há heteroátomo na molécula do diesel, a contribuição percentual de sua participação na queima da molécula implicará em uma menor resposta relativa, havendo, assim, a necessidade de uma maior correção em suas áreas (HOLM, 1999).

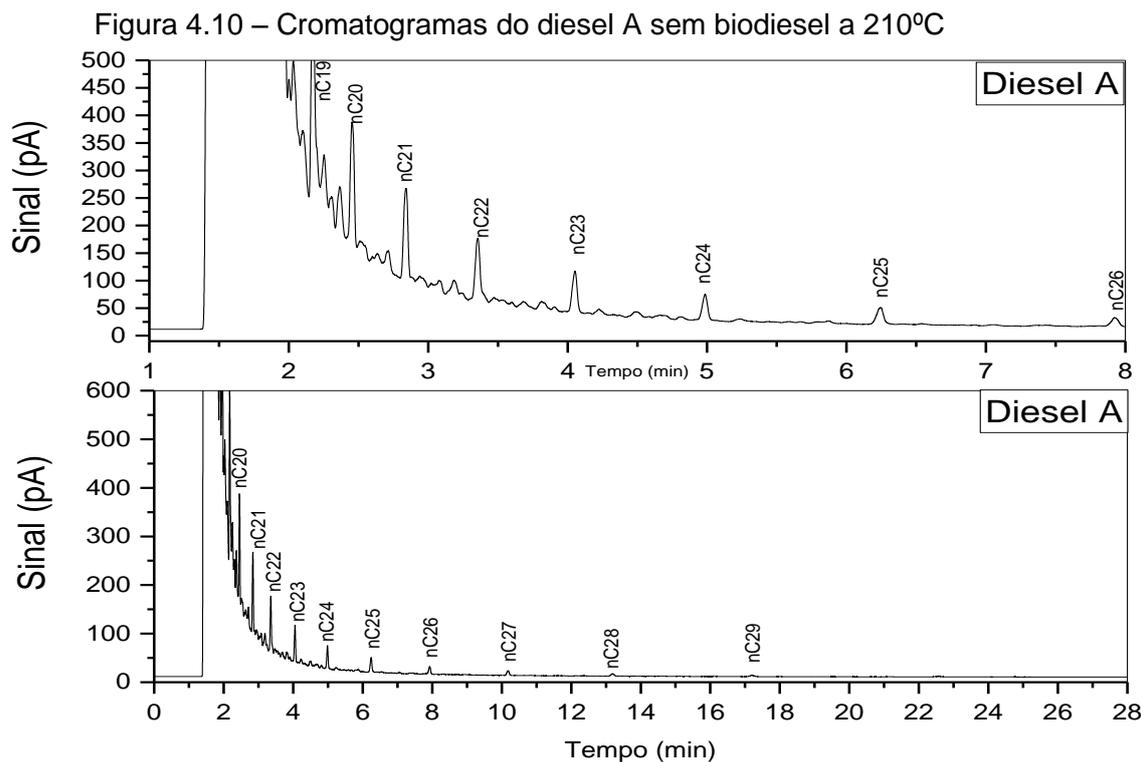
As diferentes proporções entre C e H para os ésteres de mesma quantidade de carbono, resultantes das insaturações, implicam em maior necessidade de correções das áreas. Isso pode ser percebido pelos valores dos fatores de correções aplicados para cada um deles (Tabela 2.4).

A resposta do DIC deve ser corrigida. Esta correção pode ser feita utilizando padrões internos, cujas massas molares sejam as mais próximas das massas molares dos ésteres de maiores concentrações do biodiesel, optando pelo uso de mais de um padrão interno, ou então de padronização externa.

4.3 PREPARAÇÃO DOS PADRÕES PARA CALIBRAÇÃO DO MÉTODO

O método proposto prevê o uso de padronização externa, cujo método de cálculo relaciona a área de um analito de um padrão com a sua resposta e através da área de uma mesma massa analisada pode-se conhecer a concentração do analito de uma amostra de concentração desconhecida. As justificativas para a escolha são a redução da etapa de preparação da amostra, o gasto com padrões internos – de alto custo e gasto permanente –, a redução de passivo ambiental e do tempo de análise. Porém, a injeção automática do equipamento se torna necessária para evitar erros analíticos pelo uso de volumes variados de amostra, sendo esta a maior vantagem para o uso da padronização interna.

A análise do diesel A, nas condições do método proposto, foi necessária para verificar que o combustível estava isento de biodiesel. Comparando os tempos de retenção dos metil ésteres (Tabela 4.6) e das normais parafinas (Figura 4.10), pode-se observar que não existe possibilidade de coeluição entre os picos mais expressivos do diesel e das normais parafinas. Uma parte da Figura 4.10 foi ampliada para uma melhor identificação dos hidrocarbonetos.



Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Verifica-se que na região acima de 21 carbonos (nC21), o diesel está adequado para ser usado no procedimento de preparação dos padrões de calibração do método proposto, uma vez que, dos hidrocarbonetos presentes no diesel, somente as normais parafinas aparecem com valores mais expressivos ($\geq 0,01\%$ (m/m)) e as demais com valores menores ($< 0,01\%$ (m/m)).

A concentração do B100 que foi utilizada para a preparação dos padrões externos está apresentada na coluna referente aos dados corrigidos da Tabela 4.7 e diluído em diesel tipo A. As massas pesadas do B100 e do diesel A foram corrigidas pelo teor total de éster 98,01% (m/m) e apresentadas na Tabela 4.7, com padrões de concentração total de éster variando de 0,51 a 20,77% (m/m).

Tabela 4.8 – Determinação das percentagens de BX em cada padrão após diluição em diesel tipo A

Padrões	Massa de B100 (g)	Massa de B100 corrigida (98,01%) (g)	Massa de diesel (g)	Massa Total (g)	% BX (m/m)
1	0,0433	0,0424	8,2038	8,2471	0,51
2	0,0887	0,0869	8,1710	8,2597	1,05
3	0,1753	0,1718	7,9745	8,1498	2,11
4	0,2622	0,2570	7,8703	8,1325	3,16
5	0,3402	0,3334	7,8758	8,2160	4,06
6	0,4408	0,4320	7,8030	8,2438	5,24
7	0,5299	0,5194	7,6807	8,2106	6,33
8	0,7086	0,6945	7,5524	8,2610	8,41
9	0,8868	0,8692	7,4094	8,2962	10,48
10	1,0630	1,0418	7,2391	8,3021	12,55
11	1,2332	1,2087	7,1241	8,3573	14,46
12	1,4109	1,3828	6,9168	8,3277	16,61
13	1,5403	1,5096	6,7430	8,2833	18,23
14	1,7679	1,7327	6,5751	8,3430	20,77

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

A composição de cada éster foi determinada pelos cálculos de diluição das massas e do teor correspondente a cada éster separadamente e está apresentada da Tabela 4.9. Os cálculos foram feitos utilizando os valores totais para cada éster e suas proporções mássicas no B100.

A Equação 16 foi aplicada para a determinação das concentrações de cada metil éster em cada padrão.

$$ME\% (\text{padrão}) = ME_{(B100)} \% (\text{m/m}) \times ME_{(BX)} \% (\text{m/m}) / 100 \quad \text{Equação 16}$$

Sendo,

$ME_{(B100)} \% (\text{m/m})$ a concentração percentual de cada éster no B100

$ME_{(BX)} \%$ a concentração percentual de cada mistura padrão (BX)

Tabela 4.9 – Concentração dos padrões para calibração externa

Padrões	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
MEC14:0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MEC16:0	0,06	0,13	0,26	0,38	0,49	0,63	0,77	1,02	1,27	1,52	1,75	2,01	2,21	2,51
MEC17:0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MEC18:0	0,02	0,05	0,10	0,15	0,19	0,24	0,29	0,39	0,48	0,58	0,67	0,76	0,84	0,96
MEC18:1	0,12	0,26	0,51	0,77	0,98	1,27	1,53	2,04	2,54	3,04	3,51	4,03	4,42	5,04
MEC18:2	0,25	0,52	1,04	1,56	2,01	2,59	3,13	4,16	5,19	6,21	7,16	8,22	9,02	10,28
MEC18:3	0,03	0,06	0,12	0,19	0,24	0,31	0,37	0,50	0,62	0,74	0,85	0,98	1,08	1,23
MEC20:0	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,04	0,05	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
MEC20:1	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05
MEC21:0	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,03	0,04	0,04	0,05
MEC22:0	0,00	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,10
MEC23:0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MEC24:0	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,03	0,04	0,04	0,05
% (m/m)	0,50	1,03	2,07	3,10	3,98	5,14	6,20	8,24	10,27	12,30	14,18	16,28	17,86	20,36

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

As concentrações encontradas foram utilizadas para os testes quantitativos através da determinação das curvas de calibração de cada metil éster e o teor total de BX de cada padrão pela soma das concentrações dos ésteres determinados separadamente.

Os ésteres de maiores ocorrências no biodiesel nacional estão entre o MEC16:0 e o MEC18:3. Os demais ésteres, como o MEC14:0, MEC17:0 (ocorrência em soja), MEC20:0, MEC20:1, MEC21:0, MEC22:0, MEC23:0 e o MEC24:0, participam em menor proporção. Estes que aparecem com baixos teores no B100, quando diluídos no diesel, apresentam valores abaixo de 0,01% (m/m), conforme pode ser verificado no padrão de BX na Tabela 4.9. Os ésteres MEC14:0, MEC17:0, MEC20:1, MEC21:0 e MEC23:0 não participaram da calibração, por estarem com concentrações abaixo de 0,01% (m/m) para a solução padrão utilizada e por terem normalmente baixos teores no biodiesel.

4.4 DETERMINAÇÃO DAS CURVAS ANALÍTICAS PARA CADA METIL ÉSTER

A curva analítica foi construída colocando-se no eixo y os valores das relações das áreas dos picos dos metil ésteres, e no eixo x os valores das relações das concentrações (m/m) dos respectivos componentes diluídos em diesel A, conforme a Equação 17.

$$Y_c = aX_c + b$$

Equação 17

Sendo,

a é o coeficiente angular da curva

b é o coeficiente linear da curva

A Tabela 4.10 apresenta as equações das retas para cada éster estudado, com as faixas de concentrações e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2), que variaram entre 0,9956 e 0,9992.

