

UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Caracterização físico-química da glicerina proveniente
de usinas de biodiesel e determinação de metanol
residual por CG com amostragem por *Headspace*
estático.

Rodrigo Sequinel

Tese de Doutorado
2013

RODRIGO SEQUINEL

Caracterização físico-química da glicerina proveniente de usinas de biodiesel e determinação de metanol residual por CG com amostragem por *Headspace* estático.

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. José
Eduardo de Oliveira
Co-orientador: Leonardo
Pezza

Araraquara

2013

FICHA CATALOGRÁFICA

S479c Sequinel, Rodrigo
Caracterização físico-química da glicerina proveniente de usinas de biodiesel e determinação de metanol residual por CG com amostragem por *headspace* estático. / Rodrigo Sequinel. – Araraquara : [s.n], 2013
103 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: José Eduardo de Oliveira
Coorientador: Leonardo Pezza

1. Química orgânica. 2. Glicerina. 3. Metanol.
4. Cromatografia Gasosa. I. Título.

RODRIGO SEQUINEL

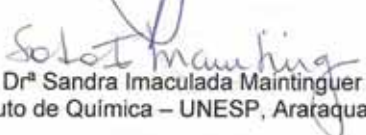
Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química.

Araraquara, 10 de abril de 2013.


BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. José Eduardo de Oliveira (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara




Profª Drª Sandra Imaculada Maintinguer
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. José Fernando Machado Menten
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP, Piracicaba



Dr. Fabio da Silva Vinhado
Centro de Pesquisas e Análises Tecnológicas – CPT/ANP, Brasília



Prof. Dr. Paulo Roberto de Oliveira
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Curitiba

Rodrigo Sequinel Curriculum Vitae

Dados pessoais

Nome Rodrigo Sequinel
Filiação José Carlos Sequinel e Sueli Terezinha Sequinel
Nascimento 05/03/1979 - Irati/PR - Brasil
Carteira de Identidade 531635247 SSP - SP - 24/02/2009
CPF 025.882.989-31

Formação acadêmica/titulação

- 2007 - 2009** Mestrado em Química.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil
Título: Desenvolvimento de novos procedimentos analíticos para a determinação de paracetamol em amostras de medicamentos., Ano de obtenção: 2009
Orientador: Leonardo Pezza
Bolsa: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- 2003 - 2006** Graduação em Bacharelado em Química.
Universidade Estadual de Ponta Grossa, UEPG, Ponta Grossa, Brasil
Título: Análise química das águas do Rio Verde.
Orientador: Profa. Dra. Maria Elena Payret Arrúa
- 1997 - 2001** Graduação em Licenciatura Em Educação Física.
Universidade Estadual de Ponta Grossa, UEPG, Ponta Grossa, Brasil
Título: Consumo Máximo de Oxigênio correspondente ao Limiar Anaeróbico
Orientador: Prof. Carlos Maurício Zarembo
-

Atuação profissional

1. Fundação para o Desenvolvimento da UNESP - FUNDUNESP

Vínculo institucional

2013 Atual Vínculo: Celetista, Enquadramento funcional: Gerente Geral, Carga horária: 40, Regime: Integral

2. Centro Universitário de Araraquara - UNIARA

Vínculo institucional

2012- Atual Vínculo: Celetista, Enquadramento funcional: Professor, Carga horária: 2, Regime: Parcial

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. **SEQUINEL, R.**; RUFINO, J. L.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L.
Spectrophotometric Determination of Paracetamol in Pharmaceuticals Using Microwave-Assisted Hydrolysis and a Micellar Medium. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, v.30, p.1330 - 1335, 2011.
2. **SEQUINEL, RODRIGO**; HATANAKA, RAFAEL RODRIGUES; GUALTIERI, CARLOS EDUARDO; FLUMIGNAN, DANILO LUIZ; PASSARETTI FILHO, JULIANO; DE OLIVEIRA, JOSÉ EDUARDO
Cromatografia Gasosa Ultrarrápida: uma visão geral sobre parâmetros, instrumentação e aplicações. *Química Nova (Impresso)*, v.33, p.2226 - 2232, 2010.
3. LIMA, L.; WEINERT, P.; LEMOS, S.; SEQUINEL, R.; PEZZA, H.; PEZZA, L.
An environmentally friendly reflectometric method for ranitidine determination in pharmaceuticals and human urine. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v.71, p.1999 - 2004, 2009.
4. SANTINI, ALBERTO O.; PEZZA, HELENA R.; **SEQUINEL, RODRIGO**; RUFINO, JOSÉ L.; PEZZA, LEONARDO
Potentiometric sensor for furosemide determination in pharmaceuticals, urine, blood serum and bovine milk. *Journal of the Brazilian Chemical Society (Impresso)*, v.20, p.64 - 73, 2009.
5. GOTARDO, M. A.; LIMA, L. S.; SEQUINEL, R.; RUFINO, J. L.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L.
A simple spectrophotometric method for the determination of methyl dopa using p-chloranil in the presence of hydrogen peroxide. *Eclética Química (Araraquara)*, v.33, p.7 - 12, 2008.

Artigos aceitos para publicação

1. HATANAKA, R. R.; **SEQUINEL, R.**; GUALTIERI, C. E.; TERCINI, A. C. B.; FLUMIGNAN, D. L.; OLIVEIRA, J. E.
Development and validation of an environmentally friendly attenuated total reflectance in the mid-infrared region method for the determination of ethanol content in used engine lubrication oil. *Talanta (Oxford)*, 2013.

Capítulos de livros publicados

1. FLUMIGNAN, D. L.; HATANAKA, R. R.; **SEQUINEL, R.**; OLIVEIRA, J. E.
Avanços brasileiros no desenvolvimento de normas técnicas analíticas para certificação e controle da qualidade de biodiesel. In: *BIOENERGIA - Desenvolvimento, Pesquisa e Inovação*, 1ª ed. São Paulo: Editora UNESP, 2012, p. 889-943.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. MIRANDA, N. T., FERREIRA, P. S., RUFINO, M. P., HATANAKA, R. R., **SEQUINEL, R.**, OLIVEIRA, J. E., TININIS, A. G., FLUMIGNAN, D. L.
DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO GASOSO ULTRARRÁPIDO PARA DETERMINAÇÃO DE BTEX EM GASOLINAS COMERCIAIS BRASILEIRAS. In: Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012, Florianópolis.
Livro de Resumos COLACRO XIV, 2012. p.491 - 491

2. **SEQUINEL, R.**, HATANAKA, R. R., Gualtieri, C. A., CHIARADIA, J. R., PEZZA, L., de Oliveira, José Eduardo
Determinação de metanol em glicerina proveniente de usinas de biodiesel utilizando a técnica de CG com amostragem por Headspace In: 34º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2011, Florianópolis.
Anais da 34º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2011.

3. **Sequinel, Rodrigo**, Passaretti Filho, Juliano, Flumignan, Danilo Luiz, de Oliveira, José Eduardo
Cromatografia Gasosa Ultrarrápida: uma visão geral sobre parâmetros, instrumentação e aplicações. In: Simpósio Brasileiro de Cromatografia e Técnicas Afins, 2010, Campos do Jordão.
Anais do Simpósio Brasileiro de Cromatografia e Técnicas Afins, 2010.

4. HATANAKA, R. R., Gasparini, F., **SEQUINEL, R.**, Lima, J.R. de O., Flumignan, D.L., Oliveira, J.E. de
Avaliação e adaptação das condições da EN 14103 para quantificação de ésteres em misturas de biodieseis etílicos de soja, babaçu e palma. In: 3º CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL - RBTB, 2009, Brasília-DF.
3º CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL - RBTB, 2009. v.3. p.129 - 130

5. **SEQUINEL, R.**, RUFINO, J. L., PEZZA, H. R., PEZZA, L.
Desenvolvimento e validação de procedimento de análise por injeção em fluxo (FIA) para determinação de paracetamol em medicamentos. In: 15º Encontro Nacional de Química Analítica, 2009, Salvador-BA.
Anais do 15º Encontro Nacional de Química Analítica, 2009.

6. Ré, R. A., RUFINO, J. L., **SEQUINEL, R.**, PEZZA, H. R., PEZZA, L.
Desenvolvimento de método analítico para a determinação de citrato de sildenafil em preparações farmacêuticas via análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica. In: XX Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2008, São José dos Campos.
Anais do XX CIC da Unesp, 2008.

7. **SEQUINEL, R.**, RUFINO, J. L., PEZZA, L., PEZZA, H. R.
Desenvolvimento de um novo método espectrofotométrico para determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas. In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia - SP.
Anais da 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008.

8. SEQUINEL, R., RUFINO, J. L., SANTOS, J. M., PEZZA, L., PEZZA, H. R.
Determinação de ambroxol em formulações farmacêuticas utilizando a combinação spot test-espectroscopia de reflectância difusa. In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia - SP.

Anais da 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008.

9. RODRIGUES, M. A., RUFINO, J. L., SEQUINEL, R., PEZZA, H. R., PEZZA, L.
Determinação de ambroxol em formulações farmacêuticas utilizando análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica. In: XX Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2008, São José dos Campos.

Anais do XX CIC da Unesp, 2008.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. HATANAKA, R. R., SEQUINEL, R., Gualtieri, C. A., TERCINI, A.C.B., Oliveira, J.E. de

Development and validation of analytical method for determination of residual ethanol in used Otto cycle engines lubricating oil. In: XIII Chemometrics in Analytical Chemistry, 2012, Budapest.

Programme & Book of Abstracts. Budapest: Hungarian Chemical Society, 2012. p.117 - 117

Apresentação de trabalho e palestra

1. SEQUINEL, R., HATANAKA, R. R., Gualtieri, C. A., Flumignan, D.L., PEZZA, L., Oliveira, J.E. de

Determination of Methanol and Ethanol in Crude Glycerin using Headspace Gas Chromatography, 2011. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

2. SEQUINEL, R., Gualtieri, C. A., HATANAKA, R. R., Flumignan, D.L., Oliveira, J.E. de

Ultra fast Gas Chromatography: requirements to increase the sample throughput, 2011. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

3. SEQUINEL, R.

Development of new analytical methodologies for the quality control of biodiesel, 2009. (Seminário, Apresentação de Trabalho)

Produção técnica

Trabalhos técnicos

1. SILVA, A. D., FARIAS, L. T., O. FILHO, W. P., KIFFER, R., **SEQUINEL, R.**, CAMACHO, L., MELO, M., ZANATTA, V. B. V., HOSHINO, R. A., COCCO, L. C., LATERZA, I., YUAN, V., VINHOZA, M., GONCALVES, J., FARIA, F. D.

“Projeto de Norma técnica ABNT NBR 15341 Biodiesel - Determinação de glicerina livre por cromatografia em fase gasosa, 2010.”

Orientações e Supervisões

Orientações e supervisões concluídas

Trabalhos de conclusão de curso de graduação

1. Bruna Bonachini. **“Estudo de viabilidade econômica para produção de biodiesel em pequenas propriedades rurais”**. 2012. Curso (Engenharia Bioenergética) - Centro Universitário de Araraquara

2. Eduardo Pini Gonçalves. **Processo de tratamento de óleo residual com glicerina**. 2012. Curso (Engenharia Bioenergética) - Centro Universitário de Araraquara

3. Alex Valério dos Santos. **“Produção de biodiesel via transesterificação: otimização das condições reacionais para produção em planta piloto”**. 2012. Curso (Engenharia Bioenergética) - Centro Universitário de Araraquara

4. Évelin C. dos S. Fernandes. **“Utilização do bagaço da cana-de-açúcar e da casca de arroz no processo de lavagem do biodiesel”**. 2012. Curso (Engenharia Bioenergética) - Centro Universitário de Araraquara

AGRADEÇO...

Ao Prof. Dr. José Eduardo de Oliveira pela confiança, pela orientação e pelas contribuições decisivas em minha formação acadêmica e profissional;

Ao Prof. Dr. Leonardo Pezza pela co-orientação e pelos momentos de descontração;

Aos membros da banca examinadora pela abordagem multiconceitual que enriqueceu o trabalho em todos os aspectos;

Aos colegas de pesquisa Rafael Rodrigues Hatanaka e Carlos Eduardo Gualtieri que muito contribuíram no desenvolvimento desta pesquisa;

Aos colegas de Cempeqc, em especial a Malu pela convivência, pela paciência e por ter me ajudado a lembrar dos prazos. Deixo também uma lembrança especial a todos que fizeram parte da equipe Cempeqc entre o início de 2009 e o início de 2013.

Aos grandes amigos do dia a dia, João e Juliana Severi, Juliano e Kelli, Murilón e Tathiê, Tanabi, Rafael (Piá) e Juliana Tomé, Marcão (Paraíba), Jardes, Lima Neto, Zé Rufino, Zé Renato e demais que não acompanharam de perto a correria deste trabalho, mas que sempre serão lembrados.

Aos funcionários do IQ, especialmente o pessoal da Seção de Pós Graduação e Biblioteca, por sempre nos atender com bastante presteza e competência.

Ao CNPq pela bolsa concedida para o desenvolvimento desta pesquisa;

E, finalmente,

à Leticia Caetano da Silva pelo companheirismo, paciência e pela força nestes quatro anos, que eu espero serem um começo de muitos anos juntos pela frente.

aos meus irmãos Thiago e Vanessa (e seus respectivos companheiros Íris Garcia e Raphael Garcia) e meus pais Sueli e José Carlos, uma família unida e participativa, que sempre me deu suporte nessa nova empreitada.

...OBRIGADO!

RESUMO

A glicerina bruta emergente da cadeia de produção de biodiesel contém alguns produtos intermediários da reação, resíduos de catalisador, água, metanol e vem se tornando o novo desafio do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel – PNPB. Neste trabalho foi realizada a caracterização completa de amostras de glicerina bruta, glicerina loira e glicerina bidestilada. Os parâmetros analisados foram aspecto, pH, teor de água, teor de metanol, teor de matéria orgânica não glicerol (MONG), teor de glicerol, além da realização de ensaio qualitativo para presença de elementos metálicos e não metálicos. De acordo com os resultados obtidos, as características físico químicas variaram muito de uma amostra para outra. Esta diferença foi principalmente observada em decorrência de processos de transesterificação problemáticos ou mesmo devido aos tratamentos de purificação a que são submetidas as amostras de glicerina. Enquanto uma amostra de glicerina loira contém em torno de 80% de glicerol, em uma amostra de glicerina bruta este valor pode ficar abaixo de 50%. Os resultados mostraram também ser possível a obtenção de glicerol com alto grau de pureza, acima de 97%, a partir de amostras de glicerina bruta. O grau de purificação vai depender da aplicação a que estas se destinam, entretanto, a utilização de processos de tratamento incompletos ou inadequados compromete a qualidade do produto. Deste modo, a determinação de todos os parâmetros citados neste trabalho é de suma importância para fornecer dados que possam ser úteis no estabelecimento de padrões de qualidade para a glicerina. No que diz respeito ao teor de metanol, como não foi encontrado um método oficial na literatura, foi validado um novo procedimento analítico para determinação deste parâmetro, utilizando a técnica de CG-HS. As condições cromatográficas utilizadas foram injetor PTV e detector DIC em temperatura de 300 °C. A programação de temperatura do forno foi inicialmente de 50 °C por 3 min, seguido de rampa de aquecimento a 40 °C/min até a temperatura final de 250 °C, mantida por 2 min. Foi utilizada uma coluna Rtx-1 (100% polidimetilsiloxano; 30 m, 0,32 mm, 3 µm). Como gás de arraste foi utilizado Hélio à velocidade linear constante de 40 cm/s. As condições de *headspace* foram 2 g de amostra, temperatura de incubação de 60 °C por 15 min. O volume de injeção foi 500 µL, com uma razão de divisão de fluxo na ordem de 1:50. O método foi considerado seletivo, preciso e exato, com linearidade estudada na faixa entre 0,0075-0,050% e 0,040-0,50% m/m e LQ de 0,0075% m/m. Os problemas relacionados complexidade das amostras, devido à variação na quantidade de água foram suprimidos com o acréscimo de água nos padrões da curva analítica. Por fim, os ensaios complementares realizados na tentativa de diminuir o tempo de análise apresentaram resultados satisfatórios somente quando hidrogênio foi usado como gás de arraste na coluna DB-1MS (20 m x 0,10 mm x 0,4 µm). Nestas condições o t_R do metanol foi de 0,668 s ao passo que na separação convencional o tempo foi de 1,970 s. Já o tempo total de análise caiu de 10 minutos para 7 minutos, uma redução de 30%.

Palavras-chave: Glicerina. Parâmetros físico químicos de qualidade. Metanol. CG-HS.

ABSTRACT

The crude glycerin emerging from the biodiesel production process contains some intermediate products from reaction, residue of catalyst, moisture, methanol and for this reason is becoming the new challenge of the National Program of Production and Use of Biodiesel – PNPB. In this thesis it was performed a complete characterization of crude glycerin samples, blond glycerin samples and bi-distilled glycerin samples. All parameters analyzed were aspect, pH, water content, methanol content, material organic non-glycerol, glycerol content, as well as the qualitative determination of some metallic and non-metallic elements that may be present. According to the results obtained there was a great variation among the physic-chemical characteristics from the samples. This difference was mostly due to problematic transesterification process or due to some purification treatment which glycerin samples were submitted. While the glycerol content is around to 80% for a blond glycerin sample, this value may be bellow to 50% for crude glycerin samples. The results also showed it is possible to obtain glycerol of high purity grade, above to 97%, from crude glycerin samples. The desired purity grade depends on the future destination of the glycerin, however, the application of incomplete or inadequate treatment may compromise the quality of the product. Therefore, the determination of all physic-chemical parameters listed in this document becomes an important step to provide enough information to establish a quality standard for glycerin. Regarding the methanol content, since it was not found in literature an official method, it was developed and validated a new test procedure for this determination using GC-HS. The chromatographic conditions were PTV and FID temperatures at 300 °C. The oven temperature program was an initial hold at 50 °C for 3 min, followed by a ramp at 40 °C/min to a final temperature of 250 °C (held for 2 min). The analytical column employed was an Rtx-1 (100% polidimethylsyloxane; 30 m; 0.32 mm; 3 µm). Helium was used as the carrier gas, at a linear constant velocity of 40 cm/s. The headspace conditions were a sample amount of 2 g, with incubation at 60 °C for 15 min. The injection volume was 500 µL using a split ratio of 1:50. The method was considered selective, precise and accurate, for which the linearity was studied in the range of 0,0075-0,050% and 0,040-0,50% m/m with a LQ of 0,0075% m/m. The interference of water was attenuated by adding 5% of water to each of the standards used to construct the calibration curve. Finally, the complementary assays performed to decrease the time of analysis showed satisfactory results only when hydrogen was used as carrier gas at the column DB-1MS (20 m x 0.10 mm x 0.4 µm). In these conditions, t_R of methanol was 0.668 s, whereas in the conventional separation the t_R of methanol was 1.970 s. The total time of analysis decreased from 10 min to 7 min, a reduction of 30%.

Palavras-chave: Glycerin. Physico-chemical parameter of quality. Methanol. CG-HS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição do mercado de combustíveis no Brasil durante o ano de 2012.	20
Figura 2 – Evolução anual da produção, da demanda compulsória e da capacidade nominal de comercialização de biodiesel autorizada pela ANP no país.	21
Figura 3 – Fluxograma do processo de produção de biodiesel da JBS.	27
Figura 4 – Etapas da reação de transesterificação para produção de biodiesel, com todos os insumos envolvidos, produtos e coprodutos da reação.	29
Figura 5 – Principais mercados da gliceroquímica industrial.	33
Figura 6 – Titulador Coulométrico Karl Fischer utilizado para determinação do teor de água.	38
Figura 7 – Equipamento utilizado para verificação do pH a 10% das amostras de glicerina.	40
Figura 8 – Gráfico de Pareto com os efeitos normalizados exercidos pelas variáveis individuais e suas interações na quantificação de MONG. A linha vertical tracejada representa o limite a partir do qual os efeitos passam a ter influencia significativa no resultado, considerando o limite de confiança de 95%.	43
Figura 9 – Aspecto visual das amostras de glicerina analisadas.	48
Figura 10 – Relação de elementos presentes nas amostras de glicerina e suas respectivas abundâncias percentuais relativas.	53
Figura 11 – Princípio da cromatografia gasosa com amostragem por headspace estático. (A) estabelecimento do equilíbrio. (B) transferência da amostra para o sistema cromatográfico. CG: gás de arraste (carrier gas); SV: vial de amostra (sample vial); TH: forno termostatizado (thermostat); COL: coluna de separação; D: detector.	65
Figura 12 – Gráfico de Pareto ilustra o efeito normalizado que as variáveis individuais e as interações entre as variáveis podem exercer sobre a sensibilidade do sistema de HS proposto. Os efeitos significativos (a 95% de confiança) são indicados onde a barra horizontal excede a linha vertical tracejada. Os resultados foram avaliados em função da área do pico do metanol.	78
Figura 13 – Gráfico tridimensional obtido a partir dos intervalos de temperatura e tempo de equilíbrio estudados na análise de superfície de resposta da etapa de otimização da amostragem por HS. Os resultados foram analisados em função da área do pico do metanol.	80
Figura 14 – Estudo da relação entre a quantidade de eletrólito presente em soluções de glicerina contendo 0,015% de metanol e 5% de água e a área do pico do metanol. O eletrólito utilizado foi Na ₂ SO ₄ anidro.	84

Figura 15 – Cromatograma CG-DIC de uma amostra de glicerol em que foram adicionados alguns potenciais interferentes na concentração de 0,05% m/m. As condições cromatográficas utilizadas foram as mesmas descritas no procedimento experimental. Componentes: 1) metanol; 2) etanol; 3) acetona; 4) Álcool isopropílico; 5) 1-Butanol 6) Glicerol. 85

Figura 16 - Espectro de massas obtido do pico referente ao metanol, nas condições descritas no procedimento experimental. 85

Figura 17 – Contribuição exercida pela relação viscosidade e coeficiente de difusão dos gases, em diferentes velocidades lineares, sobre a altura de um prato teórico. 90

Figura 18 – Cromatograma obtido da análise da mistura de metanol, etanol e acetona em glicerina, utilizando coluna ZB5-MS (10 m x 0,10 mm x 0,10 μ m) e hidrogênio como gás de arraste a 75 cm/s. 93

Figura 19 – Cromatograma obtido da análise da mistura de metanol, etanol, acetona, isopropanol e butanol em glicerina, utilizando coluna DB-1MS (20 m x 0,10 mm x 0,4 μ m) e hidrogênio como gás de arraste a 63 cm/s. 1) Metanol; 2) Etanol; 3) Acetona; 4) Iso-propanol e 5) 1-Butanol. 95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – <i>Propriedades físico químicas do glicerol.</i>	25
Tabela 2 – <i>Composição média da glicerina proveniente das usinas de biodiesel.</i>	31
Tabela 3 – <i>Relação de ensaios e condições experimentais testadas na etapa de otimização do procedimento de determinação do teor de MONG em amostras de glicerina.</i>	42
Tabela 4 – <i>Teor de água, em porcentagem m/m, encontrado nas diferentes amostras de glicerina provenientes de processo de produção de biodiesel.</i>	49
Tabela 5 – <i>Valores de pH encontrado nas diferentes amostras de glicerina em meio aquoso.</i>	49
Tabela 6 – <i>Teor de cinzas, em porcentagem m/m, encontrado nas diferentes amostras de glicerina provenientes de processo de produção de biodiesel.</i>	50
Tabela 7 – <i>Teor de glicerol, em porcentagem m/m, encontrado nas diferentes amostras de glicerina provenientes de processo de produção de biodiesel.</i>	51
Tabela 8 – <i>Teor de MONG, em porcentagem v/v, encontrado nas diferentes amostras de glicerina provenientes de processo de produção de biodiesel.</i>	52
Tabela 9 – <i>Compilação de resultados de todos os ensaios realizados nas amostras de glicerina provenientes de usinas de biodiesel.</i>	55
Tabela 10 – <i>Padrões mínimos de qualidade para a glicerina utilizada em ração animal.</i>	62
Tabela 11 – <i>Principais parâmetros que caracterizam as diferentes modalidades de cromatografia gasosa segundo Magni et al.⁶⁹</i>	69
Tabela 12 – <i>Matriz experimental usada na análise de superfície de resposta para estudar a influencia da temperatura e do tempo de equilíbrio na sensibilidade analítica do sistema de HS proposto.</i>	79
Tabela 13 – <i>Resultados das análises de cinco soluções padrões de metanol 0,015% em glicerina sob as condições de HS estabelecidas na etapa de otimização.</i>	81
Tabela 14 – <i>Influencia da variação do teor de água na determinação de metanol em glicerol por HS-CG.</i>	82
Tabela 15 – <i>Determinação de metanol residual em amostras de glicerol preparadas com diferentes quantidades de água (numa faixa entre 0 e 12%). As concentrações de metanol encontradas foram determinadas usando a curva analítica construída com os padrões nos quais foram adicionados 5% de água.</i>	83
Tabela 16 - <i>Resultados das análises e do estudo de adição e recuperação realizados em amostras de GB, GL e amostra de GBD.</i>	88

<i>Tabela 17 – Resultados das análises em cinco condições de separação, para uma mistura contendo metanol, etanol e acetona em glicerina, testadas na coluna Rtx-1 utilizando hélio como gás de arraste.</i>	91
<i>Tabela 18 – Resultados das análises em cinco condições de separação, para uma mistura contendo metanol, etanol e acetona em glicerina, testadas na coluna Rtx-1 utilizando hidrogênio como gás de arraste.</i>	91
<i>Tabela 19 – Resultados das análises em quatro condições de separação, para uma mistura contendo metanol, etanol e acetona em glicerina, testadas na coluna ZB-5MS utilizando hélio como gás de arraste.</i>	92
<i>Tabela 20 – Resultados das análises em quatro condições de separação, para uma mistura contendo metanol, etanol e acetona em glicerina, testadas na coluna ZB-5MS utilizando hidrogênio como gás de arraste.</i>	93
<i>Tabela 21 – Resultados das análises em sete condições de separação, para uma mistura contendo metanol, etanol e acetona em glicerina, testadas na coluna DB-1MS utilizando hidrogênio como gás de arraste.</i>	94

