

DANIELA POTT MARINHO BALLOTTIN

Desenvolvimento de um método para a determinação de acilgliceróis em Biodiesel utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção eletroquímica.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

Araraquara
2011

FICHA CATALOGRÁFICA

B193d Ballottin, Daniela Pott Marinho
Desenvolvimento de um método para a determinação de
acilgliceróis em biodiesel utilizando cromatografia líquida de alta
eficiência com detecção eletroquímica. / Daniela Pott Marinho
Ballottin. - Araraquara : [s.n], 2011
93 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto
de Química
Orientador: Nelson Ramos Stradiotto

1. Eletroquímica. 2. Voltametria AC. 3. Adsorção. I. Título.

Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

DANIELA POTT MARINHO BALOTIM

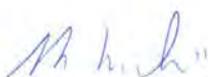
Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 17 de fevereiro de 2011.

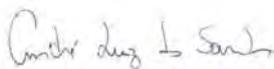
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Marcelo Firmino de Oliveira
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras – USP, Ribeirão Preto



Prof. Dr. André Luiz dos Santos
Faculdade de Ciências Integradas do Pontal – UFU, Ituiutaba

DADOS CURRICULARES

1. DADOS PESSOAIS

Nome: Daniela Pott Marinho Ballottin

Filiação: Roberval V. S. Ballottin e Miriam P. M. Ballottin

Naturalidade: Santo André – SP

Nacionalidade: Brasileira

e-mail: dani_pott@hotmail.com

2. FORMAÇÃO ACADÊMICA

2.1 BACHARELADO EM QUÍMICA

Curso de bacharelado em química. Conclusão: dezembro de 2008, no Instituto de Química da Universidade estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” em Araraquara – SP (UNESP).

2.2 MESTRADO EM QUÍMICA

Curso de Pós-graduação em Química, Área de Concentração: Química Analítica. Conclusão: fevereiro de 2011 no Instituto de Química de Araraquara – UNESP (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”).

*Dedico este trabalho à minha família:
meu pai Roberval, minha mãe Miriam e meu namorado Lucas.
Obrigada por todo carinho, apoio e amor incondicional.
Sem vocês nada seria possível.*

Agradeço a Deus, por me amparar nos momentos difíceis, por me dar forças para superar as dificuldades, por sempre estar ao meu lado, me guiando e por me mostrar o caminho nas horas incertas.

À minha família, pela qual tenho imensa paixão, pelo carinho, paciência e incentivo.

Ao meu orientador e exemplo, Prof. Nelson, por toda a credibilidade durante tantos anos, pelos ensinamentos científicos e pessoais.

Aos amigos do grupo, que de uma forma ou outra contribuíram para a realização deste trabalho.

Às minhas queridas amigas, Dé, Lá e Tika, por tantos momentos de alegria, incentivo, companheirismo e principalmente amizade.

Ao Treu, por toda ajuda, meu muito obrigada.

A todos os funcionários do Instituto de Química.

A CAPES pela bolsa concedida e aos demais órgãos de fomento (FAPESP e CNPq) pelo apoio financeiro utilizado para a manutenção da infraestrutura do laboratório.

Confie.

*As coisas acontecem na hora certa,
exatamente quando devem acontecer.*

Momentos felizes, louve a Deus.

Momentos difíceis, busque Deus.

Momentos silenciosos, adore Deus.

Momentos dolorosos, confie em Deus.

Cada momento, agradeça a Deus.

(autor desconhecido)

RESUMO

A alta demanda de energia no mundo atual, bem como o grande número de problemas ambientais existentes, resultam em uma crescente necessidade por novas fontes de energia, estimulando assim o interesse por fontes alternativas para os combustíveis de origem fóssil. Surge então o Biodiesel, combustível biodegradável derivado de fontes renováveis.

No entanto, este biocombustível apresenta certos contaminantes que podem causar sérios danos ao motor e ao ambiente dependente de seus teores. Dentre estes, estão os acilgliceróis, remanescentes da matéria prima para a produção do biodiesel. Por exemplo, a alta concentração destes compostos aumenta a viscosidade do biocombustível, provocando depósitos nos cilindros e nas válvulas diminuindo assim a vida útil do motor.

Assim, foi avaliado neste trabalho o comportamento voltamétrico do mono, di e trilinoleato de glicerina através da técnica de Redissolução Adsorbtiva com Voltametria AC. As curvas analíticas para o mono e trilinoleato de glicerina apresentaram linearidade de $4,0 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com limites de detecção da ordem de 10^{-8} mol L⁻¹. A curva analítica do dilinoleato de glicerina mostrou-se linear de $4,0 \times 10^{-9}$ a $4,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, com limite de detecção da ordem de 10^{-9} mol L⁻¹. Os limites de quantificação foram da ordem de 10^{-8} mol L⁻¹ para o mono e o dilinoleato de glicerina e 10^{-7} mol L⁻¹ para o trilinoleato de glicerina. Porém, estes não puderam ser determinados simultaneamente e, por isso, utilizou-se um método cromatográfico com detecção eletroquímica para a separação e posterior detecção destes compostos. Os acilgliceróis foram separados em coluna de fase reversa (C-18) operando em modo isocrático com fase móvel tampão fosfato pH 3,0/MeOH 60:40 (v/v) com adição de ácido ascórbico.

Palavras -chaves: Biodiesel, glicerídeos, AdSV, CLAE-DE, Voltametria AC.

ABSTRACT

Currently, the high energy demand in today's world, as well as the environmental problems result in an increased need for developing renewable energy sources, thereby stimulating interest in alternative sources to fossil fuels. Then, Biodiesel comes as a biodegradable fuel derived from renewable sources.

However, this biofuel has certain contaminants that can cause serious damage to the engine and the environment if they are present in inadequate amounts. Among these contaminants are the glycerides, remnants of the raw material for biodiesel production. For example, the high concentration of these compounds increases the viscosity of the biofuel causing deposits in the cylinders and valves reducing the engine lifetime.

Thus, it was evaluated in this study the voltammetric behavior of glyceryl mono, di and trilinoleate by Adsorptive Stripping technique with AC voltammetry. The analytical curves for mono and tri showed linearity from 4.0×10^{-8} to 1.6×10^{-6} mol L⁻¹, with detection limits of about 10^{-8} mol L⁻¹. The analytical curve of glyceryl dilinoleate was linear from 4.0×10^{-9} to 4.0×10^{-7} mol L⁻¹, with a detection limit of about 10^{-9} mol L⁻¹. The quantification limits were in the order of 10^{-8} mol L⁻¹ for mono and dilinoleate and 10^{-7} mol L⁻¹ for trilinoleate. However, these could not be determined simultaneously and therefore it was developed a chromatographic method with electrochemical detection for separation and detection of these compounds. The glycerides were separated on a reversed phase column (C-18) operating in isocratic mode with mobile phase pH 3.0 phosphate buffer / MeOH 60:40 (v/v) with addition of ascorbic acid.

Keywords: Biodiesel, glycerides, AdSV, HPLC-ED, AC Voltammetry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Células eletroquímicas utilizadas em CLAE. A) “thin layer” e B) “wall jet”. 29	
Figura 2. Esquema de um voltamograma cíclico reversível representando a obtenção dos principais parâmetros eletroquímicos.31	31
Figura 3. Relação de fase entre as correntes capacitiva (i_c) e faradaica (i_f) com o potencial a.c. aplicado.33	33
Figura 4. Formato típico de uma curva eletrocapilar. Neste caso, Na_2SO_4 0,5 mol L^{-1}35	35
Figura 5. Representação esquemática de curvas tensamétricas.36	36
Figura 6. Representação do processo de adsorção-desorção na superfície do eletrodo.37	37
Figura 7. Etapas da técnica de Redissolução Adsorptiva com Voltametria AC.39	39
Figura 8. Oxidação do ácido ascórbico.46	46
Figura 9. Voltamograma cíclico do sistema eletrólito suporte/solvente (LiCl/EtOH 0,1 mol L^{-1} , $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$).47	47
Figura 10. Voltamograma cíclico do sistema eletrólito suporte/solvente (TBABF ₄ /ACN 0,1 mol L^{-1} , $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$).48	48
Figura 11. Voltamogramas cíclicos de monolinoleato de glicerina. ($\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$). a) sentido catódico, b) sentido anódico.49	49
Figura 12. Voltamogramas das adições de dilinoleato de glicerina. ($\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$). a) sentido catódico, b) sentido anódico.49	49
Figura 13. Voltamogramas das adições de trilinoleato de glicerina. ($\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$). a) sentido catódico, b) sentido anódico.50	50
Figura 14. Estrutura do mono, di e trilinoleato de glicerina. Em destaque estão as insaturações existentes.50	50
Figura 15. Voltamogramas cíclicos dos acilgliceróis com eletrodo modificado com filme de mercúrio. ($\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$); monolinoleato de glicerina.52	52
Figura 16. Voltamogramas cíclicos dos acilgliceróis com eletrodo modificado com filme de mercúrio. ($\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$); dilinoleato de glicerina.52	52
Figura 17. Voltamogramas cíclicos dos acilgliceróis com eletrodo modificado com filme de mercúrio. ($\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$); trilinoleato de glicerina.53	53

Figura 18. Curva tensamétrica do (---) branco Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e (---) monolinoleato de glicerina $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$ e $\Delta E = 2 \text{ mV}$	54
Figura 19. Curva tensamétrica do (---) branco Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e (---) dilinoleato de glicerina $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$ e $\Delta E = 2 \text{ mV}$	55
Figura 20. Curva tensamétrica do (---) branco Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e (---) trilinoleato de glicerina $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$ e $\Delta E = 2 \text{ mV}$	55
Figura 21. Influência do tempo de acúmulo (t_{ac}) nas correntes de pico para o monolinoleato de glicerina $4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	57
Figura 22. Influência do tempo de acúmulo (t_{ac}) nas correntes de pico para o dilinoleato de glicerina $4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	58
Figura 23. Influência do tempo de acúmulo (t_{ac}) nas correntes de pico para o trilinoleato de glicerina $4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	58
Figura 24. Influência da concentração de monolinoleato de glicerina em um mesmo filme de mercúrio.....	59
Figura 25. Influência da concentração de dilinoleato de glicerina em um mesmo filme de mercúrio.....	60
Figura 26. Influência da concentração de trilinoleato de glicerina em um mesmo filme de mercúrio.....	60
Figura 27. Curvas tensamétricas do monolinoleato de glicerina: adições de $4,0 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$, $v = 7 \text{ mV s}^{-1}$	61
Figura 28. Curvas tensamétricas do dilinoleato de glicerina: adições de $4,0 \times 10^{-9}$ a $4,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$, $v = 7 \text{ mV s}^{-1}$	62
Figura 29. Curvas tensamétricas do trilinoleato de glicerina: adições de $4,0 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$, $v = 7 \text{ mV s}^{-1}$	62
Figura 30. Curvas analíticas obtidas para os acilgliceróis: a) mono, b) di, c) trilinoleato de glicerina.....	65
Figura 31. Estruturas mais estáveis do a) mono, b) di e c) trilinoleato de glicerina. .	66
Figura 32. Carga de cada átomo em a) mono, b) di e c) trilinoleato de glicerina.....	67
Figura 33. Vetor momento dipolo para a) mono, b) di e c) trilinoleato de glicerina...	68
Figura 34. Curvas tensamétricas: (---) branco Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, (---) mistura dos acilgliceróis, (---) mono, (---) di e (---) triglicerídeo; $C = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$	69
Figura 35. Cromatograma referente à eluição da solução de trilinoleato de glicerina $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando-se coluna Luna $5\mu \text{ C18}$ ($250 \times 4,6 \text{ mm d.i.}$) da Phenomenex e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma	

solução tampão fosfato e metanol (60:40 v/v) sem ácido ascórbico como aditivo, com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl, em + 0,28 V.....71

Figura 36. Cromatograma referente à eluição da solução de Ácido Ascórbico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando-se coluna Luna $5\mu \text{ C18}$ (250 ´ x 4,6 mm d.i.) da Phenomenex e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo tampão fosfato e metanol (60:40 v/v) sem ácido ascórbico como aditivo, com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl, em + 0,28 V.....72

Figura 37. Cromatogramas referentes à eluição dos padrões de mono, di e trilinoleato de glicerina utilizando-se coluna Luna $5\mu \text{ C18}$ (250 ´ x 4,6 mm d.i.) da Phenomenex e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo tampão fosfato e metanol (60:40 v/v) com ácido ascórbico como aditivo, com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl, em + 0,28 V.....73

Figura 38. Influência da concentração dos acilgliceróis: (---) mono, (---) di, (---) trilinoleato de glicerina na resposta do detector.75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variação dos principais parâmetros voltamétricos para mono, di e triglicerídeo.....	56
Tabela 2. Parâmetros das curvas analíticas obtidas para os acilgliceróis analisados	64
Tabela 3. Variação dos principais parâmetros voltamétricos para mono, di e triglicerídeos determinados separadamente e misturados; $C = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$	69
Tabela 4. Principais parâmetros cromatográficos calculados para mono, di e trilinoleato de glicerina. $C = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AC	Corrente alternada
ACN	Acetonitrila
AdSV	Redissolução Adsorptiva voltamétrica
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
AOCS	American Oil Chemists' Society
ASTM	American Society for Testing and Materials
CEN	Comité Européen de Normalisation
CLAE-DE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção eletroquímica
DGs	Diglicerídeos
ELSD	“Evaporative Light Scattering Detector” - Espalhamento de luz evaporativo
Epa	Potencial de pico anódico
Epc	Potencial de pico catódico
ECS	Eletrodo de calomelano saturado
GL	Glicerol
Ipa	Corrente de pico anódica
Ipc	Corrente de pico catódica
ISO	International Organization for Standardization
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MGs	Monoglicerídeos
TBABF₄	Tetrafluorborato de tetrabutilamônio
TGs	Triglicerídeos