Tabela 4.10 – Parâmetros referentes à curva analítica dos ésteres

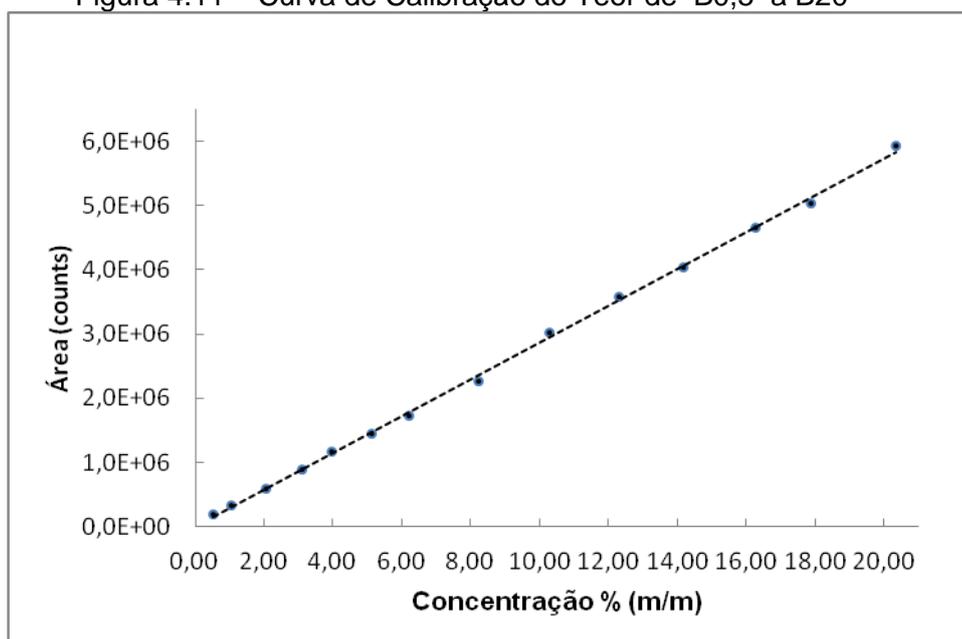
Metil Ésteres	Equação da reta	Faixa (% (m/m))	Coef. de determ (R^2)
MEC16:0	$y = 278206x - 3010$	0,06 - 2,51	0,9991
MEC18:0	$y = 275496x + 1984$	0,02 - 0,96	0,9990
MEC18:1	$y = 279630x + 3937$	0,12 - 5,04	0,9991
MEC18:2	$y = 293786x - 13156$	0,25 - 10,28	0,9992
MEC18:3	$y = 299656x - 2442$	0,03 - 1,23	0,9992
MEC20:0	$y = 230622x + 172$	0,01 - 0,09	0,9982
MEC22:0	$y = 276379x + 1805$	0,01 - 0,21	0,9987
MEC24:0	$y = 147162x + 412$	0,01 - 0,05	0,9956
Teor de Éster	$y = 286332x + 7598$	0,50 - 20,77	0,9991

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

As curvas analíticas foram utilizadas para os testes quantitativos. As calibrações só foram elaboradas para os ésteres que estavam dentro do limite de quantificação na faixa de calibração do método. Verifica-se uma boa linearidade para todos os padrões desde o 1 até o 14, que correspondem, respectivamente, às concentrações de 0,51 a 20,77% (m/m) como pode ser comprovado pelos valores obtidos no coeficiente de determinação de cada metil éster quantificado.

A equação da reta para determinação de BX total foi $y = 286332x + 7598$, e o coeficiente de determinação R^2 igual 0,9991 (Tabela 4.10) resultante da curva apresentada na Figura 4.11. As demais curvas para cada um dos metil ésteres são apresentadas no APÊNDICE A, nas Figuras de A.1 até A.8.

Figura 4.11 – Curva de Calibração do Teor de B0,5 a B20



Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Nas Figuras 4.11 e A.1 a A.8 do APÊNDICE A, os valores dos coeficientes de determinação (R^2) em todas as curvas foram acima de 0,997, com exceção do MEC24:0, que apresenta valor muito baixo no B100 e quando diluído no diesel fica no limite mínimo de quantificação e teve o $R^2 = 0,9956$. Os valores para MEC14:0, MEC17:0, MEC23:0 e MEC21:0, embora estejam no limite de detecção, estão abaixo do limite de quantificação. Para o MEC14:0, que apresenta valor muito baixo (<0,01% (m/m)), não seria possível a detecção por esse método, pois eluiria da coluna juntamente com uma maior fração dos hidrocarbonetos do diesel, sendo assim de difícil identificação.

4.5 VALIDAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO

4.5.1 Determinação da seletividade

A seletividade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma segura, as substâncias em análise na presença de componentes que podem interferir em sua determinação numa amostra complexa.

A seletividade do método proposto foi determinada através das análises do óleo diesel com e sem biodiesel de soja. Para confirmação da identificação dos metil ésteres sem interferência dos hidrocarbonetos presentes no óleo diesel, foi injetado

um padrão contendo uma mistura padrão de MEC14 a MEC24. Os ésteres metílicos MEC16:0, MEC18:0, MEC18:1, MEC18:2, MEC18:3, MEC20:0, MEC22:0 e MEC24:0 foram identificados e separados dos hidrocarbonetos do diesel (Figura 4.6). Os ésteres de menores concentrações, tais como MEC14:0, MEC17:0, MEC20:1, MEC21:0 e MEC23 considerados elementos traços (<0,01%), não foram quantificados e, conseqüentemente, as seletividades não foram avaliadas, porém os seus tempos de retenção não promovem coeluição com nenhum hidrocarboneto de concentração expressiva (> 0,01% (m/m)) normalmente encontrado no diesel.

4.5.2 Determinação da linearidade

A linearidade pode ser definida como a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. Ela pode ser determinada através da análise da equação da curva que relaciona a resposta versus a concentração para uma série de padrões de pelo menos cinco valores, retiradas as medidas discrepantes (DOQ-CGCRE-08). Neste trabalho a linearidade de cada analito foi determinada com 14 padrões de concentrações variadas. Para tanto foram determinados os coeficientes de correlação (R^2) e os resíduos observados pela regressão linear. Foi possível comprovar que a curva apresentaram homoscedasticidade (termo que indica que as variâncias (s^2) de uma sequência aleatória são iguais), confirmando assim o comportamento de função linear para as curvas obtidas (SOUZA ; JUNQUEIRA, 2005). Não foram observados *outliers*. Os resultados apresentados no APÊNDICE A, Figuras A.1 a A.16, mostram que as curvas tiveram R^2 entre 0,9956 e 0,9992 (Tabela 4.10), e a ocorrência de homoscedasticidade em todas as curvas, o que assegura uma boa linearidade.

4.5.3 Determinação do limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ)

O limite de detecção (LOD) é a menor concentração do analito em que o detector produz uma resposta detectável enquanto o (LOQ) é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e veracidade (INMETRO, 2010). Para a validação de um método analítico, é normalmente suficiente fornecer uma indicação do nível em que a detecção do analito pode ser

distinguida do sinal do branco/ruído. A determinação do LOD pode ser avaliada com 95% de confiança através da Equação 18, desde que o branco seja zero:

$$\text{LOD} = t_{(95\%)} \times s \quad \text{Equação 18}$$

onde o valor de t (*Student*) no caso é 2,36 para 95% de confiança, e o “s” é o desvio padrão das medidas em oito medidas ($n=8$).

O LOQ é estabelecido como dez vezes a estimativa do desvio padrão. Os limites de quantificação foram determinados para cada analito da amostra analisada aplicando pela Equação 19, também para um branco igual a zero.

$$\text{LOQ} = 10 \times s \quad \text{Equação 19}$$

Os limites de detecção e de quantificação para os ésteres de menores concentrações no biodiesel foram determinados aplicando as regras orientadas pelo INMETRO (Equações 19 e 20) e foram utilizados dos padrões P1, P2, P3 e P4, pois nesses padrões estão as menores concentrações para os metil ésteres MEC16:0, MEC18:0, MEC18:3, MEC20:0, MEC20:1, MEC22 e MEC24:0, conforme a Tabela 4.9.

Os ésteres MEC14:0, MEC17:0 e MEC23:0, que apresentaram valores ($<0,01\%$ (m/m)) e os MEC18:1 e MEC18:2 ($> 1,00\%$ (m/m)), para padrões de BX na faixa estabelecida para esse trabalho (0,5% e 20,77% (m/m)), não participaram na determinações dos LOD e LOQ.

Os valores para o $\text{LOD}_{(95\%)}$ e o LOQ foram determinados com base nos resultados de oito replicatas ($n=8$) (Tabela 4.11).

Tabela 4.11 – Determinação para o LOD e o LOQ

	Ésteres	Média (oito determinações) % (m/m)	s	LOD % (m/m)	LOQ % (m/m)
Pad. 1	MEC16:0	0,06	0,005	0,012	0,05
Pad .1	MEC18:0	0,02	0,001	0,002	0,01
Pad .1	MEC18:3	0,03	0,001	0,002	0,01
Pad .3	MEC20:0	0,01	0,001	0,002	0,01
Pad .3	MEC20:1	0,01	0,001	0,002	0,01
Pad .4	MEC21:0	0,01	0,0006	0,001	0,01
Pad .2	MEC22:0	0,01	0,0008	0,002	0,01
Pad .4	MEC24:0	0,01	0,0008	0,002	0,01

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Os maiores valores dos LOD e LOQ para o MEC16:0 podem ser explicados por este éster ter seu tempo de retenção mais próximo dos hidrocarbonetos do diesel, interferindo assim em sua resposta. Isso impactaria diretamente na limitação analítica, para valores do MEC16:0 inferiores a 0,01% (m/m), porém não se caracteriza como um problema, uma vez que, para um B0,5 a sua concentração já é um valor de 0,06% (m/m).

4.5.4 Determinação da precisão para o método proposto.

O termo precisão geralmente é aplicado para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes repetidos de uma mesma amostra, amostra semelhantes ou padrões em condições definidas. É normalmente determinada para circunstâncias específicas de medição e é mais comum expressá-la por meio da repetitividade e da reprodutibilidade, sendo usualmente expressada como desvio padrão. A precisão é geralmente expressa como desvio padrão ou desvio percentual relativo (INMETRO, 2014).

O coeficiente de variação é também chamado de desvio padrão relativo quando o número de replicatas (n) é < 30 . Esse indicador é usado para expressar a relação percentual da estimativa do desvio padrão com a média dos vários valores obtidos (LEITE, 1998).

A repetitividade foi aplicada para determinar a precisão analítica para o método desenvolvido, para tanto foi feita a oito repetições de um padrão de concentração igual a 8,10% (m/m), e os resultados apresentados na Tabela 4.12. Os valores de MEC14:0, MEC17:0 e MEC23:0 não foram determinados por estarem abaixo do limite de detecção.

Tabela 4.12 - Determinação da precisão para um padrão de concentração de 8,10% (m/m)

Ésteres	Média	s	CV
C16:0	0,94	0,013	1,36
C18:0	0,38	0,011	2,84
C18:1	2,11	0,032	1,51
C18:2	4,14	0,051	1,24
C18:3	0,49	0,012	2,41
C20:0	0,04	0,002	6,74
C20:1	0,02	0,001	4,11
C21:0	0,02	0,001	5,07
C22:0	0,04	0,002	5,51
C24:0	0,02	0,002	8,56
T. ésteres	8,18	0,120	1,47

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

O intervalo de confiança é o intervalo da média da população (IC), quando se conhece a média das populações (LEITE, 1998). Ele pode ser calculado através da Equação 20.

$$(IC) = X \pm t.s/\sqrt{N} \quad \text{Equação 20}$$

Sendo X é a média aritmética das medidas, s é o desvio padrão das medidas em N replicatas, t (*Student*) para um nível percentual de confiança.

O intervalo de confiança a 95% foi assim calculado e apresentado na Tabela 4.13. Os valores individuais dos ésteres variaram na segunda casa decimal e o teor total de BX variou em ($\pm 1,5$ % (m/m)). Quando comparado aos resultados de BX pelo método espectrométrico que é de (± 2 % (v/v)), percebe-se um melhor desempenho, para o método proposto.

Tabela 4.13 – Determinação do Intervalo de confiança a 95%

Éster	(IC) (95%)
C16:0	0,94 \pm 0,01
C18:0	0,38 \pm 0,01
C18:1	2,11 \pm 0,03
C18:2	4,14 \pm 0,05
C18:3	0,49 \pm 0,01
C20:0	0,04 \pm 0,01
C20:1	0,02 \pm 0,01
C21:0	0,02 \pm 0,01
C22:0	0,04 \pm 0,01
C24:0	0,02 \pm 0,01
T. Éster	8,20 \pm 0,10

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Nos ésteres que apresentaram valores calculados de IC < 0,01% (m/m) foram mantidos os valores de 0,01% (m/m) devido aos limites de quantificações.