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

- ABNT** – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- AGL** – ácidos graxos livres
- ANP** – Agência Nacional do Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis.
- ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ASTM** - American Society for Testing and Materials
- B5** – diesel com 5% de biodiesel. BX expressa outras concentrações
- CNPE** – Conselho Nacional de Política Energética
- CG-C** – Cromatografia Gasosa Comum
- CG-HS** – Cromatografia Gasosa com Amostragem por *Headspace*
- CG-R** – Cromatografia Gasosa Rápida
- CG-MR** – Cromatografia Gasosa Muito Rápida
- CG-UR** – Cromatografia Gasosa Ultrarrápida
- DIC** – Detector de Ionização por Chama
- DPR** – Desvio Padrão Relativo
- d.i.** – diâmetro interno
- EDX** – Energy Dispersive X-ray fluorescence
- EN** – European Norm
- GB** – Glicerina Bruta
- GL** – Glicerina Loira
- GBD** – Glicerina Bidestilada
- HS** – *Headspace*
- IUPAC** - International Union of Pure and Applied Chemistry
- LD** – Limite de Detecção **LQ** – Limite de Quantificação
- MAPA** - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- MONG** – Matéria Orgânica Não Glicerol
- NBR** – Norma Brasileira
- PNPB** – Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel
- PTV** - Programmed Temperature Vaporization
- RPM** – Rotações por Minuto
- SEF** – Speed Enhancement Factor
- USP** – United States Pharmacopeia

LISTA DE SÍMBOLOS

α – fator de separação

μ - média entre replicatas

$D_{m,o}$ – coeficiente de difusão do soluto na fase móvel em relação à pressão na saída

F – função do fator de retenção

k – fator de retenção

n – viscosidade dinâmica

N – número de pratos teóricos

p_o – pressão na saída do sistema

R_s – resolução

R^2 – coeficiente de correlação linear

t_R – tempo de retenção

v – velocidade linear do gás de arraste

Sumário

INTRODUÇÃO	19
Histórico e Crescimento da cadeia produtiva do Biodiesel no Brasil	19
Sustentabilidade.....	21
OBJETIVOS	23
REVISÃO DA LITERATURA	25
Glicerol.....	25
O problema da qualidade.....	29
Purificação	31
Principais usos e destinos	33
EXPERIMENTAL	37
Determinação da aparência pelo método visual	37
Determinação do teor de água por Karl Fischer	38
Determinação do pH a 10%.....	39
Determinação de material orgânico não glicerol (MONG).....	41
Determinação do teor de Cinzas.....	44
Determinação do teor de Glicerol.....	45
Determinação do teor de Metanol	46
Determinação qualitativa e quantitativa (por abundancia) dos metais presentes nas amostras de glicerina	46
Amostras.....	46
RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
Aparência.....	47
Teor de água	48
Determinação do pH.....	49
Determinação do teor de cinzas.....	50
Determinação do teor de glicerol.....	50
Determinação do teor de MONG	51
Determinação qualitativa e quantitativa (por abundancia percentual relativa) dos metais presentes nas amostras de glicerina	52
Considerações finais.....	53
REVISÃO DA LITERATURA	58
Glicerol: energia bruta.....	58
Utilização da glicerina bruta como insumo em rações animais.....	59

Limitações à utilização da glicerina bruta	61
Cromatografia Gasosa com amostragem por <i>Headspace</i>	63
Variações utilizando Cromatografia Gasosa Rápida	66
EXPERIMENTAL	72
Reagentes e soluções	72
Equipamentos e materiais utilizados	73
Procedimento analítico CG-Convencional	73
Procedimento CG-Rápida.....	74
Validação do método	74
RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
Desenvolvimento e otimização de método	76
Validação do método	84
Considerações	88
Ensaio em Cromatografia Gasosa Rápida.....	89
Considerações	95
CONCLUSÃO FINAL	96
REFERENCIAS	97

INTRODUÇÃO

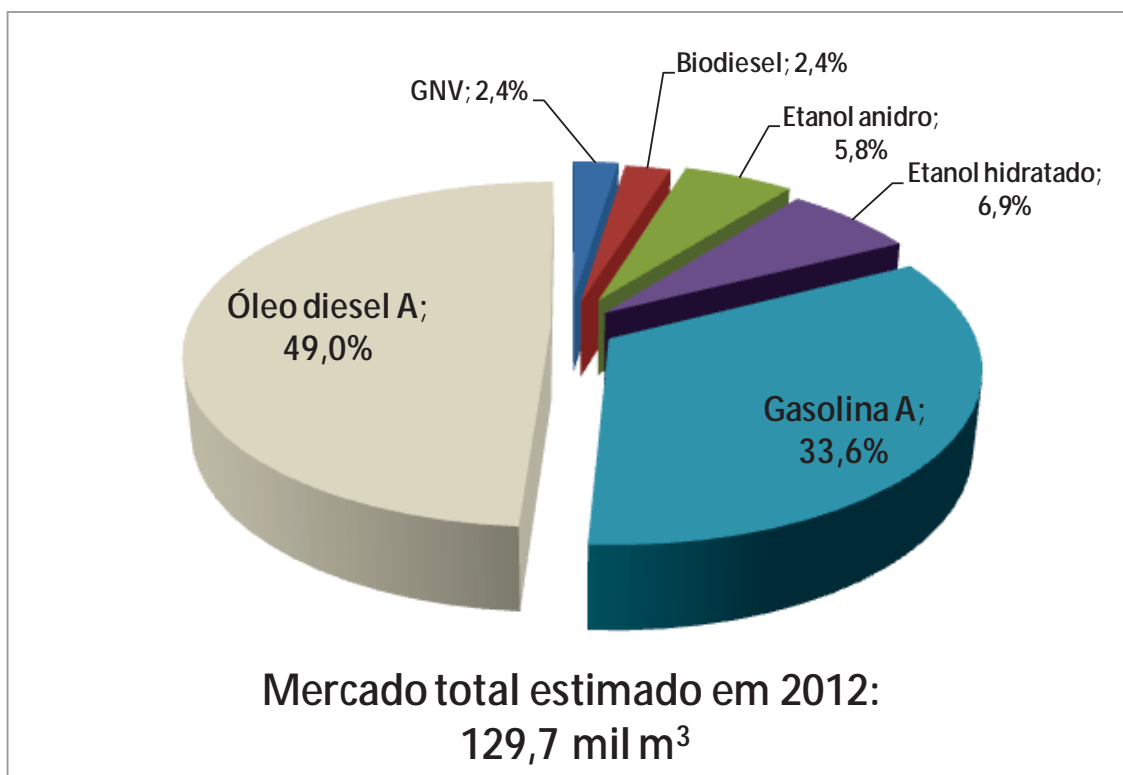
Histórico e Crescimento da cadeia produtiva do Biodiesel no Brasil

Durante quase meio século, o Brasil desenvolveu pesquisas sobre biodiesel, promoveu iniciativas para usos em testes veiculares e foi pioneiro ao registrar uma patente sobre o processo de produção de biodiesel, em 1980. Mas somente no Governo do Presidente Luiz Inácio Lula da Silva, foi lançado o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) para organizar a cadeia produtiva, definir as linhas de financiamento, estruturar a base tecnológica e editar o marco regulatório do novo combustível.

Como fruto desses esforços, em 13 de janeiro de 2005 foi publicada a Lei 11.097,¹ que dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira, cabendo à Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) a regulação do setor. O marco regulatório facultou a adição de 2% (em volume) de biodiesel ao diesel a partir daquele mês de 2005, fração que se tornou obrigatória a partir de janeiro de 2008, dando origem ao diesel B2. Cabe ao Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) fixar os percentuais e estabelecer os prazos para comercialização das misturas, sendo que, desde 1º de janeiro de 2010 está em vigor o acréscimo de 5%, em volume de biodiesel ao diesel comercializado no Brasil.^{2,3}

Passada quase uma década da criação do PNPB, o Brasil figura entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo e a elevação do percentual de adição de biodiesel ao diesel demonstra o sucesso do PNPB e, por consequência, diminui a dependência do país pela importação do derivado de petróleo. Calcula-se que a produção brasileira de biodiesel, necessária para suprir a demanda do B5, tenha sido de aproximadamente 3,1 bilhões de litros no ano de 2012. Na Figura 1 são apresentados os números do mercado de combustíveis do Brasil no ano de 2012 e, na Figura 2 são apresentados números que comprovam o crescimento e a importância do PNPB.

Figura 1 – Distribuição do mercado de combustíveis no Brasil durante o ano de 2012.

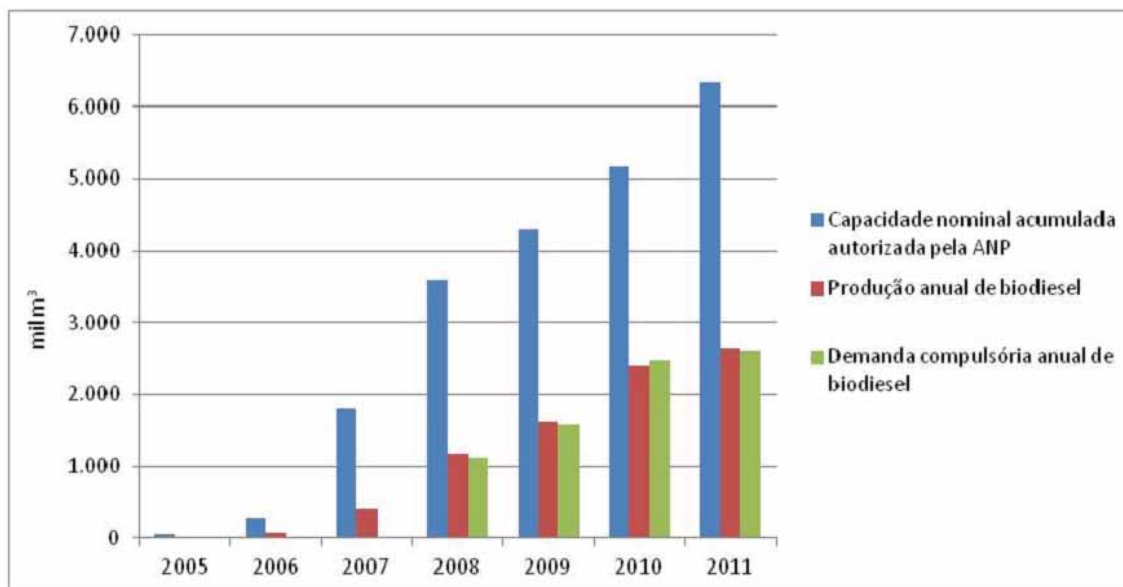


* Gasolina A e Óleo Diesel A, contemplam as gasolinas e óleos diesel sem as respectivas adições de etanol e biodiesel. A concentração adicionada em ambos os casos deve estar em conformidade no teor e na especificação estabelecidos pelas legislações em vigor.

Fonte: AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (2012).⁴

Na Figura 2, notamos que a partir de 2010 o Brasil atingiu a capacidade nominal acumulada e autorizada pela ANP para comercialização do B10. Entretanto, para chegar a este percentual de mistura deverão ser resolvidos, obrigatoriamente, alguns gargalos tecnológicos relacionados à logística e qualidade, bem como a dependência da soja como principal fonte de matéria prima. Estudos vêm sendo realizados na frota de ônibus urbanos de Curitiba e outras capitais com proporções B20 e B100, mostrando resultados bastante promissores.^{5,6} De fato, o uso de biodiesel em proporções maiores que 5%, ainda que em caráter experimental, corrobora a ideia de que o biodiesel brasileiro não foi concebido para estacionar no B5. A introdução do B7, em caráter permanente, já vem sendo bastante discutida entre produtores de biodiesel, distribuidoras e a própria ANP.

Figura 2 – Evolução anual da produção, da demanda compulsória e da capacidade nominal de comercialização de biodiesel autorizada pela ANP no país.



Demanda compulsória estabelecida pela Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005 e pelas Resoluções CNPE nº 2, de 13 de março de 2008, nº 2, de 27 de abril de 2009 e nº 6, de 16 de setembro de 2009.

Fonte: AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (2012).⁷

Sustentabilidade

Ainda que o PNPB tenha sido iniciado com certa prudência, envolvendo a adição de apenas 2% de biodiesel ao diesel mineral, em caráter autorizativo, utilizando o expediente de leilões para configurar uma demanda real, o programa acabou superando suas metas e passa a estabelecer objetivos maiores, com a introdução até mesmo do B7.

Por outro lado, à medida que o tema se desenvolve, os desafios aumentam. No processo de produção do biodiesel é também formado o coproduto glicerina (glicerol) que, em vista da produção de biodiesel que não para de crescer, vem se tornando o mais novo desafio da cadeia. O tamanho deste desafio fica ainda mais claro quando considerada a dimensão modesta do mercado brasileiro para este produto. Como a quantidade de glicerina gerada é de aproximadamente 10% do volume de biodiesel produzido, no ano de 2011 foram 250 milhões de litros de glicerina para uma demanda

que gira em torno de 30 milhões de litros.^{8,9} Grande parte do excedente permanece estocado nas próprias usinas aguardando destinação adequada.

Numa época em que se fala muito em sustentabilidade e economia verde, torna-se obrigatória a busca por novos mercados para este coproduto. As empresas do setor de biodiesel e as futuras empresas devem entrar no setor preparadas para solucionar este problema. Qualquer aumento na escala de produção de biodiesel sem estudar opções de mercado para a glicerina por levar a um colapso do ponto de vista econômico e ambiental. A glicerina emergente do processo contém resíduos de catalisador, água e principalmente quantidades consideráveis de metanol. Na maioria das aplicações a glicerina deve passar por tratamento prévio e depois de recuperada tem amplas aplicações nas indústrias farmacêutica, alimentícia, cosmética e de plásticos. Mais do que gerar lucro, o reaproveitamento é altamente favorável para a cadeia produtiva sob o ponto de vista ambiental.

Para que fosse garantida a agregação de valor e para que fossem criadas outras fontes de renda para os produtores de biodiesel, o Governo Federal incentivou, por meio de agências de fomento, pesquisas relacionadas ao destino e uso dos coprodutos gerados pela cadeia do biodiesel. Os principais aportes financeiros foram feitos por meio da “Encomenda Finep 2006 – Subrede Temática de Coprodutos da RBTB” e “Edital MCT/CNPq 2008 – Contratação de Projetos para novos usos de resíduos e rejeitos da fase agrícola e demais coprodutos gerados nos processos de produção de biodiesel”. As duas ações juntas renderam um aporte de aproximadamente 10 milhões de reais para pesquisas diretamente relacionadas à torta, farelo e glicerina gerados na cadeia do biodiesel.

Considerando o cenário supramencionado, o primeiro capítulo deste trabalho aborda a caracterização físico química dos diversos tipos de glicerina que estão circulando na cadeia do biodiesel. No segundo capítulo, um olhar especial é dado à determinação de metanol residual, em virtude da parcela de glicerina bruta que, sem qualquer tratamento, vem sendo testada como insumo para rações animais. Como não existem métodos oficiais para análise de metanol residual em glicerina, neste trabalho é proposta a determinação por cromatografia gasosa com amostragem por *headspace*. Algumas variações abordando o conceito de cromatografia gasosa rápida também foram testadas.

OBJETIVOS

Objetivos Gerais

Realizar a caracterização completa de diversos tipos de amostras de glicerina, com a finalidade de fornecer dados que possam ser úteis no estabelecimento de padrões de qualidade para este que é o principal coproduto do processo de produção de biodiesel.

Desenvolver e otimizar um novo procedimento analítico para determinação de metanol residual em glicerina, utilizando a técnica de cromatografia em fase gasosa com amostragem por *headspace*.

Objetivos Específicos

- ✓ Determinar as principais diferenças físico químicas entre as amostras de glicerina bruta, glicerina loira e glicerina bidestilada;
- ✓ Verificar a existência de relação entre os parâmetros físico químicos analisados em cada amostra;
- ✓ Deduzir, a partir dos resultados das análises, a eficiência e as consequências dos processos de tratamento a que foram previamente submetidas algumas das amostras de glicerina analisadas.
- ✓ Otimizar os principais parâmetros que influenciam o sistema *headspace* na cromatografia gasosa;
- ✓ Verificar a presença de potenciais interferentes na análise de cromatografia gasosa;
- ✓ Validar o método proposto e posteriormente aplicar nas amostras selecionadas;
- ✓ Estudar a viabilidade da utilização dos conceitos de cromatografia gasosa rápida a fim de diminuir o tempo de análise cromatográfica;

CAPÍTULO I

Caracterização físico-química de amostras de glicerina provenientes de usinas de biodiesel.

Destaques

“...para cada 90 m³ de biodiesel produzidos por transesterificação são gerados, aproximadamente, 10 m³ de glicerina...”

“...esse contexto fez com que vários fabricantes passassem a estocar grandes volumes da substância, criando um passivo ambiental em potencial.”

“O problema com a glicerina... é a sua contaminação com metanol e outras impurezas resultantes da reação de transesterificação.”

“ O estabelecimento de padrões de qualidade para a glicerina proveniente das usinas de biodiesel é uma tarefa difícil...”

“...quanto mais pura a glicerina, melhor é o seu preço de mercado.”

REVISÃO DA LITERATURA

Glicerol

O glicerol está presente em todos os óleos e gorduras de origem animal e vegetal em sua forma combinada, ou seja, ligado a ácidos graxos como ácido esteárico, oleico, palmítico para formar moléculas de triacilglicerol. Foi descoberto em 1779, em sua forma isolada, por Carl Wilhelm Scheele, pelo aquecimento de uma mistura de óxido de chumbo com azeite de oliva. Na época, a nova substância, cujas propriedades estão na Tabela 1, foi batizada como “o doce princípio das gorduras”. O termo glicerol ou propano-1,2,3-triol (IUPAC) aplica-se à substância pura, embora o termo glicerina seja bastante aplicado aos produtos comerciais, contendo pelo menos 95% de glicerol.¹⁰ O termo glicerina também é aplicado ao principal coproduto das usinas de biodiesel, em que a pureza pode variar bastante dependendo da eficiência do processo de produção ou mesmo das etapas de tratamento e purificação aplicados.

Tabela 1 – Propriedades físico químicas do glicerol.

Propriedade	Valor
Ponto de fusão (°C)	18,17
Ponto de ebulição (°C)	290
Densidade (g/mL) a 25 °C	1,2620
Pressão de vapor (Pa)	
50 °C	0,33
100 °C	526
200 °C	6100
Viscosidade dinâmica (Pa.s) a 20 °C	1,499
Ponto de fulgor (°C)	
Copo fechado de Pensky-Martens	199
Ponto de inflamação (°C)	204
Temperatura de auto ignição	429

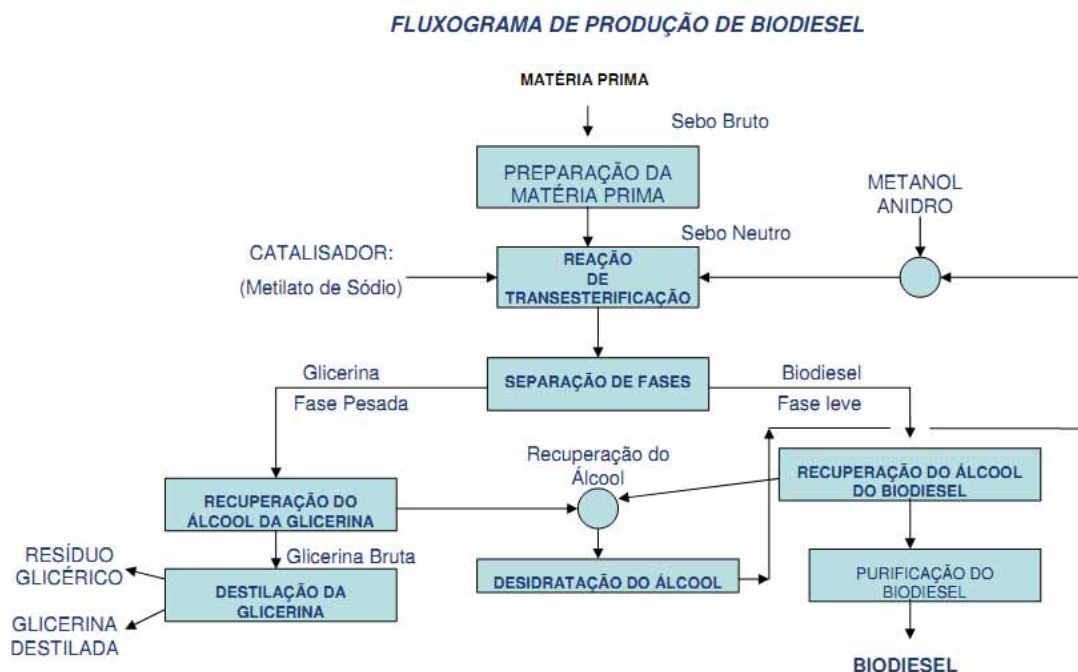
Fonte: Sala (2012)^{*} e Nicrom (2013)¹¹.

^{*} SALA, M. Properties of pure glycerol. (Stazioni Sperimentali per l'Industria Divisione SSOG – Milano). Comunicação Pessoal.

A transesterificação é o método mais empregado na produção de biodiesel em larga escala e utiliza como matéria prima lipídios saponificáveis obtidos de óleos e gorduras, tanto de fontes animais como vegetais. Esses lipídios, neste caso triacilgliceróis, podem ser facilmente hidrolisados e transesterificados na presença de um catalisador e um álcool de cadeia curta para formar três moléculas de ésteres alquílicos de ácidos graxos de cadeia longa, que por sua vez compõem o biodiesel.^{12,13} No meio industrial brasileiro, as principais matérias primas utilizadas são o óleo de soja e o sebo bovino. Para catalisar a reação, o meio básico proporciona maiores rendimentos quando comparado com o meio ácido, sendo os metóxidos de sódio ou potássio preferíveis aos correspondentes hidróxidos. Com relação ao álcool, o metanol é, sem dúvida, o mais utilizado na produção mundial de biodiesel, sendo que, no Brasil, apenas a usina Fertibom, de Catanduva-SP, foge a esta regra utilizando etanol como álcool de partida. Ao final da reação de transesterificação, além das três moléculas de biodiesel, é liberada uma molécula de glicerol – o principal coproduto da reação.

A Figura 3 apresenta, de forma resumida, as principais etapas envolvidas no processo de produção de biodiesel por batelada, da empresa JBS. Na produção de biodiesel, a matéria prima (óleo ou gordura) deve atender a um controle de qualidade mínimo e, desta forma, passam por uma etapa de degomagem e/ou refinamento quando necessário. O catalisador metóxido de sódio ou potássio geralmente vem pronto para ser utilizado, mas, de forma alternativa, pode ser preparado na própria usina pela dissolução do correspondente hidróxido no álcool. Em seguida, o óleo é transferido para dentro do reator, o catalisador é adicionado e a mistura permanece sob agitação controlada durante aproximadamente duas horas. Uma reação bem sucedida produz duas fases líquidas visualmente distintas: a fase do éster e a fase glicerínica, que contém a glicerina bruta. A mistura permanece em decantação e, em seguida, a fase líquida mais pesada contendo glicerina é drenada por baixo e o éster é retirado pelo topo do reator. É essencial que, tanto a matéria prima quanto os insumos utilizados contenham pouca água, para evitar a formação de sabões, o que dificultaria a separação de fases. O éster passa por etapas de lavagem e polimento até a obtenção do biodiesel como produto final. A glicerina, que contém as principais impurezas geradas na reação, geralmente passa pela etapa de recuperação do álcool e posteriormente pode ser tratada até a obtenção da glicerina bidestilada.^{14,15}

Figura 3 – Fluxograma do processo de produção de biodiesel da JBS.



Fonte: Abreu (2011)¹⁶

Dentre outros coprodutos da indústria de biodiesel, a produção de glicerina merece atenção especial. Até 1949, a demanda mundial pelo glicerol era completamente atendida pelas indústrias oleoquímicas a partir da saponificação de óleos e gorduras. O primeiro processo sintético para obtenção do glicerol foi proposto em 1948 a partir da descoberta de que o propileno poderia ser clorado em altos rendimentos para fornecer o cloreto de alila, que por sua vez poderia ser convertido em glicerol por vários caminhos. Essa produção de glicerol sintético teve seu pico nos anos 60 e 70, representando aproximadamente 60% do mercado, tendo um decréscimo acentuado com o aumento da disponibilidade de glicerina natural. Atualmente a glicerina sintética representa menos de 10% da produção mundial. Muitas plantas dedicadas à produção de glicerol sintético fecharam suas portas quando a produção mundial de glicerol proveniente das usinas de biodiesel cresceu de 200.000 toneladas em 1995 para mais de 1.200.000 toneladas em 2008.^{17,13}

No Brasil, até 2004, eram produzidas em saboarias espalhadas pelas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, pouco mais de 15 milhões de litros de glicerina ao ano, os quais abasteciam o consumo interno e as exportações. Com a introdução do PNPB, a geração

de glicerina aumentou drasticamente. Como para cada 90 m³ de biodiesel produzidos por transesterificação são gerados, aproximadamente, 10 m³ de glicerina,^{18,17,10} as projeções mostravam uma produção de cerca de 100 mil toneladas de glicerina por ano com a entrada do B3 em 2008 e cerca de 250 mil toneladas a cada ano com a introdução do B5. Estes valores são muito superiores ao consumo e produção nacional atuais, estimados em cerca de 30 mil toneladas anuais.¹⁰ Este cenário indica que a viabilização comercial do biodiesel passa pelo consumo deste coproduto, buscando aplicações de larga escala e agregando valor à cadeia produtiva.