LISTA DE SÍMBOLOS

ΔE	Amplitude de potencial
E_{ac}	Potencial de acúmulo
E_{ad}	Potencial de adsorção
E_m	Potencial de máximo eletrocapilar
H	Altura relativa a um prato teórico
$I_{p\ ad}$	Corrente de pico adsortiva
K	Fator de capacidade
N	Número de pratos teóricos
R	Coeficiente de correlação
t_{ac}	Tempo de acúmulo
t_R	Tempo de retenção
v	Velocidade de varredura
$W_{1/2}$	Largura do pico à meia altura
φ	Ângulo de fase

SUMÁRIO

1. Introdução	18
1.1 Bioenergia.....	18
1.2 Bioenergia no Brasil	18
1.3. Etanol e Biodiesel	19
1.4 Biodiesel	20
1.5 Métodos de determinação de glicerídeos	23
2. Técnicas Cromatográficas.....	26
2.1 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	26
2.1.1 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector eletroquímico (CLAE-DE)	28
2.1.2 Cromatografia líquida de alta eficiência indireta acoplada a um detector eletroquímico (CLAE-DE indireta).....	30
3. Técnicas Eletroquímicas	30
3.1 Voltametria Cíclica	31
3.2 Voltametria AC.....	32
3.2.1 Tensametria.....	34
3.3 Redissolução Adsorptiva com Voltametria de corrente alternada (AdSV)	38
4. Objetivos	40
5. Materiais e Métodos	41
5.1 Reagentes.....	41
5.2 Instrumentação	41
5.3 Soluções	42
6. Procedimento experimental.....	43
6.1 Sistema eletrólito suporte/solvente	43
6.2 Acilgliceróis: Voltametria Cíclica	43
6.3 Acilgliceróis : Voltametria Cíclica com eletrodo de filme de mercúrio	44
6.4 Formação do filme de Hg.....	44
6.5 Acilgliceróis: Redissolução Adsorptiva com Voltametria AC.....	44
6.6 Acilgliceróis: Estudo teórico para a determinação das estruturas eletrônicas..	45
6.7 Acilgliceróis: CLAE-DE.....	45
6.7.1 Acilgliceróis: CLAE-DE direta	46

6.7.2 Acilgliceróis: CLAE-DE indireta.....	46
7. Resultados e Discussão.....	47
7.1 Sistema eletrólito suporte/solvente	47
7.2 Acilgliceróis: Voltametria Cíclica	48
7.3 Acilgliceróis: Voltametria Cíclica com eletrodo de filme de mercúrio	51
7.4 Acilgliceróis: Redissolução Adsorptiva com Voltametria AC.....	53
7.4.1 Comportamento adsorptivo do mono, di e trilinoleato de glicerina	54
7.4.2 Potencial de acúmulo (E_{ac}) e amplitude de potencial (ΔE).....	56
7.4.3 Estudo do tempo de acúmulo (t_{ac})	57
7.4.4 Influência da concentração dos acilgliceróis em um mesmo filme de mercúrio.....	59
7.4.5 Influência da concentração do mono, di e trilinoleato de glicerina.....	61
7.4.6 Curvas analíticas do mono, di e trilinoleato de glicerina	64
7.4.7 Acilgliceróis: Estudo teórico para a determinação das estruturas eletrônicas	65
7.4.8 Estudo de interferência na corrente de pico	69
7.5 Acilgliceróis: CLAE-DE direta.....	70
7.6 Acilgliceróis: CLAE-DE indireta.....	70
8. Conclusões.....	76
9. Propostas Futuras	78
REFERÊNCIAS.....	79
ANEXO A – Resolução nº 7 da ANP que estabelece critérios de qualidade para os Biocombustíveis para uso comercial	85
ANEXO B – ESPECIFICAÇÕES DO BIODIESEL.....	89
APÊNDICE A - Avaliação dos Parâmetros Cromatográficos Referente à Eluição do mono, di e trilinoleato de glicerina.	92

1. Introdução

1.1 Bioenergia

Atualmente, o sistema energético internacional é fortemente dependente de combustíveis fósseis (carvão, petróleo e gás): cerca de 80% do consumo mundial de energia se originam dessas fontes, consumo este que apresentava um crescimento anual de cerca de 2% (média em 20 anos), e que nos últimos cinco anos cresceu em média 3,1% ao ano (GOLDENBERG, 2008).

Esta é uma situação que não pode perdurar não só pela exaustão gradativa das reservas de combustíveis fósseis como também pelos efeitos negativos ao meio ambiente que resultam do seu uso, entre os quais o aquecimento global.

Problemas relacionados à segurança no suprimento de energia têm também um papel relevante. A segurança energética está ligada ao fato de a produção de petróleo estar concentrada em poucos países. Além disso, os preços do petróleo e seus derivados atingiram recordes históricos e não há perspectivas, tendo em vista o atual crescimento econômico mundial, de que declinem sensivelmente nos próximos anos.

Assim, fica claro que as condições econômicas estão definidas tendo a bioenergia como elemento principal ao bionegócio. As pressões sociais (emprego, renda, fluxos migratórios) e ambientais (mudanças climáticas, poluição) apenas reforçam e consolidam essa tendência.

1.2 Bioenergia no Brasil

O Brasil é o país do mundo que reúne mais vantagens comparativas para se tornar um líder mundial na produção de matérias primas utilizadas na bioenergia. A primeira vantagem comparativa que se destaca é a perspectiva de incorporação de novas áreas à agricultura de energia, sem ocorrer competição com a agricultura de alimentos, problema este que vem sendo enfrentado por alguns países, a exemplo dos Estados Unidos. No Brasil, existe grande disponibilidade de terras com pastagens degradadas, nas quais a inserção da cana-de-açúcar e de algumas

outras culturas tais como soja, entre outras oleaginosas, que contribuem para a ampliação não só da produção de álcool, mas também da produção de biodiesel.

Um segundo aspecto a ser considerado no Brasil é a possibilidade de múltiplos cultivos dentro do ano agrícola.

O domínio da tecnologia agrícola em ambiente tropical permitiu que a natural abundância de solo, luminosidade, temperatura e água pudessem ser utilizadas a fim de elevar a produtividade da agricultura. Em poucas palavras, o desenvolvimento tecnológico permitiu ao Brasil fazer uso de suas vantagens comparativas na agricultura.

A incerteza quanto às reservas petrolíferas e o aumento das cotações de petróleo, como mencionado, associados às questões ambientais e sociais, impõem a premência de se alterar as bases do desenvolvimento econômico e de modificar a matriz energética mundial. A produção de biocombustíveis surge, portanto, como importante opção estratégica, quer para emprego como produto complementar, quer como substituto aos derivados do petróleo (AMBIENTE SÃO PAULO, 2010).

1.3. Etanol e Biodiesel

Os dois principais combustíveis alternativos no Brasil são o etanol e o biodiesel. Ambos são obtidos a partir de fontes renováveis, derivados de produtos agrícolas como a cana-de-açúcar, plantas oleaginosas, biomassa florestal e outras fontes orgânicas. Apesar de ambos serem obtidos por fontes renováveis, a principal diferença está na aplicação e no modo de consumo da energia obtida. Enquanto o biodiesel é direcionado para o abastecimento de veículos com ciclo diesel, no Brasil representado principalmente por veículos de carga, o etanol é destinado para o abastecimento dos veículos leves, como carros de passeio, podendo este ser misturado à gasolina. Os dois biocombustíveis têm definido vantagens ambientais em relação à gasolina e o óleo diesel.

O etanol contém 35 % de oxigênio. A adição de oxigênio ao combustível resulta em uma queima mais completa, reduzindo assim as emissões de gases de escape nocivos à saúde e ao meio ambiente.

O biodiesel, por outro lado, é o único combustível alternativo que pode substituir total ou parcialmente o diesel. O uso deste biocombustível resulta em redução substancial de hidrocarbonetos não queimados, monóxido de carbono e outras partículas emitidas com a utilização do combustível de origem fóssil. Além disso, emissões de óxidos de enxofre e sulfatos (principais componentes que levam à chuva ácida) são essencialmente eliminados (STRANSBURG, 2010).

1.4 Biodiesel

A história do biodiesel começou em 1895 quando Rudolf Diesel descobriu nos óleos vegetais um combustível e um caminho para o desenvolvimento industrial. Diesel chegou a afirmar que, em sua época, o uso de óleos vegetais poderia parecer insignificante, mas que com o passar do tempo iria se tornar tão importante quanto o petróleo. Após sua morte, a indústria do petróleo especificou um tipo de óleo obtido a partir de resíduos do processamento que denominou-se óleo diesel. Por ser mais barato que os demais combustíveis, este passou a ser largamente utilizado. A abundância de petróleo, aliada aos baixos custos dos seus derivados, fez com que o uso dos óleos vegetais caísse no esquecimento.

Assim, o uso de óleos vegetais como combustível foi rapidamente superado pelo uso de óleo diesel, derivado de petróleo, por fatores tanto econômicos quanto técnicos, porém, os aspectos ambientais, que são favorecidos com a utilização dos biocombustíveis, foram deixados de lado.

Com o aumento do uso de motores a diesel, o petróleo foi adquirindo grande importância. Porém, entre 1973 e 1974, esta importância implicou na Crise do Petróleo, período no qual seu preço subiu mais de 300% pois os países do Oriente Médio descobriram que o petróleo era um bem não-renovável. Além disso, os problemas de abastecimento de petróleo no mercado mundial aliados à tentativa de países europeus de desenvolverem alternativas energéticas para as suas colônias tropicais, levaram à busca por soluções viáveis para a substituição do combustível fóssil.

Como resultado, alguns processos, tais como transesterificação, esterificação e craqueamento, foram estudados para a transformação de triglicerídeos e ácidos

graxos em combustíveis líquidos. Estes estudos visavam obter derivados com propriedades físico-químicas (densidade e viscosidade) mais próximas aos combustíveis fósseis para sua substituição parcial ou total, sem necessidade de alteração dos motores.

O biodiesel é um combustível derivado de biomassa renovável podendo substituir parcial ou totalmente o combustível de origem fóssil sendo obtido por diferentes processos, tais como craqueamento, esterificação e transesterificação. Quimicamente pode ser descrito como sendo um éster de ácido graxo de cadeia longa (monoéster alquílico) derivado de fontes renováveis, tais como óleos vegetais e gorduras animais (MEHER; VIDYA; NAIK, 2006; KNOTHE; DUNN; BAGBY, 2007) e que deve atender às especificações estabelecidas pela Resolução nº 7/2008 da ANP (ANP, 2010).

A transesterificação de óleos vegetais é atualmente o método mais utilizado para a produção do biodiesel, principalmente porque as características físicas dos ésteres de ácidos graxos são muito próximas daquelas do diesel. Além disso, este processo relativamente simples reduz a massa molecular para um terço em relação aos triacilglicerídeos, como também reduz a viscosidade e aumenta a volatilidade (PINTO; GUARIEIRO; REZENDE, 2005). Consiste na reação química entre óleos ou gorduras, de origem vegetal ou animal, com um álcool (geralmente etanol ou metanol), na presença de um catalisador (ácido ou básico), acelerando a reação (MA; HANNA, 1990; SCHUCHARDT; SERCHELI; VARGAS, 1998), tendo como subproduto a glicerina e um éster de um ácido graxo. Quando este éster atinge os critérios mínimos de qualidade impostos pelas agências reguladoras, recebe o nome de biodiesel.

Para a produção do biodiesel pode-se utilizar tanto o metanol quanto o etanol. Por razões de natureza físico-química (polaridade, álcool de cadeia mais curta), o metanol é mais vantajoso que o etanol. Porém, sob o ponto de vista ambiental, o álcool etílico (obtido a partir de fontes renováveis) está se tornando mais popular tanto por ser menos agressivo quanto por apresentar grande oferta em território nacional.

O biodiesel pode ainda ser obtido pela esterificação de ácidos graxos com um mono-álcool ou através do craqueamento (pirólise) de óleos vegetais. Porém, neste último, misturas de compostos da classe dos hidrocarbonetos podem ser geradas, o que não é muito interessante levando-se em conta aspectos ambientais.

O uso contínuo e exclusivo de combustíveis fósseis derivados do petróleo traz um impacto negativo na qualidade do meio ambiente; a poluição do ar, as mudanças climáticas, os derramamentos de óleo e a geração de resíduos tóxicos são resultados do uso e da produção desses combustíveis. A poluição do ar nas grandes cidades é, provavelmente, o mais visível impacto da queima dos derivados de petróleo.

O aumento das emissões de gás carbônico tem como consequência direta um aumento da concentração dos gases estufa, colaborando para o conhecido aquecimento global.

A alta demanda de energia no mundo atual, bem como os problemas já citados, resultam em uma crescente necessidade de desenvolver fontes de energia renováveis e de menor impacto ambiental que os meios tradicionais existentes (PORTAL DO BIODIESEL, 2010), estimulando, assim, o interesse na busca de fontes alternativas para combustíveis à base do petróleo.

É interessante citar que o biodiesel, oriundo apenas de fontes renováveis, permite que se estabeleça um ciclo fechado de carbono, no qual o gás carbônico absorvido pela planta é liberado em sua queima.