4.5.5 Determinação da exatidão analítica do método proposto

A exatidão analítica é determinada pela avaliação do quanto a medida se aproxima do valor mais provável.

No método proposto a avaliação da exatidão foi feita através do erro calculado em relação a um valor de referência (INMETRO, 2010).

O erro relativo foi determinado aplicando-se a Equação 21:

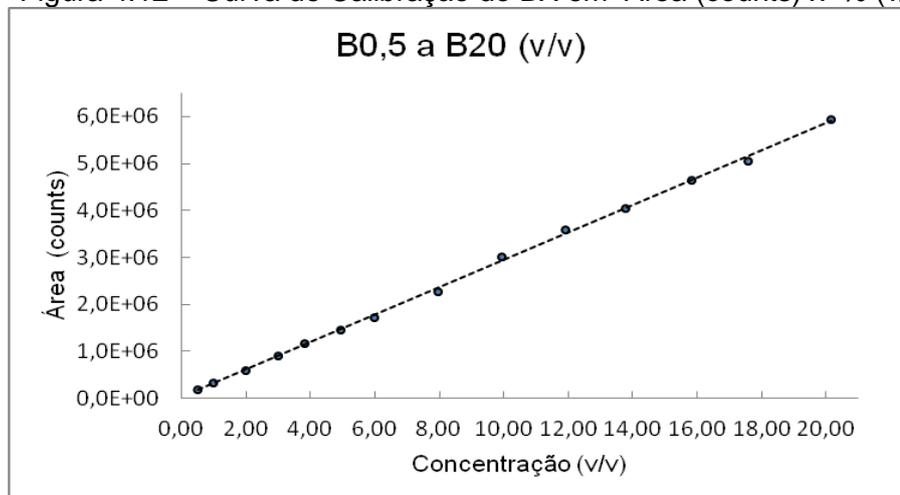
$$ER = (V_m - V_p) / V_p * 100 \quad \text{Equação 21}$$

Sendo V_m é o valor medido e V_p é o valor mais provável (referência).

A determinação da exatidão do método proposto foi feita de duas maneiras. A primeira, através das análises de quatro amostras de B5 de soja, com valores determinados através da metodologia espectrométrica de acordo com a norma EN-14078:2003. Os resultados foram comparados aos obtidos pela metodologia cromatográfica do método proposto.

A curva obtida para esta calibração apresentada na Figura 4.12 foi usada para a comparação com os resultados encontrados pela norma espectrométrica indicada para a especificação do BX BS EN 14078:2014, sendo o resultado emitido em % (v/v) e o método proposto estava calibrado em % (m/m).

Figura 4.12 – Curva de Calibração do BX em Área (counts) x % (v/v)



Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

A equação da reta obtida $y = 290730x + 33437$ com coeficiente de determinação de $R^2 = 0,9992$ foi utilizada para determinar os resultados do teor de BX (v/v) apresentado na Tabela 4.14.

Tabela 4.14 – Determinação do teor de biodiesel % (v/v) em amostras de B5 pelo método cromatográfico proposto e pela norma de referência EN 14078:2003

Amostra	Método Proposto	Norma EN-14078	ER
	BX% (v/v)	BX% (v/v)	BX% (v/v)
01	5,0	4,9	2,0
04	4,6	4,7	-2,1
07	4,9	4,8	2,0
08	4,9	4,8	2,0

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

As composições dos metil ésteres nas quatro amostras de B5 foram determinadas utilizando as mesmas corridas cromatográficas e os resultados estão apresentados na Tabela 4.15.

Tabela 4.15 – Determinação da composição % (v/v) dos metil ésteres em amostras de B5 pelo método cromatográfico proposto.

Amostra	MEC 14:0	MEC 16:0	MEC 17:0	MEC 18:0	MEC 18:1	MEC 18:2	MEC 18:3	MEC 20:0	MEC 20:1	MEC 21:0	MEC 22:0	MEC 23:0	MEC 24:0
1	< 0,00	0,52	0,00	0,24	1,12	2,70	0,40	0,01	< 0,00	< 0,00	0,01	< 0,00	< 0,00
2	< 0,00	0,48	0,00	0,22	1,09	2,49	0,30	0,01	< 0,00	< 0,00	0,01	< 0,00	< 0,00
3	< 0,00	0,50	0,00	0,23	1,12	2,65	0,38	0,01	< 0,00	< 0,00	0,01	< 0,00	< 0,00
4	< 0,00	0,50	0,00	0,23	1,10	2,63	0,42	0,01	< 0,00	< 0,00	0,01	< 0,00	< 0,00

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

A segunda forma para determinar a exatidão analítica foi feita através do uso de três misturas padrões, usando como referência o metil éster, Sigma Aldrich, nonadecanoato de metila de concentração 99,99% (m/m) e diluído em heptano 99,5%, de acordo com a Tabela 4.16. Para tanto, foram pesadas as massas do metil éster e do heptano.

Tabela 4.16 – Padrão para validação do método em % (m/m)

	Massa MEC19:0 (g)	Massa Diesel A	Diesel A+ MEC19:0 (g)	MEC19 % (m/m)	Áreas médias triplicatas	MEC19:0% (m/m)	s	CV	ER
Pad. 1	0,018	0,8191	0,8371	2,15	614567	2,12	0,08	3,8	-1,4
Pad. 2	0,0511	0,8489	0,9	5,68	1650230	5,74	0,04	0,7	0,9
Pad. 3	0,2119	0,8265	1,0384	20,4	5793567	20,2	0,06	0,3	1,0

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Os resultados encontrados foram determinados com base na calibração em % BX (m/m), obtidos da curva $y = 286332x + 7598$ que estão apresentados na Figura 4.11.

Dentre os valores práticos encontrados dos erros relativos para os padrões do MEC19:0 nas concentrações 2,15, 5,68 e 20,40% (m/m), conforme Tabela 4.16, a concentração de 2,15% (m/m) apresentou o maior valor (-1,4% (m/m)) em relação ao padrão certificado de alta pureza, mesmo assim mostrou uma alta recuperação (98,6%) em relação ao adicionado do padrão à matriz diesel A. Com base nos resultados do desvio padrão de cada padrão, pode-se ter como intervalo de confiança (IC) a 95% os valores para os IC dos padrões Pad1 = $2,1 \pm 0,2$, Pad2 = $5,74 \pm 0,01$ e Pad3 = $20,20 \pm 0,06$.

Comparando aos resultados encontrados pela norma espectrométrica que especifica em $\pm 2\%$ (v/v), os valores encontrados podem ser considerados aceitáveis.

Foram ainda comparadas oito amostras de origem de postos de combustível no mês de março de 2015, que estão apresentadas na Tabela 4.17.

Tabela 4.17 - Resultados comparativos de amostras de BX de postos de gasolina entre metodologia espectrométrica e pelo método proposto

Amostra	Método Proposto	Norma EN-14078	ER
	BX% (v/v)	BX% (v/v)	BX% (v/v)
01	5,2	5,0	-4
02	8,0	8,1	1,2
03	7,5	7,6	1,3
04	4,8	4,9	2,0
05	10,4	10,7	2,8
06	8,7	9,7	2,1
07	9,8	18,2	46,2
08	19,7	20,5	3,9

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

Os valores encontrados apresentaram erros equivalentes aos obtidos com os resultados encontrados através do método espectrométrico, porém, na amostra 07 observou-se que o valor obtido pela metodologia espectrométrica apresentou uma diferença de 8,4% (v/v) em relação ao resultado obtido pelo método cromatográfico

proposto. A amostra foi submetida a uma análise cromatográfica para triglicerídeos (adaptação da norma ASTM 6584 para determinação de teores maiores de triglicerídeos), onde foi determinado o valor de 8,0% (v/v) para triglicerídeo. Esse resultado comprova a vulnerabilidade da metodologia espectrométrica EN14078 para o monitoramento do BX, pois ficou comprovado que os metil ésteres presentes no óleo *in natura*, respondem igualmente aos ésteres presentes no biodiesel na região espectral de máxima absorção para o (C=O), entre 1750 e 1735 cm^{-1} presente em ambos os ésteres. Como a metodologia proposta determina especificamente os metil ésteres do biodiesel através da identificação e quantificação por padronização externa, caso exista óleo não será identificado como biodiesel.

A verificação da origem do biodiesel pode ser obtida pela normalização dos resultados dos metil ésteres, pois estes tenderão a ter o perfil percentual do biodiesel de origem, quando normalizados para 100%.

A partir dos dados obtidos pelo método proposto nas três misturas de BX contendo biodiesel de soja, sebo e mamona Tabela 3.4, apresentados na Tabela 4.18 nas colunas (BX) e aplicando a Equação 22, foi possível obter os dados normalizados para 100%. Com esses dados pode-se comparar com a coluna de valores teóricos de composição de biodiesel, apresentados nas colunas (Teórico) de cada biodiesel e assim identificar a sua origem. Os dados dos valores teóricos da composição médias dos biodieseis foram obtidos da Tabela 2.6, ou poderá ser de outra similar ainda mais completa.

$$\text{ME\%(100\%)} = \text{ME\%} / \text{Teor de éster} * 100 \quad \text{Equação 22}$$

Sendo, ME%(100%) o resultado do éster normalizado para 100%,
 ME% o valor do metil éster na mistura analisada,
 Teor de éster é a soma de todos os ésteres do biodiesel da mistura BX.

Tabela 4.18 – Determinação da origem do biodiesel

Éster	BX	Cálculo	SOJA	BX	Cálculo	SEBO	BX	Cálculo	MAMONA
	ME%	ME%	Tabela 2.6 Valores Teóricos %	ME%	ME%	Tabela 2.6 Valores Teóricos %	ME%	ME%	Tabela 2.6 Valores Teóricos %
	no BX (m/m)	100% (m/m)	(m/m)	no BX (m/m)	100% (m/m)	(m/m)	no BX (m/m)	100% (m/m)	(m/m)
C14:0	0		0,08	0,24	2,90	3,2			
C16:0	0,94	11,46	10,3	2,23	26,61	26,5			0,05
C17:0	0			0,15	1,75	1,54	0,12	1,38	1,40
C18:0	0,38	4,63	4,7	2,92	34,87	29,1	0,08	0,89	0,80
C18:1	2,11	25,73	23,4	2,70	32,24	37,2	0,35	4,14	3,80
C18:1 (Ricinoleico)	0			0,00	0,00		7,43	87,78	89,30
C18:2	4,14	50,49	53,1	0,08	0,97	0	0,41	4,85	4,30
C18:3	0,49	5,98	7,3	0	0,00		0,04	0,46	0,35
C20:0	0,04	0,49	0,3	0,03	0,32	2,4	0,04	0,50	
C20:1	0,02	0,24	0,2	0	0,00				
C21:0	0,02	0,24	0,21	0	0,00				
C22:0	0,04	0,49	0,3	0,03	0,34				
C24:0	0,02	0,24	0,2	0	0,00				
Teor de Éster	8,2	100	100	8,4	100,0	99,9	8,5	100,0	100,0

Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

A maior parte do biodiesel produzido no Brasil tem origem no óleo de soja, mas há emprego de outras matérias-primas, como o sebo bovino, algodão e outras fontes de menor relevância. O diferencial para esta técnica é que além da possibilidade de se determinar a composição dos ésteres presentes no biodiesel da mistura com o diesel mineral em análise direta, sem a etapa de preparação da amostra, com boa precisão e exatidão, é capaz de informar a origem do biodiesel utilizado na mistura, e de ser útil para a verificação de adulteração do biodiesel por óleo *in natura*.