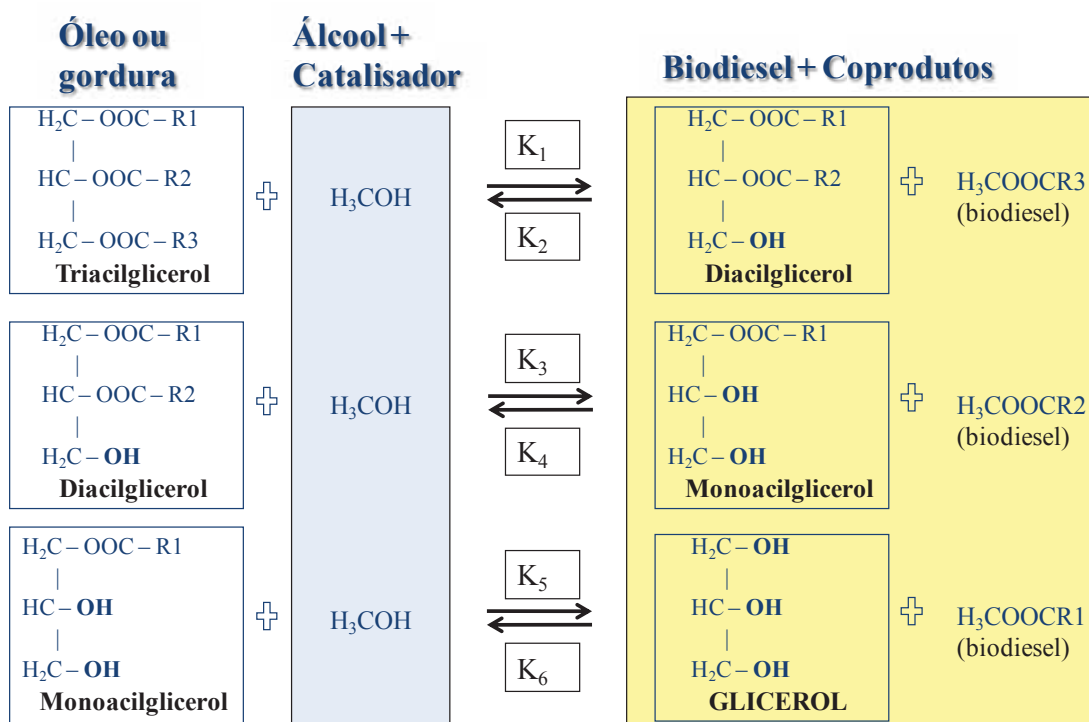
Há poucos anos atrás o mercado mundial de glicerina sofreu uma dura redução de preços quando a glicerina do biodiesel começou a entrar na concorrência. Entretanto, quando esta começou a ser usada, percebeu-se que era inviável para a maioria dos mercados consumidores e, nem mesmo isso impediu que a glicerina tradicional passasse pelo processo de correção de preço, justificada pelo aumento da oferta mundial total. O preço da glicerina kosher (uma das mais valorizadas do mercado) despencou ao longo da última década – em 1999 o produto era vendido acima de 1700 euros/tonelada ao passo que, em setembro de 2009 não chegava a 400 euros/tonelada.⁸

O problema com a glicerina proveniente da produção de biodiesel é a sua contaminação com metanol e outras impurezas resultantes da reação de transesterificação. Como o maior foco dos produtores de biodiesel era a obtenção de glicerina em grau farmacêutico, havia a necessidade de realização de pré tratamento e purificação deste coproduto. Todavia, a destilação à pressão reduzida e com utilização de altas temperaturas era a única forma eficiente para retirar de forma quantitativa o metanol residual e todas as demais impurezas restantes do processo de transesterificação. Esse é considerado um tratamento caro aplicado a um coproduto de reação, principalmente em épocas em que a relação entre oferta e demanda está saturada. A BSBios, por exemplo, uma das maiores usinas de biodiesel do Brasil, afirma que, durante o ano de 2012 o mercado teve baixa remuneração para a glicerina, o que dificultou os investimentos para agregar valor ao produto. Outras empresas do setor reconhecem que acumulam a glicerina e realizam a venda apenas quando o mercado absorve, sendo que em casos críticos de falta de espaço chegam a doar o material.⁸ Todo esse contexto fez com que vários fabricantes passassem a estocar grandes volumes da substância, criando um passivo ambiental em potencial.

O problema da qualidade

A recuperação da glicerina com qualidade elevada, ao final do processo de transesterificação, é uma ação primária a ser considerada para reduzir o custo de produção de biodiesel. A glicerina que sai da reação contém inúmeras impurezas tais como, quantidade variada de água, resíduos de catalisadores, metanol, quando não óleo vegetal (triacilgliceróis), ésteres metílicos/etílicos, produtos intermediários da reação como mono e diacilgliceróis, além de ácidos graxos livres (AGL). Na Figura 4 é apresentado um esquema de reação de transesterificação onde constam todas as etapas, insumos e coprodutos formados na reação.

Figura 4 – Etapas da reação de transesterificação para produção de biodiesel, com todos os insumos envolvidos, produtos e coprodutos da reação.



O estabelecimento de padrões de qualidade para a glicerina proveniente das usinas de biodiesel é uma tarefa difícil, sendo o parâmetro mais importante o teor de glicerol em relação à massa total. Assim, a glicerina pode ser classificada da seguinte forma:^{8,10}

- ✓ Glicerina bruta (GB): pode ter praticamente qualquer teor de glicerol, sendo que graus de pureza abaixo de 30% são bastante comuns dependendo da eficiência do processo de produção e da qualidade de separação de fases ao final da reação de transesterificação.
- ✓ Glicerina loira (GL): proveniente de processos de produção bastante eficientes. Pode ser obtida também pelo tratamento da glicerina bruta com ácido mineral, em que são separados os materiais orgânicos não glicerol (MONG), tais como ésteres alquílicos, ácidos graxos livres e demais produtos orgânicos intermediários da reação.^{19,20} Apresenta teores de glicerol na faixa de 80-85%. Valor de mercado: em torno de R\$ 350,00 a tonelada (julho de 2012).²¹
- ✓ Glicerina bidestilada (GBD): com teor de glicerol acima de 99,5%, também classificada como grau USP ou farmacêutico. Valor de mercado: em torno de R\$ 1800,00 a tonelada (julho de 2012).²¹

Ainda não há um consenso com relação a essa classificação, principalmente com relação aos critérios de qualidade como teor de metanol, MONG, água, sais entre outros. Não existe uma descrição detalhada de todos estes parâmetros para cada tipo de glicerina, apenas uma aproximação geral como apresentado na Tabela 2. Entretanto, há uma premissa básica neste mercado: o biodiesel, e conseqüentemente a glicerina, precisa ser oriundo de um processo com parâmetros bem definidos. Isso se traduz em menos investimentos para purificar a glicerina a fim de disponibilizá-la num mercado cujo nível de exigência é elevado. Evidentemente, quanto mais pura a glicerina, melhor é o seu preço de mercado. Assim, as usinas geralmente realizam um primeiro tratamento da glicerina bruta que sai diretamente da linha de produção de biodiesel, para tentar recuperar o máximo de metanol possível – que pode ser posteriormente reutilizado. Considerando um processo eficiente de produção, após a recuperação do metanol, é obtida a glicerina loira que tem maior aceitação no mercado.²¹

Tabela 2 – Composição média da glicerina proveniente das usinas de biodiesel.

Componente	Quantidade (%)
Glicerol	40-90
Metanol	< 0,5
Água	0-8
Sais	0-10
MONG	< 3

Fonte: Anger (2011)²²

Purificação

O quesito qualidade, ou pureza no caso da glicerina, não somente é determinante para o ingresso no mercado, como se mostra um fator preponderante na hora de analisar se vale à pena o investimento em um sistema de purificação. Comercialmente há dois processos conhecidos de purificação da glicerina proveniente das usinas de biodiesel e que podem também ser aplicados à glicerina obtida pelo processo de saponificação:^{14,23}

- ✓ Método Convencional: é realizada a separação da glicerina bruta dos ácidos graxos livres, seguida de evaporação, destilação, desodorização e branqueamento.
- ✓ Método da Troca Iônica: exclusão iônica seguida de evaporação.

Método Convencional

Na produção do biodiesel por catálise básica, boa parte do catalisador e do excesso de álcool usado no processo de biodiesel acumula-se na GB. O catalisador juntamente com os ácidos graxos livres (AGL), em pH neutro a básico formam os sabões que ficam misturados na GB. A esta mistura podem ser adicionados ácidos minerais fortes como ácido sulfúrico ou clorídrico de modo que o pH fique em torno de 4,6 para que os AGL possam ser separados por decantação. Ainda nesta faixa de pH é adicionado um agente floculante – sulfato de alumínio ou cloreto férrico, para reter a maior parte das outras impurezas. A mistura é feita com ar comprimido, seguida pela filtração. A seguir, o filtrado tem seu pH ajustado para 8,5 – 9,0 com adição de hidróxido férrico ou de alumínio para precipitar o excesso de agente floculante que pode

ter permanecido na glicerina. Novamente é realizada filtração para reter o precipitado e obter um filtrado límpido que será submetido à destilação.^{23,14}

A destilação do glicerol em pressão atmosférica não é praticável porque promove sua polimerização e decomposição. Assim, um sistema de aquecimento combinado com pressão reduzida tem sido bastante empregado, no qual os vapores passam por uma série de condensadores ou por uma coluna de fracionamento na seção superior do destilador. Condições de “alto vácuo” em destiladores modernos minimizam a perda de glicerol por polimerização e, no final é obtido glicerol de elevada pureza. Finalmente, suportes de carvão ativado (1-2%) e de diatomito são adicionados ao glicerol em um tanque de branqueamento a aproximadamente 75 °C, agitados por 1-2h. O glicerol é então filtrado na mesma temperatura, branda, para garantir uma filtração fácil e rápida para evitar o escurecimento do glicerol.^{13,23}

Método da Troca Iônica

Quando se tem muitos sólidos ionizados, o tratamento de exclusão iônica pode ser usado para separar o material ionizado do não ionizado (especialmente o glicerol). A purificação por troca iônica envolve a passagem do material através de sucessivos leitos de um cátion forte, um ânion fraco. A passagem através da resina elimina frações de ácidos graxos, cor e outras impurezas minerais presentes. Entretanto, quando a quantidade de sais é elevada há necessidade de realização de pré tratamento para retirada do excesso de modo a evitar a saturação precoce da coluna de troca.

Para a troca de íons, a glicerina bruta ou pré tratada pode ser levada a uma resina apropriada para separar o conteúdo de glicerol e impurezas nele presentes. Resinas macrorreticulares tais como a Amberlite 200, 200C, IRA-93 e IRA-90, podem ser usadas com glicerol não diluído. A desodorização a vapor é geralmente necessária para remover odores impregnados pela resina.¹³

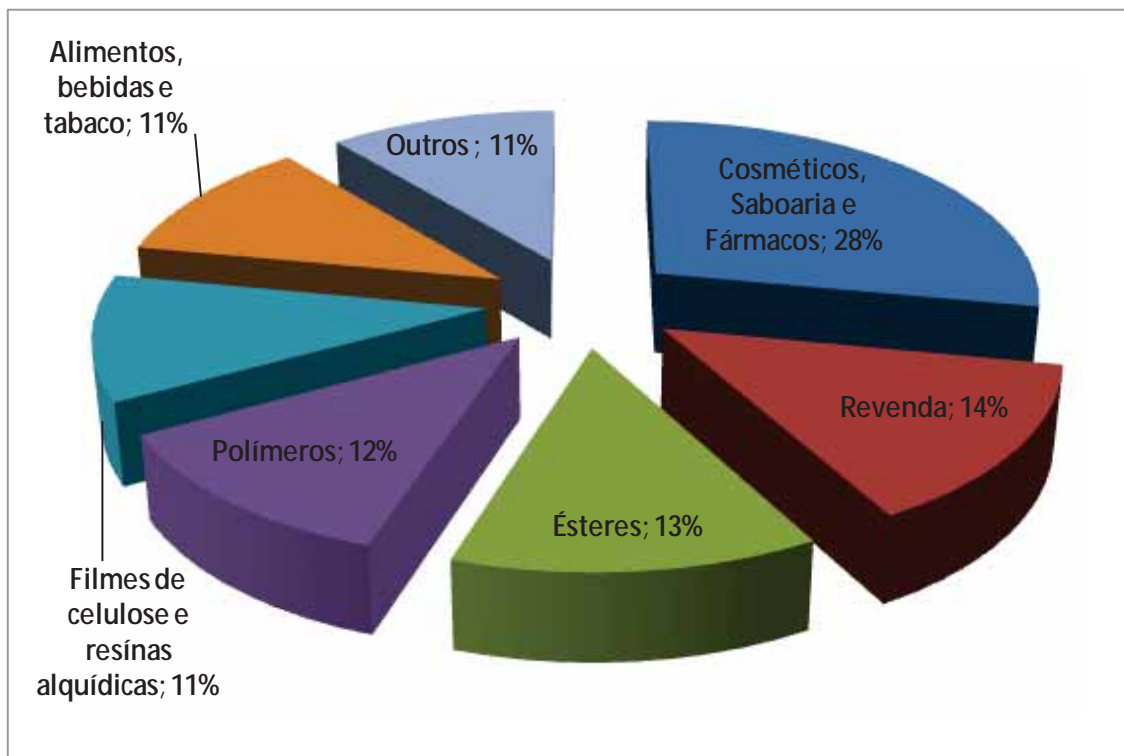
A purificação por destilação consome mais energia devido ao elevado ponto de ebulição (290 °C) e viscosidade da glicerina, mas a flexibilidade é maior. O preço de uma planta de destilação para uma usina de biodiesel cuja produção média anual gire em torno de 100 mil toneladas do biocombustível, varia de R\$ 10 milhões a R\$ 12 milhões de reais.²¹ Por outro lado, a purificação da glicerina por troca iônica tem baixo

consumo de energia e poucas etapas, com operações simples, mas o custo de implantação e manutenção também são altos. As resinas são extremamente caras, importadas e, consistem no principal gargalo tecnológico deste método revelando uma boa oportunidade para pesquisa, desenvolvimento e inovação na área.

Principais usos e destinos

Apesar de ter participação em um grande número de processos industriais, há tanta produção de glicerina no mundo que os mercados tradicionais não têm capacidade para absorver. Para vencer este desafio, é necessário inventar novos usos para o produto. Dependendo do grau de pureza, as principais opções de destinos para a glicerina são a queima direta, utilização como insumos em vários segmentos industriais e a obtenção de produtos derivados (Figura 5). A utilização da GB como insumo na alimentação animal será discutida com maior ênfase no capítulo 2.

Figura 5 – Principais mercados da gliceroquímica industrial.



Fonte: Mota (2009)¹⁰

Queima de glicerina bruta

A queima direta em caldeiras sempre foi a alternativa mais utilizada para eliminar a GB, um passivo ambiental contendo metanol. Apesar do baixo valor agregado da glicerina destinada a este fim, essa proposta era economicamente viável pelo fato de não necessitar de pré tratamento algum. Mas existem dois contratempos nessa estratégia. A primeira dificuldade é que a GB emergente do processo de produção de biodiesel contém quantidades elevadas de sais, gerando problemas nos equipamentos. Os sais acabam se depositando na caldeira e nos bicos injetores e, em temperaturas elevadas, acabam provocando corrosão. Para contornar esse obstáculo, a glicerina deve ser pré purificada, o que gera um aumento de custos. O outro contratempo está relacionado à formação de acroleína, um subproduto de decomposição do glicerol quando a queima não ocorre de forma controlada. Entretanto, a geração desta substância altamente tóxica e comprovadamente carcinogênica pode ser resolvida de forma bastante simples. A glicerina deve ser injetada nos fornos em temperatura superior a 500 °C, a qual garante a decomposição completa da acroleína, uma vez que esta se decompõe acima de 300 °C. Em julho de 2009, a Cerâmica Trevo – MS, trocou a lenha por glicerina nos fornos utilizados para queimar os 240 mil tijolos produzidos mensalmente. Para pré aquecer o forno é utilizada palha de arroz. Além de substituir a lenha que sofre restrições ambientais, a empresa conseguiu utilizar a glicerina pré purificada (sem sal) a um preço relativamente baixo e no final ganha créditos de carbono que viabilizam a continuidade do projeto.⁹

Glicerina como insumo

A glicerina purificada (grau USP ou glicerina farmacêutica) tem grande aplicação nos setores de cosméticos, higiene pessoal, alimentos, medicamentos e fumo. Como alimento o glicerol não é tóxico e facilmente digerido. É utilizado como solvente, umectante ou emulsificante (quando derivado), sendo que sua viscosidade dá corpo e consistência aos produtos. Dentre suas aplicações estão: ingrediente de xarope, balas e coberturas; lubrificante de máquinas de alimentos; meio para transferir calor por contato direto durante congelamento rápido de alimentos; emulsificantes na forma de ésteres de glicerol (monoestearato de glicerila), dentre outros.

Na área de medicamentos e cosméticos, pode ser usado como ingrediente de tinturas e elixires, cremes e loções para manter ou recuperar a maciez da pele, medicamentos contra tosse, anestésicos e no meio de culturas bacteriológicas. Alguns derivados, como o guaiacolato de glicerila, são utilizados em tranquilizantes ao passo que a nitroglicerina é utilizada como vasodilatador para espasmos coronários. É amplamente usado em cremes dentais para dar viscosidade adequada e brilho à pasta.¹³

O glicerol pode ser usado com lubrificante em lugares onde um óleo não funcionaria, p.e. compressores de oxigênio devido sua resistência maior à oxidação que os óleos minerais e bombas e suportes expostos à derivados de petróleo, que dissolvem lubrificantes parafínicos. É muito valioso como agente lubrificante devido à sua viscosidade elevada e capacidade de permanecer fluido a baixas temperaturas sem qualquer modificação química. Sua viscosidade pode ser acentuadamente diminuída com acréscimo de pequenas quantidades de água, álcool ou glicóis ou aumentada pela polimerização ou mistura com amido.¹³

Recentemente, tem sido reportada a utilização do glicerol como solvente capaz de acelerar consideravelmente a velocidade de algumas reações orgânicas. Tanto o glicerol quanto a glicerina bruta foram eficientes na condução de transformações orgânicas como reações aza-Michael de aminas ou anilinas, reações de Michael de indol e abertura de anel do oxido de estireno com *p*-anisidina sem adição de qualquer catalisador. O glicerol é considerado um solvente seguro, barato, biodegradável, reutilizável e de propriedades bastante adequadas para substituir a água em algumas reações orgânicas.¹⁷

Dentre outros usos, pode também ser incorporado em embalagens de carne e tipos especiais de papel como o laminado e papel impermeável. No processamento do tabaco, é incorporado na solução de cobertura pulverizada com o tabaco, como umectante para evitar que as folhas sequem e se esmigalhem.¹³

Derivados de glicerina

Embora a queda nas cotações da glicerina seja má notícia para os fabricantes de biodiesel que esperavam lucrar mais com a venda deste coproduto, é positiva para

aqueles que tem intenção de investir na obtenção de derivados. Os derivados do glicerol incluem acetais, aminas, ésteres e éteres.

Os mono e diacilgliceróis obtidos pela reação de ácidos graxos puros com excesso de glicerol ou poligliceróis de alta massa molecular são solúveis em óleo e insolúveis em água. Todos são comestíveis, salvo o ricinoleato (da mamona) e o erucato, e têm seu maior uso como emulsificantes em alimentos e no preparo de assados. Os triacilgliceróis preparados com propriedades nutricionais especiais cresceram em importância nos últimos anos. São produzidos pela reação do glicerol com ácidos graxos específicos de alta pureza, como os ácidos C8, C10 e C22, que forma a caprenina, um substituto de menor valor calórico para a manteiga de cacau.¹³

Acetais e cetais são substâncias obtidas da reação de álcoois com aldeídos ou cetonas, respectivamente, sob ação de catalisadores ácidos. Os cetais e acetais derivados do glicerol têm aplicações diversas, destacando-se o uso como aditivo para combustíveis, surfactantes, flavorizantes e solventes para uso em medicina. Mota e colaboradores (2009) utilizaram uma zeólita Beta de alta razão Si/Al de rede, com característica ácida, na reação de condensação do glicerol com formaldeído, obtendo conversão acima de 90% e sem a necessidade do uso de solventes. O produto obtido pode ser misturado à gasolina para melhorar as propriedades da queima.²⁴

Os éteres preparados com o próprio glicerol têm muitas das propriedades do glicerol, solúveis em água, álcool e outros solventes polares. O diglicerol, por exemplo, é um líquido 25 vezes mais viscoso que o glicerol. Os poligliceróis oferecem maior flexibilidade e funcionalidade que o glicerol, sendo que o triacontaglicerol (condensação de 30 moléculas) apresenta-se comercialmente como um sólido. Produtos baseados em poligliceróis agem como umectantes, emulsificantes, plastificantes, adesivos, lubrificantes, detergentes, entre outros fins. Recentemente foi reportada na literatura a telomerização tanto da GBD quanto da GB com 1,3-butadieno, na presença de catalisador de paládio. O processo emprega ligantes de trifenilfosfina metoxi-substituídas permitindo a formação de mono, di e trieteres de glicerol que podem ser usados como detergentes.²⁵

Além desses derivados há muitos outros produtos que podem ser obtidos a partir do glicerol, como a epícloridrina, usada na produção de resinas epóxi; propileno glicol obtido pela hidrogenação do glicerol e usado em fibras sintéticas e espumas

poliuretanas; propeno (matéria prima para o propileno); metanol, importante solvente industrial e usado na produção de biodiesel; ácido acrílico, síntese de polímeros superabsorventes presentes em fraldas descartáveis e absorventes femininos; hidrogênio, bastante usado nas indústrias química, petroquímica e alimentos.⁸ Outra alternativa é a conversão do glicerol em gás de síntese rico em hidrogênio por meio de reforma com água supercrítica. O combustível produzido é capaz de operar um motor a gás e gerar energia elétrica ou térmica.²²

EXPERIMENTAL

Determinação da aparência pelo método visual

Equipamentos e materiais utilizados

- ✓ Frascos cilíndricos, transparentes, de vidro borossilicato, sem graduação, capacidade de 20 mL e com tampa do tipo crimp;

Reagentes e soluções

Não aplicável.

Procedimento de ensaio

O procedimento de ensaio foi adaptado da ABNT NBR 16048,²⁶ específica para biodiesel. Dentre as adaptações necessárias, o ensaio foi realizado à temperatura ambiente, em frascos de 20 mL. Também não foi utilizada a carta padrão para verificação de turbidez. Os demais requisitos da norma foram estritamente seguidos, sendo o ensaio realizado por método visual em ambiente bem iluminado, sem incidência direta de radiação solar ou feixe de luz artificial nas amostras. As amostras foram homogeneizadas à temperatura ambiente e transferidas para os frascos de análise. Foram observados o estado físico, cor e a formação de fases ou depósitos.

Determinação do teor de água por Karl Fischer

Equipamentos e materiais utilizados

- ✓ Titulador Coulométrico Karl Fischer Metrohm Pensalab modelo 831 (Figura 6)
- ✓ Balança Analítica Ohaus, série Adventure. Capacidade de pesagem: 210 g x 0,0001 g;
- ✓ Balão volumétrico de 10 mL;
- ✓ Seringas de plástico descartáveis e agulhas hipodérmicas para inserção das amostras no titulador;
- ✓ Pipetas de Pasteur descartáveis;

Figura 6 – Titulador Coulométrico Karl Fischer utilizado para determinação do teor de água.



Reagentes e soluções

- ✓ *iso*-propanol pureza mín. 99,5%: Vetec Química Fina LTDA, Duque de Caxias, RJ;
- ✓ 1-butanol grau ACS, ISO, Reag. Ph Eur, pureza mín. 99,5%: Merck, Darmstadt, Alemanha;
- ✓ Solução anódica Karl Fischer: preparada pela mistura, em volume, de solução de anodo Karl Fischer comercial com metanol, na proporção 6:4;
- ✓ Solução Catódica Karl Fischer padrão disponível no mercado;

Procedimento de ensaio

O ensaio foi realizado de acordo com as determinações da ASTM D6304,²⁷ que consiste na determinação direta de água, na faixa entre 0,001-2,5%, em produtos de petróleo, óleos lubrificantes e aditivos. Entretanto, houve necessidade de realizar diluição das amostras, devido à alta viscosidade e ao elevado teor de água de algumas amostras (fora da faixa de aplicação de determinação direta do Karl Fischer Coulométrico). Os demais requisitos foram seguidos como determinado pela norma.

A diluição foi feita com solvente menos viscoso “com baixo teor de água”, ora utilizando *iso*-propanol, ora 1-butanol, dependendo da disponibilidade. A proporção, em massa, foi de 1:10 de amostra para solução de solvente. Em virtude da diluição, para calcular o teor de água das amostras foi utilizada a equação abaixo:

$$TA = \frac{(TA_s \times m_s) + (TA_a \times m_a)}{m_t} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde:

- TA é o teor de água (%) reportado pelo equipamento;
- TA_s é o teor de água (%) do solvente;
- TA_a é o teor de água (%) da amostra;
- m_s é a massa (g) de solvente;
- m_a é a massa (g) de amostra;
- m_t é a massa (g) total;

As soluções foram analisadas em triplicata.

Determinação do pH a 10%

Equipamentos e materiais utilizados

- ✓ Titulador Potenciométrico Automático Kyoto (KEM), modelo AT-500N (Figura 7)
- ✓ Eletrodo de trabalho: de vidro para pH de soluções aquosas;

- ✓ Eletrodo de referencia: de Prata/Cloreto de prata (Ag/Cl) preenchido com solução aquosa de cloreto de lítio 3 mol.L⁻¹.
- ✓ Agitador mecânico de velocidade variável;
- ✓ Béquer de 100 mL;

Reagentes e soluções

- ✓ Soluções tampões (pH = 4,005 e 6,865);
- ✓ Água destilada;

Procedimento de ensaio

Foram preparadas soluções de 50 mL das amostras na proporção de 1:10 em água, conforme determina a Farmacopéia Brasileira[†] (1988 apud Borghetti; Knorst, 2006).²⁸ Antes de realizar as medidas, foram feitas as verificações das soluções tampões para verificação da resposta dos eletrodos.

Figura 7 – Equipamento utilizado para verificação do pH a 10% das amostras de glicerina.



[†] FARMACOPÉIA Brasileira. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 1988. pt 1. 375 p.