A denominação utilizada para o biodiesel puro é B100 (100% éster alquílico de ácido graxo). No entanto, este biocombustível pode também ser utilizado em blends (misturas) com o diesel e a abreviação BXX indica o volume (em porcentagem) de B100 na mistura. Conseqüentemente, B2 é constituído por 2% de B100 e 98% de diesel (LIMA; SILVA; SILVA, 2007). No Brasil, em 2013 o B5 será obrigatório.

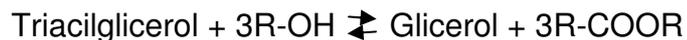
Como mencionado anteriormente, a reação de transesterificação produz ésteres de ácidos graxos. No entanto, a mistura final é também composta por glicerol (principal sub produto), álcool, catalisador, mono, di e triglicerídeos (remanescentes do óleo e/ou gordura utilizados como matéria prima), bem como ácidos graxos livres. Estes e outros contaminantes quando presentes em quantidades elevadas podem levar a problemas operacionais, bem como ambientais.

Assim, normas que limitam a quantidade destes contaminantes no biodiesel se tornaram necessárias levando em conta também a qualidade do produto final.

No Brasil, a Resolução n° 7, de 19/03/2008 da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e biocombustíveis (ANP) fornece especificações e metodologias para a

caracterização do biodiesel puro B100. Porém, as análises são executadas de acordo com as normas da American Society for Testing and Materials (ASTM), da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), da International Organization for Standardization" (ISO) e do "Comité Européen de Normalisation" (CEN) (CONCEIÇÃO; CANDEIA; SILVA, 2007; ANP, 2010). (ANEXO A e B)

Esquemáticamente, a reação global de transesterificação se processa da seguinte forma:



Os passos intermediários da reação são:



Existem três reações consecutivas as quais produzem os DGs, MGs, três mols de ésteres de ácidos graxos e um mol de glicerol (GL).

É interessante citar que os mono e diglicerídeos são produtos intermediários do processo de produção do biodiesel. A presença destes provocam depósitos nos injetores e nos anéis do cilindro. Além disso, os monoglicerídeos apresentam alto ponto de fusão e baixa solubilidade, o que implica em cristalização. Os triglicerídeos são produtos que não foram transesterificados. Além de aumentarem a viscosidade do biocombustível, provocam depósitos nos cilindros e nas válvulas diminuindo a vida útil do motor.

1.5 Métodos de determinação de glicerídeos

Vários métodos analíticos têm sido desenvolvidos para caracterizar a mistura composta por reagentes e produtos da transesterificação (AOCS, 2009; MEHER; VIDYA; NAIK, 2006). Estes compostos têm sido determinados utilizando-se das mais diversas técnicas, porém, as mais comuns são a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida, com diferentes detectores.

Plank e Lorbeer (PLANK; LORBEER, 1995) determinaram simultaneamente glicerol, mono, di e triglicerídeos em óleos vegetais por cromatografia gasosa. A trimetilsilanização destes compostos, seguida da CG utilizando uma coluna capilar

de 10 m de comprimento com um filme de 0,1 μm de DB-5 (5% fenil metilpolisiloxano) permitiu a determinação de todos os analitos em uma única corrida cromatográfica.

Di Nicola e colaboradores (DI NICOLA et al., 2008) desenvolveram e otimizaram um método para a análise de misturas de biodiesel através da técnica de CLAE com fase reversa. Propuseram um método de eluição por gradiente binário (acetonitrila:metanol e n-hexano:isopropanol) para a análise deste biocombustível com detecção UV. O trabalho mostrou que o fluxo, o gradiente e o tempo são os parâmetros que afetam mais fortemente a separação. Os resultados obtidos foram consistentes com os dados da literatura.

Jandera et al (JANDERA et al., 1999) monitoraram a produção de biodiesel por CLAE acoplada a diferentes detectores. A técnica, com fase reversa e eluição por gradiente, foi usada para determinar TGs, DGs, MGs e ésteres metílicos oleicos, linoleicos e linolênicos, além de ácidos graxos livres. Os analitos foram separados em 25 minutos combinando-se gradiente linear com fases móveis aquosa-orgânica e não aquosa-orgânica. Os detectores utilizados foram: UV a 205 nm, ELSD e espectrometria de massas.

De Clercq, Foubert e Dewettinck (DE CLERCQ; FOUBERT; DEWETTINCK, 2008) separaram e analisaram acilgliceróis através de métodos cromatográficos. No trabalho, eles discutem algumas técnicas cromatográficas que podem ser utilizadas para separar estes tipos de compostos. São elas: Cromatografia em camada delgada ("thin layer chromatography"), Cromatografia em coluna e extração em fase sólida e Cromatografia Líquida de Alta eficiência acoplada a um detector ELSD. Eles concluíram que tanto a cromatografia em camada delgada como a em coluna podem ser usadas para separar os diferentes acilgliceróis, enquanto a HPLC-ELSD é uma técnica poderosa na separação de diferentes glicerídeos em espécies moleculares individuais.

Da mesma maneira que de Clercq et al., Wojtusik e outros pesquisadores (WOJTUSIK et al., 1989) estudaram vários detectores para a determinação de triglicerídeos por CLAE. Índice de refração, UV, Infravermelho, Ionização de chama, foram alguns dos detectores citados. Além dos detectores, diferentes tipos de separação foram estudadas: fase normal (separação dos triglicerídeos por tamanho de cadeia e grau de insaturação), pseudofase, a qual é definida como uma cromatografia de fase reversa em que um agente superfície-ativo é usado para

modificar a fase móvel e fase reversa, que tem se mostrado muito eficiente na análise de misturas complexas de triglicérides.

Lin e colaboradores (LIN et al., 2003) identificaram e quantificaram 16 espécies de acilglicérides em óleo de mamona. Os detectores utilizados foram: UV e ELSD. As respostas do detector ELSD para diferentes quantidades dos padrões de glicérides foram lineares e similares. A quantificação foi baseada na porcentagem da área do pico cromatográfico.

Um método cromatográfico não aquoso com fase reversa foi desenvolvido por Lin et al. (LIN; WOODRUFF; McKEON, 1997) para a separação de di e triglicérides sintéticos. O método utilizou gradiente linear de metanol-isopropanol e detecção UV a 205 nm, bem como detecção de fluxo radioativo. A ordem de eluição depende da polaridade de seus ésteres de ácido graxo, com o tempo de eluição aumentando com a diminuição da polaridade. Para as duas classes de glicérides, a eluição correspondeu ao tamanho da cadeia, ao grau de insaturação e a presença de grupos polares.

Triacilglicérides também foram determinados por Moreda e colaboradores (MOREDA; PÉREZ-CAMINO; CERT, 2003). Utilizaram a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração. A coluna utilizada foi uma C₁₈ fase reversa e três composições de fase móvel foram estudadas: acetona/acetonitrila 1:1, acetona/acetonitrila 55:45 e propionitrila.

Dentre os métodos oficiais, os que têm se mostrado com maior aplicabilidade são o ASTM D658, o EN 14105 e o ABNT NBR 15342 e 15344, que utilizam a cromatografia gasosa acoplada a um detector de ionização de chama. Este método analítico não é muito conveniente na identificação de triacilglicérides não voláteis (VICENTE; MARTINEZ; ARACIL, 2005).

Assim, os acilglicérides necessitam ser derivatizados e analisados em temperaturas altas (aproximadamente 350°C), o que diminuiria a vida útil da coluna CG. Para evitar o passo de derivatização e permitir que MGs, DGs e TGs de alta massa molecular sejam analisados, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) vem sendo desenvolvida para permitir que a amostra se mantenha no estado líquido, sem a necessidade de um pré-tratamento.

No entanto, embora a técnica de CLAE seja bastante utilizada na detecção e quantificação de acilglicérides em diversas matrizes, nenhum estudo utilizando o detector eletroquímico em biodiesel tem sido reportado.

Desta maneira, considerando a potencialidade da técnica CLAE como método de separação e a grande versatilidade do detector eletroquímico que pode fornecer aumento de seletividade e alta sensibilidade, bem como a grande demanda por métodos analíticos sensíveis para quantificação de mono, di e triglicerídeos em baixo nível de concentração em amostras de biodiesel, é de grande interesse a investigação de novos métodos de determinação destes compostos nesta matriz usando a técnica de CLAE acoplada a detectores eletroquímicos.

2. Técnicas Cromatográficas

Neste trabalho foi utilizada a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção eletroquímica direta e indireta.

2.1 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A cromatografia permite a separação de componentes em misturas complexas. Em todas as separações cromatográficas a amostra é transportada por uma fase móvel, um gás ou um líquido. A fase estacionária é fixada na coluna. As duas fases são escolhidas de maneira que os componentes da amostra se distribuam entre estas. Os componentes que são fortemente retidos pela fase estacionária movem-se lentamente através da fase estacionária carregados pela fase móvel. Em contraste, os componentes que são fracamente retidos na fase estacionária, movem-se rapidamente. Como consequência destas diferenças de mobilidade, os componentes da amostra são separados em bandas e podem ser analisados qualitativamente ou quantitativamente.

A classificação mais fundamental dos métodos cromatográficos é aquela baseada no tipo de fase, tanto estacionária como móvel. Quando a fase móvel é um gás, o método classifica-se como Cromatografia Gasosa. De outra maneira, quando a fase móvel é um líquido, denomina-se de Cromatografia Líquida. Os cinco tipos de cromatografia líquida são: cromatografia líquido-sólido, cromatografia líquido-líquido,

cromatografia líquida com fase ligada, cromatografia de troca-iônica e cromatografia por exclusão (COLLINS, 1999).

Dentre estas, a cromatografia líquida com fase ligada tornou-se a mais amplamente utilizada.

Dois tipos de cromatografia líquida com fase ligada podem ser distinguidos com base nas polaridades relativas das fases estacionária e móvel: cromatografia de fase normal e cromatografia de fase reversa. A cromatografia de fase normal baseia-se em fases estacionárias altamente polares, suportados em partícula de sílica ou alumina e fase móvel com solvente relativamente não polar. Já na cromatografia de fase reversa, a fase estacionária é não polar, geralmente um hidrocarboneto, e a fase móvel é relativamente polar. As colunas com empacotamento de fase reversa utilizam comumente hidrocarbonetos de cadeia longa, como uma cadeia C₈ (n-octil) ou uma cadeia C₁₈ (n-octildecil).

No desenvolvimento da cromatografia líquida, pesquisadores perceberam que um maior aumento na eficiência das colunas poderiam ser alcançados com a diminuição do tamanho das partículas usadas no empacotamento. Porém, esta tecnologia necessitava de instrumentos sofisticados que operassem a altas pressões. Surgiu então a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Esta é muito utilizada como técnica analítica de separação. As razões para ser tão utilizada são: sensibilidade, adaptabilidade a determinações quantitativas, capacidade de separação de espécies não voláteis ou termicamente frágeis, e acima de tudo, aplicabilidade a substâncias de alto interesse industrial.

Na cromatografia líquida, não existem detectores que são universalmente aplicáveis, como os detectores de ionização por chama e de condutividade térmica, utilizados em cromatografia gasosa. Porém, o desenvolvimento tecnológico tem ampliado a disponibilidade dos métodos de detecção acoplados à CLAE, podendo ser utilizados detectores fotométricos baseados na absorção UV/Vis, fluorescência, índice de refração, condutividade, eletroquímico e outros.

Dentre os detectores citados, o acoplamento de detectores eletroquímicos em sistemas HPLC tem demonstrado grande potencialidade na detecção e quantificação de componentes orgânicos, em nível de traços em matrizes amplamente complexas (CATALDI; CAMPA; CENTONZE, 1995; CATALDI; CENTONZE; DESIMONI, 1996; GOLDRING; CASINI; MAELLARO, 1993; LACOURSE; JOHNSON; REY, 1991; COLLINS; COUTRIM; NAKAMURA, 1993).

A grande maioria das aplicações envolvendo CLAE com detecção eletroquímica tem utilizado colunas de fase reversa e detectores amperométricos, embora detectores coulométricos também sejam disponíveis no mercado.

2.1.1 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector eletroquímico (CLAE-DE)

A detecção eletroquímica explora as propriedades da substância em sofrer oxidação ou redução no eletrodo no qual um potencial é aplicado.

Se a reação se processa por completo, a corrente se torna zero e a carga total gerada será proporcional à massa total de material que foi reagido. Este processo é chamado detecção coulométrica. Se, no entanto, a fase móvel escoar através dos eletrodos, o soluto passará constantemente através do detector. Assim, sempre haverá soluto entre os eletrodos, a corrente será mantida, embora variando em magnitude. Este processo é o mais comumente empregado em detecção eletroquímica e é chamado de detecção amperométrica.

Além de serem fáceis de trabalhar, estes detectores apresentam boa sensibilidade, respondem a uma grande variedade de componentes e detectam baixos níveis de concentração.

Esses detectores usam eletrodos de trabalho constituídos de diversos materiais, como: carbono vítreo, ouro, platina e eletrodos com a superfície quimicamente modificada por grupos específicos que possuem alta seletividade na identificação dos componentes da amostra.

As células eletroquímicas nos modernos detectores eletroquímicos utilizam a configuração clássica de três eletrodos. O potencial aplicado sobre o eletrodo de trabalho promove a ocorrência da reação redox. O potencial é mantido entre o eletrodo de trabalho e o de referência. Assim, a corrente gerada flui entre o eletrodo auxiliar e o de trabalho. Os elétrons utilizados durante a reação redox são os responsáveis pela corrente que flui na célula eletroquímica. No entanto, a detecção é suscetível a alterações causadas por mudanças por exemplo na temperatura, vazão da fase móvel e eventuais pulsações da bomba (PUNGOR, 1974). Operando sobre condições dinâmicas, estas células eletroquímicas podem apresentar dois

tipos diferenciados de células em fluxo: “thin layer” e “wall-jet”, conforme mostra a Figura 1.