5 CONCLUSÃO

Foi possível neste trabalho comprovar que o uso da fase móvel de baixo peso molecular (H_2) conferiu ao método melhor resolução entre a normal parafina nC25 e o MEC18:2 do que a fase móvel (He). Através de testes concluiu-se que o sistema de injeção *split* usado para o método mostrou-se eficaz na homogeneidade da amostra analisada, com erro relativo 2,5% (m/m) para o MEC16:0 e 0,5% (m/m) para o teor de éster do B100, quando comparado em a sistema *on column*. O método apresentou-se linear para a determinação de misturas de biodiesel de soja em diesel A, entre 0,5% a 20% (mm) ou (v/v). O uso de padronização externa mostrou-se como uma importante alternativa segura para quantificar com segurança os metil ésteres em uma mistura com diesel A. O método foi robusto para análise biodiesel de sebo e mamona. Através do método cromatográfico proposto, pode-se determinar o teor do biodiesel nas suas misturas com óleo diesel e a composição detalhada do biocombustível. Ele é livre de interferências do óleo vegetal ou gordura *in natura*, evitando conclusões errôneas quanto ao teor de biodiesel no diesel A. Verificou-se a sua eficácia na separação, identificação e quantificação dos metil ésteres presentes em amostras de B5, B7, e B8, usando biodiesel de soja, sebo bovino e mamona, como também em padrões sintéticos de MEC19:0 diluídos em diesel. Foi ainda possível obter-se informações sobre a origem do biodiesel da mistura com o óleo diesel mineral. Mostrou-se capaz de identificar e quantificar separadamente o biodiesel em amostras de diesel comercial em que a causa da adulteração foi o óleo *in natura*. Diante dos fatos aqui relatados conclui-se que, a cromatografia a gás com detector de ionização de chama pode ser empregado como método primário para análise do teor de biodiesel, sendo uma alternativa à metodologia de espectrometria do infravermelho, atualmente, na legislação brasileira.

5.1 PERSPECTIVAS

Como proposta para futuros trabalhos tendo como base o método desenvolvido, novos estudos devem ser feitos com o objetivo de reduzir o tempo de análise; uso de colunas de menores comprimentos e diâmetros; avaliar a eficiência

do método para biodiesel com misturas de soja/sebo; soja/algodão; óleo de fritura/soja; óleo de fritura/soja/sebo.

Além disso, considerar teores maiores que B20 para atender as futuras demandas, uma vez que a Resolução CNPE 3/2005, autorizou o uso voluntário de B20 e B30.

REFERÊNCIAS

- ABIOVE – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE ÓLEOS VEGETAIS. **Cadeia produtiva de oleaginosa e biodiesel**. 2015. Disponível em: <<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=estatistica&area=NC0yLTE>>. Acesso em: 12 jun. 2015.
- ABIEC – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INDÚSTRIA E COMÉRCIO DE CARNE. [Portal]. 2015. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/img/Upl/balanço-100415.jpg>>. Acesso em: 12 jul. 2015.
- ABNT. **NBR 15344 – Biodiesel – Determinação da glicerina total e do teor de triglicerídeos em biodiesel, 2012**. Rio de Janeiro, 2012.
- ABNT. **NBR 15764 – Biodiesel – Determinação do teor de ésteres por cromatografia à gás**. Rio de Janeiro, 2012.
- ABREU, F.R. et al. Utilization of metal complexes as catalysts in transesterification of Brazilian vegetables oils with different alcohols. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v.209, p.20-33, 2004.
- ACKMAN, R. G. **Application of gas-liquid chromatography to lipid separation and analysis: qualitative and quantitative analysis**. Analysis of fat, oil and derivatives. Edited por E, G, Perkins. Champaign, EUA: American oil Chemist's Society, p. 270-300, 1991. Cap.16.
- ABIOVE – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE ÓLEOS VEGETAIS. **Cadeia produtiva de oleaginosa e biodiesel**. Disponível em: <<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=estatistica&area=NC0yLTE>>. Acesso em: 12 jun. 2015.
- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS – ANP. **Lei nº 9,487/1997**. Brasília, 1997.
- ALPTEKIN, E. ; CANAKC, M. Characterization of the key fuel properties of methyl ester–diesel fuel blends. **Fuel**, v. 88, p. 75–80, 2009.
- ALBUQUERQUE, M. C. G. et al. Properties of biodiesel oils formulated using different biomass sources and their blends. **Renewable Energy**, v. 34, p. 857-859, 2009
- ANTCZAK, M.S. et al. Enzymatic biodiesel synthesis – key factors affecting efficiency of the process. **Renewable Energy**, v. 34, p. 1185-1194. 2009.
- ALVES, O. L. **Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier: feliz combinação de velhos conhecimentos de óptica, matemática e informática**. Campinas: Laboratório de Química do Estado Sólido (LQES). Instituto de Química. UNICAMP, 2014.. Disponível em: <<http://lqes.iqm.unicamp.br>>. Acesso em: 20 nov. 2014.

ALVES, M. V. **Estabilidade e filtrabilidade de óleo diesel**. 102 f. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Química. Universidade Estadual do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2007.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2004.

BONDIOLI, P. C; LANZANI, A.; FEDELI, E. Vegetable oil derivatives as diesel fuel substitutes. Analytical aspects. Note 2: determination of free glycerol. **La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse**, v. LXIX, 1992.

BUENO, L. S. R. **Estudo da influência da composição do óleo vegetal sobre algumas propriedades do biodiesel**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Curitiba, 2007.

CARVALHO, M. S. et al. Chromatographic Analysis of Fatty Acid Methyl Esters by HPLC-UV and GC-FID. **J. Braz.Chem. Soc.**, v. 23, n.4, p.763-769, 2012.

CARGNIN, A. **Oleaginosas potenciais para produção de biodiesel: necessidade de cultivares melhoradas**, 2007. Disponível em: <[http://www.agrosoft.com/agropag/26295,htm](http://www.agrosoft.com/agropag/26295.htm)> Acesso em: 15 maio 2015,

CHRISTIE, W. W. **Gas Chromatography and lipids: practical guide**. 1. ed. Dundee: The Oil Press LTd, 1994.

CHRISTIE, W.W. **High-performance liquid chromatography and lipids: a Practical Guide**. Oxford: Pergamon Books, 1987.

COLLINS C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos**. Campinas: UNICAMP, 1990.

CORRÊA, S.M. ; ARBILLA, G. Aromatic hydrocarbons emission in diesel and biodiesel exhaust. **Atmospheric Environment**, v. 40, p. 6821–6826, 2006.

DUARTE FILHO, A.; ANDRADE, E. B.; MENEZES, R. S. **Testes e ensaios para validação do uso da mistura biodiesel B5 em motores e veículos**. Brasília. DF: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2009. 176 p.

DIEHL, J. W.; DiSANZO, F.P. Determination of Total Biodiesel Fatty Acid Methyl, Ethyl Esters, and Hydrocarbon Types in Diesel Fuels by Supercritical Fluid Chromatography – Flame Ionization Detection. **Journal of Chromatographic Science**, v. 45, 2007.

CIOLA, R. **Fundamentos da cromatografia a gás**. São Paulo: Edgard Blucher, 1985.

BONDIOLI, P.; BELLA, L.D.; An alternative spectrophotometric method for the determination of free glycerol in biodiesel. **Eur. J. Lipid Sci. Tech.**, n. 107, p. 153-157, 2005.

FARIA, F.D. et al. Determination of Ester content in different kinds of biodiesel. **Journal of ASTM International**, v.7, n.8. p.1-8, 2012.

FARIA, F.D. et al. Determination of Ester content in different kinds of biodiesel. **Journal o ASTM International**, v.7, p.1-8, 2010.

LEITE, F. **Validação em análise química**. 3. ed. São Paulo: Átomo, 1988, 224p.

FOGLIA, T.A. et al. Comparison of chromatographic methods for the determination of bound glycerol in biodiesel. **Chromatographic**, v. 60, p. 305-311, 2004.

FREEDMAN, B.; PRYDE, E. H.; KWOLEK, W. F. Thin layer chromatography: flame ionization analysis of transesterified vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 61, n. 7, p. 1215 –1220, 1984.

FREEDMAN, B.; PRYDE, E. H.; KWOLEK, W. F. Quantation in the analysis of transesterified soybean oil by capillary gas chromatography. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 63, n.10, p. 1370–1375, 1986.

GASPARINI, F. **Avaliação e adaptação das condições da EN 14103 para quantificação de ésteres em biodieseis etílicos puros de soja, babaçu, palma e sebo bovino e em suas misturas**. 2010. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química. Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2010.

GELBARD, G. et al. ¹H Nuclear magnetic resonance determination of the yield of the transesterification of rapeseed oil with methanol. **J. Am Oil Chem . Soc**, v.72, n.10, p.1239-1241,1995.

GOLDEMBERG, J. ; LUCON, O. Energia e meio ambiente no Brasil. **Estud. av.** [online]. 2007, v.21, n.59, p. 7-20.

GROB Jr., K. Evaluation of injection techniques for triglycerides in capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography A.**, v.178, n.2, p. 369-604,1979.

GROB, R. L.; BARRY, E. F. **Modern practice of gas chromatography**. 4. ed. New Jersey: Wiley-interscience publication, 2004. 1045p.

HARRIS, D. I. C. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2005. 876p.

HOLMS, T. Review: Aspects of the mechanism of the flame ionization detector. **Journal of Chromatography A**, v. 842, p. 221–227, 1999.

HOLCAPEK, M. et al. Analytical monitoring of the production of biodiesel by high performance liquid chromatography with various detection methods. **Journal of Chromatography A**, v.858, p.13-31, 1999.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. **DOQ-CGCRE-008**, 2010.

JERNEJCIC, M.; PREMUR, L. Analysis of vegetable oil mixtures by gas chromatography. **J. Oil. Col. Chem. Assoc.**, v.52, p.633-627, 1969.

KAMINSKI, M. et al. Procedure for and results of simultaneous determination of aromatic hydrocarbons and fatty acid esters in diesel fuels by high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, n. 1122, p.153-160, 2006.

KANYA, T.C.S.; RAO, L. J.; SASTRY, M.C.S. Characterization of wax esters, free fatty alcohols and free fatty acids of crude wax from sunflower seed oil refineries. **Food Chemistry**, v.101, p. 552-1557, 2007.

KNOTHE, G.; GERPEN, J.V.; KRAHL, J. **The biodiesel handbook**. Champaign, Illinois: AOCS Press, 2005.

KNOTHE, G. et al. **Manual do biodiesel**. Traduzido do original "The Biodiesel Handbook " por Luiz Pereira Ramos. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

KNOTHE, G. Dependence of Biodiesel Fuel Properties on the Structure of Fatty Acid Alkyl Esters. **Fuel Processing Technology**, v. 86, p.1059-1070, 2005.

LANÇAS, F.M. **Cromatografia em fase gasosa**. São Carlos: ACTA, 1993.

LANÇAS, F.M. ; MÜHLER, C. Cromatografia unificada. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p.747-753, 2004.

LEUNG, D. Y. C.; LEUNG, X. W. M. K. H. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. **Applied Energy**, v. 87, p.1083-1095, nov. 2010.

LIMA, A. S. O Programa de Monitoramento da Qualidade dos Combustíveis –PMQC. **Séries Temáticas ANP**, n. 5, p. 9, 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?id=664>>. Acesso em: 4 jan. 2014.