Determinação de material orgânico não glicerol (MONG)

Equipamentos e materiais utilizados

- ✓ Centrífuga Eppendorf modelo 5810R, equipada com rotor A-4-81-MTP, rotação máxima de 4000 rpm.
- ✓ Sistema de aquecimento composto por chapa de aquecimento e bquer de 250 mL contendo água (banho maria);
- ✓ Agitador de tubo vortex marca Phoenix AP 56;
- ✓ Tubo Falcons de 15 mL com tampa rosca graduados (resolução de graduação 0,1 mL);

Reagentes e soluções

- ✓ HCl 37%, P.A., Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, RJ, Brasil.
- ✓ A partir do ácido clorídrico concentrado, foram preparados 200 mL de uma solução de HCl 1:1 em água;

Procedimento de ensaio

O método foi desenvolvido no próprio laboratório devido à ausência de um método oficial (EN, ASTM ou NBR) de análise para determinação de MONG. O método desenvolvido é baseado no tratamento dado à GB para obtenção da GL e consiste na separação de toda matéria orgânica não glicerínica, que é facilitada por meio da redução do pH até a faixa ácida.^{19,20} Foi utilizado planejamento fatorial fracionário 2^3 para otimizar as condições experimentais do método sendo que as variáveis testadas foram: pH, temperatura, quantidade de água. Os resultados foram processados no Microsoft Office Excel 2007. A rotação (RPM) da centrífuga não foi inicialmente testada, pois os primeiros ensaios foram realizados em centrífuga de rotação fixa. Entretanto, depois de otimizadas as três variáveis anteriores, novos ensaios foram realizados em uma nova centrífuga e, estes demonstraram que não houve variação nos resultados na faixa de 1000 a 4000 rpm. A Tabela 3 apresenta os níveis testados para cada variável, a combinação entre os níveis e o total de experimentos. Toda a etapa de otimização foi realizada com uma única amostra de glicerina bruta, para a qual o teor máximo de MONG encontrado foi tido como a condição experimental ideal para a

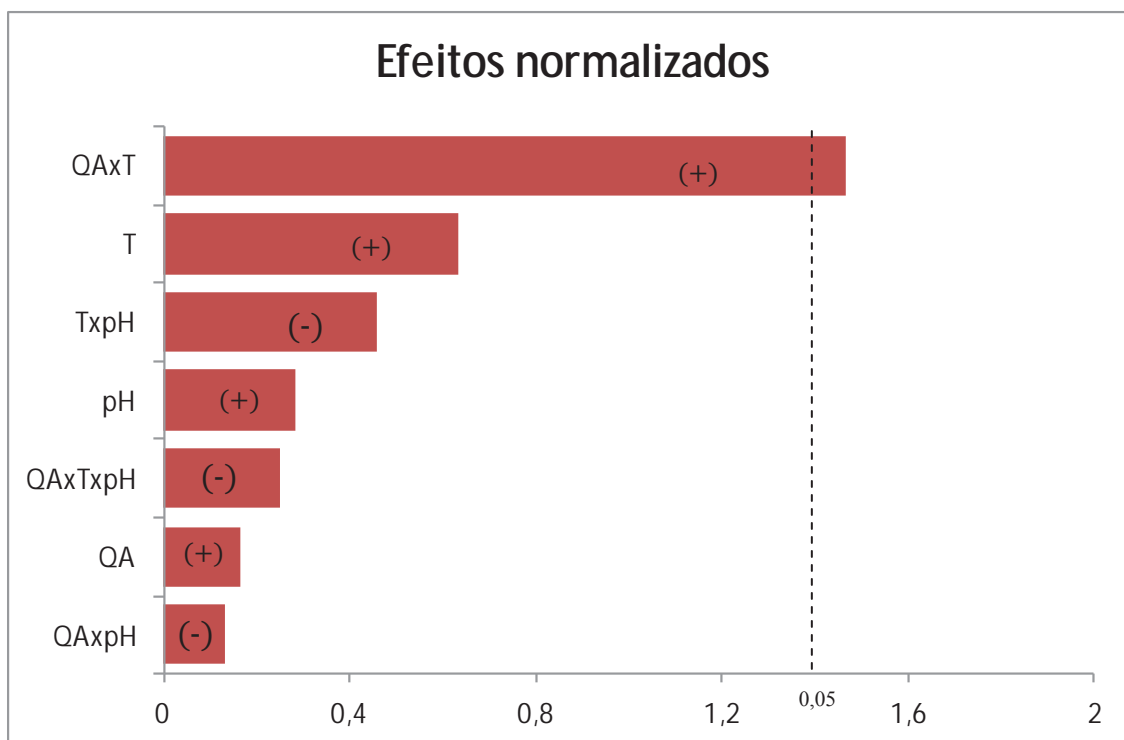
realização dos ensaios nas demais amostras. Como pode ser visto na Figura 8, não há diferença significativa entre as condições experimentais testadas, considerando um nível de confiança de 95%. Deste modo, as condições utilizadas na determinação de MONG foram: temperatura ambiente, 4 mL de água, pH 2 e rotação da centrífuga em 4000 rpm durante 10 minutos.

Tabela 3 – Relação de ensaios e condições experimentais testadas na etapa de otimização do procedimento de determinação do teor de MONG em amostras de glicerina.

Teste	pH	Qtidade de água (mL)	Temperatura (°C)	MONG (%)	DPR
1	2	4	25	38,33	0,15
2	2	4	60	37,08	0,16
3	3	4	25	39,58	0,15
4	3	4	60	37,5	0,27
5	2	6	25	35,5	0,16
6	2	6	60	41,11	0,56
7	3	6	25	37,22	0,78
8	3	6	60	40	0,25

A quantidade de amostra utilizada nos testes de otimização variou de acordo com o volume de água, sendo que, o volume máximo de proporção entre amostra e água utilizado em todos os ensaios foi de 12 mL (80% da capacidade máxima dos tubos Falcons).

Figura 8 – Gráfico de Pareto com os efeitos normalizados exercidos pelas variáveis individuais e suas interações na quantificação de MONG. A linha vertical tracejada representa o limite a partir do qual os efeitos passam a ter influencia significativa no resultado, considerando o limite de confiança de 95%.



As análises foram realizadas em triplicata. A quantificação foi obtida pela diferença entre o volume de amostra inicialmente colocado no tubo Falcon e o volume final da amostra após a adição do ácido e passagem pela centrífuga, conforme a equação abaixo:

$$\% MONG = \frac{v_i - v_f}{v_i} \times 100 \quad \text{Eq. 2}$$

Onde:

v_i é volume (mL) inicial de glicerina adicionada ao tubo Falcon;

v_f é volume (mL) final de glicerina obtida após a extração dos MONG da fase glicerinosa;

Determinação do teor de Cinzas

Equipamentos e materiais utilizados

- ✓ Forno Mufla Marcone, modelo MA 385: capacidade de trabalho até 1200 °C;
- ✓ Bico de Mecker
- ✓ Balança Analítica Ohaus, série Adventure. Capacidade de pesagem: 210 g x 0,0001 g;
- ✓ Cadinhos de porcelana com capacidade de 50 mL.

Reagentes e soluções

- ✓ *iso*-propanol livre de cinzas: Vetec Química Fina LTDA, Duque de Caxias, RJ (adicionado em pequena quantidade para facilitar a queima da glicerina e evitar perda do material por respingos da amostra durante o aquecimento com o bico de Mecker).

Procedimento de ensaio

O procedimento foi baseado na ABNT NBR 6294,²⁹ com a utilização de 5 g da amostra para realização do ensaio. A amostra foi colocada em um cadinho de porcelana e em seguida foi exposta à chama do bico de Mecker para queimar uniforme e moderadamente até cessar o desprendimento de vapor ou fumaça. O material residual foi então reduzido a cinzas pelo aquecimento vigoroso na mufla à temperatura média de 775 °C ± 25 °C. O cadinho contendo as cinzas foi resfriado até atingir o equilíbrio com a temperatura ambiente e então levado à balança para determinação da massa final. As análises foram realizadas em triplicata e o teor total de cinzas foi determinado segundo a equação:

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{m_f}{m_i} \times 100 \quad \text{Eq. 3}$$

Onde:

m_f é a massa (g) de cinzas obtida após o material ser retirado da mufla;

m_i é a massa (g) de amostra utilizada no ensaio.

Determinação do teor de Glicerol

Equipamentos e materiais utilizados

- ✓ Titulador Potenciométrico Automático Kyoto (KEM), modelo AT-500N, equipado com agitador magnético e eletrodo de vidro – utilizado para medidas de pH;
- ✓ Balança Analítica Ohaus, série Adventure. Capacidade de pesagem: 210 g x 0,0001 g;
- ✓ Bureta de 50 mL;

Reagentes e soluções

- ✓ Metaperiodato de sódio pureza min. de 99%, SigmaAldrich;
- ✓ Solução aquosa de ácido clorídrico 0,1 N;
- ✓ Solução aquosa de hidróxido de sódio 0,05 N, previamente padronizada com hidrogenoftalato de potássio;
- ✓ Solução aquosa de ácido sulfúrico 0,2 N;
- ✓ Solução aquosa de tiosulfato de sódio 0,1 N;
- ✓ Solução aquosa de iodeto de potássio (16,5 g em 100 mL de água);
- ✓ Solução aquosa de amido 0,05 g/mL
- ✓ Solução aquosa indicadora de azul de bromotimol 1 mg/mL
- ✓ Soluções tampões (pH = 6,865 e 9,898);

Procedimento de ensaio

O método foi baseado na ASTM D7637-10³⁰ que consiste na oxidação a frio do glicerol pelo metaperiodato de sódio em meio de ácido mineral forte. Este método é mais preciso, exato, específico além de ser mais simples e rápido quando comparado com os outros métodos previamente utilizados.¹³ Nesta reação são formados ácido fórmico e formaldeído que são então utilizados para medida indireta do teor de glicerol por titulação com solução padrão de hidróxido de sódio até pH $8,1 \pm 0,1$. As análises foram feitas em triplicata e o teor de glicerol é expresso como porcentagem m/m.

Determinação do teor de Metanol

O procedimento de ensaio utilizado para determinação do teor de metanol será discutido em detalhes no capítulo 2.

Determinação qualitativa e quantitativa (por abundancia) dos metais presentes nas amostras de glicerina

Equipamentos e materiais utilizados

- ✓ Espectrômetro de Fluorescência de Raio-X, Shimadzu modelo EDX-800;

Procedimento de ensaio

Os ensaios foram realizados em atmosfera de ar com os canais de medição escolhidos para cobrir os principais elementos da Tabela Periódica, de Titânio a Urânio (Ti-U) e de Sódio a Escândio (Na-Sc). Foram feitas medidas qualitativas para identificar os elementos majoritários presentes na amostra, além de ensaios quantitativos automaticamente calculados com base na abundância percentual relativa dos elementos presentes.

Amostras

Todas as amostras de GB, GL e GBD são provenientes de processo de produção de biodiesel em escala industrial e foram fornecidas por quatro indústrias diferentes localizadas próximas à cidade de Araraquara no interior do estado de São Paulo. Dentre as amostras analisadas, algumas foram identificadas no momento da coleta junto as indústrias e, outras 6 amostras foram fornecidas sem qualquer identificação para que fossem analisadas quanto a sua qualidade. As amostras previamente identificadas foram nomeadas como GB, GL e GBD de acordo com o processo de purificação prévio a que foram submetidas. Já as 6 amostras desconhecidas foram nomeadas de 1 a 6.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as amostras, primeiramente foram determinados o teor de água pelo fato do glicerol ser altamente higroscópico e o teor de metanol devido à possibilidade de perda por evaporação do analito, visto que o ponto de ebulição do metanol é relativamente baixo (64 °C).

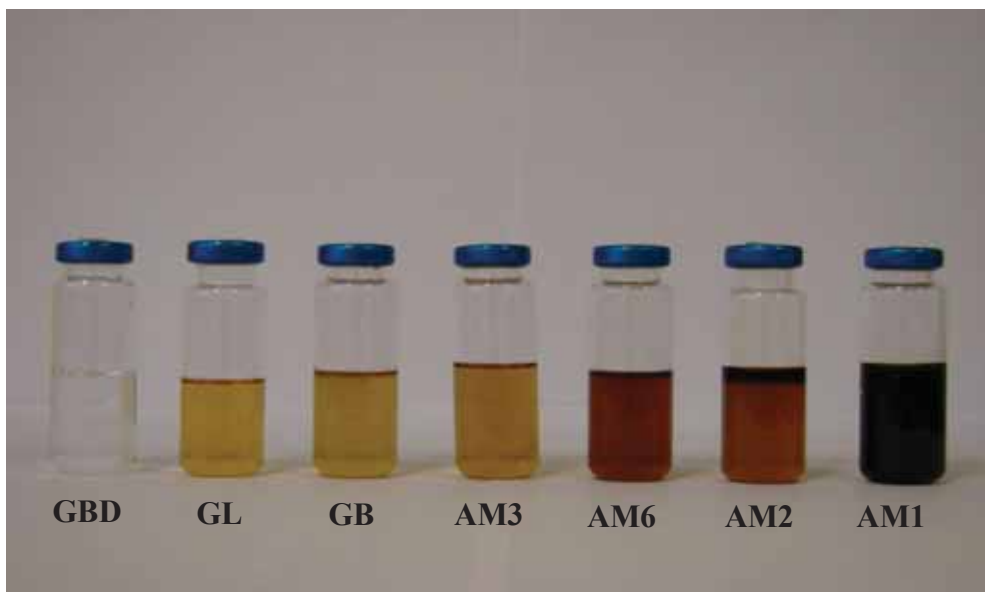
A diferença de qualidade entre amostras de glicerina provenientes dos processos de produção de biodiesel fica clara quando é determinado o teor de glicerol. Por este motivo, a determinação deste parâmetro se resume no ensaio mais importante para classificar as amostras de glicerina e estipular seu preço de mercado. Entretanto, o ensaio de determinação do teor de glicerol não oferece informação suficiente para atestar a qualidade de uma amostra de glicerina. Exceto no caso da GBD, em que o tratamento e a purificação são realizados até a obtenção de uma substância pura e com aparência nitidamente diferente da GL e GB, apenas com a determinação do teor de glicerol fica difícil obter maiores conclusões acerca da qualidade do produto. Ou seja, fica difícil estabelecer se uma amostra de glicerina com teor de glicerol em torno de 80% advém de um processo de produção e separação altamente eficientes ou se este teor foi obtido pelo posterior tratamento da glicerina. Assim, a determinação de outros parâmetros como MONG, teor de metanol, água, teor de cinzas, aspecto e pH também são importantes como critérios de qualidade.

Além destes ensaios, neste trabalho foram realizadas análises qualitativas para metais em equipamento de fluorescência de raio-X (EDX), a fim de obter informações complementares sobre o tratamento ao qual as amostras foram submetidas. Os resultados do EDX, por exemplo, podem confirmar se a amostra foi tratada com ácido mineral para separação e recuperação de AGL.

Aparência

No ensaio de aparência foi observado, pelo método visual, o estado físico da amostra, cor e a formação de fases ou depósitos. A Figura 9 mostra o aspecto visual das amostras, com exceção das amostras 4 e 5. Apesar de anotadas as características de aparência destas duas amostras, as imagens não foram registradas devido à quantidade limitada fornecida para análise de todos os parâmetros.

Figura 9 – Aspecto visual das amostras de glicerina analisadas.



Neste ensaio, a diferença mais significativa entre as amostras está na cor. Enquanto a GBD é transparente, as demais amostras de glicerina ainda apresentam coloração advinda do óleo vegetal e do processo de transesterificação. As amostras de GL apresentam coloração clara ao passo que as amostras de GB, que possuem maior quantidade de MONG e outras impurezas apresentam uma coloração mais escura.

Dentre todas as amostras analisadas, em nenhum caso houve formação de material precipitado, entretanto, foi observado que a amostra 1 está no estado sólido (pastoso) e a amostra 2, por sua vez, apresenta duas fases.

Teor de água

O teor de água nessas amostras varia bastante, principalmente em decorrência da qualidade dos insumos utilizados na reação de transesterificação e do tipo de purificação realizada no biodiesel após a produção. No caso das usinas que adotam a purificação por via úmida (lavagem com água), pode ocorrer de uma parte da água residual contendo sabões ser incorporada à fase glicerínica previamente separada, para posterior tratamento e recuperação de AGL. Além disso, há que se considerar o fato da glicerina ser altamente higroscópica e absorver umidade do ambiente. Teores de água abaixo de 0,5% no caso da GBD e de até 10% no caso da GB são bastante comuns. Todavia,

valores acima de 10% já podem ser atribuídos à incorporação de água de lavagem ou, em alguns casos, à adição de solução ácida para recuperação dos AGL. A Tabela 4 contém os resultados da determinação do teor de água nas amostras de glicerina analisadas. Na Tabela 9, onde estão compilados os resultados de todos os parâmetros analisados, é feita uma discussão detalhada sobre algumas interações existentes entre os resultados obtidos.

Tabela 4 – Teor de água, em porcentagem m/m, encontrado nas diferentes amostras de glicerina provenientes de processo de produção de biodiesel.

	AM1	AM2	AM3	AM4	AM5	AM6	GBD	GL	GB
% Água	8,65	13,26	3,65	6,37	5,47	2,91	1,60	13,46	4,77
DP	0,37	0,37	0,01	0,05	0,02	0,03	0,04	0,15	0,37
DPR (%)	4,30	2,80	0,10	0,85	0,30	1,11	2,41	1,12	3,99

Determinação do pH

Assim como o teor de água, o potencial hidrogeniônico das amostras de glicerina em meio aquoso variou bastante, conforme pode ser visto na Tabela 5. Essa variação pode ser consequência do catalisador utilizado na transesterificação (ácido ou básico) ou do tratamento ácido a que a glicerina pode ser submetida para recuperação de AGL. No caso do catalisador, mais de 90% das usinas brasileiras utilizam a catálise básica da reação, sendo de se esperar uma glicerina bruta com pH básico. A glicerina pura (bidestilada) não tem caráter básico ou ácido, fato comprovado pelo pH próximo de 7, na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores de pH encontrado nas diferentes amostras de glicerina em meio aquoso.

	AM1	AM2	AM3	AM4	AM5	AM6	GBD	GL	GB
pH	10,18	3,21	6,03	10,43	6,11	10,35	6,93	6,30	10,71

Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas também pode fornecer informações importantes sobre a quantidade de catalisador utilizada no processo de transesterificação. A maior parte dos catalisadores utilizados no processo de produção de biodiesel permanece na fase glicerínica da reação e, quando calcinados na mufla permanecem na forma de sais, principalmente a base de sódio ou potássio. Outros sais provenientes da própria matéria prima (óleo vegetal), a base de magnésio, cálcio e alguns fosfatos, podem estar presentes em menor quantidade. Um teor de cinzas mais elevado pode ser consequência dos tratamentos destinados à glicerina após o processo de produção de biodiesel, envolvendo a utilização de ácidos minerais e a posterior correção do pH com hidróxidos de metais alcalinos. Na Tabela 6 são apresentados os teores de cinzas das amostras analisadas.

Tabela 6 – Teor de cinzas, em porcentagem m/m, encontrado nas diferentes amostras de glicerina provenientes de processo de produção de biodiesel.

	AM1	AM2	AM3	AM4	AM5	AM6	GBD	GL	GB
% Cinzas	11,00	7,08	9,26	6,20	8,33	3,97	0,01	5,03	3,70
DP	0,29	0,10	0,19	0,15	0,11	0,01	0,001	0,06	0,03
DPR (%)	4,62	1,36	2,07	2,34	1,36	0,18	0,56	1,10	0,81

Determinação do teor de glicerol

A Tabela 7 mostra que os resultados de teor de glicerol para as amostras analisadas variaram na faixa de 46 a 97% aproximadamente.

A amostra de GBD apresentou alto grau de pureza, 97,88%. Já as amostras 3, 5 e GL apresentaram teor de glicerol próximo de 80% e, podem ser consideradas, conforme aquilo que fora supramencionado na revisão da literatura, amostras com boa aceitação no mercado. As demais amostras, todas abaixo de 70% ainda necessitam de pré tratamento para aumentar o teor de glicerol.

Tabela 7 – Teor de glicerol, em porcentagem m/m, encontrado nas diferentes amostras de glicerina provenientes de processo de produção de biodiesel.

	AM1	AM2	AM3	AM4	AM5	AM6	GBD	GL	GB
% Glicerol	46,27	64,53	82,23	64,17	78,32	55,76	97,88	78,09	47,84
DP	0,37	0,23	0,55	0,01	0,26	0,07	0,1	0,52	0,3
DPR (%)	0,8	0,36	0,67	0,02	0,33	0,13	0,1	0,66	0,62

Determinação do teor de MONG

A matéria orgânica não glicerol (MONG) é constituída basicamente por coprodutos da reação de transesterificação como mono, di e triacilgliceróis além de ácidos graxos livres. Devido à baixa solubilidade do glicerol em ésteres de cadeia carbônica longa (que são os principais componentes da MONG) há uma tendência natural de separação de fases entre a glicerina e MONG. Entretanto, a combinação de ácidos graxos livres e pH elevado, devido ao excesso de catalisador proveniente do processo de transesterificação acaba por formar uma quantidade grande de sabão, que por sua vez, dificulta a separação de fases. Esse problema pode ser resolvido por meio da adição de um ácido mineral forte para diminuir o pH para a faixa em torno de 3.

Os ácidos graxos livres que constituem a maioria dos óleos e gorduras e consequentemente estão presentes na MONG possuem pKa na ordem de 4,8. O pKa é derivado do Ka, que, no caso de ácidos, expressa a constante de dissociação do ácido. De acordo com a equação 4, de Henderson-Hasselbalk para um ácido, em uma solução onde o pH é 4,8 as duas formas $[A^-]$ e $[HA]$ estão em equilíbrio na proporção 1:1. A medida que o pH é diminuído em uma unidade em relação ao pKa ($pH = pKa - 1$), a proporção entre as formas $[A^-] / [HA]$ muda para 1:10. Se o pH diminui para duas unidades ($pH = pKa - 2$), a proporção entre as formas $[A^-] / [HA]$ muda para 1:100.³¹ Portanto, à medida que o pH fica abaixo de 2,8 praticamente todo o ácido graxo permanece na forma protonada (associada) e uma quantidade praticamente insignificante resta na forma dissociada (sabão), favorecendo a separação de fases.

$$pH = pKa + \log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right) \quad \text{Eq. 4}$$

Como pode ser visto na Tabela 8, as amostras 1, 2, 6 e GB apresentam alto teor de MONG. Nessas amostras, o tratamento com ácido mineral para recuperação da MONG é justificado pela possibilidade de reutilização desta matéria para produção de biodiesel por meio de esterificação e transesterificação. Com esse “corte” da glicerina, consequentemente, o teor de glicerol é aumentado e o valor agregado da glicerina passa a ser maior. No caso da amostra 4, que estava no estado sólido, não foi possível calcular o teor de MONG, pois não houve separação de fases após a realização do procedimento na centrífuga. O pH da amostra foi reavaliado e, o resultado 2,02 atestou que o pH estava ácido o suficiente para promover a separação de fases na centrífuga.

Tabela 8 – Teor de MONG, em porcentagem v/v, encontrado nas diferentes amostras de glicerina provenientes de processo de produção de biodiesel.

	AM1	AM2	AM3	AM4	AM5	AM6	GBD	GL	GB
% MONG	26,66	12,77	3,33	Nd*	4,72	35,83	0	2,7	39,22
DP	2,89	0,99	0,83	-	0,48	0,83	-	0	0,29
DPR (%)	10,84	7,75	25,02	-	10,19	2,32	-	-	0,74

* Não determinado, pois não houve separação de fases.

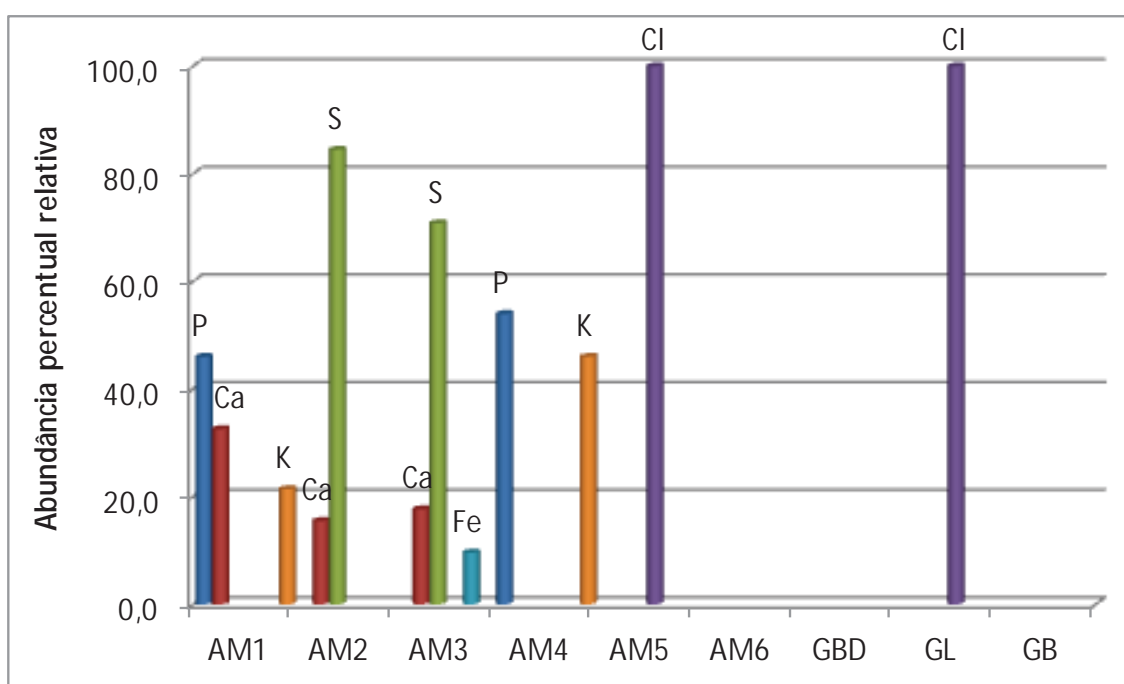
Determinação qualitativa e quantitativa (por abundância percentual relativa) dos metais presentes nas amostras de glicerina

Como foi mencionado anteriormente, as análises de fluorescência de raio-X (EDX) fornecem informações complementares sobre as amostras de glicerina. A determinação qualitativa e quantitativa dos elementos majoritários presentes nas amostras pode, por exemplo, confirmar se a amostra foi tratada com ácido mineral para separação e recuperação de AGL. Pode ainda evidenciar qual ácido foi utilizado e, se foi feita neutralização posterior. Entretanto, a detectabilidade deste ensaio permite observar somente a presença de elementos majoritários e que estejam em concentrações acima de 100 ppm (0,01%).

Observando a Figura 10, as amostras 6, GBD e GB não apresentaram vestígios de elementos que pudessem ser identificados neste ensaio. Isso mostra que, exceto no caso da amostra de GBD que foi tratada e purificada até a obtenção de glicerol com alto

grau de pureza, as amostras 6 e GB não apresentaram elementos que pudessem caracterizar a realização de qualquer pré tratamento. Nestas duas amostras não foram identificados nem mesmo resíduos do catalisador utilizado na reação de transesterificação. Por outro lado, a presença dos elementos fósforo, enxofre e cloro nas amostras 1 a 5 e GL são evidências de que estas foram tratadas com ácido mineral. Além disso, considerando que resíduos de catalisador não chegam a ser identificados neste ensaio, os elevados percentuais relativos de Ca e K podem ser atribuídos à posterior neutralização destas amostras. Não foram encontradas conclusões a respeito da presença do elemento Fe na amostra 3.

Figura 10 – Elementos presentes nas amostras de glicerina e suas respectivas abundâncias percentuais relativas.



Considerações finais

A compilação de todos os resultados, na Tabela 9, mostra que as características físico químicas variam muito de uma amostra para outra. Somente as amostras 6 e GB não apresentam evidências de passar por etapas de pré tratamento ou purificação. Essa constatação é baseada no elevado teor de metanol e MONG dessas amostras, e o

consequente teor de glicerol reduzido. Como não passaram por tratamento, o pH em torno de 10, verificado em ambas, é indicativo da presença de resíduos de catalisador utilizado na reação de transesterificação, neste caso catálise básica.