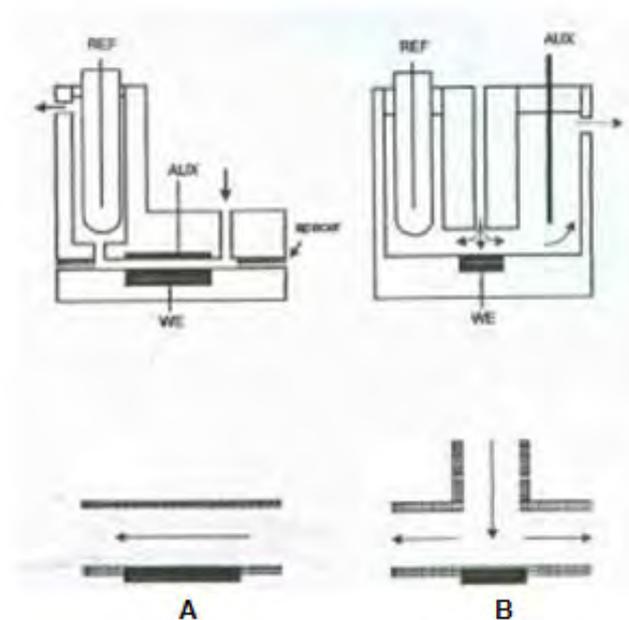


Figura 1. Células eletroquímicas utilizadas em CLAE. A) “thin layer” e B) “wall jet”.

As células “thin layer” podem ser usadas tanto com detecção amperométrica como na coulométrica, dependendo da eficiência do transporte de massa na célula. Estas células têm características excelentes com relação ao fluxo, além de uma alta relação área do eletrodo/volume de solução.

A célula eletroquímica “wall-jet” apresenta características importantes quanto: (i) sensibilidade, pois o movimento de transferência de massa até o ponto de impacto na superfície do eletrodo de trabalho se dá por meio de um processo rápido de convecção e (ii) volume da cela variável, podendo-se obter configurações com um mínimo de 0,5 μL . Além disso, a sua configuração permite que o eluente seja jogado diretamente sobre o eletrodo de trabalho. Este arranjo reduz a necessidade de limpeza frequente do eletrodo.

2.1.2 Cromatografia líquida de alta eficiência indireta acoplada a um detector eletroquímico (CLAE-DE indireta)

Ultimamente, considerável interesse tem sido dado ao desenvolvimento da chamada detecção indireta em cromatografia líquida. Nestes sistemas, uma quantidade apropriada de determinada espécie é intencionalmente adicionada à fase móvel para gerar um sinal de fundo constante. Esta espécie deve ser facilmente monitorada por processos de detecção convencionais, como por exemplo, UV/Vis ou fluorescência. Se a eluição dos componentes da amostra é acompanhada pelo deslocamento do aditivo da fase móvel como observado no detector, uma diminuição no nível de fundo é produzida.

Quando a fase móvel com aditivo é bombeada na coluna, este aditivo se distribui entre a fase móvel e a fase estacionária. Com isso, ele consegue atingir o equilíbrio e a corrente de fundo se torna estável. O aditivo a ser escolhido deve ser quimicamente estável, possuir propriedades eletroquímicas (oxidação e/ou redução) nas condições de análise, além de não reagir com o analito. A vantagem desta metodologia consiste na capacidade de determinação e quantificação de espécies que não podem ser determinadas diretamente pelos métodos de detecção usuais.

No entanto, a possibilidade de uma detecção amperométrica indireta de analitos não eletroativos em um eluente contendo um aditivo facilmente oxidável não tem sido muito considerada.

3. Técnicas Eletroquímicas

As técnicas eletroquímicas utilizadas foram a Voltametria Cíclica, a Voltametria de corrente alternada (tensametria) e a Redissolução Adsorptiva.

3.1 Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica é uma técnica que emprega a varredura de potencial e registra a corrente que flui na célula eletroquímica entre os eletrodos de trabalho e o auxiliar. O potenciostato é capaz de manter o potencial constante ou variar de maneira controlada para um potencial pré-selecionado. É possível realizar varredura de potencial em uma faixa pré-determinada e o ciclo pode ser repetido várias vezes, permitindo mostrar o comportamento redox de um sistema em um grande intervalo de potencial. A corrente registrada é função do potencial aplicado no eletrodo de trabalho. A reversibilidade de um processo eletródico também pode ser verificada e apresenta as seguintes relações:

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 59/n \text{ mV}$$

$$I_{pa}/I_{pc} = 1$$

E_p independe de v

$I_p \propto v^{1/2}$ (sendo também para sistemas irreversíveis)

Os parâmetros eletroquímicos podem ser medidos diretamente das curvas corrente (I) vs potencial (E). Na Figura 2, estão representados os principais parâmetros eletroquímicos obtidos para um processo reversível.

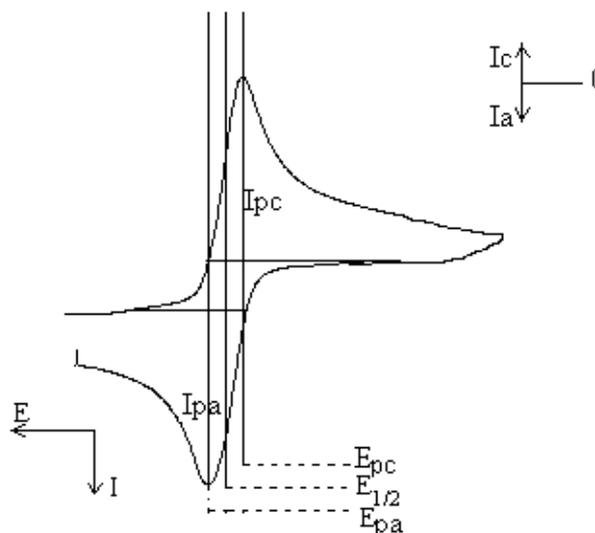


Figura 2. Esquema de um voltamograma cíclico reversível representando a obtenção dos principais parâmetros eletroquímicos.

Os valores de i_{pa} e i_{pc} podem ser determinados medindo-se a distância tomada verticalmente do máximo da corrente ao prolongamento da linha base. O potencial médio (E_m) é obtido como a média aritmética dos potenciais dos picos anódicos (E_{pa}) e catódicos (E_{pc}), ou seja, $E_m = (E_{pa} + E_{pc}) / 2$. A diferença entre os potenciais de pico corresponde ao parâmetro ΔE_p . A característica básica do voltamograma obtido é o aparecimento de uma corrente de pico para um potencial característico, da reação que ocorre na superfície do eletrodo. A posição e a forma de um dado pico dependem de fatores tais como: a velocidade de varredura, o material do eletrodo, a composição da solução e a concentração dos reagentes.

3.2 Voltametria AC

A Voltametria AC consiste na aplicação de um potencial contendo uma pequena componente senoidal de frequência e amplitude de potencial constantes superposto à varredura linear do potencial DC convencional. Dessa maneira, o potencial total da célula eletroquímica é dado pela soma das componentes AC e DC.

$$E = E_{dc} - \Delta E \sin \omega t \quad (1) \text{ e } I = A \sin (\omega t + \varphi) \quad (2)$$

Mede-se o potencial DC de maneira habitual e os resultados são acoplados às medidas AC (BOND, 1980).

Devido à corrente residual ser muito grande, o limite de detecção da técnica fica em torno de $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A elevada corrente residual é uma consequência da corrente capacitiva, que é muito grande quando comparada com a corrente faradaica (VOGEL, 1992).

Um tipo de voltametria AC é a com fase sensitiva, em que um ângulo é aplicado fora de fase com o potencial, permitindo a discriminação entre a corrente capacitiva e a corrente faradaica.

Tratando-se da frequência utilizada (Hz ou rad s^{-1}), a mais comum em voltametria AC é ao redor de 50 Hz. Isso porque, a corrente capacitiva cresce diretamente com a frequência. Para altas frequências, a sensibilidade do método aumenta pois aumenta também a corrente faradaica. Porém, a razão corrente capacitiva/corrente faradaica (i_c/i_f) é aumentada e essa alta sensibilidade não é atingida. O uso de frequências muito baixas, embora teoricamente tenham a melhor

razão i_c/i_f , não são favorecidas em aplicações analíticas devido ao nível elevado de ruído encontrado. Baixas frequências (20 a 100 Hz) possuem uma relação i_c/i_f favorável, sendo estas então as preferidas em voltametria AC (BOND, 1980).

Tanto a corrente capacitiva quanto a faradaica apresentam aproximadamente a mesma dependência em relação à amplitude de potencial (ΔE). Assim, em princípio, não haveria particular vantagem analítica na escolha de qualquer valor de ΔE . Mudanças na amplitude de potencial para valores ≤ 20 mV, não apresentam influência nos processos eletródicos AC (BOND, 1980).

Em qualquer experimento de voltametria AC, correntes alternadas possuem uma particular relação entre a fase e a voltagem aplicada. A magnitude da corrente em diferentes ângulos de fase esta relacionada através de vetores. Assim, se as correntes capacitiva e faradaica possuem uma relação diferente de ângulos de fase, e o instrumento permite a seleção de determinado ângulo, torna-se possível a discriminação da corrente capacitiva com a corrente faradaica, em uma ângulo de fase particular.

Em voltametria AC, a corrente capacitiva está a 90° fora de fase com o potencial AC aplicado. A Figura 3 mostra graficamente a relação de fase das correntes capacitiva e faradaica.

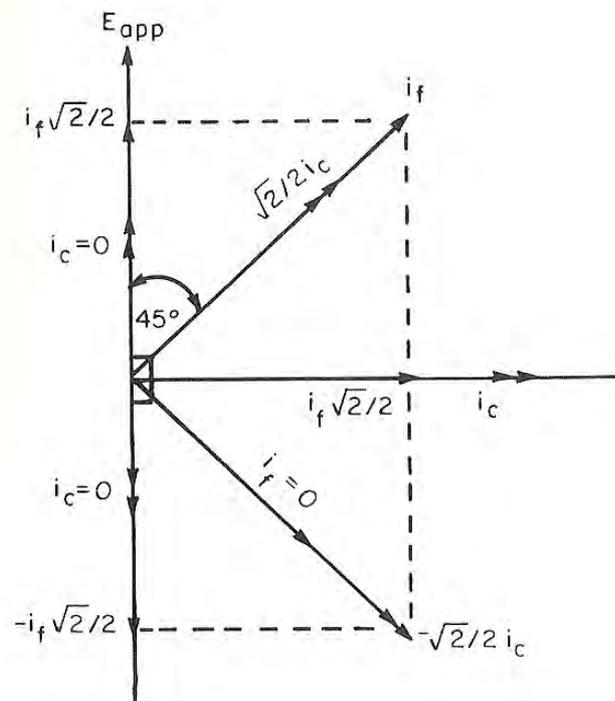


Figura 3. Relação de fase entre as correntes capacitiva (i_c) e faradaica (i_f) com o potencial a.c. aplicado.

Fonte: BOND, A. M. **Modern polarographic in analytical chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1980.

Assim, a discriminação da corrente faradaica da corrente capacitiva é então alcançada utilizando-se um detector de fase sensitiva capaz de detectar somente aquela componente da corrente alternada que está em uma fase específica. Está aí a principal vantagem da voltametria AC com fase sensitiva.

3.2.1 Tensametria

Uma das áreas da voltametria AC em mais rápida expansão em termos analíticos é o uso das chamadas ondas tensamétricas. Esses processos não faradaicos ocorrem em potenciais positivos ou negativos, onde a espécie adsorvida é deslocada da superfície do eletrodo em virtude de uma maior afinidade pelo eletrólito suporte.

Na região do potencial DC onde as transformações na dupla camada elétrica referentes aos processos de adsorção e desorção ocorrem, a capacitância sofre um grande aumento produzindo ondas não faradaicas (BOND, 1980).

Alguns autores utilizam o termo tensametria quando se referem a processos de adsorção-desorção não acompanhados por transferência de elétrons. Sendo assim, esta técnica estuda o comportamento de substâncias superfície ativas que provocam mudanças na interface eletrodo-solução mesmo na ausência de transferência de cargas.

Essas substâncias adsorvem no eletrodo em uma certa região de potencial, o chamado potencial máximo eletrocapilar, que pode ser conhecido através da curva eletrocapilar do eletrólito suporte utilizado.

Na Figura 4 está a curva eletrocapilar do sulfato de sódio, mostrando que o máximo de adsorção ocorre na região de -0,8 a -1,2 V.

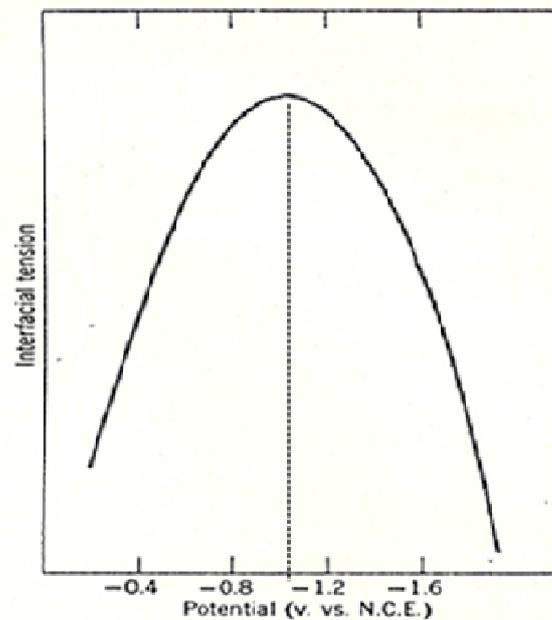


Figura 4. Formato típico de uma curva eletrocapilar. Neste caso, Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.
 Fonte: BREYER, B.; BAUER, H. H. **Alternating current polarography and tensammetry.**
 New York: John Wiley & Sons, 1963.