LOBO, I.P; FERREIRA, S.L. Biodiesel : parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Quim. Nova**, v. 32, n. 6, p.1596-1608, 2009.

LOZANO P. et al. Measurement of free glycerol in biofuels. **J. Anal. Chem.**, v. 354, p.319–322, 1996.

McNAIR, H. M.; MILLER, J. M. **Basic gas chromatographic**. New York : John Wiley, 2011. 256p.

McNAIR, H. M.; BONELLI, E. J. Basic gas chromatography. In: **BASIC gas chromatography**. California: Lithographed by Consolidated Printers, 1969.306p.

NAGLIC, M.; SMIDOCNIK, A. Use of capillary gas chromatography for determining the hydrogenation level of edible oils. **Journal of Chromatography A**, v.767, p.335-339, 1997.

MATTEI, L. F. Programa Nacional para Produção e uso do Biodiesel no Brasil (PNPB): trajetória, situação atual e desafios. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, 46., 2008. Rio Branco. **Anais...** 2008. Disponível em: <<http://www.ageconsearch.umn.edu/bistream/109212/2/79.pdf>>. Acesso em: 25 maio 2015.

MITTELBACH, M. Diesel fuel derived from vegetables oils, V (1): gas chromatographic determination of free glycerol in transisterified vegetable oils. **Chromatographia**, v.37, n.11/12, p.623-626,1993.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA (MME). Balanço Energético Nacional (BEN) 2013. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br>>. Acesso em: 12 jan. 2014.

MONTEIRO, M.R. et al. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. **Talanta**, v. 77, p. 593-605, 2008.

MORAES, M.S.A. et al. Uso da cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC) na caracterização de misturas biodiesel/diesel: aplicação ao biodiesel de sebo bovino. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1188-1192, 2011.

MORETO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos**. Livraria Valéria, São Paulo, 1998.

MORETTO, E. ; FETT, R.; **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais**. Rio de Janeiro: Varela, 1989. 150p,

MORETTO, E.; FETT, R. **Definição de óleos e gorduras: tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, 1998.

MUELLER, D. et al. **Sensors**, 2013.

OLIVEIRA, J,S. et al. Determination of methyl ester contents in biodiesel blends by FTIR-ATR and FTNIR spectroscopies, **Talanta**, v. 69, p. 1278–1284, 2006.

PARENTE, E. J. de S. et al. **Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado**. Fortaleza: Tecbio, 2003. 68 p.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n. 2, p.198-219, 2003.

PAULS, R. E. A review of chromatographic characterization techniques for biodiesel and biodiesel blends. **Journal of chromatographic science**, v.49, n.5, p. 384-396, 2011.

PAULS, R. E. Fast Gas Chromatographic Separation of Biodiesel. **Journal of Chromatographic Science**, v. 49, 2011.

PETROBRAS. Petróleo Brasileiro S.A. Disponível em: <[http:// www.br.com.br](http://www.br.com.br)>. Acesso em: 13 set. 2014.

PRADO, C. M. R.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Production and Characterization of the biofuels obtained by thermal cracking and thermal catalytic cracking of vegetable oils. **J. Anal. Appl. Pyrolysis.**, v. 86, p.338, 2009.

RAMOS, L.P. Conversão de óleos vegetais em biocombustível alternativo ao diesel convencional. In: CONGRASSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa – Soja, 1999. p.233-236

RAMOS, L.P. et al. Biodiesel: um projeto de sustentabilidade econômica e socioambiental para o Brasil. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**, v.31, p.28-37, 2003. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br>>. Acesso em: 23 jun. 2014.

SEELEY, J. V. et al. Stationary phase selection and comprehensive two-dimensional gas chromatographic analysis of trace biodiesel in petroleum-based fuel. **Journal of Chromatography A**, v. 1226, p.103-109, 2012.

SKOOG, Douglas A.; HOLLER, James; NIEMAN, Timothy. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836p.

SKOOG, D.A. et al. **Fundamentos de química analítica**. São Paulo: Thomson Learning, 2006. p. 999.

SCHUCHARDT, U.; RIBEIRO, M.L.; GONÇALVES, A.R.A. Indústria petroquímica no próximo século: como substituir o petróleo como matéria- prima? **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 247–251, 2001.

SILVA, J. A. Avaliação do programa Nacional de produção e uso do biodiesel no Brasil – PNPB. **Revista de Política Agrícola**, v. 22, n. 3, p.18-31, 2013.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. [S. I.]: GEN/LTC, 2009. v.1.

SOUZA, T. B. **Revisão da equação de cálculo de índice de cetano para as características do diesel comercializado no Paraná**. 142 f. 2008. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-Graduação em Engenharia – PIPE. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008.

SOUZA, L.D. et al. Caracterização segundo normas padronizadas de óleos, diesel e biodiesel produzidos ou consumidos no RN. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 46, Salvador, 2006. **Anais...** Salvador: ABEQ, 2006. p.45-48.

SOUZA, S.V.C.; JUNQUEIRA, R.G. A procedure to assess linearity by ordinary least squares method. **Analytica Chimica Acta**, v. 552, n.1-2, p. 25-35, nov. 2005.

SIESLER, H. W. et al. **Near-infrared spectroscopy**: principals, instruments, applications, Weinheim: Wiley-VCH, 2002.

SPEIGHT, J. G. **Handbook of petroleum product analysis**. Hoboken: Wiley-Interscience, 2002.

TREVISANI, L. et al. Advanced energy recovery systems from liquid hydrogen. **Energy Convers. Manage**, v. 48. n.1, p.146–154, 2007.

TEIXEIRA, L.S.G. et al. Determination of biodiesel content when blended with mineral diesel fuel using infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Micro chemical Journal**, n. 82, p. 201–206, 2006.

ZUNINGA. A. D. G. et al. Revisão: propriedades físico-químicas do biodiesel: **Pesticidas: R. ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v. 21, p. 55-72. jan./dez. 2011.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R. M. Transesterification of vegetable oils. **Review. J. Braz. Chem. Soc.**, v. 9, n. 1, p. 199-210, 1998.

SILVERSTEIN. R. M.; WEBSTER. F. X.; KIEMLE. D. J. Espectrometria no infravermelho. In: _____. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC. 2010. Cap. 2. p. 70-104.

FARIA, R.C.M. et al. Desenvolvimento e validação de metodologia de análise de misturas diesel:biodiesel utilizando cromatografia gasosa – espectrometria de massa. **Química Nova**, v. 30, n. 8,p.1900–1905, 2007.

RAGONESE, C. et al. Conventional and fast gas chromatography analysis of biodiesel blends using an ionic liquid stationary phase. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p.8992-8997, 2009.

RUSCHEL, C.F.C. et al. Análise exploratória aplicada a espectros de reflexão total atenuada no infravermelho com transformata de Fourier (ATR-) de blendas de biodiesel/diesel. **Quim. Nova**, v. 37, n. 5, p.810-815, 2014.

SHIFLER, D.A. Possible corrosion aspects for the use of alternatives fuels. In: IN: CORROSION 2009. NACE INTERNATIONAL, 2009. **Proceedings...** 2009.

TANG , H. et al. Quality survey of biodiesel blends sold at retail stations. **Fuel**, v.87, p. 2951–2955, oct.2008.

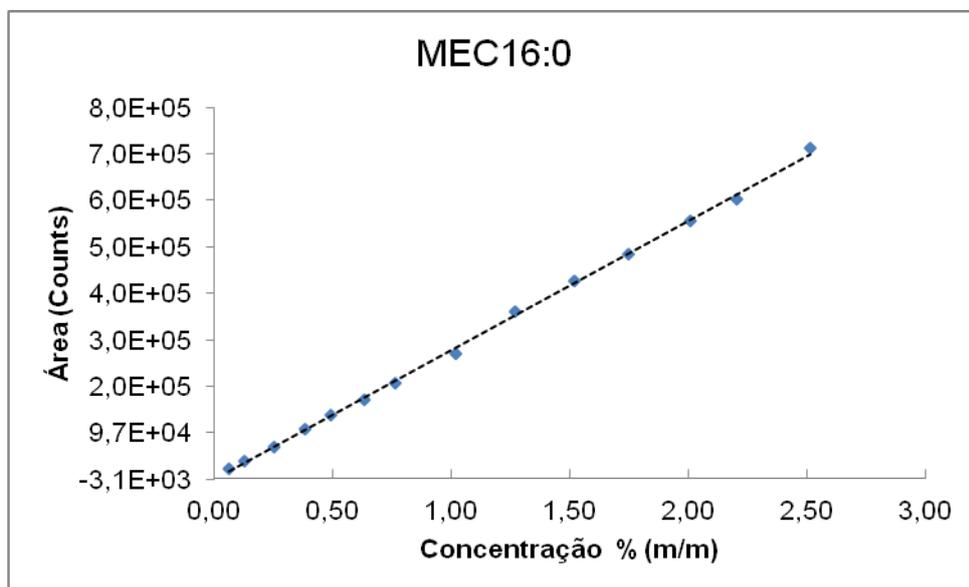
VISENTAINER, J.V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização de chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. **Quim. Nova**, v. 35, n. 2, 274–279, 2012.

YAHAYA, M.F.; DEMSHEMINO, I.; NWADIKE, I.; SYLVESTER, O.D.P.; OKORO, L.N. A review on the Chromatographic Analysis of Biodiesel. **International Journal of Education and Research**. v.1, n. 8, 2013.

WAWRZYNIAK, R.; WASIAK, W.; CKOWIAK, M.F. Determination of metal esters in diesel oils by gas chromatography – validation of the method. **Chem, Pap.** v.56, n.6b, p.449-452, 2005.

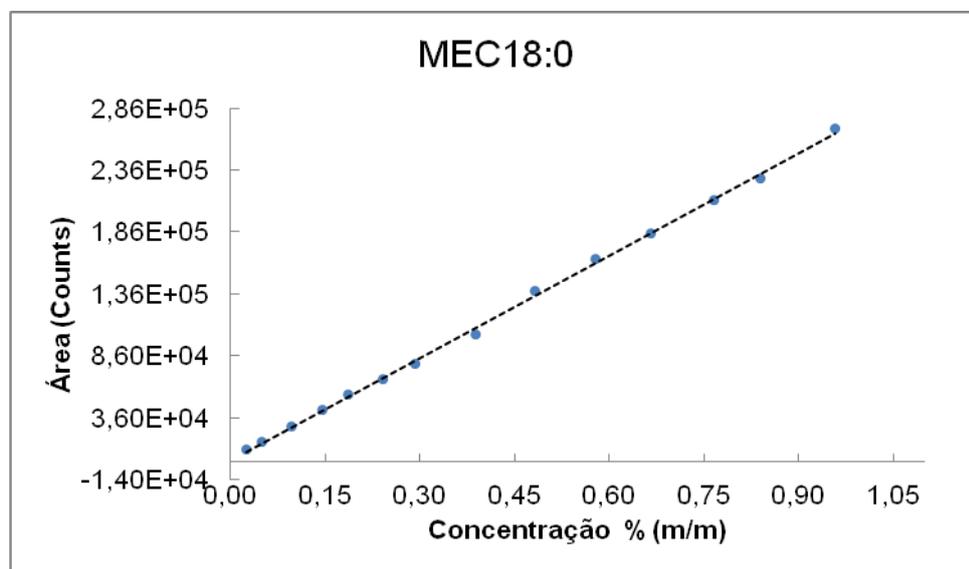
APÊNDICE A - Curvas dos metil ésteres

Figura A.1 – Teor de MEC16:0 em Área (Counts) x % (m/m)