Todas as demais amostras de glicerina analisadas passaram por etapas de tratamento. A amostra de GBD, por exemplo, confirma que, com tratamento e purificação, é possível gerar glicerol com graus de pureza elevados a partir de uma amostra de GB proveniente de um processo de produção de biodiesel.

As amostras 3, 5 e GL que apresentam teor de glicerol em torno de 80%, bem como teor de MONG e metanol reduzidos, foram tratadas com ácido, como verificado nos resultados dos ensaios de EDX e, posteriormente, tiveram seus pHs regulados para a faixa neutra. O tratamento com ácido seguido de neutralização geralmente acaba elevando o teor de cinzas das amostras, conforme verificado nos resultados do grupo de 1 a 5, devido à formação de sais de metais alcalinos. No caso da GL o teor de água elevado também pode ser consequência deste tratamento ácido.

Em nenhum caso houve formação aparente de material precipitado, entretanto, as amostras 1 e 4 estavam no estado sólido (pastoso), provavelmente em decorrência da alta quantidade de MONG (principalmente ácidos graxos livres) associada ao pH básico. Essa combinação de ácidos graxos livres com excesso de catalisador provenientes de um processo de transesterificação pouco eficiente e não otimizado acaba por formar uma quantidade grande de sabão que, por sua vez, confere essa consistência mais sólida à glicerina. O mesmo comportamento não foi observado nas amostras 6 e GB que, apesar de conterem uma elevada concentração de MONG e um pH bastante básico, em torno de 10, são líquidas provavelmente porque possuem baixa quantidade de ácidos graxos livres dentre a MONG.

Tabela 9 – Compilação dos resultados de todos os ensaios realizados nas amostras de glicerina provenientes de usinas de biodiesel.

	Glicerol/ % (m/m)	MONG/ % (v/v)	Água/ % (m/m)	Metanol/ % (m/m)	Cinzas/ % (m/m)	pH	EDX	Aparência
GL	78,09	2,70	13,46	0,478	5,03	6,30	Cl	Líquida, amarela
GB	47,84	39,22	4,77	3,218	3,70	10,71	--	Líquida, amarela
GBD	97,88	0	1,60	< LQ**	0,01	6,93	--	Líquida, incolor
AM1	46,27	26,66	8,65	3,030	11,00	10,18	P; Ca; K	Sólida, marrom escuro
AM2	64,53	12,77	13,26	1,370	7,08	3,21	S; Ca	Líquida, marron, duas fases
AM3	82,23	3,33	3,65	0,019	9,26	6,03	S; Ca; Fe	Líquida, amarela
AM4	64,17	Nd*	6,37	0,430	6,20	10,43	P; K	Sólida, marrom escuro
AM5	78,32	4,72	5,47	0,090	8,33	6,11	Cl	Líquida, marrom
AM6	55,76	35,83	2,91	2,852	3,97	10,35	--	Líquida, marrom

* A quantidade de MONG na amostra 4 não foi determinada, pois não foi observada separação de fases no ensaio sendo impossível apresentar um valor para este parâmetro.

** LQ: limite de quantificação do método.

De acordo com o que foi visto na introdução, o grau de purificação das amostras de glicerina provenientes de usinas de biodiesel vai depender da aplicação a que estas se destinam. O destino de menor custo para amostras de glicerina bruta, com ou sem pré tratamento e de baixo valor agregado, é a queima em caldeiras, porém, altos teores de sais não são desejáveis para este fim. Por outro lado, amostras com grau de pureza acima de 99% já podem ser utilizadas em indústrias farmacêuticas e alimentícias ou em indústrias de química fina para obtenção de derivados de alto valor agregado. De qualquer forma, os tratamentos realizados nas amostras de glicerina visam sempre o aumento do teor de glicerol. Entretanto, em alguns casos, esse aumento pode ser acompanhado de elevação no teor de cinzas e no teor de água ou mesmo um pH bastante ácido ou básico que podem limitar algumas aplicações. As amostras 1, 2 e 3 são exemplos deste tipo de tratamento.

Assim, além da determinação do teor de glicerol, a determinação dos demais parâmetros é de suma importância como instrumento de verificação da qualidade do produto para que este possa vir a ser comercializado no mercado.

CAPÍTULO II

Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação de metanol residual por CG-convencional e CG-rápida com amostragem por Headspace estático.

Destaques

“A utilização da GB na formulação de rações para animais desperta interesse imediato por se constituir em um produto rico em energia...”

“O excedente de glicerina proveniente das usinas de biodiesel seria rapidamente absorvido pelo mercado de nutrição animal...”

“O problema com a glicerina... é a sua contaminação com metanol...”

“...ainda não há norma ou método oficial para determinar a quantidade de metanol residual em glicerina...”

REVISÃO DA LITERATURA

Glicerol: energia bruta

Como foi visto no Capítulo 1, a rápida inserção do biodiesel na matriz energética brasileira suscita alguns questionamentos acerca da necessidade de se encontrar aplicações comerciais para os coprodutos gerados pela produção do biodiesel. Os principais mercados do glicerol são as indústrias cosméticas, farmacêutica, do tabaco e alimentícia, que consomem o glicerol como produto final ou na forma de ésteres, resinas ou polímeros. Outra aplicação que vem sendo testada é a utilização da glicerina bruta como insumo nas usinas de ração animal.

A utilização da GB na formulação de rações para animais desperta interesse imediato por se constituir em um produto rico em energia (4.320 kcal de energia bruta por kg para o glicerol puro) e com alta eficiência de utilização pelos animais. A glicerina pode ser considerada uma fonte adequada de energia, pois quando as gorduras são digeridas, normalmente são obtidas duas moléculas de ácidos graxos e uma molécula de monoacilglicerol. Quando a digestão é completa, são obtidas três moléculas de ácidos graxos e uma molécula de glicerol, sendo esta última molécula, por seu baixo peso molecular e polaridade, facilmente absorvida por difusão. Quando já absorvido, o glicerol pode ser convertido em glicose via gliconeogênese, ou oxidado, para a produção de energia, via glicólise e ciclo de Krebs,³² sendo que o metabolismo do glicerol predominantemente ocorre no fígado e nos rins.

Além de ser uma fonte energética, o glicerol é considerado um bom umectante e pode ser empregado nas dietas para melhorar a qualidade na *peletização* das rações. Groesbeck (2002) apud Henn; Zanin, (2009)³³ demonstrou que a inclusão de glicerol melhorou a qualidade dos *pellets* e diminuiu o custo energético da *peletização*, obtendo os melhores resultados com 3 e 6% de glicerol adicionado. O glicerol também pode reduzir o pó das dietas e dos suplementos minerais e vitamínicos. Pelo seu sabor adocicado, pode servir para melhorar o sabor das formulações.³³

Quanto à energia bruta, o valor deste coproduto varia de 3600 e 4600 kcal/kg. As GB e GL, que saem das usinas com até 80% de glicerol, armazenam em torno de 3200 a 3700 kcal/kg. Já o glicerol puro contém aproximadamente 4300 kcal/kg de energia bruta. As fontes de variação desta energia são a presença de umidade, minerais e

óleo na glicerina resultante da produção de biodiesel, cuja variação ainda é uma realidade na etapa de produção.^{33,34}

Utilização da glicerina bruta como insumo em rações animais

O excedente de glicerina proveniente das usinas de biodiesel seria rapidamente absorvido pelo mercado de nutrição animal, principalmente frangos e suínos. De acordo com o Sindirações, no ano de 2009 a produção brasileira de rações foi estimada em 61 milhões de toneladas. Se todo o volume gerado pelas usinas de biodiesel fosse destinado à alimentação animal, a adição seria de apenas 0,3% no total de rações, ou então 0,7% na alimentação de frangos ou 1,2% de suínos. Segundo os especialistas, a glicerina pode ser adicionada de forma segura em até 10% na dieta de ruminantes e não-ruminantes.³⁵

A utilização de glicerina na alimentação animal foi alvo de estudo no passado³⁶ e, com o recente estímulo à produção de biodiesel e a consequente disponibilidade de GB, houve interesse no uso deste coproduto em rações.

Nos últimos anos vários trabalhos têm sido desenvolvidos com o objetivo de determinar os reais efeitos da GB sobre o desempenho, característica da carcaça e qualidade de carne. As pesquisas geralmente têm sido feitas com frangos de corte, galinhas poedeiras, leitões e suínos em crescimento.³⁷⁻⁴³

O efeito da utilização de glicerina bruta na dieta de suínos em crescimento foi estudado em detalhes por Lammers *et al.* (2008),³⁷ incluindo avaliação da performance de crescimento, característica da carcaça, qualidade da carne e histologia do tecido do animal. A glicerina bruta utilizada neste estudo continha aproximadamente 84% de glicerol, 12% de água, 3% de cinzas na forma de cloreto de sódio e 0,3% de metanol. Foram administradas quantidades de 0, 5 e 10% de GB na dieta normal à base de soja e milho.

Os autores selecionaram 96 animais de ambos os sexos com massa corporal em torno de 7,9 Kg. Todos os animais foram pre submetidos a exames de ultrassom, sangue e plasma. Também foram analisados tecidos dos rins, fígado e olhos para subsequente determinação de possíveis lesões causadas pela toxicidade do metanol. Em seus resultados, os autores atestaram que a GB pode ser utilizada na proporção de até 10%

em relação à mistura soja/milho, com pouco ou nenhum efeito na performance de crescimento, composição da carcaça, qualidade da carne ou escore de lesões nos olhos, fígado ou rim. Foram observados somente pequenas variações no pH do músculo do lombo e no perfil de ácidos graxos do tecido retirado do dorso dos animais.

Kerr *et al.* (2009)³⁹ também investigaram o valor energético da inclusão de aproximadamente 9% de glicerina proveniente de usinas de biodiesel, na dieta de suínos. Ao contrário do trabalho anterior que utilizou apenas GB, neste foram utilizadas amostras de GBD, GB e GL, com energia bruta variando de 3100 a 6000 Kcal/Kg dependendo da concentração de água, MONG, glicerol e metanol. O teor de glicerol destas amostras esteve entre 51,4 e 99,6%, água entre 0,3 e 24%, metanol entre 0 e 15% e ácidos graxos livres entre 0 e 35%. Os autores analisaram somente amostras de urina e fezes dos animais antes e após o tratamento e concluíram que os resultados apresentaram pouca ou nenhuma variação. Entretanto, reconheceram que estudos mais detalhados devem ser feitos no que diz respeito à quantidade de cinzas e metanol administrada nesta dietas.

Dozier *et al.* (2008)³⁸ relataram o acréscimo de 3 a 9% de GB nas dietas de frangos de corte. A glicerina utilizada continha em torno de 87% de glicerol, 9% de água e 0,028% de metanol. Os autores apenas reportaram bons resultados no que diz respeito à energia metabolizável da glicerina, sem maiores detalhes comparativos. Mendonza *et al.* (2011)⁴¹ realizaram estudos somente com GBD (teor médio de glicerol de 97,5%) na dieta de suínos. A utilização de até 15% de glicerina não apresentou qualquer efeito negativo na performance de crescimento, na carcaça e na qualidade da carne dos animais testados. Gunn *et al.* (2011)⁴⁰ reportaram os resultados de seus estudos com adição de 0, 5, 10, 15 e 20% de GB (88% de glicerol) na dieta de cordeiros. As referências comparativas foram a performance de crescimento e as características da carcaça, sendo que ao final do estudo não foram observados qualquer efeito negativo.

No Brasil, em estudo recente, Berenchtein *et al.* (2010),⁴² verificaram que a glicerina semi-purificada (GL com 80% de glicerol) pode ser utilizada como ingrediente energético das rações de suínos em crescimento e terminação até o nível de 9%, sem afetar sensivelmente o desempenho, as características de carcaça e a qualidade da carne dos animais. Em outro estudo, Silva *et al.* (2012),⁴³ fizeram um acompanhamento

detalhado nas características da carcaça e humidade presente na excreção de frangos de corte submetidos a uma dieta controlada com níveis crescentes de glicerina. Foram utilizados 1575 frangos, distribuídos por meio de planejamento experimental do tipo aleatório, em 5 níveis de estudo, quais sejam 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% de glicerina adicionada. A glicerina utilizada tinha em torno de 83% de glicerol e 208 ppm de metanol. Nos primeiros 7 dias da dieta os autores observaram ganho de peso nas aves e durante todo o período de estudo houve um pequeno aumento de humidade na excreção. Por outro lado, não foi observado qualquer efeito significativo nas características da carcaça durante todo o período de estudo para inclusões de até 5% de glicerina na dieta.

Limitações à utilização da glicerina bruta

Em sua forma pura, o glicerol é seguro tanto na alimentação animal quanto na alimentação humana. Na Comunidade Européia, o glicerol está registrado como aditivo de alimento, sem limite de inclusão (No 1831/2003).³³ O Código de Regulações Federais dos Estados Unidos (CFR 582.1320 de 2004) reconhece o produto como seguro quando utilizado de acordo com as boas práticas de manufatura e alimentação.³⁴ No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), por meio da resolução 386/1999, já colocava o glicerol como umectante na lista de aditivos permitidos para a alimentação humana e animal.

Com relação às GB e GL alguns cuidados devem ser levados em consideração. Atualmente o processo mais utilizado para obtenção de biodiesel é a transesterificação de oleaginosas e o principal coproduto desta reação é glicerina. Em linhas gerais, neste processo, discutido em maiores detalhes no capítulo 1, é utilizada uma quantidade de álcool em excesso (metanol) para favorecer a ocorrência da reação. No final do processo há a separação entre a fase rica em ésteres e a fase glicerínica, que consiste da GB, contendo excesso de metanol não reagido, assim como água e outras impurezas. Na maior parte das usinas, parte desse metanol não reagido é recuperado e reutilizado. Apesar de recuperado, em todos os casos, com exceção da glicerina pura (bidestilada), acaba sobrando resíduos de metanol na glicerina.

A intoxicação por metanol em animais é identificada pela excreção de ácido fórmico na urina. O metanol ingerido é oxidado no fígado a formaldeído e este a ácido

fórmico.⁴⁴ Lammers et al. (2008)³⁷ constataram que o ácido fórmico é a substância tóxica e indicaram que, quando em quantidades elevadas, o ácido fórmico pode causar cegueira pela destruição do nervo óptico, sendo relatadas também a ocorrência de depressão do sistema nervoso central, vômito, acidose metabólica e alteração motora. Embora cada classe de animal apresente respostas amplamente diferentes em sua habilidade em metabolizar o metanol, o resíduo de metanol na GB se constitui em um ponto importante quando se avalia o valor desse produto para a alimentação animal.

Nos Estados Unidos foi estabelecido um limite máximo de 1500 ppm (0,15%) de metanol para que a glicerina bruta pudesse ser usada na alimentação animal.[‡] No Brasil, em agosto de 2010, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), autorizou o uso das glicerinas loira e bruta como insumo para alimentação animal. Na ocasião foi estabelecido um padrão mínimo de qualidade para o produto, como mostra a Tabela 10.^{35,45,46}

Tabela 10 – Padrões mínimos de qualidade para a glicerina utilizada em ração animal.

Glicerol/ % m/m (mín.)	Umidade/ % m/m (máx.)	Metanol/ % m/m (máx.)	Matéria Mineral (máx.)	Sódio (min.)
80	12	0,015	s/L*	s/L*

* Sem limite estabelecido, será anotado em função dos certificados analíticos fornecidos.

Embora o Mapa tenha determinado as especificações mínimas para a glicerina a ser destinada à alimentação animal, ainda não há um órgão específico para fiscalizar o produto. Além disso, em meados de 2010 quando houve a liberação, ainda não havia norma ou método oficial para determinar a quantidade de metanol residual em glicerina (limite máximo de 0,015% m/m). Nos Estados Unidos havia um projeto de norma (ASTM WK29534) intitulado “New Test Method for Determination of Residual Methanol in Glycerin by Gas Chromatography”. Esse projeto veio a ser aprovado somente no final de 2011 com a oficialização da norma técnica ASTM D7716 - 11a,⁴⁷ que prevê a determinação de metanol residual em glicerina na faixa de 0,02 a 0,60% em

[‡] AAFCO (Association of American Feed Control Officials, Inc). 2010. Official Publications, West Lafayette. Disponível em: <http://www.ngfa.org/files/misc/F&FDigest8-12-10.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2013.

massa. Até então, em alguns casos, seu conteúdo vinha sendo calculado pela diferença entre a quantidade de metanol adicionada no processo de transesterificação e a quantidade determinada no produto final (biodiesel).⁴⁸

Considerando o panorama acima exposto, este trabalho apresenta uma proposta para a determinação da quantidade de metanol residual em glicerinas provenientes de usinas de biodiesel, usando a técnica de cromatografia gasosa (CG) com amostragem por *headspace* estático.

Cromatografia Gasosa com amostragem por *Headspace*

O sistema de amostragem por *headspace* (HS) em cromatografia gasosa (CG) foi proposto logo após o desenvolvimento da própria CG. O sistema consiste na amostragem qualitativa ou quantitativa de um gás ou vapor em equilíbrio com a fase líquida ou sólida.⁴⁹ Em princípio, funciona como uma técnica de extração gasosa, similar a outros tipos de extração, como a extração em fase líquida.⁵⁰

Este tipo de amostragem pode ser em uma única etapa a partir da amostra original, em sua fase líquida ou sólida, contida em um recipiente totalmente vedado (vial). Os componentes voláteis da amostra são parcialmente vaporizados, passando para a fase gasosa na parte superior do recipiente e voltam para a amostra na fase inferior do recipiente. Depois de um tempo o sistema entra em equilíbrio, onde a concentração dos componentes voláteis na fase gasosa permanece constante – distribuição constante, segundo um coeficiente de partição baseado na Lei de Henry. Essa fase gasosa que permanece em contato e equilíbrio com os componentes não voláteis é denominada *headspace*. Ao tomar uma alíquota desta fase gasosa, são analisados os componentes voláteis presentes sem a interferência da matriz não volátil como um todo.⁵⁰

Neste tipo de procedimento, as fases líquida e vapor permanecem em condições de temperatura e tempo suficientes para que seja atingido o equilíbrio antes da extração e posterior injeção da amostra no CG. Esta é denominada análise por *headspace* estático ou análise por *headspace* em equilíbrio. Para certas amostras, todavia, como polímeros e alguns sólidos, o estado de equilíbrio pode ser difícil de ser obtido. Neste caso a extração da fase gasosa pode ser realizada por remoções contínuas. Isso pode ser feito

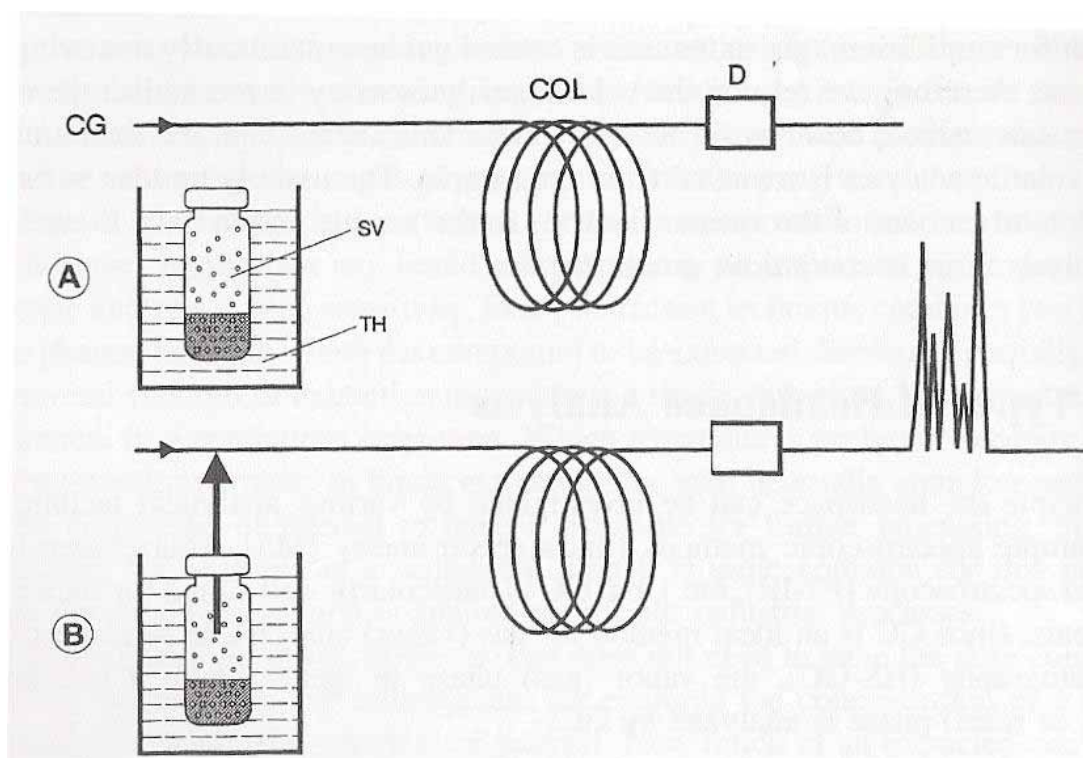
com a passagem contínua de um gás inerte pelo vial contendo a amostra, o qual favorece a retirada dos analitos voláteis. Neste tipo de ciclo, uma nova composição da fase gasosa é estabelecida, sendo que o equilíbrio em si nunca é atingido, configurando um procedimento de análise por *headspace* dinâmico ou contínuo.^{50,51} Neste trabalho será abordado apenas o procedimento estático.

Em um dado sistema HS, contendo um analito e um solvente, o coeficiente de partição entre as fases líquida e gasosa pode ser manipulado pela mudança das condições analíticas, sendo que qualquer variação deste coeficiente de partição é regida pelas Leis de Dalton e Henry. A primeira diz que a pressão total de uma mistura de gases é igual à soma das pressões parciais dos gases presentes na mistura. A segunda, por sua vez, diz que, em soluções ideais diluídas, há uma linearidade geral entre a pressão parcial de vapor de um analito e sua concentração molar. Seguindo estes princípios, a concentração do componente de interesse pode ser obtida depois de fixadas as condições ideais de análise.^{50,51}

No recipiente fechado de HS, a pressão de vapor de um componente puro é influenciada diretamente pela temperatura numa relação exponencial. Assim, quanto maior a temperatura de exposição maior será a concentração deste componente da fase gasosa. Nos casos em que o analito tem baixo ponto de ebulição, mas também um alto coeficiente de partição, outros princípios físico-químicos surgem como estratégias para facilitar a passagem do analito para a fase gasosa. Um exemplo é a mudança da matriz da amostra pela adição de um eletrólito para favorecer o efeito salting out. Há também a utilização de cosolventes para facilitar a passagem do analito para a fase gasosa e a derivatização como forma de transformar componentes não voláteis ou pouco voláteis em derivados com baixo ponto de ebulição e alta pressão de vapor.^{50,51}

Em linhas gerais, o condicionamento da amostra é realizado em um pequeno forno, acessório integrante de cromatógrafos a gás equipados com sistema HS. Neste forno o vial contendo a amostra permanece em condições controladas de temperatura, tempo e velocidade de agitação. A Figura 11 traz uma ilustração aproximada do sistema.

Figura 11 – Princípio da cromatografia gasosa com amostragem por headspace estático. (A) estabelecimento do equilíbrio. (B) transferência da amostra para o sistema cromatográfico. CG: gás de arraste (carrier gas); SV: vial de amostra (sample vial); TH: forno termostaticado (thermostat); COL: coluna de separação; D: detector.



Vantagens e aplicações da técnica de CG-HS

Ao contrário da amostragem líquida em que uma pequena parte representativa da amostra como um todo é injetada no cromatógrafo a gás, na amostragem por *headspace* os componentes não voláteis permanecem no vaso de amostragem (vial) evitando o acúmulo no injetor e na coluna analítica. Muitas amostras analisadas por CG contêm quantidades significativas de constituintes não voláteis. Na injeção direta (líquida), além dos componentes não voláteis, materiais sólidos sedimentáveis que estejam em solução também podem ser introduzidos no sistema cromatográfico e no decorrer de várias análises acumularem de modo a interferir na eficiência de separação cromatográfica. Sinais típicos de situações como estas consistem em diminuição da área do pico cromatográfico, alargamento de pico e formação de cauda, sangramento da coluna e o aparecimento de picos fantasmas. Casos extremos podem comprometer o equipamento e a solução deste problema passa pela troca de acessórios do injetor ou de todo o módulo,

corte e retirada da entrada (cabeça) da coluna, instalação de pré coluna ou restritor ou mesmo troca da coluna.⁵¹

A conveniência da utilização do sistema HS na análises de voláteis somada aos problemas acima apontados, proporcionou um crescimento na utilização deste tipo de amostragem em CG, fazendo com que vários trabalhos tenham sido publicados com a utilização de CG-HS.^{49,52,53}

Variações utilizando Cromatografia Gasosa Rápida

As primeiras teorias e alguns dos princípios básicos relacionados à redução do tempo de análise em cromatografia gasosa (CG) foram estabelecidos por volta de 1960, quando Scott em 1958 utilizou colunas empacotadas longas com diâmetro interno (d.i.) reduzido, capazes de atingir desempenho de 10 pratos efetivos por segundo em uma separação cromatográfica, o que constituiu um grande avanço para a época.⁵⁴ Outro exemplo clássico, foram os estudos de Jonker *et al.*, que conseguiram separações ultra rápidas de quatro alcanos lineares (C1 a C4) em 150 ms com a utilização de colunas do tipo empacotadas LiChrosorb Si-60, com 32 mm de comprimento.⁵⁵ Inicialmente ambos os trabalhos não tiveram uma grande repercussão, sendo que no início da década de 80, outros trabalhos ainda viriam a ser publicados relatando as tentativas de aumentar a velocidade de separações cromatográficas, com a utilização de colunas empacotadas.⁵⁶

Um dos motivos para esta falta de reconhecimento estava no fato de que as colunas empacotadas utilizadas, algumas das quais preenchidas com partículas de diâmetro relativamente grande, exigiam condições drásticas de pressão para obtenção de separações mais rápidas, por vezes resultando em prejuízo na eficiência da separação.^{57,58} Com a introdução das colunas capilares por Golay em 1957 algumas das limitações relacionadas à utilização das colunas empacotadas em separações cromatográficas complexas foram resolvidas, sendo um grande passo em direção à obtenção de cromatogramas com melhor resolução.⁵⁹ Já em 1962 Desty *et al.* demonstraram a potencialidade de colunas capilares com d.i. reduzido para realização de separações rápidas.⁶⁰ Outro trabalho relevante foi o de Gaspar *et al.*, que conseguiram separações rápidas de uma mistura não complexa de hidrocarbonetos em

uma coluna tubular de vidro Pyrex de 85 cm x 65 μ m (d.i.), recoberta com fase estacionária de 1% de esqualano em hexano.⁶¹

Entretanto, até 1980 a problemática relacionada ao aumento de velocidade em CG não estava atrelada somente a limitações relacionadas às colunas. Havia também uma série de adaptações que deveriam ser feitas nos equipamentos existentes até então, o que praticamente inviabilizava o amadurecimento da idéia. Outra grande limitação estava relacionada ao tempo total gasto em um processo analítico, no qual a separação cromatográfica representava apenas uma pequena parcela quando comparada ao tempo necessário para preparação da amostra e para o posterior tratamento dos dados obtidos do cromatograma. Assim, a proposta de separações rápidas em CG permanecia como um desafio experimental, visto que o aumento da velocidade da separação não causaria uma redução significativa no tempo total de análise.^{55,62,63}

Em decorrência da modernização dos cromatógrafos, do desenvolvimento de novas fases estacionárias e do desenvolvimento de *softwares* avançados para tratamentos de dados cromatográficos, naturalmente os estudos relacionados ao aumento da velocidade em CG tornaram-se viáveis e receberam maior destaque no mundo acadêmico. O contínuo crescimento do número de amostras a serem analisadas por cromatografia e os casos em que os resultados das análises deveriam estar disponíveis em um curto intervalo de tempo fortaleceram esta tendência. O principal benefício seria a redução no tempo total de análise, que acarretaria em uma redução de custos no processo analítico e o conseqüente aumento de produtividade para realização de análises de rotina.⁶⁴

Os usuários de cromatografia passaram a questionar algumas das condições experimentais convencionalmente utilizadas e chegaram à conclusão que a resolução cromatográfica poderia ser reduzida para um valor apenas suficiente (um valor limite que não causasse prejuízos para a identificação dos compostos presentes na amostra). Neste caso, haveria uma redução no tempo de análise em CG. A partir dos estudos teóricos de Leclercq e Cramers em 1985, dentre outros autores anteriormente citados, constatou-se que os três pilares da separação rápida são:^{60,65,66}

1. Minimização da resolução cromatográfica para um valor apenas suficiente de modo a reduzir o número de pratos teóricos requeridos para uma dada

separação. Em termos práticos duas opções são: reduzir o comprimento da coluna e empregar altas velocidades (v) do gás de arraste.