A curva eletrocapilar corresponde aproximadamente a uma parábola invertida. O máximo desta curva corresponde ao potencial de carga zero ou potencial do máximo eletrocapilar. No lado esquerdo da linha tracejada, $q > 0$, indicando que a carga acumulada na superfície do metal é positiva, o que permite dizer que neste ramo da curva eletrocapilar, ou mais corretamente, no intervalo de potenciais considerado, as condições favorecem a adsorção de ânions. Do lado direito, $q < 0$. Isto indica, contrariamente ao caso anterior, que no intervalo de potenciais considerado as condições favorecem a adsorção dos cátions. Na linha tracejada, $q = 0$, ou seja, as quantidades de ânions e cátions adsorvidos são iguais já que a carga na interface do lado da solução também deve ser nula. O potencial em que isto ocorre é denominado de potencial de carga zero ou potencial máximo eletrocapilar (TICIANELLI, 1998).

A Figura 5 representa uma curva tensamétrica típica. Como pode ser visto, consiste essencialmente de duas curvas situadas dos dois lados do máximo eletrocapilar. Estas curvas são chamadas positivas ou negativas e seus potenciais de pico podem ser representados por E_+ e E_- .

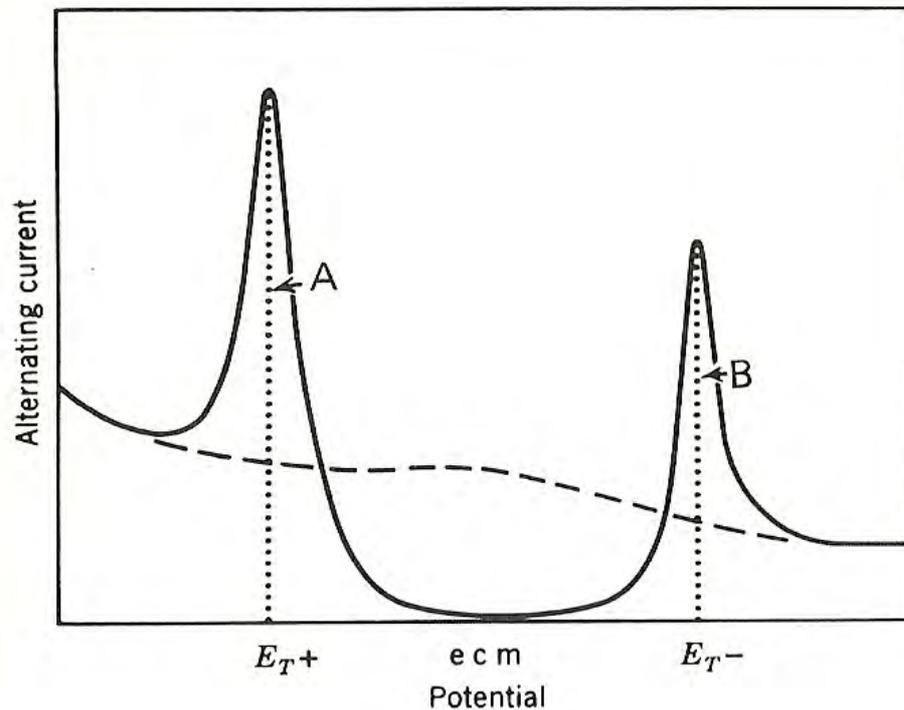


Figura 5. Representação esquemática de curvas tensamétricas.

Fonte: BREYER, B.; BAUER, H. H. **Alternating current polarography and tensammetry.** New York: John Wiley & Sons, 1963.

Em potenciais muito positivos ou muito negativos, as curvas tensamétricas coincidem com as do eletrólito suporte.

Como mencionado anteriormente, o máximo de adsorção ocorre ao redor de ecm. Por isso, tanto a capacitância da dupla camada quanto a corrente alternada são diminuídas nesse intervalo. A razão para esta grande mudança na corrente, nas vizinhanças de E_+ e E_- pode ser encontrada na orientação das moléculas na dupla camada elétrica com a mudança no potencial (BREYER; BAUER, 1963). Esta reorientação será explicada mais adiante.

Os máximos característicos dessas curvas representam o processo de adsorção e desorção dessas moléculas superfície ativas. As grandes mudanças na corrente nos potenciais de pico se devem à natureza do potencial alternado aplicado. Nas regiões de potenciais máximos, a concentração superficial e conseqüentemente a carga variam com o potencial, refletindo em um aumento da capacitância por causa da relação $C = q/E$. Em potenciais negativos é o cátion que determina a capacitância e a estrutura da dupla camada. Os potenciais de desorção são cada vez mais negativos na sequência: $\text{La}^{3+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Li}^+ = \text{Na}^+$.

A Figura 6 é uma ilustração de como o processo de adsorção-desorção ocorre na superfície do eletrodo (BREYER; BAUER, 1963).

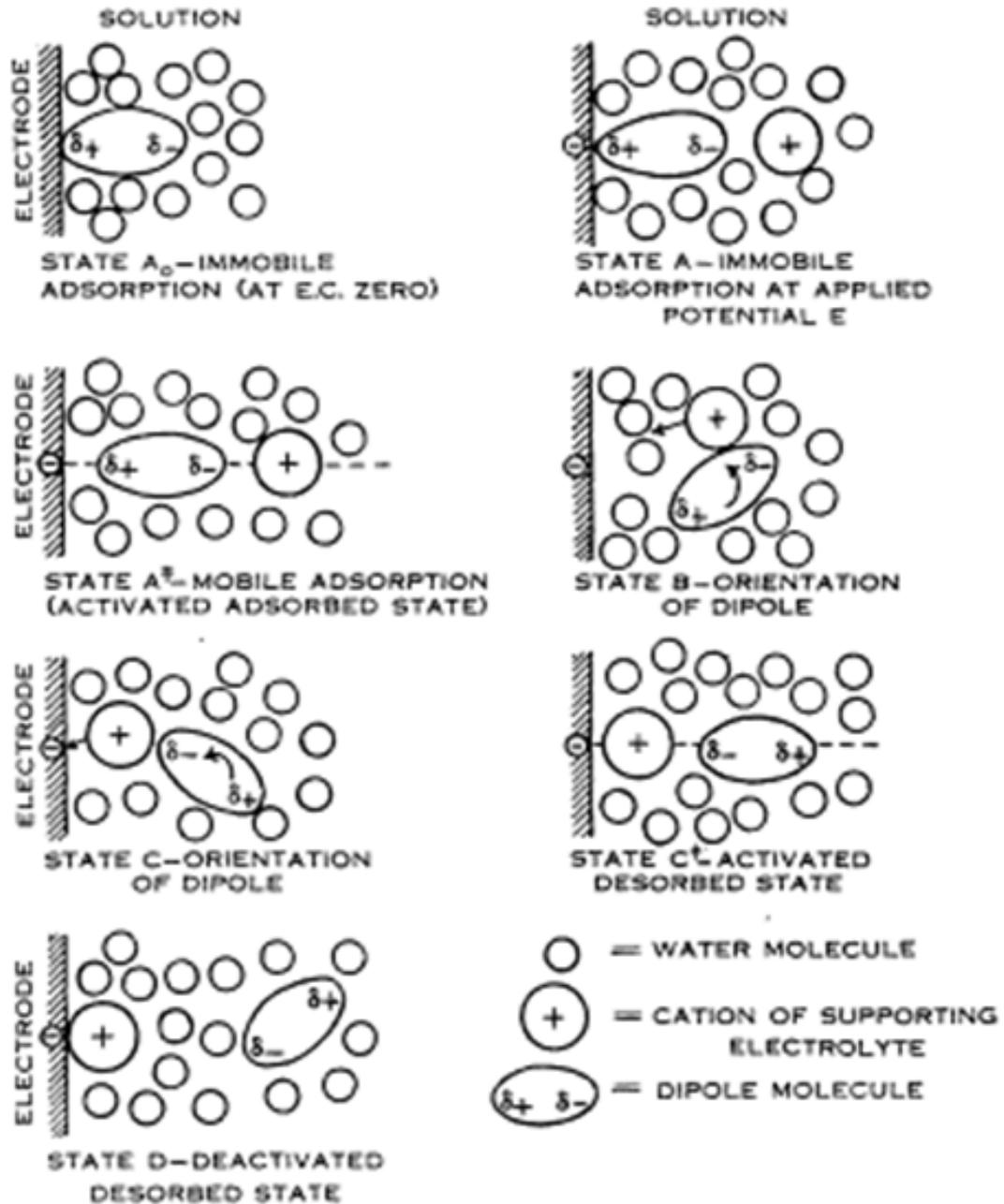
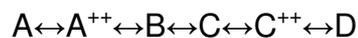


Figura 6. Representação do processo de adsorção-desorção na superfície do eletrodo. Fonte: BREYER, B.; HACOBIAN, S. Tensammetry: a method of investigation surface phenomena by a.c. current measurements. **Australian Journal of Scientific Research**, v. 5, n. 5, p. 500-520. 1952.

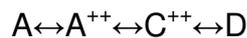
No máximo eletrocapilar, uma grande quantidade de moléculas se encontram em um estado de adsorção imóvel (estado A₀). Quando um potencial é aplicado

entre o eletrodo e a solução, uma dupla camada elétrica é formada composta pelas moléculas adsorvidas e pelos íons do eletrólito suporte. O arranjo é tal que as moléculas ficam situadas entre o eletrodo e os íons do eletrólito suporte. No mesmo instante, as moléculas são distorcidas devido a presença de um campo elétrico não uniforme (estado A). Conforme o potencial é varrido, a desorção começa. As moléculas encontram-se em um estado de adsorção móvel (estado A^{++}), que é seguida por uma reorientação (estados B e C), onde efetivamente as moléculas são deslocadas da superfície do eletrodo pelos íons do eletrólito suporte. Em seguida, depois da reorientação, elas entram em um estado de desorção móvel (estado C^{++}). E finalmente o sistema se torna desativado (estado D).

O mecanismo completo pode ser representado por:



Porém, se a reorientação é relativamente rápida comparada com $A \leftrightarrow A^{++}$ e $C^{++} \leftrightarrow D$, então, pode ser escrito:



Sendo que a adsorção é o processo espontâneo.

3.3 Redissolução Adsorptiva com Voltametria de corrente alternada (AdSV)

A voltametria adsorptiva de redissolução tem sido empregada em uma grande variedade de compostos orgânicos de interesse químico e farmacêutico devido à forte tendência que estas moléculas possuem de se adsorverem na superfície do eletrodo de mercúrio, desde que estas tenham propriedades superfície-ativas, para poderem ser adsorvidas na superfície do eletrodo de trabalho (SKOOG, 1992).

A AdSV é caracterizada por ser realizada em três etapas: pré-concentração, equilíbrio e redissolução.

A primeira etapa é a etapa de deposição, em que a espécie é pré-concentrada na superfície do eletrodo sem a ocorrência de transferência de elétrons, devido a aplicação de um potencial de deposição ($E_{\text{deposição}}$) durante um determinado tempo ($t_{\text{deposição}}$) e com agitação. A agitação faz com que o transporte de massa por convecção mantenha a concentração da espécie junto à superfície do eletrodo igual a do seio da solução. Essa agitação deve ser feita à velocidade constante. Esta

etapa é seguida por um tempo de repouso, para que a concentração da espécie depositada homogeneize-se, entrando em equilíbrio na superfície do eletrodo. No caso de eletrodos de filme de mercúrio, este tempo é de cerca de 5 segundos, devido ao menor volume do filme (CHEMKEYS, 2010).

Por fim, ocorre a etapa de redissolução. Nesta, faz-se a varredura de potencial em que o voltamograma é registrado, obtendo-se o sinal analítico de acordo com a técnica voltamétrica escolhida. A espécie adsorvida se redissolverá quando o seu potencial de desorção for atingido (BARD; FAULKNER, 2001). A Figura 7 mostra uma representação esquemática das três etapas que constituem a Redissolução Adsorvida com Voltametria de corrente alternada.

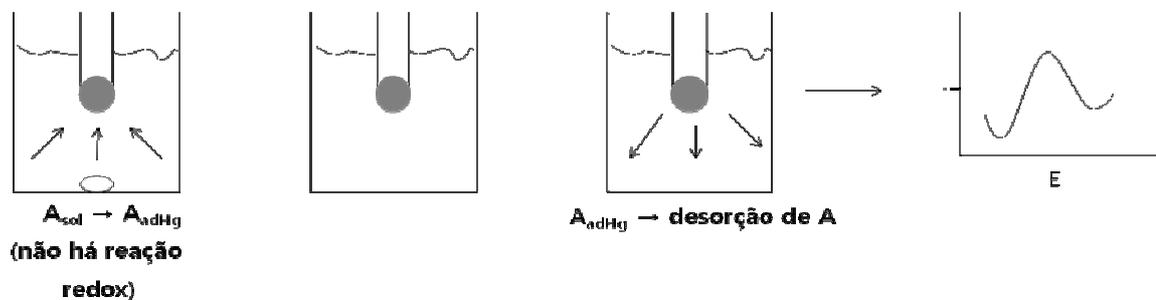


Figura 7. Etapas da técnica de Redissolução Adsorvida com Voltametria AC.