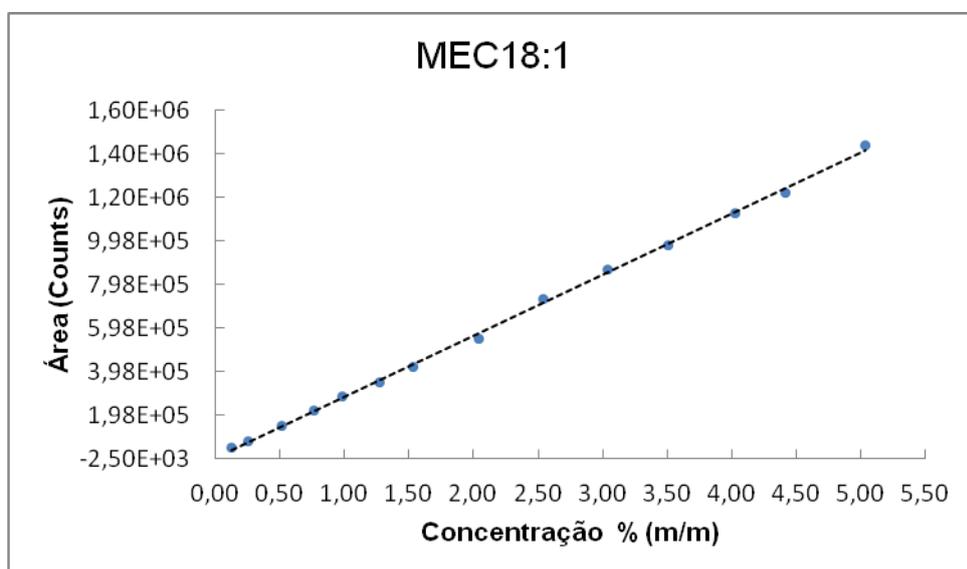
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.2 – Teor de MEC18:0 em Área (Counts) x % (m/m)



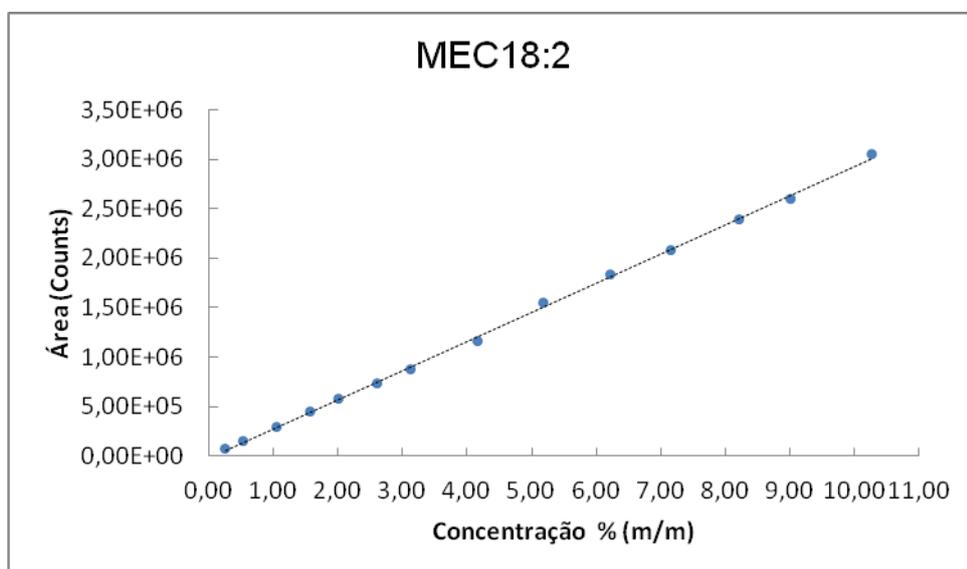
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.3 – Teor de MEC18:1 em Área (Counts) x % (m/m)



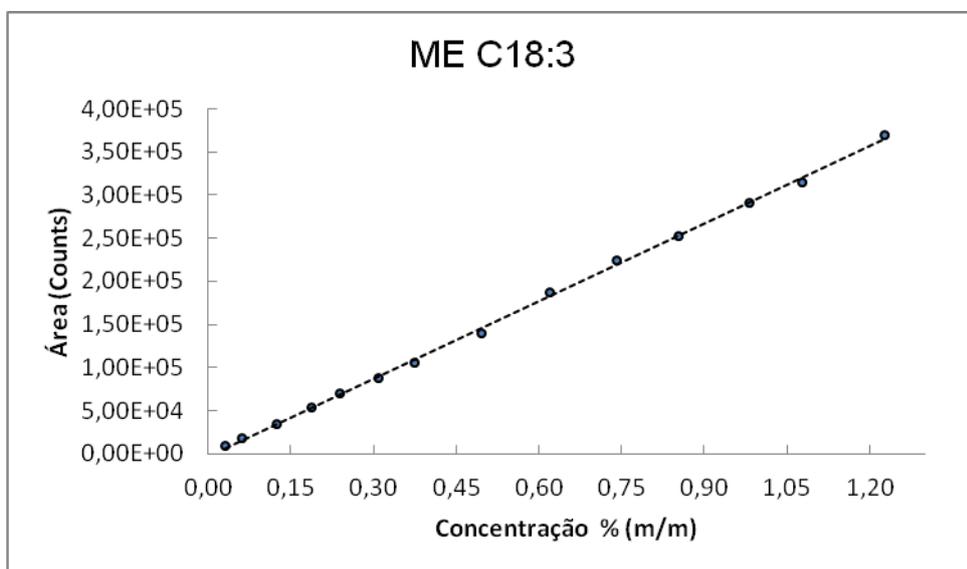
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.4 – Teor de MEC18:2 em Área (Counts) x % (m/m)



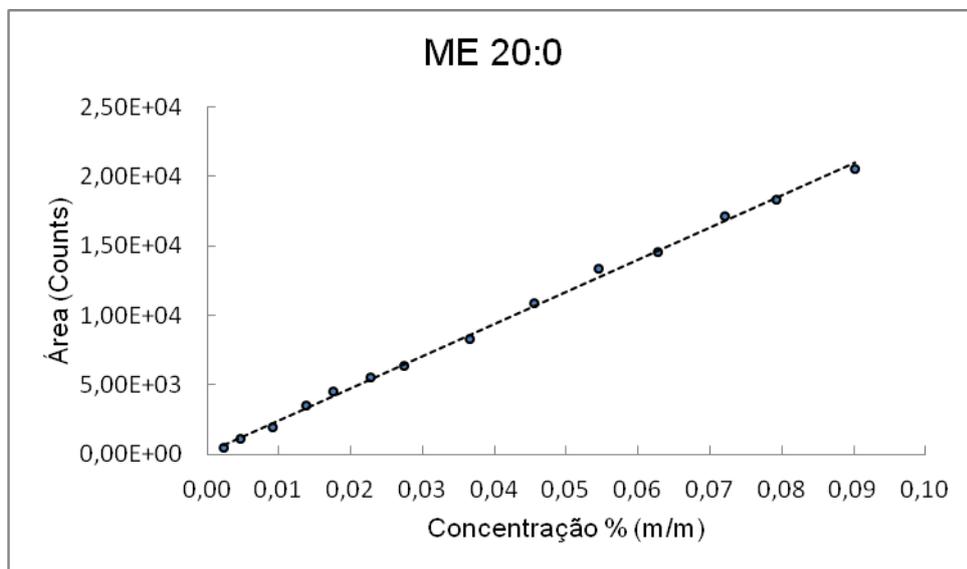
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.5 – Teor de MEC18:3 em Área (Counts) x % (m/m)



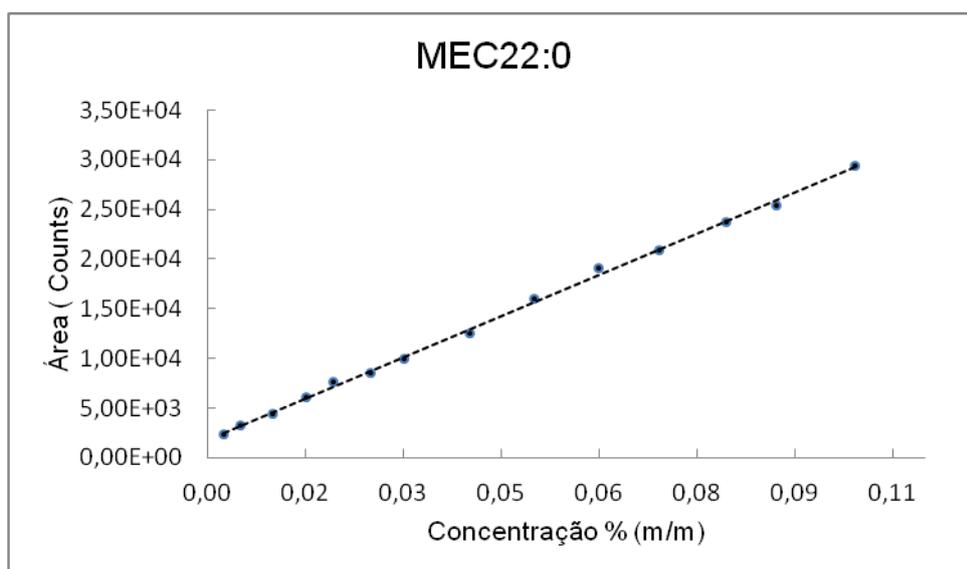
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.6 – Teor de MEC20:0 em Área (Counts) x % (m/m)



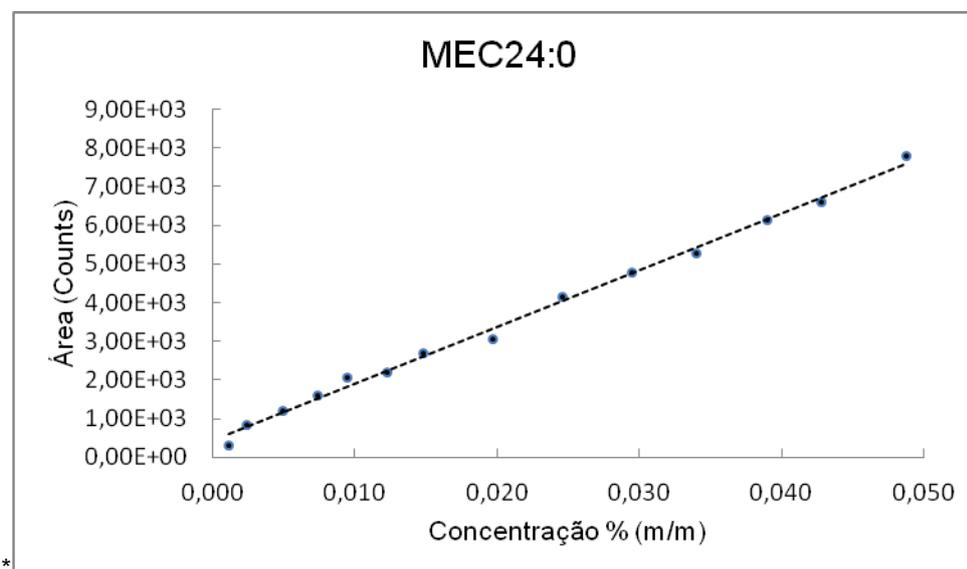
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.7 – Teor de MEC22:0 em Área (Counts) x % (m/m)