2. Maximização da seletividade do sistema cromatográfico: em separações rápidas, as propriedades da coluna (fase estacionária) são essenciais para melhorar a distinção entre pares críticos de componentes de uma amostra.

3. Proposição de alternativas que reduzam o tempo de análise mantendo a resolução constante: determinados parâmetros podem ser explorados caso o tempo de análise em uma resolução mínima aceitável ainda exceda o tempo desejado. Ex: a redução do diâmetro interno (d.i.) da coluna compensa a inevitável perda da resolução quando da diminuição do comprimento da coluna.

As três afirmações gerais não são independentes e o direcionamento para atingir separações rápidas resulta de uma intercalação de vários parâmetros cromatográficos, como mostra a Tabela 11.

Definições e parâmetros envolvidos

O aumento de velocidade em CG pode ser interpretado sob diferentes pontos de vista. Se por um lado uma separação rápida de amostras complexas pode ser obtida na faixa de alguns minutos, para uma mistura simples a separação pode ser finalizada em alguns milissegundos.^{55,57,65} Assim, os conceitos que fundamentam o aumento de velocidade não podem ser estabelecidos somente em relação à diferença no tempo total de análise. Além do tempo necessário para realizar a separação, outros parâmetros cromatográficos devem ser considerados para definir os conceitos relacionados ao aumento de velocidade em CG.

Dagan e Amirav (1996)⁶⁷ introduziram um fator para quantificar o aumento de velocidade (*Speed Enhancement Factor* – SEF) e a partir deste subdividiram a CG em três categorias. Desta subdivisão provêm expressões como: Cromatografia Gasosa Rápida (CG-R), Cromatografia Gasosa Muito Rápida (CG-MR) e Cromatografia Gasosa Ultra Rápida (CG-UR), além da convencional (CG-C). O fator de aumento de velocidade não necessariamente reflete a exata redução do tempo de análise, mas normaliza as separações em função da CG-C, que, segundo os autores é caracterizada pela utilização de coluna de 30 m com d.i. reduzido, de modo que o fluxo do gás de

arraste na coluna seja de 1 mL min^{-1} (correspondente ao gás He com velocidade linear de 34 cm s^{-1}). Este fator é definido em função do produto de outros dois fatores: o fator de redução do comprimento da coluna multiplicado pelo fator que relaciona o aumento da velocidade do gás de arraste em relação à CG-C.

Van Deursen *et al.* (2000)⁶⁸ sugeriram uma definição baseada na largura do pico à meia altura e no tempo total de análise. Neste caso, considerando a largura do pico, seria considerado também o grau de separação por tempo de cada componente da amostra.

Blumberg e Klee (1999) apud Bicchi (2004)⁶⁹ também classificaram os diferentes tipos de CG com base na largura dos picos cromatográficos. Mais tarde, Magni *et al.* (2002) apud Bicchi (2004)⁶⁹ apresentaram uma definição mais detalhada, divergindo das anteriores. Segundo esta definição, outros fatores como as dimensões da coluna e a taxa de aquecimento também devem ser considerados para diferenciar as modalidades de CG. A Tabela 11 apresenta os detalhes da abordagem de Magni e colaboradores.

Segundo Sequinel *et al.* (2010)⁶⁴ embora o termo CG-R e os demais sejam usualmente encontrados na literatura, na verdade não há uma posição acadêmica consolidada a respeito das classificações acima apresentadas. Essas divergências permitem uma visão bastante subjetiva por parte dos usuários de cromatografia no momento de classificar o tipo de modalidade utilizada em seus trabalhos.

Tabela 11 – Principais parâmetros que caracterizam as modalidades de cromatografia gasosa segundo Magni *et al.*⁶⁹

<i>Classificação segundo Magni et al.</i> ⁶⁹	<i>CG-UR</i>	<i>CG-R</i>	<i>CG-CC*</i>	<i>CG-C</i>
Comprimento coluna / m	2 a 10	5 a 15	5	25 a 30
Diâmetro interno (d.i.) / mm	0,05 a 0,10	0,10 a 0,25	0,25	0,25 a 0,32
Tempo de análise / min	≤ 1	≤ 10	3 a 15	10 a 60
Taxa de aquecimento / °C/min	≥ 60	15 a 60	5 a 40	1 a 10
Largura pico / s	0,05 a 0,2	0,5 a 2	1 a 5	1 a 10

*Cromatografia gasosa com coluna curta.

Além dos parâmetros citados nesta tabela, em cromatografia gasosa a eficiência do processo de separação é influenciada por outros fatores, dentre os quais podemos citar: tempo de retenção, pressão do gás de arraste, complexidade da amostra, técnica de injeção, entre outros.^{70,71}

Leclercq e Cramers (1985)⁶⁶ partiram de uma série de deduções matemáticas para relacionar o tempo de análise em separações cromatográficas com os parâmetros anteriormente citados. Os autores conseguiram chegar a uma equação final do tempo de análise (Eq. 5) em CG tomando como ponto de partida a equação de pratos teóricos, de Golay-Giddings, e a equação de relação de fluxo, de Hagen-Poiseuille, ambas para colunas capilares.^{65,66}

$$t_R = (1 + k) N_{req}^{3/2} \frac{9}{8} \sqrt{3} F(k) \left[\frac{\eta}{p_o D_{m,o}} \right]^{1/2} d_c \quad \text{Eq. 5}$$

onde t_R é o tempo de retenção, k é o fator de retenção, F é dada em função do fator de retenção, n é a viscosidade dinâmica, p_o é a pressão na saída do sistema, $D_{m,o}$ é o coeficiente de difusão do soluto na fase móvel em relação à pressão na saída, d_c é o d.i. da coluna capilar. O número de pratos teóricos requeridos para a separação, N_{req} , é dado em função do fator de separação (α) de dois picos, em função do fator de retenção e principalmente em função da resolução (R_s) para um par crítico de componentes da amostra. De acordo com a equação, reduções significativas no tempo de análise podem ser obtidas, principalmente, com a utilização de colunas de dimensões reduzidas e com o aumento da pressão ou aplicação de vácuo na saída do sistema.^{65,66} Ainda com base nesta equação, há uma relação direta entre t_R e o termo referente à fase gasosa: $t_R \propto [n/p_o D_{m,o}]$. Este termo tem um valor mínimo para o hidrogênio, que apresenta menor viscosidade e maior coeficiente de difusão quando comparado (na mesma temperatura) com outros gases usualmente utilizados em CG, tais como hélio e nitrogênio. Além disso, um coeficiente de difusão relativamente alto confere ao hidrogênio um desempenho melhor do que os outros gases quando são utilizadas velocidades lineares maiores.^{58,66,72}

Os autores ainda estenderam seus estudos a respeito da redução do tempo de análise, propondo novas equações matemáticas. Segundo esses estudos, todas as deduções usadas até chegar às equações finais mostram uma complexa dependência do tempo de análise com a pressão de modo que, as condições ótimas para estas equações

são aproximadas, e assim, puramente matemáticas. Relações explícitas só poderiam ser obtidas sob condições extremas, quando as razões de pressão de entrada e saída do sistema forem muito baixas ou muito altas ou ainda quando a influência da fase estacionária for negligenciável.^{57,58}

O aumento de velocidade não necessariamente dependerá de substituição ou mesmo adaptação dos equipamentos convencionais de CG, mas nem sempre os equipamentos convencionais são compatíveis com a velocidade requerida. Para propor uma redução de duas a quatro vezes no tempo total necessário para realizar uma análise cromatográfica, a utilização de colunas de dimensões reduzidas acompanhada por simples alterações feitas em alguns parâmetros cromatográficos tais como aumento na taxa de aquecimento e otimização da velocidade do gás de arraste podem ser suficientes.

Colunas de dimensões reduzidas são fundamentais para a diminuição no tempo de análise e obtenção de cromatogramas bem resolvidos. Nesse sentido, a redução do comprimento da coluna consiste no primeiro passo em direção a separações rápidas. Entretanto, essa redução implica na diminuição do número de pratos teóricos e conseqüentemente em perda de eficiência de separação e resolução cromatográfica. Em contrapartida, a utilização de colunas com d.i. reduzido (*narrow bore columns*) proporciona aumento no número de pratos teóricos (N), gerando picos mais estreitos, com larguras inferiores a 0,2s, e surge como alternativa para compensar a perda de resolução em decorrência da diminuição do comprimento da coluna.^{58,60,65}

A variação do d.i. em uma coluna cromatográfica promove um balanço entre dois fatores: a eficiência da coluna (determinada pelo número de pratos teóricos - N) e a capacidade da coluna (relacionada à quantidade de amostra que pode acomodar a coluna sem causar distorção ou perda de resolução dos picos). A otimização de um destes fatores requer o sacrifício do outro, de modo que o balanço entre os dois vai depender das necessidades analíticas.^{73,63}

Nesse sentido, este trabalho propõe a variação de alguns dos parâmetros citados na Tabela 11, visando à diminuição do tempo de análise. Além destes parâmetros, foram testadas diferentes fases estacionárias e foi proposta a troca do gás de arraste de hélio para hidrogênio.

EXPERIMENTAL

Reagentes e soluções

Para preparação das soluções padrão, foram utilizados: Glicerol P.A. (Fmaia Indústria e Comércio Ltda. – ensaio de pureza: 99,5%); Metanol grau HPLC (J.T.Baker – ensaio de pureza: 100%). Os demais reagentes, utilizados no teste de interferentes, como acetona, etanol, n-butanol e isopropanol, foram comprado da Merck KgaA (Darmstadt, Alemanha). Na_2SO_4 anidro – pureza: 99,9%, usado como eletrólito foi comprado da J.T.Baker. A água desionizada foi obtida de sistema Milli-Q (Millipor, MA, USA).

Todas as soluções padrões utilizadas neste trabalho foram preparadas diretamente em glicerol puro, sendo que, as concentrações são dadas em termos de porcentagem mássica, %m/m:

- ✓ Solução estoque primaria (A) foi preparada de forma a obter uma concentração final em torno de 1,0% de metanol em glicerina.
- ✓ Solução estoque (B) foi preparada a partir da solução anterior, de forma a obter uma concentração de 0,1% de metanol em glicerina.
- ✓ Soluções de trabalho contendo metanol a 0,015% m/m em glicerina foram preparadas diariamente, em diferentes quantidades a partir das soluções anteriores, para utilização no estudo de otimização do método.

Para estudar a interferência da água na amostragem por HS, foram preparadas soluções de trabalho contendo 0,015% de metanol e varias quantidades de água num intervalo entre 0-13% (faixa de concentração de água usualmente encontrada nas amostras de glicerina provenientes de usinas de biodiesel).

Para estudar o efeito que a variação na concentração de sal (eletrólito) pode exercer no equilíbrio de HS foram preparadas soluções de glicerina contendo metanol 0,015% e 5% de água e diferentes concentrações de Na_2SO_4 (0-50% em relação à quantidade de amostra colocada no vial).

Equipamentos e materiais utilizados

- ✓ Balança Analítica Ohaus, série Adventure. Capacidade de pesagem: 210 g x 0,0001g.
- ✓ Agitador de tubos (vortex) marca Phoenix, modelo AP 56. Capacidade do motor de até 3800 rpm.
- ✓ Frascos âmbar de polietileno – 100 mL.
- ✓ Frascos de vidro para cromatografia (vial) com capacidade de 20 mL, com tampa seladora do tipo crimp.
- ✓ Micropipetas e pipetas descartáveis de Pasteur.
- ✓ Colunas cromatográficas utilizadas:
 - Rtx-1 (fase estacionária de 100% polidimetilsiloxano; 30 m x 0,32 mm x 3 μ m);
 - DB-Wax (f.e. polietilenoglicol; 10 m x 0,10 mm x 0,10 μ m);
 - ZB-5MS (f.e. 95% polidimetilsiloxano/5%polisil arileno; 10 m x 0,10 mm x 0,10 μ m);
 - DB-1MS (f.e. 100% polidimetilsiloxano; 20 m x 0,10 mm x 0,4 μ m)

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC 2010, equipado com injetor Split/Splitless e detector de ionização por chama (DIC) de alta frequência. O cromatógrafo é acoplado a um autoamostrador modelo AOC-5000, configurado para amostragem líquida e *headspace*. Toda a estação de trabalho é controlada pelo programa GCSolution versão 2.32.

Para atestar a seletividade do método foi utilizado um cromatógrafo a gás Perkin Elmer Clarus 500 GC acoplado a um detector de massas Clarus 500 MS, com analisador de quadrupolo, operado no modo de ionização por impacto de elétrons (70 eV), e faixa de scan de 15-300 *m/z*. Os espectros de fragmentação foram identificados pela Biblioteca Espectral Nist 08/2008.

Procedimento analítico CG-Convencional

As condições cromatográficas utilizadas neste trabalho foram injetor PTV e detector DIC em temperaturas de 300 °C. A programação de temperatura do forno foi

inicialmente de 50 °C por 3 min, seguido de rampa de aquecimento a 40 °C/min até a temperatura final de 250 °C, mantida por 2 min. A coluna analítica utilizada na CG-C foi a coluna Rtx-1 (fase estacionária de 100% polidimetilsiloxano; 30 m, 0,32 mm, 3 µm). Como gás de arraste foi utilizado Hélio, fluxo de 2,5 mL/min (velocidade linear constante de 40 cm/s). As condições de *headspace* foram 2 g de amostra (em vial de 20 mL), com temperatura de incubação de 60 °C por 15 min. Foram injetados 500 µL da amostra e das soluções padrões utilizadas, usando uma razão de divisão de fluxo na ordem de 1:50.

Procedimento CG-Rápida

Os testes em CG-R foram realizados utilizando colunas com dimensões reduzidas (comprimento x diâmetro interno) listadas anteriormente. Foram feitas comparações entre a utilização de hélio e hidrogênio como gás de arraste. Outros parâmetros, como temperatura inicial da coluna, velocidade linear do gás de arraste na coluna e taxa de divisão de fluxo também foram analisados.

Validação do método

O método proposto foi validado de acordo com diretrizes nacionais e internacionais de validação de procedimentos analíticos para avaliar a conformidade dos resultados obtidos. Os parâmetros de validação considerados foram: exatidão, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), seletividade, limite de detecção e quantificação, linearidade e robustez.⁷⁴

A curva analítica foi construída em dois intervalos, a partir de diluições apropriadas da solução estoque B, na faixa entre 0,0075-0,05% e na faixa entre 0,04-0,5%. Em cada um dos padrões da curva foram adicionadas alíquotas de água (5%) e a massa final foi completada com glicerol puro. As amostras que tinham teor de glicerol fora da faixa linear construída foram diluídas com glicerol puro antes de serem analisadas. As amostras GL e AM4 foram diluídas 5 vezes, as amostras GB, AM1, AM2 e AM6 foram diluídas 10 vezes e as amostras GBD, AM3 e AM5 foram analisadas sem qualquer diluição.

A exatidão foi verificada pelo método de adição e recuperação em 3 amostras de GB e uma amostra de GBD. As amostras foram fortificadas em 3 níveis de

concentração, em replicata, pela adição de 50, 100 e 150% do conteúdo de metanol encontrado nestas amostras. Considerando a alta viscosidade das amostras de glicerol e a alta volatilidade do metanol, a etapa de preparação destes níveis de fortificação foi bastante crítica para assegurar a confiança nos resultados. A adição direta de metanol puro nas amostras invariavelmente teve como consequência a perda do analito por volatilidade. Para evitar isso, as amostras foram fortificadas a partir da adição de alíquotas apropriadas da solução estoque A (contendo 1% m/m de metanol) e, a massa final foi completada até 50 g com a própria amostra e homogenizada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o que foi discutido no Capítulo I, a glicerina proveniente das usinas de biodiesel, também chamada glicerina bruta, tem elevados teores de água, metanol, além da presença de ácidos graxos livres (AGL), triacilgliceróis que não reagiram e resíduos de sais minerais, principalmente sais de potássio e sódio dependendo do catalisador utilizado na reação de transesterificação. Em alguns casos, a GB que sobra no processo de transesterificação passa por tratamento com ácido concentrado (geralmente ácido sulfúrico, fosfórico ou clorídrico) num procedimento chamado de “corte”, no qual a glicerina é separada dos triacilgliceróis e AGL a fim de ser comercializada como GL.

Este tratamento com ácido mineral deixa a glicerina com elevado teor de acidez mineral inviabilizando sua injeção direta no sistema cromatográfico. Na amostragem por HS somente os componentes voláteis, incluindo o metanol, são levados ao CG, evitando o acúmulo de sujeira no injetor e detector, preservando também a vida útil da coluna cromatográfica. Além disso, o procedimento de HS também contorna dificuldades associadas à alta viscosidade de algumas amostras de glicerina, que acabam por impedir a adoção de injeção líquida devido ao entupimento da agulha da seringa de injeção.

Desenvolvimento e otimização de método

Inicialmente, o método foi configurado para verificar a possibilidade de realizar a quantificação de metanol nas amostras de glicerina, segundo as condições experimentais determinadas pela EN 14110 “Fat and oil derivatives. Fatty acid methyl esters (FAME): Determination of methanol content.” Apesar de ser voltada para determinação de metanol em biodiesel, os primeiros testes com padrões foram bem sucedidos, até mesmo a confecção da curva analítica. Entretanto, ao aplicar o método nas amostras reais de glicerina os resultados não foram satisfatórios, havendo uma tendência sistemática de obtenção de resultados diferentes do esperado. Essa constatação foi feita quando da realização do estudo de adição e recuperação, na qual os valores de metanol adicionados tinham recuperações sistematicamente inferiores a 100%.

Os resultados obtidos apresentavam uma forte evidencia de efeito de matriz no procedimento de análise. As soluções padrões utilizadas no desenvolvimento e validação do método proposto foram preparadas pela adição de padrão de metanol em glicerol puro. Entretanto, não deve ser esquecido que a composição das amostras de GB, GL e GBD pode variar muito, especialmente no conteúdo de água. Este tipo de variação pode incorrer erros nos sistema HS, como será discutido em detalhes no estudo relacionado à interferência de água.

Apesar de verificada a impossibilidade de utilização da EN 14110, algumas condições cromatográficas propostas pela norma foram mantidas como a temperatura do forno, injetor e detector, bem como o tipo e a velocidade linear de gás de arraste utilizados. Deste modo, para resolver o problema de efeito de matriz, foram propostas apenas adaptações no sistema de HS.

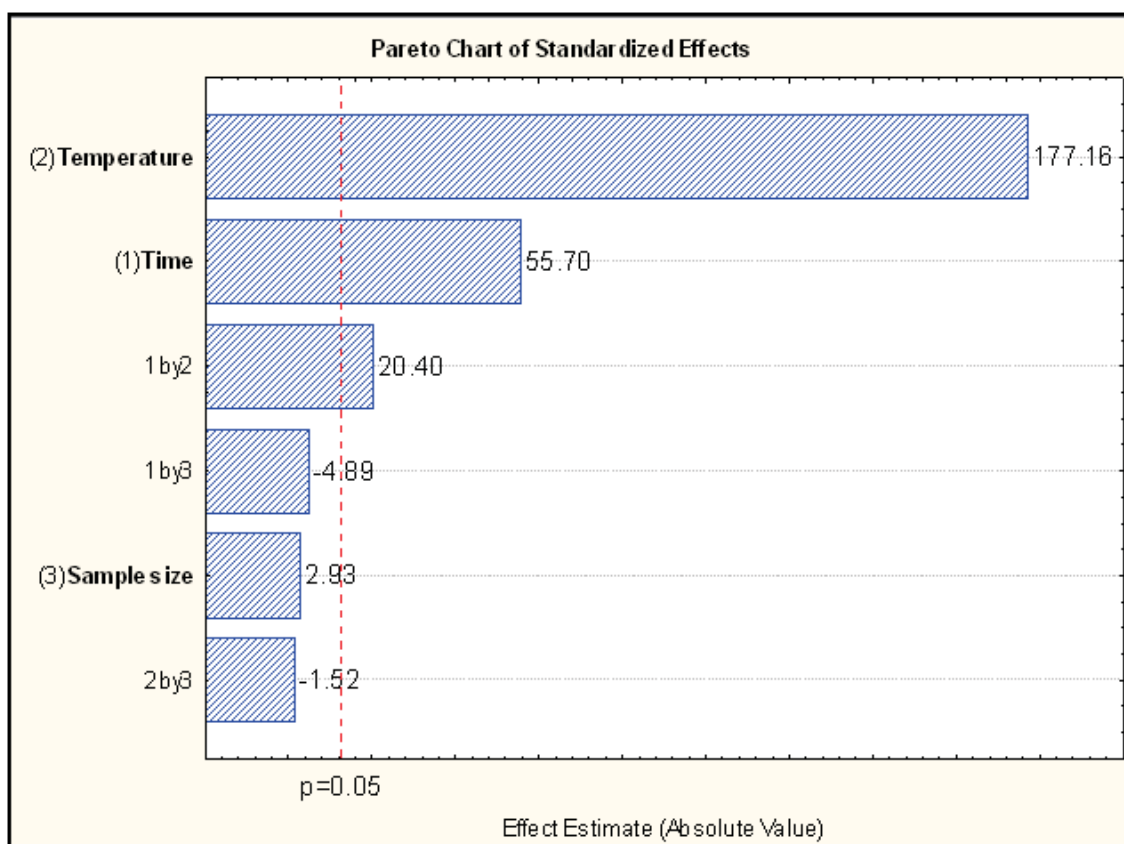
O procedimento de amostragem por HS requer aquecimento da amostra por um determinado período de tempo a fim de estabelecer um equilíbrio entre as fases condensada e vapor, de modo que a quantidade de analito a ser extraída da fase de vapor seja representativa de sua quantidade real na amostra. Neste sistema, há três parâmetros principais que podem ser ajustados para melhorar a sensibilidade da análise: a quantidade de amostra a ser adicionada no vial, a temperatura e o tempo de incubação para que o equilíbrio seja atingido. Num sistema de HS geralmente ha uma relação dependente entre estes três parâmetros, de modo que o efeito individual que cada um exerce na sensibilidade analítica pode ser influenciado pela interação entre os mesmos. Por este motivo a otimização do sistema de HS foi realizada de forma multivariada, possibilitando um estudo simultâneo do comportamento do sistema frente a variações realizadas nestes parâmetros. O rendimento da passagem do metanol para a fase de vapor foi determinado pela área do pico do metanol, obtida sob as condições cromatográficas descritas na parte experimental.

Na confecção da matriz experimental de otimização foi utilizado um planejamento fatorial completo multivariado (2^3), usando o programa matemático Statistica versão 8.0, em que as três variáveis foram estudadas em dois níveis. Os níveis estabelecidos para cada parâmetro foram baseados em experimentos preliminares realizados na fase de verificação da viabilidade do método proposto. A quantidade de amostra foi estudada nos níveis 1,5 g (menor nível) e 5 g (maior nível); a temperatura de incubação foi estudada nos níveis de 60 e 90 °C e, o tempo de incubação entre 5 e 20 min. Os resultados foram avaliados em função da área do pico do metanol. A

representação gráfica dos efeitos das variáveis bem como a magnitude da interação entre elas é ilustrada na Figura 12.

Considerando os intervalos estudados para cada parâmetro, os efeitos de maior magnitude, que exercem maior influência sobre a sensibilidade analítica, estão relacionados à temperatura e ao tempo de equilíbrio. A variável quantidade de amostra não apresentou diferença significativa entre os dois níveis estudados, indicando estar próxima de sua condição ideal. Portanto, 2 g de amostra foram utilizados em todos os experimentos subsequentes.

Figura 12 – Gráfico de Pareto ilustra o efeito normalizado que as variáveis individuais e as interações entre as variáveis podem exercer sobre a sensibilidade do sistema de HS proposto. Os efeitos significativos (a 95% de confiança) são indicados onde a barra horizontal excede a linha vertical tracejada. Os resultados foram avaliados em função da área do pico do metanol.



Nota: 1by2; 1by3 e 2by3 representam as interações entre os parâmetros 1 (tempo) e 2 (temperatura) estudados dentro deste planejamento.