4. Objetivos

Desta maneira, tendo em vista a importância da utilização do biodiesel na matriz energética brasileira e a necessidade de desenvolver novos métodos de análise precisos, rápidos, exatos e repetitivos que assegurem uma melhor qualidade dos biocombustíveis utilizados, esta dissertação teve por objetivo estudar o comportamento eletroquímico do mono, di e trilinoleato de glicerina através de técnicas eletroquímicas e posteriormente utilizar a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector eletroquímico (CLAE-DE).

5. Materiais e Métodos

5.1 Reagentes

Os reagentes utilizados neste trabalho foram: tetrafluorborato de tetrabutylamônio (TBABF₄) (Acros organics) em acetonitrila (ACN) (J.T. Backer); cloreto de lítio (LiCl) em etanol (C₂H₅O) (J. T. Backer); mono, di e trilinoleato de glicerina (Sigma-Aldrich); sulfato de sódio (Na₂SO₄); nitrato de mercúrio (Hg(NO₃)₂) (Spectrum chemical) em ácido nítrico (HNO₃) (Qemis) e nitrato de potássio (KNO₃); fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) (Quemis); metanol (CH₄O) (J. T. Backer); ácido ascórbico (C₆H₈O₆) (Merk).

5.2 Instrumentação

Para os experimentos voltamétricos e cronoamperometria, o equipamento utilizado foi um Potenciostato/Galvanostato modelo PGSTAT 30, conectado a uma célula eletroquímica contendo três eletrodos: carbono vítreo (0,2 cm de diâmetro) como eletrodo de trabalho, platina como eletrodo auxiliar e ESC (calomelano saturado) como eletrodo de referência.

Para os experimentos cromatográficos, foi utilizado um cromatógrafo Metrohm Advanced Bioscan 871 com bomba IC Pump 818, coluna Luna 5µ C18 fase reversa (250' x 4,6 mm de diâmetro interno) da Phenomenex. O detector foi um detector amperométrico com potencial constante, acoplado a uma célula eletroquímica "wall jet" composta por três eletrodos: Ag/AgCl, platina e carbono vítreo (0,4 cm de diâmetro).

5.3 Soluções

Todas as soluções foram preparadas utilizando água Millipore Milli-Q dissolvendo quantidades apropriadas do soluto em quantidades determinadas de água. As soluções de mono, di e trilinoleato de glicerina foram preparadas dissolvendo-os em acetonitrila.

No estudo do eletrólito suporte, tanto a concentração do TBABF₄/ACN como a do LiCl/EtOH foram 0,1 mol L⁻¹.

No estudo voltamétrico dos acilgliceróis, foram preparadas soluções estoque de cada composto. O monoglicerídeo encontrava-se com concentração igual a 0,0282 mol L⁻¹, enquanto o diglicerídeo tinha concentração igual a 0,0162 mol L⁻¹ e o triglicerídeo igual a 5,68 x 10⁻³ mol L⁻¹.

Para o estudo dos acilgliceróis por voltametria cíclica com filme de mercúrio, foram preparadas soluções estoque de cada composto nas mesmas concentrações do estudo sem o eletrodo modificado. Porém, o sistema eletrólito suporte/solvente utilizado nesta etapa foi o Na₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ ao invés de TBABF₄/ACN e o eletrodo de trabalho foi modificado com um filme de mercúrio.

A solução para a formação do filme na superfície do eletrodo foi Hg(NO₃)₂ 0,001 mol L⁻¹ em HNO₃ 0,01 mol L⁻¹ e KNO₃ 0,1 mol L⁻¹.

Para o estudo voltamétrico adsorptivo do mono, di e trilinoleato de glicerina, foram utilizadas soluções em um intervalo de concentração de 8,0 x 10⁻⁹ a 1,6 x 10⁻⁶ mol L⁻¹. Foi utilizada também uma solução de Na₂SO₄ 1,0 mol L⁻¹ como eletrólito suporte.

Nos experimentos de cromatografia líquida, a fase móvel utilizada foi tampão fosfato pH 3,0 (KH₂PO₄ 0,12 mol L⁻¹ + KNO₃ 0,08 mol L⁻¹) e metanol e ácido ascórbico 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ como aditivo da fase móvel.

6. Procedimento experimental

6.1 Sistema eletrólito suporte/solvente

No estudo do eletrólito suporte foi utilizada a técnica de voltametria cíclica. Em uma célula eletroquímica com capacidade para 25 mL, foram colocados 5,0 mL dos eletrólitos suporte a serem estudados. Primeiramente o TBABF₄ em ACN e em seguida o LiCl em EtOH, ambos em concentração igual a 0,1 mol L⁻¹, devidamente desoxigenados mediante fluxo de nitrogênio (15 minutos). Posteriormente, foram colocados os três eletrodos: trabalho (carbono vítreo), platina como auxiliar e ESC como referência.

Os voltamogramas foram registrados em um intervalo de potencial de -3,0 V a +3,0 V com velocidade de varredura igual a 100 mV s⁻¹.

6.2 Acilgliceróis: Voltametria Cíclica

O comportamento voltamétrico dos acilgliceróis foi estudado tanto no sentido da redução, quanto no sentido da oxidação através da técnica de voltametria cíclica. Na célula eletroquímica foram colocados 5,0 mL do eletrólito suporte anteriormente escolhido (TBABF₄ /ACN) e foram adicionadas alíquotas de 200 µL de diferentes concentrações dos ésteres a serem estudados.

Primeiramente, os voltamogramas dos compostos foram registrados de 0,0 a -2,5 V com velocidade igual a 200 mV s⁻¹. Em seguida, os voltamogramas foram obtidos em um intervalo de potencial de 0,0 a +2,5 V com a mesma velocidade de varredura.

6.3 Acilgliceróis : Voltametria Cíclica com eletrodo de filme de mercúrio

Após a formação do filme (seção 6.4), o eletrodo foi colocado em outra célula eletroquímica contendo o eletrólito de suporte (Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$). Diferentes quantidades do mono, di e trilinoleato de glicerina foram adicionadas.

Primeiramente, os voltamogramas foram registrados de $0,0$ a $-2,5 \text{ V}$ com velocidade igual a 200 mV s^{-1} . Em seguida, foram obtidos em um intervalo de potencial de $0,0$ a $+2,5 \text{ V}$ com a mesma velocidade de varredura.

6.4 Formação do filme de Hg

O depósito eletroquímico do filme de mercúrio sob a superfície do eletrodo de carbono vítreo foi realizado de acordo com procedimentos experimentais estabelecidos na literatura (MARTINS, 2008).

Foram colocados $25,0 \text{ mL}$ de uma solução de nitrato de mercúrio $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ em ácido nítrico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e nitrato de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em meio aquoso, sendo esta desoxigenada por 15 minutos. Em seguida, aplicou-se um potencial de deposição de $-0,8 \text{ V vs ESC}$ durante 10 minutos, pela técnica de cronoamperometria. Após a formação do filme, o eletrodo foi colocado em outra célula eletroquímica contendo o sistema a ser estudado.

6.5 Acilgliceróis: Redissolução Adsortiva com Voltametria AC

Os experimentos para os acilgliceróis foram realizados com uma frequência de 60 Hz . Parâmetros da técnica, como o tempo de acúmulo ($15, 30, 60$ e 90 s) foi estudado.

Em um balão volumétrico de $25,0 \text{ mL}$ foram colocados $12,5 \text{ mL}$ de Na_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ completando-se o menisco com água deionizada a fim de se obter uma concentração final de eletrólito de suporte igual a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

A solução foi transferida para a célula eletroquímica contendo os três eletrodos: trabalho (carbono vítreo modificado com filme de mercúrio), platina com auxiliar e ESC como referência. Iniciou-se então a etapa de pré-concentração. Quando a pré-concentração foi atingida (nos tempos estabelecidos), depois de 10 segundos, a curva dos acilgliceróis foi registrada no intervalo de potencial de -1,2 a -1,5 V. Para discriminar a corrente capacitiva da faradaica, as medidas foram realizadas com ângulo $\varphi = 90^\circ$ fora de fase. Uma amplitude de potencial igual a 2 mV e uma velocidade de varredura de 7 mV s^{-1} foram utilizadas.

6.6 Acilgliceróis: Estudo teórico para a determinação das estruturas eletrônicas

Os cálculos teóricos para a determinação das estruturas eletrônicas e moleculares foram realizados através da base atômica 6-31g. Os cálculos das frequências vibracionais também foram realizados para determinar se as geometrias otimizadas constituem um mínimo de energia global ou um ponto de sela. Para a otimização das geometrias utilizou-se o algoritmo de Berny. Cargas atômicas foram calculadas de acordo com a análise populacional de Mulliken. Os cálculos moleculares foram realizados com a ajuda do programa Gaussian 09. As descrições dos principais modos vibracionais ativos foram realizados com a ajuda do programa gráfico GaussView 5.0.8. O Instituto de Química de Araraquara, UNESP – Campus de Araraquara – GRIDUNESP forneceu todos os recursos computacionais.

6.7 Acilgliceróis: CLAE-DE

Uma vez que através da técnica de Redissolução Adsorptiva com Voltametria AC os acilglicerídeos não puderam ser determinados simultaneamente, utilizou-se então a cromatografia líquida acoplada a um detector eletroquímico na tentativa de uma separação e posterior determinação simultânea do mono, di e trilinoleato de glicerina.

6.7.1 Acilgliceróis: CLAE-DE direta

A primeira metodologia a ser seguida foi a determinação dos acilglicerídeos por CLAE-DE com o eletrodo de trabalho com filme de mercúrio, uma vez que este mostrou-se eficaz na detecção destes compostos por AdSV.

Primeiramente, foi formado um filme de mercúrio na superfície do eletrodo de carbono vítreo. Este foi então colocado na célula eletroquímica do sistema CLAE-DE. A fase móvel utilizada foi Na_2SO_4 $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} /ACN (50:50 v/v). O potencial aplicado foi igual a -1,3 V e o fluxo foi de 1 mL min^{-1} .

6.7.2 Acilgliceróis: CLAE-DE indireta

A segunda metodologia seguida foi desenvolvida por Li-Tong e colaboradores (LI-TONG; JIAN-NONG; WEI, 1993).

Foi utilizado ácido ascórbico como aditivo na fase móvel, sendo esta composta por tampão fosfato pH 3,0 e metanol em proporção 60:40 (v/v). O potencial utilizado foi + 0,28 V (correspondente à oxidação do ácido ascórbico), e o fluxo foi igual a 1 mL min^{-1} .

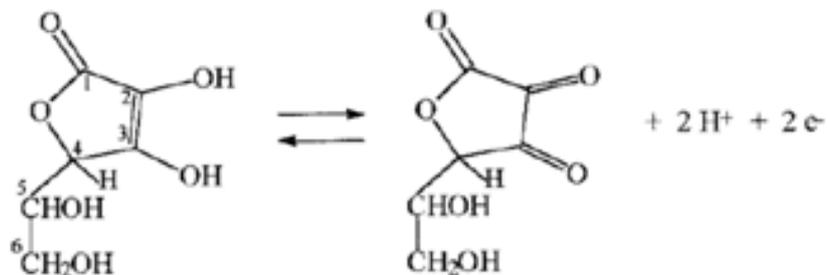


Figura 8. Oxidação do ácido ascórbico.

Injetaram-se então diferentes concentrações de mono, di e trilinoleato de glicerina.

7. Resultados e Discussão

7.1 Sistema eletrólito suporte/solvente

O estudo do melhor eletrólito suporte a ser utilizado no desenvolvimento do trabalho foi realizado através da técnica de voltametria cíclica. Dois meios foram estudados: tetrafluorborato de tetrabutilamônio em acetonitrila ($\text{TBABF}_4/\text{ACN}$) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e cloreto de lítio em etanol (LiCl/EtOH), na mesma concentração. Os voltamogramas cíclicos foram obtidos no intervalo de potencial de $-3,0$ a $+3,0 \text{ V}$, conforme apresentado nas Figuras 9 e 10.

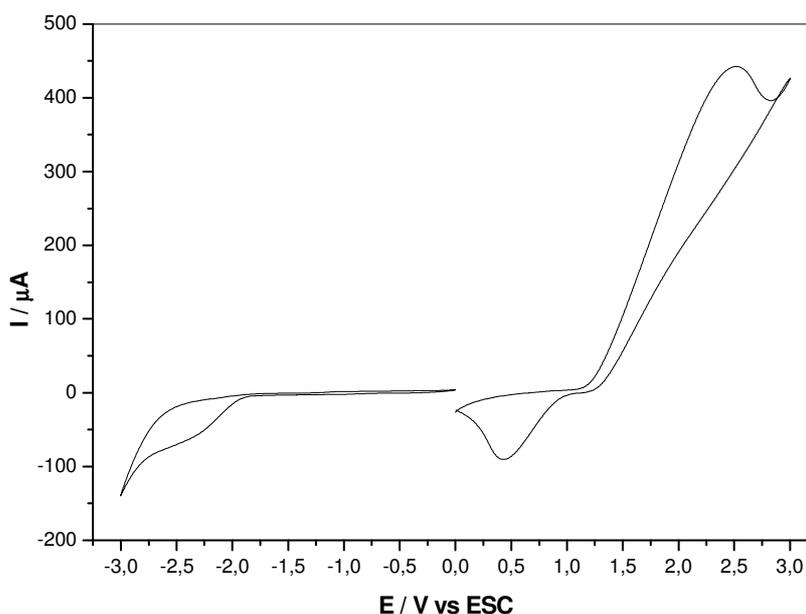


Figura 9. Voltamograma cíclico do sistema eletrólito suporte/solvente (LiCl/EtOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$).