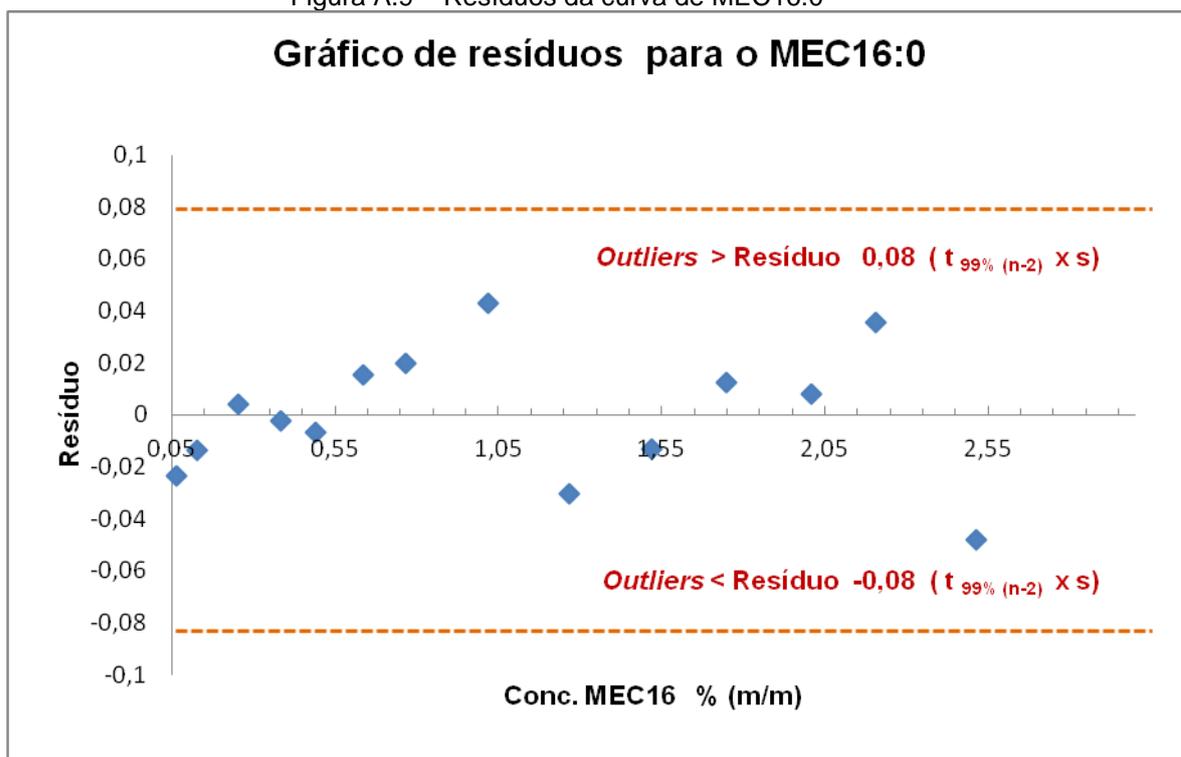
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.8 – Teor de MEC24:0 em Área (Counts) x % (m/m)



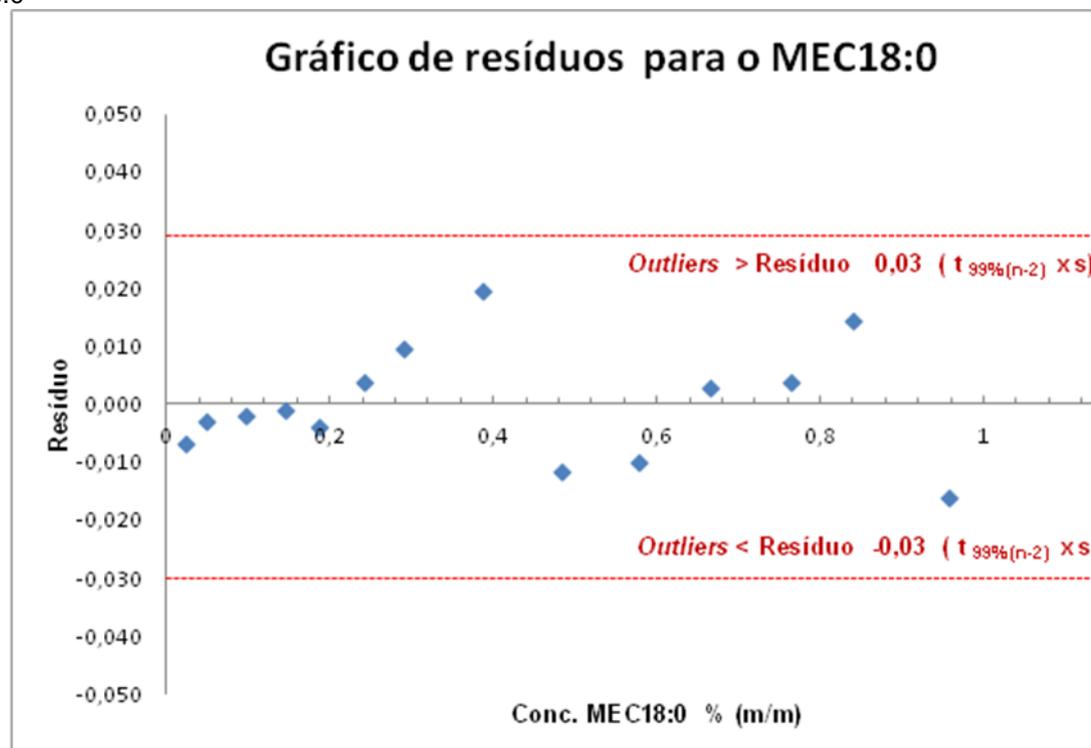
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.9 – Resíduos da curva de MEC16:0



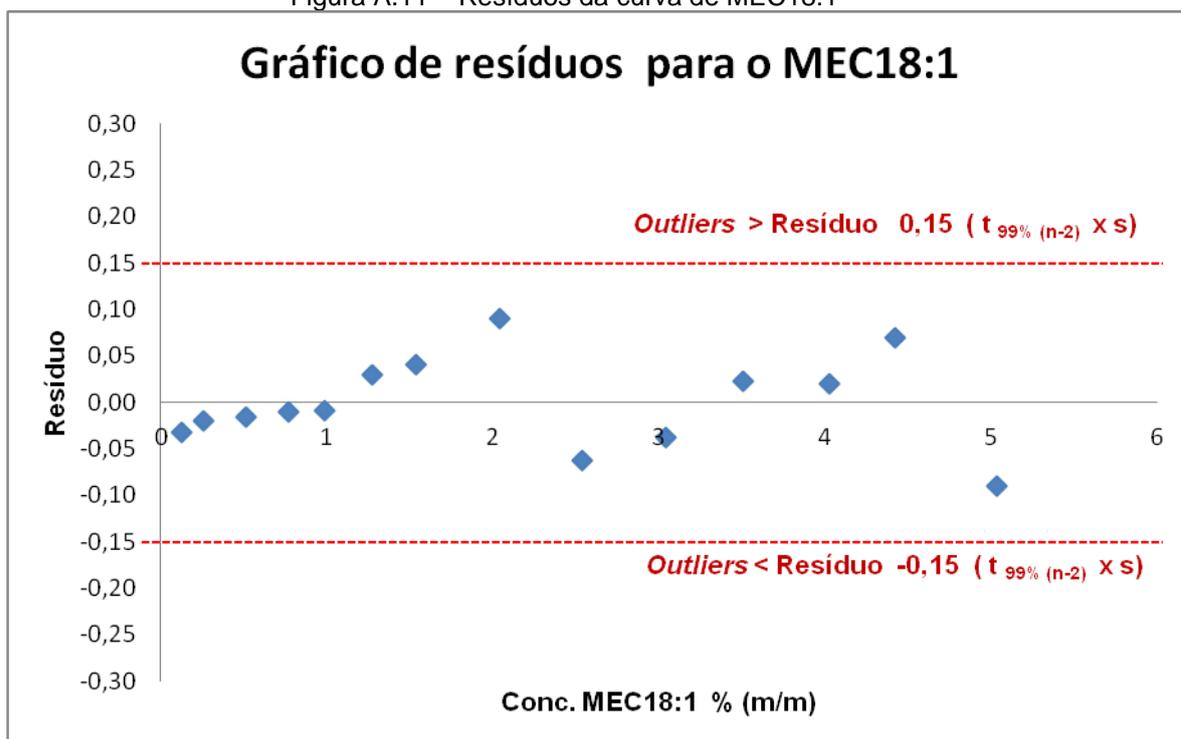
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.10 – Resíduos da curva de MEC18:0



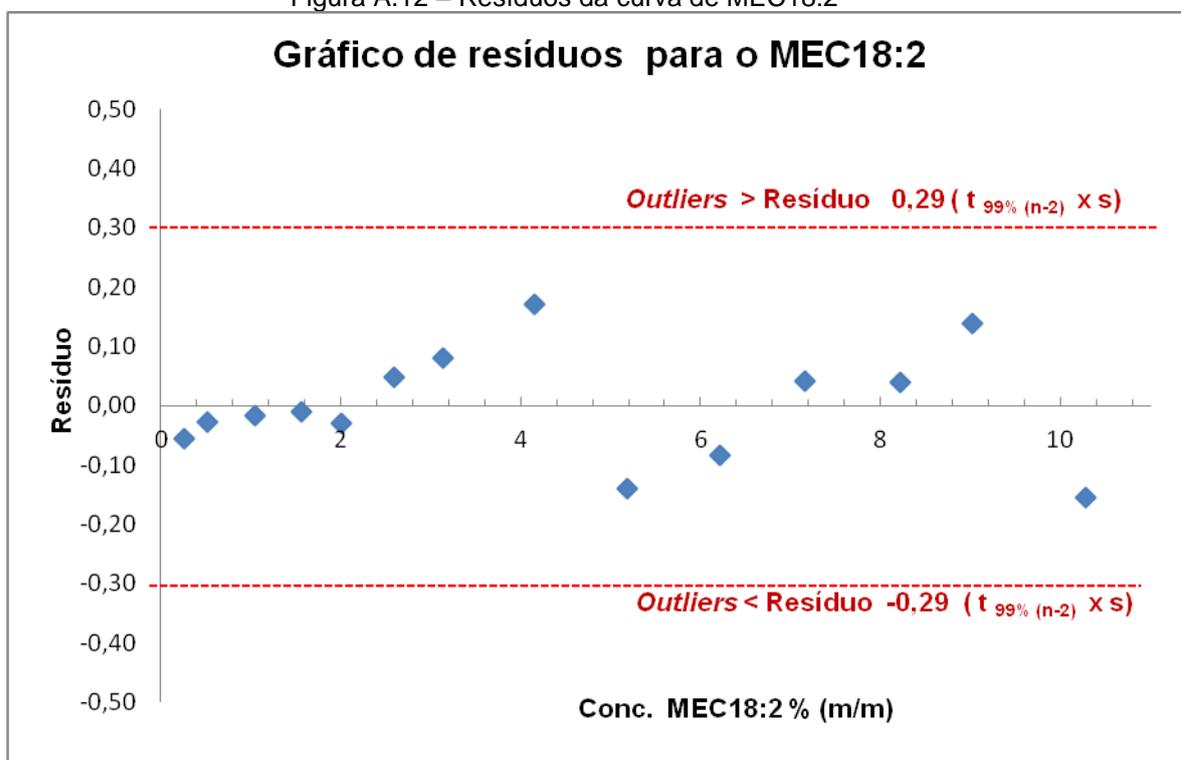
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.11 – Resíduos da curva de MEC18:1