Os efeitos exercidos pela temperatura e tempo de equilíbrio foram estudados de forma mais detalhada usando a ferramenta matemática de análise pela superfície de resposta. Neste estudo foi utilizado o programa matemático Minitab 13.0 para confecção da matriz experimental, na qual ambas as variáveis foram manipuladas em 5 níveis, com um ponto central (codificado como zero) e os demais pontos localizados em uma circunferência de raio 1,41 no espaço de uma superfície tridimensional.⁷⁵ Neste caso, a influência da temperatura foi avaliada no intervalo de 54 a 96 °C e do tempo de incubação entre 12 e 33 min, perfazendo um total de 12 experimentos, com três repetições no ponto central do modelo (75 °C x 23 min). Na Tabela 12 estão disponíveis as combinações utilizadas nestes experimentos, bem como os resultados avaliados em função da área do pico do metanol.

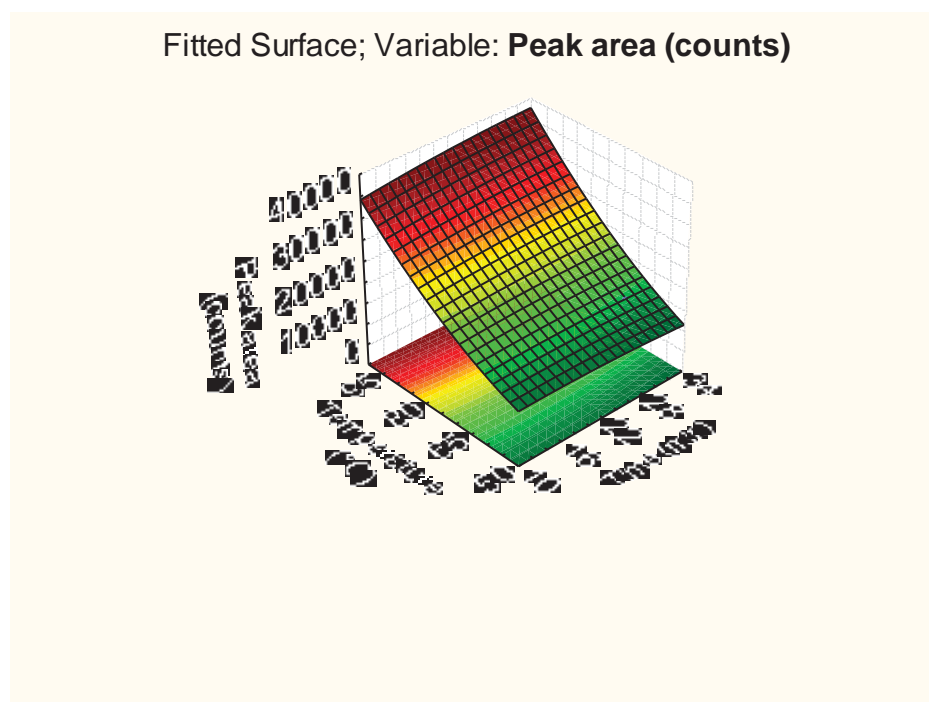
Tabela 12 – Matriz experimental usada na análise de superfície de resposta para estudar a influencia da temperatura e do tempo de equilíbrio na sensibilidade analítica do sistema de HS proposto.

Ordem de ensaio	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Área do pico do metanol (counts)			
			1	2	3	Media
1	23	75	18426	19789	18901	19038
2	23	96	34126	33526	33952	33868
3	33	75	19462	19522	18776	19253
4	23	54	9259	9205	9165	9210
5	15	60	12338	12718	12364	12473
6	30	90	29850	30050	30340	30080
7	12	75	18356	18681	18644	18560
8	15	90	30226	29409	29785	29807
9	30	60	12380	11976	12653	12336
10	23	75	19406	19189	18901	19165

Nota: na tabela consta apenas uma repetição no ponto central.

A superfície de resposta correspondente a estes valores foi obtida (Figura 13) usando o programa Statistica 8.0. O gráfico tridimensional obtido mostra uma tendência de que melhores resultados são obtidos em temperaturas mais elevadas. Por outro lado, apesar dos resultados obtidos a 60 °C apontarem para uma sensibilidade quase três vezes menor, os resultados subsequentes de validação do método mostram que nesta temperatura, a sensibilidade do sistema de HS proposto é suficiente para realizar a determinação de metanol, de forma precisa e exata. Não obstante, em temperaturas mais brandas, evita-se a injeção de componentes pouco voláteis no CG, como o próprio glicerol presente nas amostras ou outras impurezas que possam estar presentes. Por este motivo a temperatura foi fixada em 60 °C. Já a influência que o tempo de equilíbrio exerce na sensibilidade foi negligenciável considerando o intervalo estudado, como mostram os experimentos 5 e 9 da Tabela 12, para os quais a variação do tempo na mesma temperatura não modificou de forma significativa os resultados. Deste modo, o tempo de incubação foi fixado em 15 minutos nos demais experimentos.

Figura 13 – Gráfico tridimensional obtido a partir dos intervalos de temperatura e tempo de equilíbrio estudados na análise de superfície de resposta da etapa de otimização da amostragem por HS. Os resultados foram analisados em função da área do pico do metanol.



Depois de verificada a magnitude do efeito de cada variável no sistema de HS proposto, foram analisadas cinco soluções contendo o teor alvo de metanol em glicerina nas condições acima estabelecidas. Os resultados destes ensaios estão disponíveis na Tabela 13.

Tabela 13 – Resultados das análises de cinco soluções padrões de metanol 0,015% em glicerina sob as condições de HS estabelecidas na etapa de otimização.

Padrão	1	2	3	4	5	Média	DPR (%)
Área do pico do metanol (counts)	12114	11789	12328	11915	12056	12040	1,7

Os resultados foram bastante coerentes e com pequeno DPR. Entretanto, como fora anteriormente mencionado, as soluções utilizadas no desenvolvimento e otimização do método proposto foram preparadas pela adição de metanol padrão em glicerol puro. Entretanto, quando são analisadas amostras reais de glicerol proveniente de usinas de biodiesel outros fatores devem ser levados em consideração, de forma que a presença de outros componentes nestas amostras não deve ser negligenciada. Além do metanol, a glicerina bruta proveniente das usinas de biodiesel, pode conter uma quantidade significativa de água e outros componentes em sua composição média, que está disponível na Tabela 2.

Amostras com estas características, em que a composição em água e sal variam muito de uma amostra para outra, quando analisadas por HS, podem ocasionar problemas de interferência, visto que a pressão total no *headspace* é equivalente à soma das pressões parciais de todos os vapores (componentes voláteis) presentes na mistura.⁵⁰ Experiências práticas têm mostrado que, em geral, a influência de componentes voláteis presentes na matriz em quantidades menores do que 1% podem ser ignorados em termos de interferência na pressão total do *headspace*. Por outro lado, concentrações acima deste valor, tais como a presença de água nas amostras de glicerina (média de 0-8%), podem modificar de forma significativa a composição em vapor do *headspace*. Do mesmo modo, grandes variações na concentração de sais podem modificar a resposta do sistema devido ao efeito *salting out*.⁵⁰

Para estudar o comportamento do sistema HS proposto frente a esta variação na quantidade de água nas amostras de glicerina bruta, foram analisadas algumas soluções padrões contendo 0,015% de metanol e quantidades variadas de água numa faixa entre 0 e 12%. A influência da presença de água na determinação do metanol é mostrada na Tabela 14, onde nota-se um decréscimo na área do pico do metanol à medida que aumenta a quantidade de água.

Tabela 14 – Influencia da variação do teor de água na determinação de metanol em glicerol por HS-CG.

Ensaio	Teor de água (%)	Área do pico do metanol (counts)*	Recuperação (%)*
1	0	12754 (\pm 110)	100 [#]
2	1	12608 (\pm 69)	98.9 (\pm 0.2)
3	3	11782 (\pm 90)	92.4 (\pm 0.3)
4	6	11500 (\pm 107)	90.2 (\pm 0.9)
5	9	10781 (\pm 103)	84.5 (\pm 0.6)
6	12	10275 (\pm 63)	80.6 (\pm 0.3)

* Valores médios e desvio padrão para três replicas.

[#] Recuperação máxima considerando a ausência de qualquer quantidade significativa de água no *headspace*.

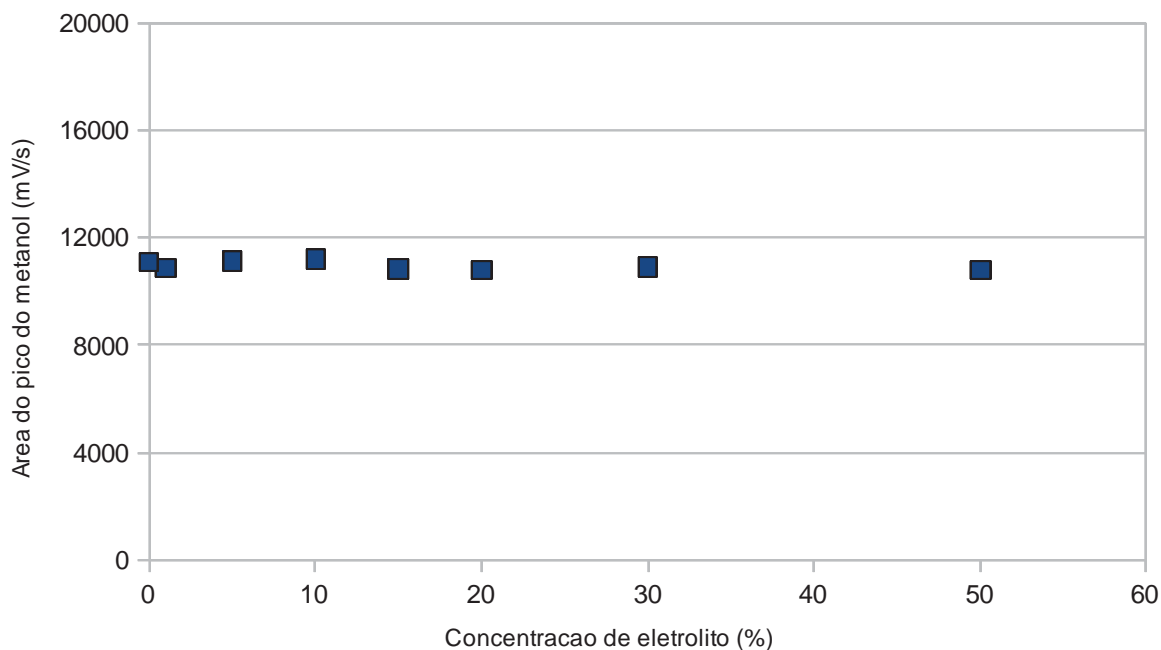
Como pode ser visto na Tabela 14, apesar da variação na quantidade de água mudar a composição do *headspace*, a magnitude de sua interferência foi mensurada e mostrou-se constante. Para minimizar este tipo de interferência, foram adicionados 5% de água em cada um dos padrões utilizados na construção da curva analítica com a finalidade de equilibrar as variações que podem ocorrer nas amostras. Algumas soluções padrão contendo água foram novamente analisadas e os valores de recuperação são mostrados na Tabela 15. Os resultados mostram que a interferência foi atenuada para uma faixa de concentração de água entre 0 e 12%, suficiente para cobrir a quantidade média de água usualmente encontrada nas amostras de glicerina bruta provenientes das usinas de biodiesel.

Tabela 15 – Determinação de metanol residual em amostras de glicerol preparadas com diferentes quantidades de água (numa faixa entre 0 e 12%). As concentrações de metanol encontradas foram determinadas usando a curva analítica construída com os padrões nos quais foram adicionados 5% de água.

Parâmetro	Padrão 1 0% de água	Padrão 2 1% de água	Padrão 3 5% de água	Padrão 4 12% de água
Metanol adicionado (%)	0,0153	0,0151	0,0151	0,0150
Metanol encontrado (%)	0,0166 ($\pm 0,0002$)	0,0163 ($\pm 0,0001$)	0,0153 ($\pm 0,0003$)	0,0135 ($\pm 0,0001$)
Recuperação (%)	108,7 ($\pm 1,0$)	107,7 ($\pm 0,9$)	101,4 ($\pm 1,2$)	90,3 ($\pm 0,6$)
DPR (%)	1,20	0,61	1,96	0,74

Outra variável testada foi a variação na quantidade de sais que podem estar presentes nas amostras de glicerina bruta. Neste estudo foram testadas concentrações de sais entre 0 e 50% em amostras de glicerina preparadas com 0,015% de metanol e 5% de água. Os resultados apresentados na forma de gráfico (Figura 14) mostram que não há alteração significativa no valor da área do pico do metanol.

Figura 14 – Estudo da relação entre a quantidade de eletrólito presente em soluções de glicerina contendo 0,015% de metanol e 5% de água e a área do pico do metanol. O eletrólito utilizado foi Na_2SO_4 anidro.



Como a interferência da água foi contornada e a variação da quantidade de sal não apresentou influência significativa nas medidas o próximo passo foi a validação do método proposto.

Validação do método

Seletividade

A seletividade foi avaliada na presença de alguns dos potenciais interferentes que podem vir a estar presentes em amostras de glicerol proveniente das usinas de biodiesel. Para isso foram testados alguns componentes com características próximas a do metanol, tais como: acetona, etanol, álcool isopropílico e 1-butanol. Não foi observada interferência, como coeluição, para estes componentes estudados, como mostra a Figura 15.

Foram ainda realizados testes de pureza de pico para confirmar que o pico analisado e atribuído a não mais que um componente a não ser o analito. Nestes testes

foram utilizadas as mesmas condições cromatográficas anteriormente descritas, mas com detector de espectrometria de massas. O espectro de massas obtido mostrou similaridade de 96,3%, quando comparado com a biblioteca NIST. Os fragmentos estão ilustrados na Figura 16.

Figura 15 – Cromatograma CG-DIC de uma amostra de glicerol em que foram adicionados alguns potenciais interferentes na concentração de 0,05% m/m. As condições cromatográficas utilizadas foram as mesmas descritas no procedimento experimental. Componentes: 1) metanol; 2) etanol; 3) acetona; 4) Álcool isopropílico; 5) 1-Butanol 6) Glicerol.

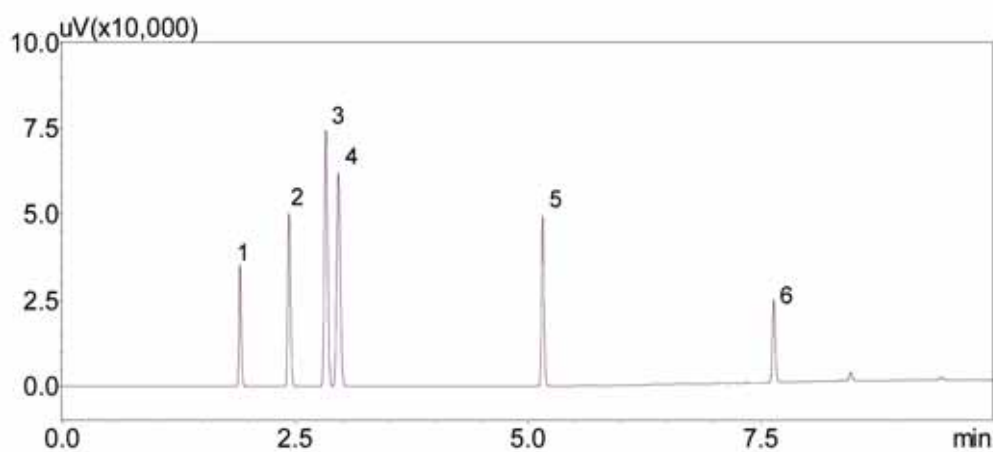
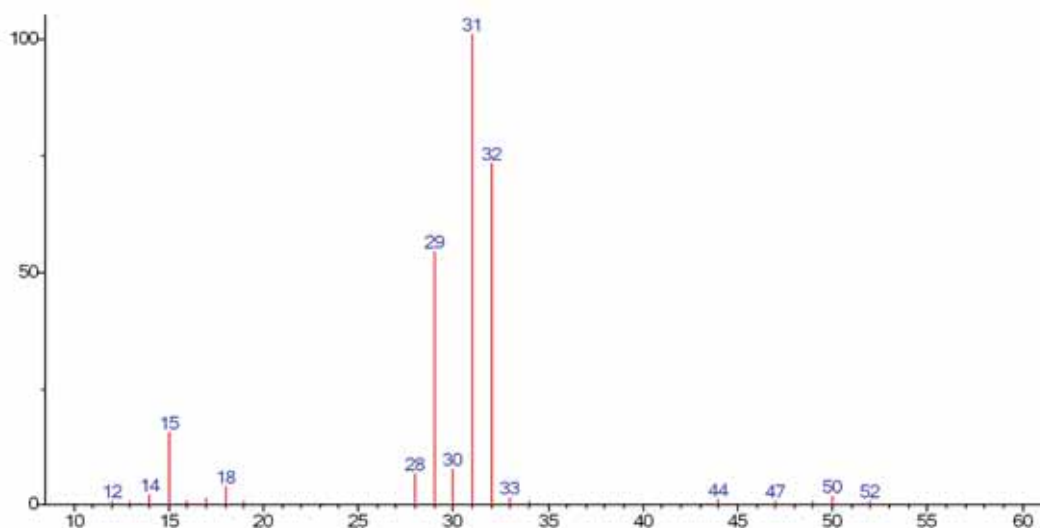


Figura 16 - Espectro de massas obtido do pico referente ao metanol, nas condições descritas no procedimento experimental.



Linearidade, LD e LQ

Devido à grande variação no teor de metanol das amostras, foram construídas duas curvas analíticas:

- ✓ A primeira relação linear foi observada na faixa entre 0,0075-0,050% com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9998. A equação de regressão encontrada para esta relação foi: $y = 780794,6 (\pm 3486,1)x - 9,485 (\pm 63,35)$. Os valores de desvio padrão relativo para todos os pontos da curva analítica não excederam 1,58%. O limite de detecção (LD) foi calculado tomando como base a relação sinal-ruído de 3:1. O valor obtido foi de 0,0012%. O limite de quantificação (LQ) foi determinado como sendo o primeiro ponto da curva analítica, 0,0075%, para o qual todos os parâmetros de linearidade, exatidão e precisão foram estabelecidos na construção da curva analítica.
- ✓ A segunda relação linear foi observada na faixa entre 0,040-0,50% com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9999. A equação de regressão encontrada para esta relação foi: $4400563 (\pm 5917,1)x - 1068,62 (\pm 593,2)$. Os valores de desvio padrão relativo para todos os pontos da curva analítica não excederam 0,97%. Os valores de LD e LQ foram calculados na curva anterior.

Para assegurar a linearidade também foram calculados os erros relativos, diferença entre os valores teóricos e os valores obtidos pelas curvas, para cada um dos pontos das curvas. Os valores foram sempre inferiores a 2,7% com distribuição totalmente aleatória para ambas as curvas.

Precisão e exatidão

A exatidão foi assegurada pelo método de adição de padrão em algumas amostras de glicerol provenientes de usinas de biodiesel e uma amostra de glicerol puro. Para cada uma das amostras foram realizadas 3 análises em 3 níveis de concentração. As amostras foram fortificadas pela adição de 0, 100 e 150% do conteúdo de metanol previamente encontrado. A Tabela 16 apresenta os níveis analisados para cada amostra, as concentrações encontradas e as respectivas recuperações. Como pode ser visto, os valores de recuperação estiveram na faixa de 90,3% a 108,7%.

A precisão do método desenvolvido foi verificada em termos de repetibilidade e precisão intermediária. Ambos os parâmetros foram determinados pelo DPR de 5 medidas a 100% do conteúdo alvo de metanol em glicerol. Neste caso, os valores para repetibilidade foram 1,6% e para precisão intermediária 3,1%.

Robustez

Como observado no estudo de otimização, pequenas variações na quantidade de amostra ou no tempo de equilíbrio tem efeito praticamente negligenciável nos resultados. Entretanto, a temperatura de incubação deve ser controlada, pois pequenas variações neste parâmetro podem afetar de forma significativa o equilíbrio do HS.

Tabela 16 - Resultados das análises e do estudo de adição e recuperação realizados em amostras de GB, GL e amostra de GBD.

Amostra	Água/ % m/m	Metanol (%)		
		Adicionado	Quantificado*	Recuperação
GBD	1,60	--	0,000	--
		0,015	0,0161	107,3
		0,023	0,0249	108,3
				$\mu=107,8$
AM3	3,05	--	0,0193	--
		0,019	0,0385	100,6
		0,027	0,0459	99,2
				$\mu=99,9$
AM2 [#]	12,77	--	1,3702	--
		1,370	2,9907	109,1
		2,055	3,7082	108,3
				$\mu=108,7$
GL [#]	13,46	--	0,4781	--
		0,478	0,9156	95,8
		0,715	1,1549	96,8
				$\mu=96,3$

Amostra de GL foi diluída 5 vezes e amostra AM2 diluída 10 vezes para realizar a quantificação de metanol dentro do intervalo das curvas analíticas.

* Média para 3 replicatas.

μ é a média de recuperação.

Considerações

O sistema foi otimizado pela adição de 5% de água em cada um dos padrões utilizados para confecção das curvas analíticas para compensar a interferência da água sem a necessidade de utilização de padrão interno, o que simplifica o método. Os resultados de precisão e exatidão são garantidos em amostras com até 12% de água. Amostras com teores de água acima de 13% devem ser diluídas para eliminar ou atenuar a interferência da água no HS, entretanto, a proporção de diluição deve ser calculada de

modo que a concentração de metanol possa estar dentro do limite de quantificação do método.

O método de CG-HS proposto é seletivo, preciso e exato na determinação de metanol residual tanto em amostras de glicerina bruta quanto amostras de glicerina pura. Até mesmo amostras de GB com elevado teor de impurezas, como materiais minerais (cinzas), água e pH ácido ou básico podem ser analisadas sem a necessidade de realização de qualquer pré tratamento. Essas considerações são evidenciadas quando considerada a alta viscosidade das amostras de glicerina e a alta volatilidade do metanol, o que acaba dificultando as etapas de manipulação da amostra.

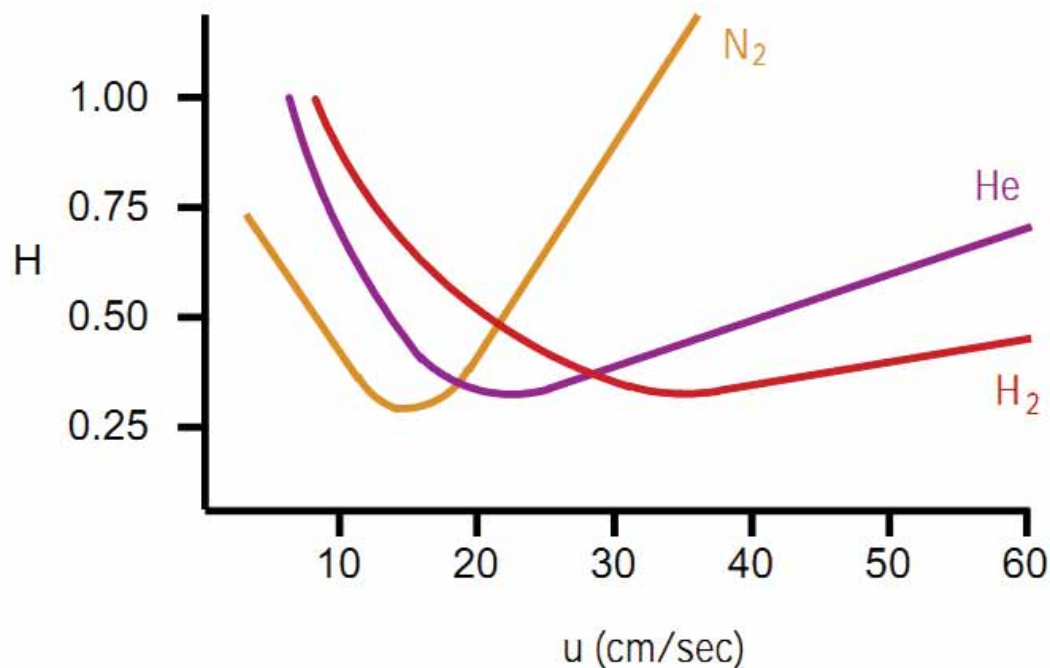
Ensaio em Cromatografia Gasosa Rápida

Depois de finalizado o estudo de validação do método desenvolvido, foram propostas algumas variações de configuração visando à diminuição do tempo de análise. A redução do tempo de análise depende diretamente da redução das dimensões da coluna analítica convencional. Neste caso foram testadas duas colunas diferentes:

- ZB-5MS (f.e. 95% polidimetilsiloxano/5%polisil arileno; 10 m x 0,10 mm x 0,10 μm);
- DB-1MS (f.e. 100% polidimetilsiloxano; 20 m x 0,10 mm x 0,4 μm)

Além da mudança nas dimensões da coluna cromatográfica, foram propostas variações utilizando hélio e hidrogênio como gás de arraste. De acordo com o que foi discutido na Eq. 5, a redução do tempo de análise tem relação direta com a viscosidade e coeficiente de difusão do gás de arraste utilizado. Um coeficiente de difusão relativamente alto confere ao gás de arraste um desempenho melhor quando são utilizadas velocidades lineares (v) maiores, conforme mostra a Figura 17. Nesse sentido, o hidrogênio apresenta menor viscosidade e maior coeficiente de difusão quando comparado com hélio e, mesmo em velocidades lineares maiores contribui muito pouco para o aumento da altura de um prato teórico e conseqüentemente gera maior número de pratos (N) numa mesma separação.^{58,66,72}

Figura 17 – Contribuição exercida pela relação viscosidade e coeficiente de difusão dos gases, em diferentes velocidades lineares, sobre a altura de um prato teórico.



Resultados dos ensaios realizados com a coluna convencional

Para fins de comparação, foram realizados alguns ensaios aumentando a velocidade linear do gás de arraste e utilizando a coluna Rtx-1 empregada no método convencional anteriormente validado. Os resultados apresentados nas Tabela 17 e Tabela 18, foram avaliados em função do cromatograma de separação obtido da análise de uma solução padrão contendo metanol, etanol e acetona em glicerina. O etanol e a acetona foram adicionados por serem considerados os componentes mais próximos ao pico do metanol no método convencional anteriormente desenvolvido. Deste modo, obtendo a separação entre estes três componentes, garante-se a seletividade da separação dos demais componentes em relação ao metanol.

Os resultados mostram que o aumento da velocidade linear do gás de arraste tanto no caso do hélio, quanto no caso do hidrogênio, contribuem muito pouco para a diminuição do tempo de análise. Esse fato comprova que reduções mais significativas envolvem necessariamente a redução das dimensões da coluna. Ainda com relação às Tabelas 17 e 18, é observada menor largura do pico do metanol quando é utilizado hidrogênio como gás de arraste. Isso ocorre devido ao maior coeficiente de difusão

deste em relação ao hélio. Na Tabela 17, em destaque a condição 1, que é a condição utilizada no método convencional.