Na Figura 9 pode-se observar que no intervalo de potencial estudado, aparecem picos voltamétricos referentes à ocorrência de processos de oxidação e redução. Um pico oxidativo surge em $+2,5 \text{ V}$, possivelmente devido à oxidação do etanol. Já no sentido reverso da varredura, aparece um pico de redução em $+0,5 \text{ V}$ referente à redução dos produtos da oxidação do etanol. Assim, percebe-se que se

o eletrólito de suporte escolhido fosse o LiCl/EtOH, o intervalo de trabalho disponível seria muito pequeno. Além disso, os picos referentes à oxidação e à redução do etanol poderiam interferir em uma possível resposta eletroquímica dos acilgliceróis a serem analisados.

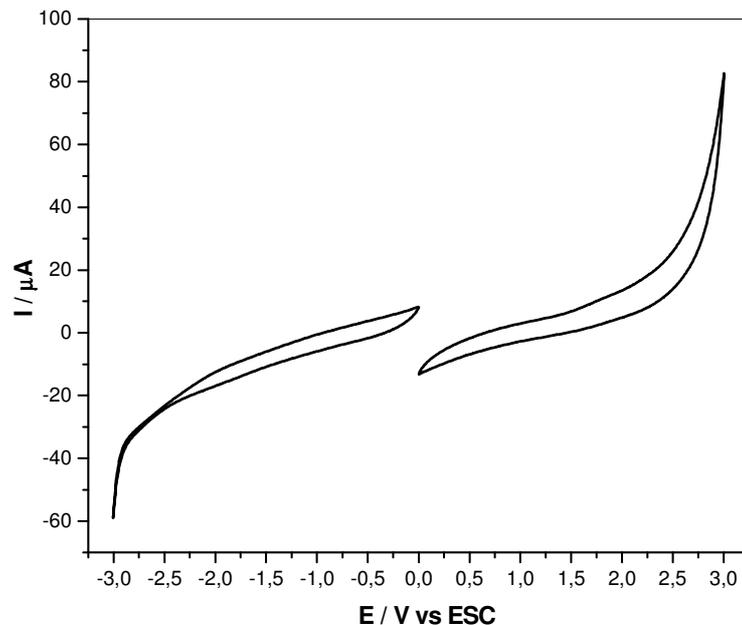


Figura 10. Voltamograma cíclico do sistema eletrólito suporte/solvente ($\text{TBABF}_4/\text{ACN}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$).

Na Figura 10, no intervalo de potencial estudado, não observou-se nenhum pico voltamétrico referente à ocorrência de processos de oxidação e/ou redução. Logo, a utilização deste eletrólito de suporte permite que um amplo intervalo de potencial fique disponível para trabalho. Além disso, o não aparecimento de picos voltamétricos descarta a possibilidade de interferência em uma possível resposta eletroquímica dos analitos a serem estudados neste trabalho. Assim sendo, os estudos seguintes foram realizados com o sistema $\text{TBABF}_4/\text{ACN}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

7.2 Acilgliceróis: Voltametria Cíclica

Após a escolha do melhor eletrólito suporte ($\text{TBABF}_4/\text{ACN}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$), foi estudado o comportamento eletroquímico dos mono, di e triglicerídeos do ácido

linoléico. A técnica utilizada neste estudo também foi a voltametria cíclica. À célula eletroquímica foram adicionadas alíquotas de 200 μL de diferentes concentrações dos ésteres estudados em 20 mL de $\text{TBABF}_4/\text{ACN}$. Os resultados obtidos estão nas Figuras 11, 12 e 13.

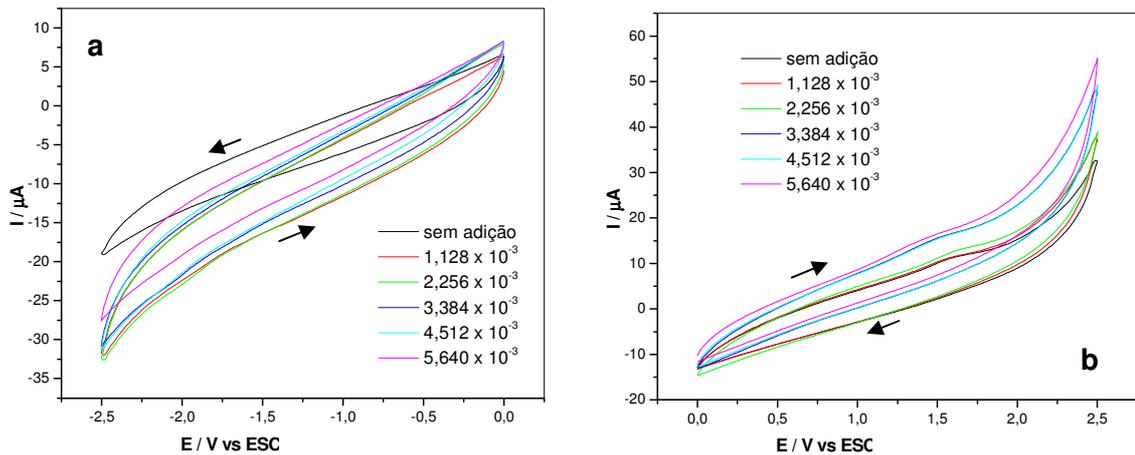


Figura 11. Voltamogramas cíclicos de monolinoleato de glicerina. ($\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$). a) sentido catódico, b) sentido anódico.

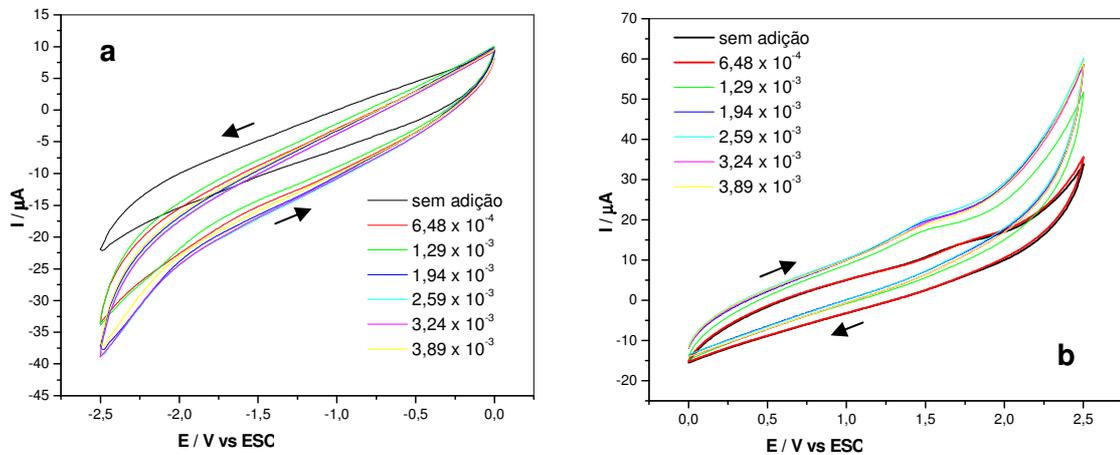


Figura 12. Voltamogramas das adições de dilinoleato de glicerina. ($\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$). a) sentido catódico, b) sentido anódico.

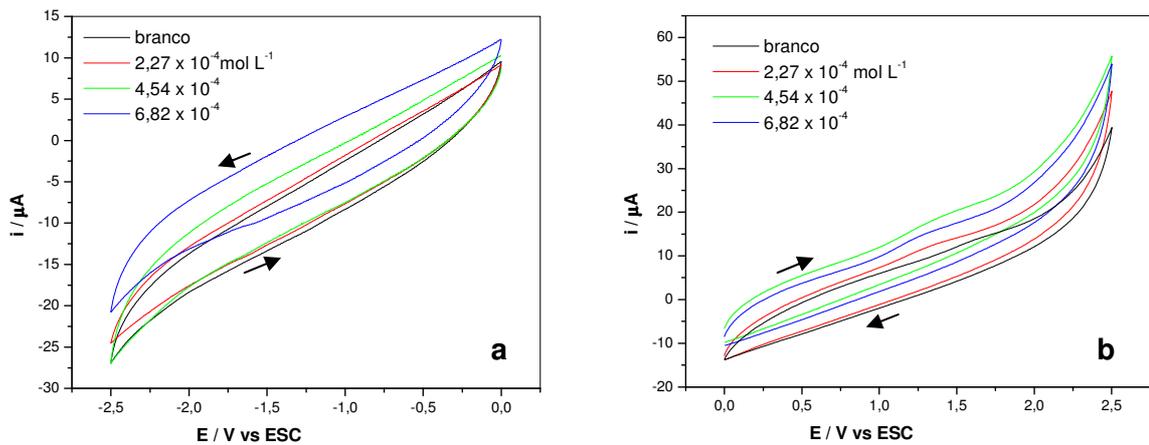


Figura 13. Voltamogramas das adições de trilinoleato de glicerina. ($v = 200 \text{ mV s}^{-1}$). a) sentido catódico, b) sentido anódico.

Observando-se os resultados apresentados nas Figuras 11, 12 e 13, percebe-se que no intervalo de potencial analisado, nenhum dos compostos estudados apresentou picos voltamétricos referentes à processos de oxidação e/ou redução, mostrando que estes ésteres não apresentam atividade eletroquímica. Uma possível explicação para este comportamento pode ser obtida observando-se as estruturas dos compostos envolvidos, como mostra a Figura 14.

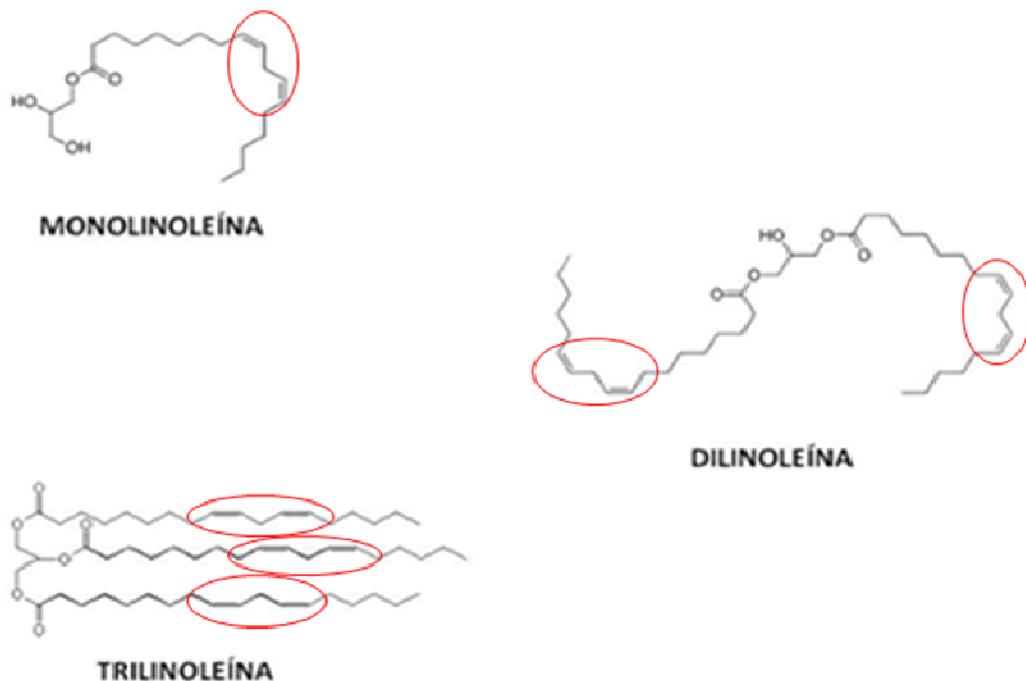


Figura 14. Estrutura do mono, di e trilinoleato de glicerina. Em destaque estão as insaturações existentes.

Os acilgliceróis (mono, di e triglicerídeos) são ésteres oriundos da reação do glicerol (um triálcool) com ácidos, especialmente ácidos graxos (ácidos carboxílicos de cadeia longa), no qual as hidroxilas do glicerol sofreram condensação carboxílica. De uma maneira simplificada, um monoacilglicerol é formado pela união de um ácido graxo a uma molécula de glicerol. Já o diacilglicerol é um éster formado pela união de dois ácidos graxos à molécula de glicerol, enquanto o triacilglicerol é formado pela condensação de três ácidos graxos com uma molécula de glicerol.

Como mostra a Figura 14, quando o ácido envolvido é o ácido graxo linoleico, formam-se o monolinoleato de glicerina, o dilinoleato de glicerina e o trilinoleato de glicerina. É interessante citar que o ácido linoléico pode ser simbolizado por C18:2 (n9,12) (SUAREZ; OLIVEIRA; SANTOS, 2008) significando que é composto por 18 átomos de carbono, tendo duas insaturações em sua cadeia. Uma no carbono 9 e a outra no carbono 12. Assim, fica claro que apesar da existência destas duas insaturações, elas estão distantes uma da outra, não havendo então efeito de duplas conjugadas, o que, nesse caso, impossibilita a ocorrência de respostas eletroquímicas.

Porém, retornando às Figuras 11, 12 e 13, observa-se que mesmo não existindo picos voltamétricos, há um aumento considerável da corrente capacitiva, sugerindo um comportamento adsorptivo.