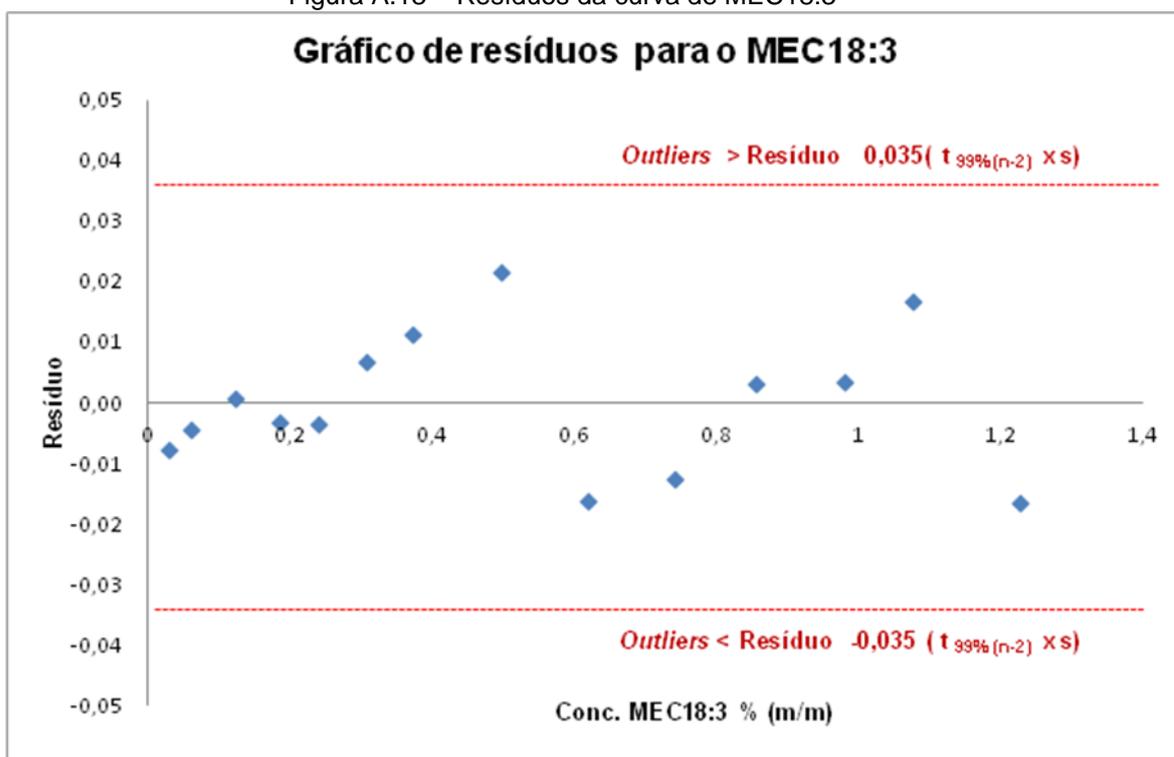
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.12 – Resíduos da curva de MEC18:2



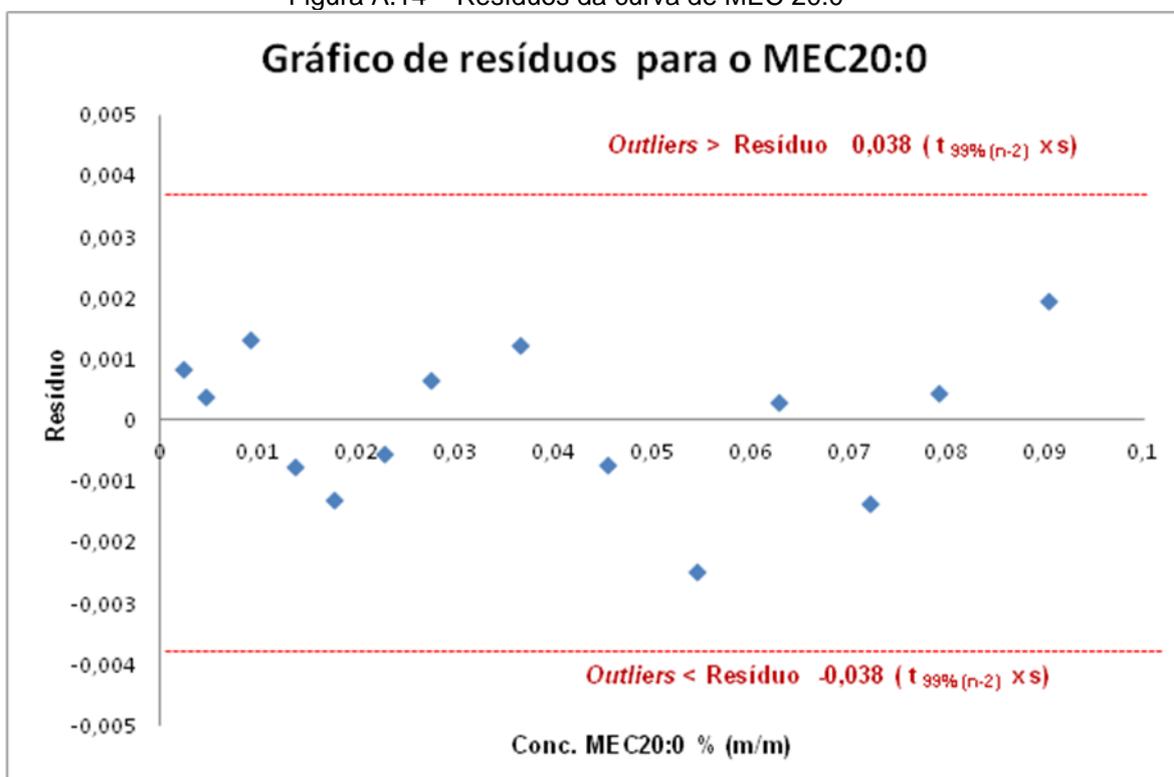
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.13 – Resíduos da curva de MEC18:3



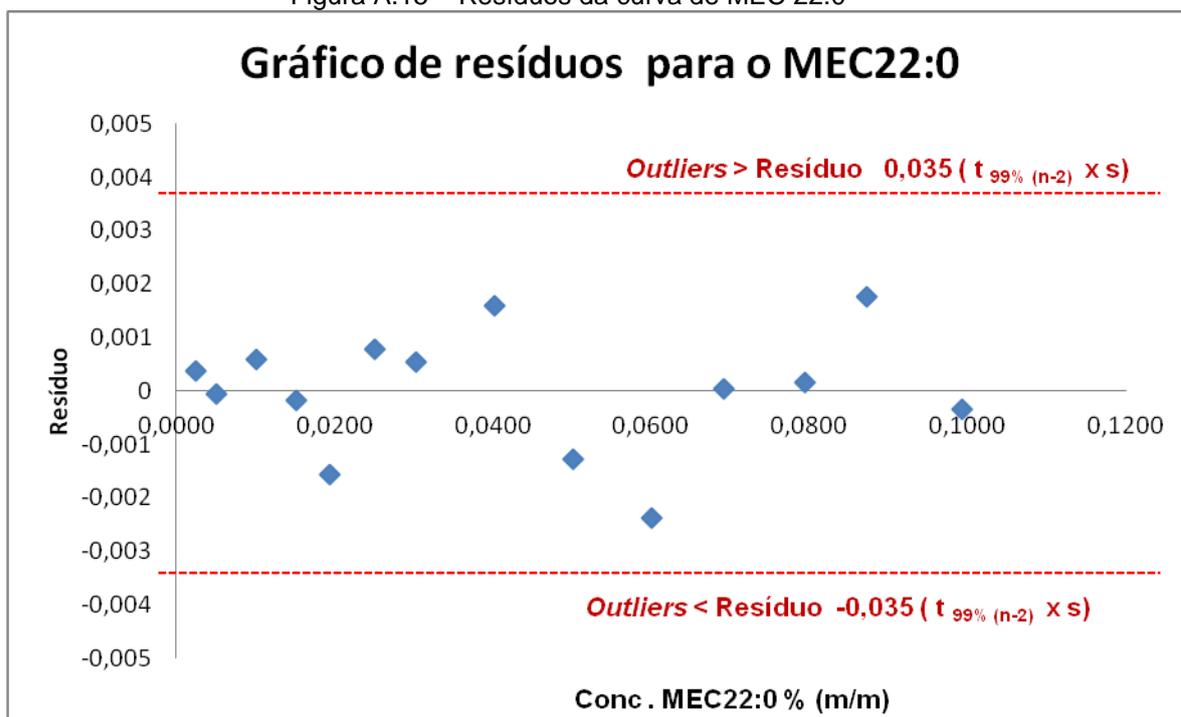
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.14 – Resíduos da curva de MEC 20:0



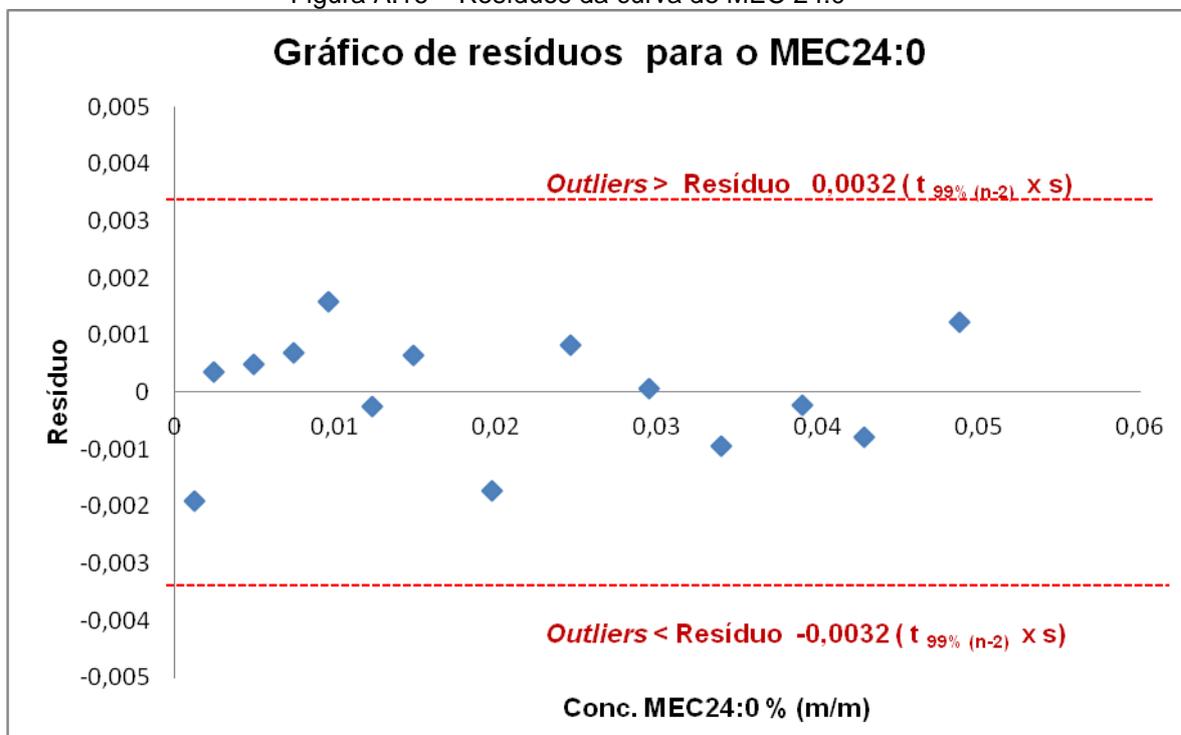
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.15 – Resíduos da curva de MEC 22:0



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura A.16 – Resíduos da curva de MEC 24:0



Fonte: Elaborado pelo autor.