Tabela 17 – Resultados das análises em cinco condições de separação, para uma mistura contendo metanol, etanol e acetona em glicerina, testadas na coluna Rtx-1 utilizando hélio como gás de arraste.

	Split	v/ cm/s	T _i C/ °C	t _R	Área	N	Largura do pico/ s
1*	100	40	50	1.970	3996268	15.838.132	0,388
2	100	43	50	1.753	3884614	26.699.894	0,266
3	100	52	50	1.500	3631889	10.324.053	0,490
4	100	56	50	1.404	3539288	16.375.560	0,336
5	100	60	50	1.290	2466976	16.433.732	0,335

T_iC: temperatura inicial da coluna.

* Condição utilizada no método convencional, previamente desenvolvido e validado, utilizando a coluna Rtx-1 e hélio como gás de arraste.

Tabela 18 – Resultados das análises em cinco condições de separação, para uma mistura contendo metanol, etanol e acetona em glicerina, testadas na coluna Rtx-1 utilizando hidrogênio como gás de arraste.

	Split	v/ cm/s	T _i C/ °C	t _R	Área	N	Largura do pico/ s
1	100	36	50	2.171	77794,8	31.736.827	0,164
2	100	40	50	1.987	97160,6	32.509.773	0,164
3	100	46	50	1.700	114971,8	28.613.764	0,177
4	100	56	50	1.408	66953,6	23.859.142	0,131
5	100	63	50	1.240	44748,8	18.927.455	0,173

Resultados dos ensaios realizados com a coluna ZB-5MS

Como pode ser observado na Tabela 19, com a utilização da coluna ZB-5MS (10 m x 0,10 mm x 0,10 µm) as reduções de tempo de análise foram mais significativas. Entretanto, o aumento da velocidade linear do gás de arraste, apesar de aumentar a área do pico do metanol, proporciona diminuição do N da separação. Essa diminuição era

esperada, todavia, o decréscimo do N, neste caso, resultou na coeluição do metanol com o etanol. Além disso, a obtenção de picos com largura acima de 0,2 s passa a ser indesejável em separações rápidas. Assim, as dimensões da coluna testada, utilizando hélio como gás de arraste não proporciona uma separação desejável para estes componentes que podem usualmente estar presentes em amostras de glicerina provenientes de usinas de biodiesel.

Tabela 19 – Resultados das análises em quatro condições de separação, para uma mistura contendo metanol, etanol e acetona em glicerina, testadas na coluna ZB-5MS utilizando hélio como gás de arraste.

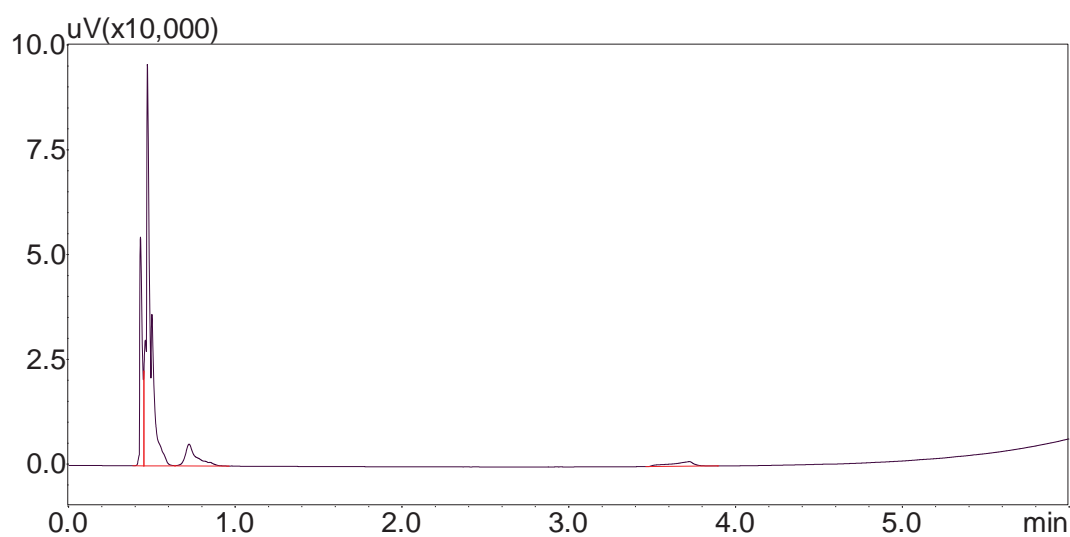
	Split	v_f cm/s	T_fC / °C	t_R	Área	N	Largura do pico/ s
1	100	30	40	0,744	216152,8	3330232	0,289
2	100	30	60	0,681	298603,5	3841996	0,219
3	100	60	40	0,498	486958,0	1455515	0,275
4	100	60	60	0,444	321752,6	1819071	0,210

Nos ensaios realizados com hidrogênio como gás de arraste, novamente foi observado coeluição entre os picos do metanol, etanol e acetona. Mesmo no caso do ensaio número 4 (Tabela 20) em que houve início de separação entre os picos, com a observação de largura de pico de 0,107 segundos para o metanol, a resolução esteve bastante fora do limite satisfatório para realizar a identificação e quantificação inequívoca dos picos presentes no cromatograma, como pode ser observado na Figura 18. Neste caso, apesar da redução significativa no t_R do metanol, foi observado que nenhuma das condições testadas possibilita a separação entre os componentes analisados.

Tabela 20 – Resultados das análises em quatro condições de separação, para uma mistura contendo metanol, etanol e acetona em glicerina, testadas na coluna ZB-5MS utilizando hidrogênio como gás de arraste.

	Split	v' cm/s	$T_iC/$ °C	t_R	Área	N	Largura do pico/ s
1	100	55	40	0,462	309542,2	1427911	0,247
2	100	55	60	0,341	246841,2	992801	0,149
3	100	75	40	0,321	655643,5	651341	0,182
4	100	75	60	0,312	352434,8	483163	0,107

Figura 18 – Cromatograma obtido da análise da mistura de metanol, etanol e acetona em glicerina, utilizando coluna ZB5-MS (10 m x 0,10 mm x 0,10 μ m) e hidrogênio como gás de arraste a 75 cm/s.



Resultados dos ensaios realizados com a coluna DB-1MS

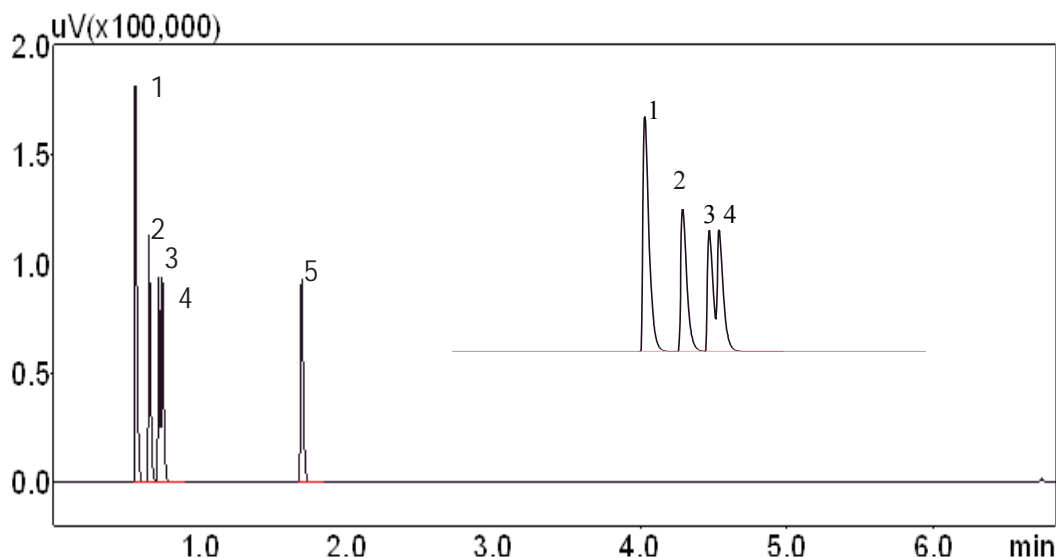
Como não foi possível obter a separação entre metanol, etanol e acetona utilizando uma coluna de 10 m foram realizados novos ensaios agora com a coluna DB-1MS (20 m x 0,10 mm x 0,4 μ m). Os resultados obtidos estão disponíveis na Tabela 21.

Tabela 21 – Resultados das análises em sete condições de separação, para uma mistura contendo metanol, etanol e acetona em glicerina, testadas na coluna DB-1MS utilizando hidrogênio como gás de arraste.

	Split	v / cm/s	T_iC / °C	t_R	Área	N	Largura do pico/ s
1	100	43	50	0,983	100091	16129469	0,140
2	100	52	50	0,809	118514	12720097	0,154
3	100	56	50	0,755	135934	11578054	0,140
4	100	60	50	0,706	135684	10167967	0,126
5	100	63	50	0,668	154940	9104707	0,103
6	100	70	50	0,606	179434	7905165	0,112
7	100	76	50	0,559	190376	6786095	0,118

A melhor condição de separação foi obtida no ensaio 5, com utilização de hidrogênio a 63 cm/s, com área do pico do metanol de 154940 e largura do pico em torno de 0,1 s. À medida que aumenta a v do gás de arraste há diminuição do t_R do analito na coluna e, conseqüentemente, ocorre a diminuição sistemática do N da separação. Entretanto, ao contrário da coluna ZB5-MS (10 m x 0,10 mm x 0,10 μ m), neste caso essa diminuição não comprometeu a resolução cromatográfica. A Figura 19 mostra que o N foi diminuído para um valor suficiente de modo a proporcionar uma redução significativa no tempo de análise sem, no entanto, comprometer a resolução entre os picos do metanol e etanol, que neste caso foi 4,058.

Figura 19 – Cromatograma obtido da análise da mistura de metanol, etanol, acetona, isopropanol e butanol em glicerina, utilizando coluna DB-1MS (20 m x 0,10 mm x 0,4 μ m) e hidrogênio como gás de arraste a 63 cm/s. 1) Metanol; 2) Etanol; 3) Acetona; 4) *Iso*-propanol e 5) 1-Butanol.



Considerações

As configurações finais desta separação foram as seguintes: injetor PTV e detector DIC em temperaturas de 300 °C. A programação de temperatura do forno foi inicialmente de 50 °C por 1 min, seguido de rampa de aquecimento a 60 °C/min até a temperatura final de 250 °C, mantida por 2 min. O gás de arraste foi hidrogênio, numa velocidade linear de 63 cm/s (1,0 mL/min) e taxa de divisão de fluxo (split) 1:100. As condições do HS foram mantidas iguais ao do método convencional anteriormente desenvolvido.

Nestas condições o t_R do metanol foi de 0,668 s ao passo que na separação convencional o tempo foi de 1,970 s. Já o tempo total de análise caiu de 10 minutos para 7 minutos, uma redução de 30%. Novos ensaios ainda seriam realizados para estudar a utilização de hélio como arraste de gás nesta coluna. Todavia, durante a etapa final de testes houve problema com o cromatógrafo, sendo impossível também confeccionar a curva analítica e aplicação deste novo procedimento nas amostras reais. As complementações desta etapa relacionada à diminuição do tempo de análise ficam em aberto para posterior conclusão e divulgação dos resultados.

CONCLUSÃO FINAL

Os detalhes da caracterização físico química realizada neste trabalho mostram que a composição das amostras de glicerina provenientes do processo de produção do biodiesel varia bastante. Essa variação pode ser observada em decorrência do próprio processo de transesterificação, ou mesmo em decorrência de tratamentos a que são submetidas as amostras de glicerina na tentativa de aumentar o teor de glicerol – que confere maior valor de mercado para o produto. Essas variações de composição físico química ainda dificultam o estabelecimento de um padrão de qualidade para este que é o principal coproduto do processo de produção de biodiesel. O grau de purificação da glicerina vai depender da aplicação a que esta se destina, sendo que, é possível obter amostras com grau de pureza acima de 99%, a partir de processos de tratamento avançados.

Além do teor de glicerol, merece destaque a determinação do teor de metanol nestas amostras em virtude da toxicidade do metanol. Neste ponto, o método desenvolvido, baseado na amostragem por HS e separação por CG, mostrou ser seletivo, preciso e exato. Os problemas relacionados complexidade das amostras, devido à variação na quantidade de água foram suprimidos com o acréscimo de água nos padrões da curva analítica. Por fim, os ensaios complementares realizados na tentativa de diminuir o tempo de análise apresentaram resultados satisfatórios somente quando hidrogênio foi usado como gás de arraste na coluna DB-1MS (20 m x 0,10 mm x 0,4 μ m), que apresenta dimensões reduzidas quando comparada com a convencional.

REFERENCIAS

1 BRASIL. Presidencia da República. Casa Civil. Lei n° 11.097. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis n° 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 14 jan. 2005.

Disponível em:

<http://www.biodieselbrasil.com.br/legislacao/lei11097_13jan2005.pdf> Acesso em: 10 out. 2010

2 BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Conselho Nacional de Política Energética. Resolução n° 6. Estabelece em cinco por cento, em volume, o percentual mínimo obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor final, de acordo com o disposto no art. 2° da Lei n° 11.097, de 13 de janeiro de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 set. 2009. Disponível em:

<http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/folder_resolucoes/resolucoes_cnpe/2009/rcnpe%206%20-%202009.xml>. Acesso em: 10 out. 2010

3 FLUMIGNAN, D. L. et al. Avanços brasileiros no desenvolvimento de normas técnicas analíticas para certificação e controle de qualidade de biodiesel. In: LEMOS, E. G. M.; STRADIOTTO, N. (Org). **Bioenergia**: desenvolvimento, pesquisa e inovação. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2012. Cap. 25, p. 889-943.

4 AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Consumo aparente de combustíveis no Brasil cresceu 6,1% na comparação entre 2011 e 2012**. Disponível em:

<<http://www.anp.gov.br/?pg=64653&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1363969098067>>. Acesso em: 22 mar. 2013.

5 CURITIBA. Prefeitura Municipal. **Experiência de Curitiba incentiva desenvolvimento do biodiesel no país**. 17 abr. 2012. Disponível em:

<<http://www.biodieselbr.com/noticias/meioambiente/cidade/experiencia-curitiba-incentiva-biodiesel-170412.htm>>. Acesso em: 04 jan. 2012.

6 CURITIBA. Prefeitura Municipal. Urbanização de Curitiba S/A. **Sustentabilidade**.

Disponível em: <<http://www.urbs.curitiba.pr.gov.br/comunidade/sustentabilidade>>.

Acesso em: 04 jan. 2013.

7 AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E

BIOCOMBUSTÍVEIS. **Boletim mensal do biodiesel, 2012**. Disponível em:

<<http://www.anp.gov.br/?pg=63306&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1357231626174>>. Acesso em: 03 jan. 2013.

8 RODRIGUES, F. Risco de afogamento: puxado por uma produção de biodiesel que não pára de crescer, o volume de glicerina vai transbordando dos tanques de uma indústria que ainda tenta ignorar o problema. **Biodieselbr**, n. 16, p. 32-40, abr./maio 2010.

9 SUAREZ, P. Uso de glicerina como combustível. **Biodieselbr**, n. 32, p. 11, jan. 2013.

- 10 MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A. D.; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 639-648, 2009.
- 11 NICROM QUÍMICA LTDA. **FISPO**: glicerina bidestilada. Disponível em: <<http://www.nicromquimica.com.br/down/Glicerina%20Branca%20Bi-destilada.pdf>>. Acesso em: 11 fev. 2013.
- 12 SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R. M. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 9, n. 3, p. 199-210, 1998.
- 13 KNOTHE, G. et al. **Manual do biodiesel**. São Paulo: Edgard Blücher, 2006.
- 14 QUINTELLA, C. M. et al. Cadeia do biodiesel da bancada à indústria: uma visão geral com prospecção de tarefas e oportunidades para P&D&I. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 793-808, 2009.
- 15 GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**, v. 86, n. 10, p. 1097-1107, 2005.
- 16 ABREU, C. A. M. D. Produção de biodiesel a partir de gordura animal. In: SEMINÁRIO BIOENERGIA: DESAFIOS E OPORTUNIDADES DE NEGÓCIOS, 2., 2010, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: CNRB/USP, 2010. Disponível em: <<http://cenbio.iee.usp.br/download/documentos/2seminbioenergia/cesarabreu.pdf>>. Acesso em: 02 abr 2011.
- 17 PAGLIARO, M. et al. Recent advances in the conversion of bioglycerol into value-added products. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, n. 8, p. 788-799, 2009.
- 18 DEMIRBAS, A. Current technologies in biodiesel production. In: _____. **Biodiesel: a realistic fuel alternative to diesel engines**. Trabzon: Springer, 2008. Cap. 7, p. 161-173.
- 19 SANTORI, G. et al. A review analyzing the industrial biodiesel production practice starting from vegetable oil refining. **Applied Energy**, v. 92, p. 109-132, 2012.
- 20 MEYER, P. et al. Anaerobic fermentation of crude glycerol to produce value-added products. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 27, n. 4, p. 655-662, 2011.
- 21 FRANCO, C. Loira fatal. **Biodieselbr**, n. 29, p. 34-39, jun./jul. 2012.
- 22 ANGER, S. et al. Development of a porous burner unit for glycerine utilization from biodiesel production by supercritical water reforming. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 13, p. 7877-7883, 2011.
- 23 COSTENARO, H. S. **Hidrólise ácida e retirada de sais da glicerina bruta proveniente da produção de biodiesel**. 2009. 135 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

- 24 SILVA, C. X. A. da; GONCALVES, V. L. C.; MOTA, C. J. A. Water-tolerant zeolite catalyst for the acetalisation of glycerol. **Green Chemistry**, v. 11, n. 1, p. 38-41, 2009.
- 25 PALKOVITS, R. et al. Highly active catalysts for the telomerization of crude glycerol with 1,3-butadiene. **ChemSusChem**, v. 1, n. 3, p. 193-196, 2008.
- 26 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 16048**: biodiesel: determinação da aparência. Rio de Janeiro, 2012. 7 p.
- 27 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **D6304**: standard test method for determination of water in petroleum products, lubricating oils, and additives by coulometric Karl Fischer titration. West Conshohocken, 2007. 6 p.
- 28 BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 531-537, 2006.
- 29 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6294**: óleos lubrificantes e aditivos: determinação de cinza sulfatada. Rio de Janeiro, 2008. 8 p.
- 30 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **D7637**: standard test method for determination of glycerin assay by titration (sodium metaperiodate). West Conshohocken, 2010. 4 p.
- 31 HARRIS, D. C. Equilíbrio ácido-base monoprotico. In: HARRIS, D. C. (Ed.). **Análise química quantitativa**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. Cap. 9, p.188.
- 32 ROBERGS, R.; GRIFFIN, S. Glycerol. **Sports Medicine**, v. 26, n. 3, p. 145-167, 1998.
- 33 HENN, J. D.; ZANIN, A. **O agronegócio do biodiesel**: potencialidades e limitações da utilização da glicerina (co-produto) na alimentação de suínos e de aves. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/13/788.pdf>>. Acesso em: 04 jul. 2010.
- 34 MENTEN, J. F. M.; ZAVARIZE, K. C.; SILVA, C. L. S. **Glicerol na alimentação animal**. Disponível em: <http://www.agrolink.com.br/downloads/glicerol_2009-03-13.pdf>. Acesso em: 05 out. 2010.
- 35 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Fiscalização de Insumos Pecuários. **Ministério da agricultura autoriza novo uso para a glicerina**. Disponível em: <<http://www.cempeqc.iq.unesp.br/noticias3.html>>. Acesso em: 30 jul. 2011.
- 36 SIMON, A.; SCHWABE, M.; BERGNER, H. Glycerineinsatz in broilerrationen mit niedrigem rohproteingehalt. **Archiv für Tierernährung**, v. 50, n. 3, p. 271-282, 1997.
- 37 LAMMERS, P. J. et al. Growth performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of growing pigs fed crude glycerin-supplemented diets. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 11, p. 2962-2970, 2008.

- 38 DOZIER, W. A. et al. Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. **Poultry Science**, v. 87, n. 2, p. 317-322, 2008.
- 39 KERR, B. J. et al. Digestible and metabolizable energy content of crude glycerin originating from different sources in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 12, p. 4042-4049, 2009.
- 40 GUNN, P. J. et al. Effects of crude glycerin on performance and carcass characteristics of finishing wether lambs. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 5, p. 1771-1776, 2010.
- 41 MENDOZA, O. F. et al. Metabolizable energy content of refined glycerin and its effects on growth performance and carcass and pork quality characteristics of finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 12, p. 3887-3895, 2010.
- 42 BERENCHTEIN, B. et al. Utilização de glicerol na dieta de suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 1491-1496, 2010.
- 43 SILVA, C. L. S. et al. Glycerine derived from biodiesel production as a feedstuff for broiler diets. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 14, p. 193-202, 2012.
- 44 MEDINSKY, M. A.; DORMAN, D. C. Recent developments in methanol toxicity. **Toxicology Letters**, v. 82-83, p. 707-711, 1995.
- 45 KLEIN, O. **Biodiesel**: reflexos positivos para alimentação animal. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/noticias/usinas/glicerina/biodiesel-reflexos-alimentacao-animal-220113.htm>>. Acesso em: 22 fev. 2013.
- 46 MOREIRA, I.; PIANO, L. M. **Glicerina semipurificada na alimentação de suínos**. Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MASuinoicultura/nutricao/artigos/glicerina-semipurificada-alimentacao-suinos-t702/141-p0.htm>>. Acesso em: 22 fev. 2011.
- 47 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **D7716 - 11a**: new test method for determination of residual methanol in glycerin by gas chromatography. West Conshohocken, 2011. 4 p.
- 48 THOMPSON, J. C.; HE, B. B. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 22, n. 2, p. 261-265, 2006.
- 49 WANG, Y.; McCAFFREY, J.; NORWOOD, D. L. Recent advances in headspace gas chromatography. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 31, n. 11-12, p. 1823-1851, 2008.
- 50 KOLB, B.; ETTRE, L. S. **Static headspace-gas chromatography**: theory and practice. 2nd. New York: John Wiley & Sons, 2006.
- 51 HINSHAW, J. V. Headspace sampling. **LCGC Europe**, n. 24, p. 538-547, 2011.

- 52 PLUTOWSKA, B. et al. A headspace solid-phase microextraction method development and its application in the determination of volatiles in honeys by gas chromatography. **Food Chemistry**, n. 126, p. 1288-1298, 2011.
- 53 MICHULEC, M.; KONIECZKA, P.; NAMIESNIK, J. Validation of the HS-GC-FID method for the determination of ethanol residue in tablets. **Accreditation and Quality Assurance**, n. 12, p. 257-262, 2007.
- 54 DANDENEAU, R.; HAWKES, S. Gas chromatography on 10 μ m silica particles. **Chromatographia**, v. 13, n. 11, p. 686-692, 1980.
- 55 JONKER, R. J.; POPPE, H.; HUBER, J. F. K. Improvement of speed of separation in packed column gas chromatography. **Analytical Chemistry**, n. 54, p. 2447-2456, 1982.
- 56 LEWIS, D. A.; VOUIROS, P.; KARGER, B. L. High efficiency microbore GC columns using porous bead supports. **Chromatographia**, v. 15, n. 2, p. 117-124, 1982.
- 57 CRAMERS, C. A. et al. High-speed gas chromatography: an overview of various concepts. **Journal of Chromatography A**, v. 856, n. 1/2, p. 315-329, 1999.
- 58 CRAMERS, C. A.; LECLERCQ, P. A. Strategies for speed optimisation in gas chromatography: an overview. **Journal of Chromatography A**, v. 842, n. 1/2, p. 3-13, 1999.
- 59 PEREIRA, A. D. S.; AQUINO NETO, F. R. D. Estado da arte da cromatografia gasosa de alta resolução e alta temperatura. **Química Nova**, v. 23, n. 3, p. 370-379, 2000.
- 60 MATISOVÁ, E.; DÖMÖTÖROVÁ, M. Fast gas chromatography and its use in trace analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, n. 1/2, p. 199-221, 2003.
- 61 GASPAR, G.; VIDAL-MADJAR, C.; GUIOCHON, G. Fast analysis by gas chromatography. **Chromatographia**, v. 15, n. 2, p. 125-132, 1982.
- 62 ETTRE, L. S. Gas chromatography: past, present, and future. **LCGC Magazine**, n. 19, p. 120-123, 2001.
- 63 HINSHAW, J. V. How fast is fast enough? **LCGC Magazine**, n. 19, p. 170-177, 2001.
- 64 SEQUINEL, R. et al. Cromatografia gasosa ultrarrápida: uma visão geral sobre parâmetros, instrumentação e aplicações. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2226-2232, 2010.
- 65 KORYTÁR, P. et al. Practical fast gas chromatography: methods, instrumentation and applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 9/10, p. 558-572, 2002.
- 66 LECLERCQ, P. A.; CRAMERS, C. A. Optimum performance of capillary GC columns as a function of tube diameter and film thickness under various operating conditions. Computer program for calculation of H- \bar{u} curves and minimum analysis times. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 8, n. 11, p. 764-771, 1985.

- 67 DAGAN, S.; AMIRAV, A. Fast, very fast, and ultra-fast gas chromatography-mass spectrometry of thermally labile steroids, carbamates, and drugs in supersonic molecular beams. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 7, n. 8, p. 737-752, 1996.
- 68 VAN DEURSEN, M. M. et al. Evaluation of time-of-flight mass spectrometric detection for fast gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 878, n. 2, p. 205-213, 2000.
- 69 BICCHI, C. et al. Direct resistively heated column gas chromatography (Ultrafast module-GC) for high-speed analysis of essential oils of differing complexities. **Journal of Chromatography A**, v. 1024, n. 1/2, p. 195-207, 2004.
- 70 LANÇAS, F. M. **Cromatografia gasosa**. São Carlos: Acta, 1993.
- 71 COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Ed. UNICAMP, 2006.
- 72 HINSHAW, J. Frequently asked questions about hydrogen carrier gas. **LCGC North America**, 01 nov. 2008. Disponível em:
<<http://www.chromatographyonline.com/lcgc/article/articleDetail.jsp?id=564647>>. Acesso em: 20 fev. 2013.
- 73 LECLERCQ, P. A.; CRAMERS, C. A. High-speed GC-MS. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 17, n. 1, p. 37-49, 1998.
- 74 EUROPEAN MEDICINE AGENCY. **CPMP/ICH/381/95**: validation of analytical procedures: definitions and methodology. London, 1995. 15 p.
- 75 JEFF WU, C. F.; HAMADA, M. **Experiments**: planning, analysis and parameter design optimization. New York: John Wiley & Sons, 2000.