Por este motivo, a partir de então, optou-se por desenvolver uma nova metodologia de trabalho levando em conta que estes compostos podem adsorver na superfície do eletrodo.

7.3 Acilgliceróis: Voltametria Cíclica com eletrodo de filme de mercúrio

Com o intuito de estudar o comportamento eletroativo dos acilgliceróis por voltametria cíclica em eletrodo de trabalho modificado com um filme de mercúrio, adicionaram-se à célula eletroquímica contendo Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, quantidades conhecidas do mono, di e trilinoleato de glicerina.

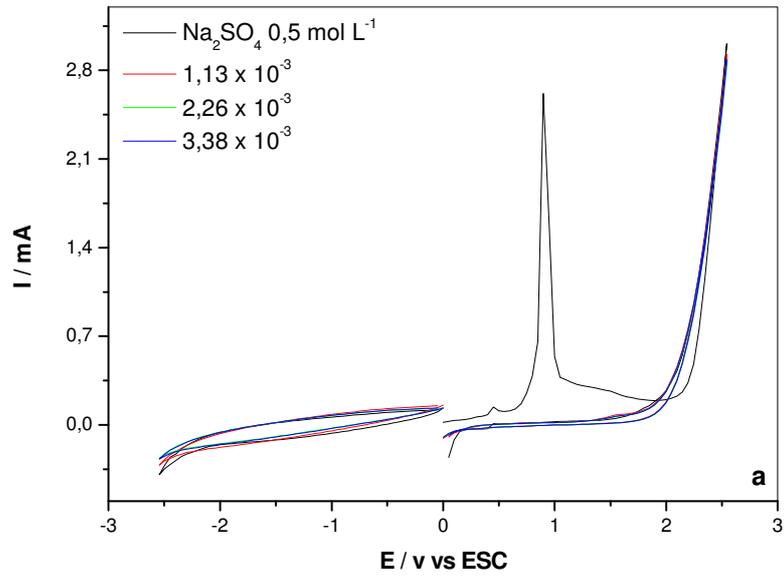


Figura 15. Voltamogramas cíclicos dos acilgliceróis com eletrodo modificado com filme de mercúrio. ($\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$); monolinoleato de glicerina.

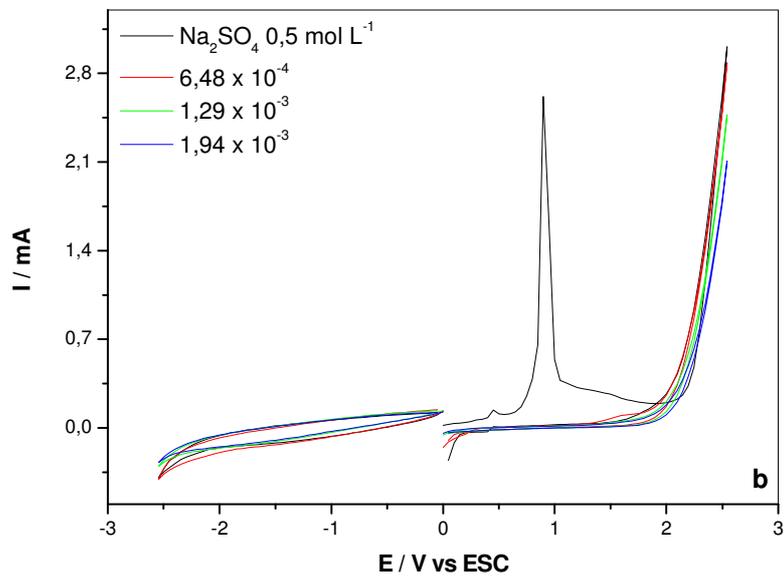


Figura 16. Voltamogramas cíclicos dos acilgliceróis com eletrodo modificado com filme de mercúrio. ($\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$); dilinoleato de glicerina.

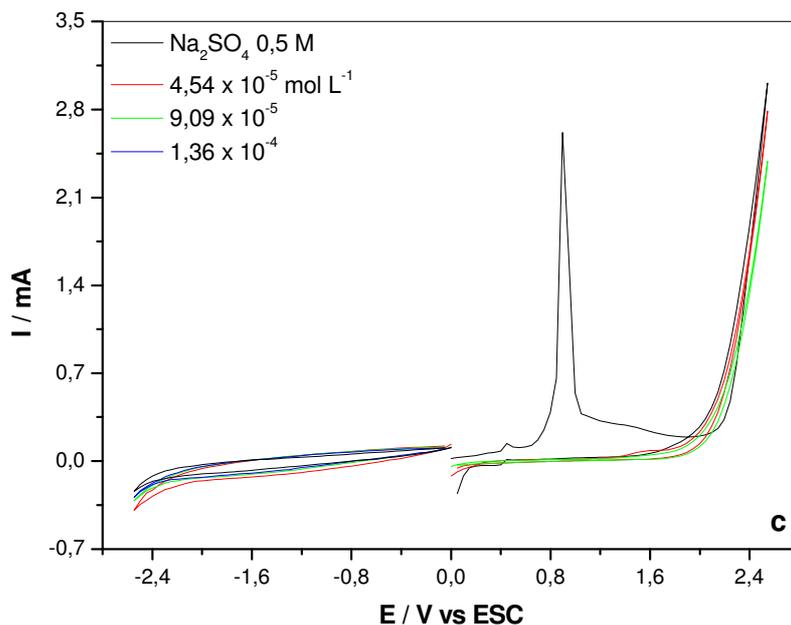


Figura 17. Voltamogramas cíclicos dos acilgliceróis com eletrodo modificado com filme de mercúrio. ($\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$); trilinoleato de glicerina.

Observando-se as Figuras 15, 16 e 17, percebe-se que no intervalo de potencial estudado, na varredura do branco (eletrólito de suporte Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$), há um pico anódico em $+ 0,87 \text{ V}$. Este pico é referente a oxidação do filme de mercúrio modificador da superfície do eletrodo e pode ser representado por:



Desta maneira, nas condições experimentais adotadas, torna-se impossível a determinação dos acilgliceróis por voltametria cíclica com filme de mercúrio. É clara também a inexistência de picos referentes a processos de oxidação e/ou redução, o que comprova a eletroinatividade destes compostos, mesmo com a modificação da superfície do eletrodo de trabalho.

7.4 Acilgliceróis: Redissolução Adsorptiva com Voltametria AC

Para o estudo do comportamento adsorptivo do mono, di e trilinoleato de glicerina foi necessária a modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo

com um filme de mercúrio. Após a modificação, a curva tensamétrica dos ésteres foi registrada, utilizando-se a técnica de voltametria AC.

7.4.1 Comportamento adsortivo do mono, di e trilinooleato de glicerina

Para verificar a influência dos acilgliceróis no eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de mercúrio, adicionou-se à célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte (Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) $25 \mu\text{L}$ do éster (Figura 18, 19 e 20) de maneira que a concentração fosse igual a $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

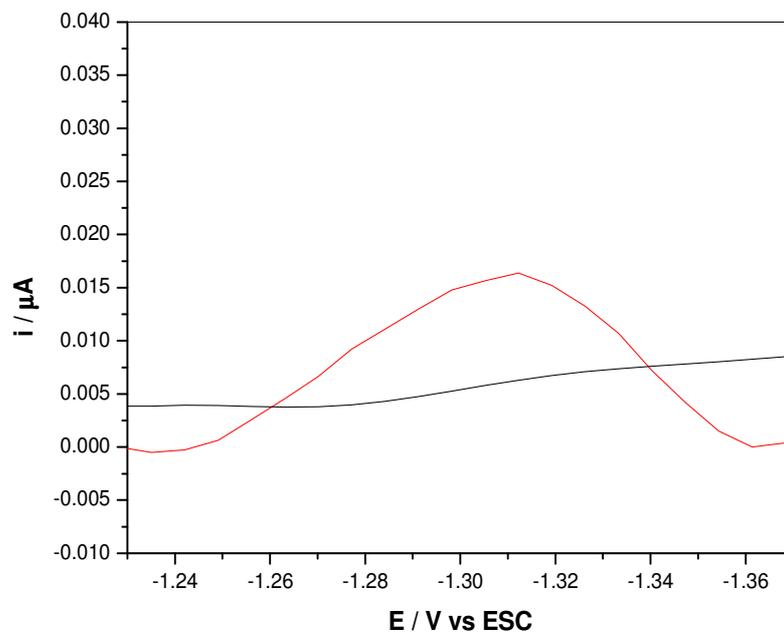


Figura 18. Curva tensamétrica do (---) branco Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e (---) monolinoleato de glicerina $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$ e $\Delta E = 2 \text{ mV}$.

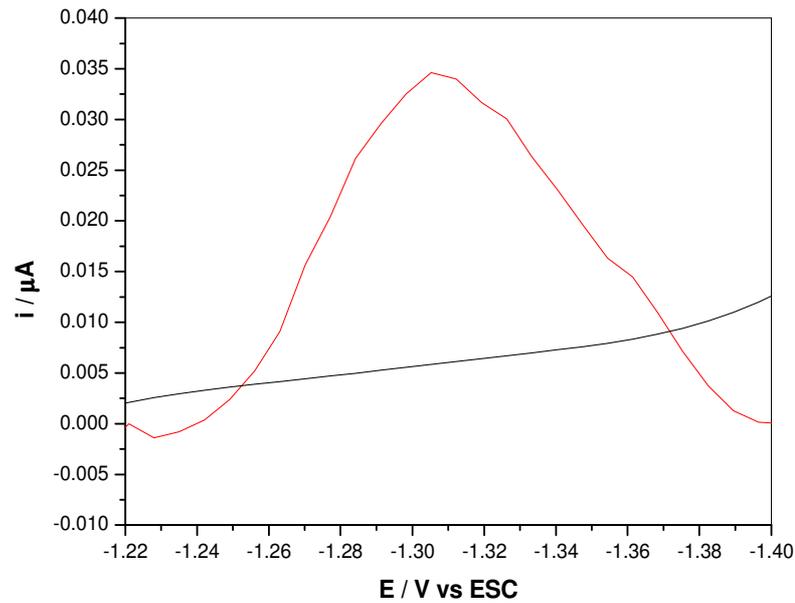


Figura 19. Curva tensamétrica do (---) branco Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e (---) dilinoleato de glicerina $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$ e $\Delta E = 2 \text{ mV}$.

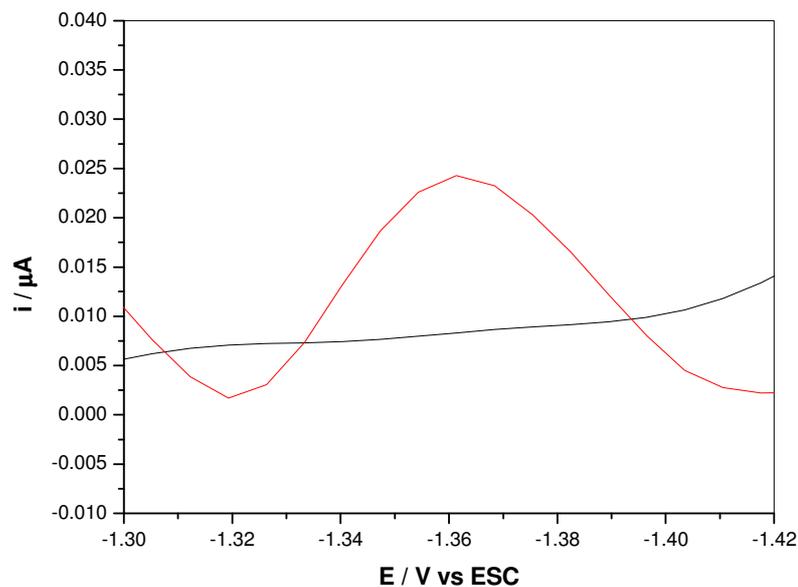


Figura 20. Curva tensamétrica do (---) branco Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e (---) trilinoleato de glicerina $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$ e $\Delta E = 2 \text{ mV}$.

Como observado nas Figuras 18, 19 e 20, os acilgliceróis apresentam um pico bem definido na região de potencial de $-1,30$ a $-1,36 \text{ V}$. Na Tabela 1 estão os valores dos potenciais e correntes de pico, bem como os de $W_{1/2}$.

Tabela 1. Variação dos principais parâmetros voltamétricos para mono, di e triglicerídeo

	$E_{p\ ad} / V$	$I_{p\ ad} / 10^{-8} A$	$W_{1/2} / V$
mono	-1,31	2,30	0,04
di	-1,30	3,60	0,04
tri	-1,36	2,50	0,02

A Tabela 1 mostra que os potenciais de pico de desorção para os acilgliceróis ficaram em um intervalo de potencial de -1,30 a -1,36 V, Além disso, para o mono e o trilinoleato de glicerina as correntes de pico foram muito próximas. Já o dilinoleato de glicerina apresentou uma corrente de pico maior que os demais glicerídeos. Os valores de $W_{1/2}$ para o mono e o dilinoleato de glicerina foram iguais, porém, para o trilinoleato de glicerina o $W_{1/2}$ foi metade do valor encontrado para o mono e o diglicerídeos.

7.4.2 Potencial de acúmulo (E_{ac}) e amplitude de potencial (ΔE)

O potencial de acúmulo empregado em técnica de voltametria AC depende do tipo de eletrodo, da espécie a ser adsorvida, mas principalmente do eletrólito de suporte utilizado. Assim, como mostrado anteriormente e de acordo com a curva de eletrocapilaridade do sulfato de sódio, um potencial de acúmulo igual a -1,2 V seria o melhor a ser utilizado Além disso, em técnicas tensamétricas, o potencial de deposição deve ser igual ou próximo ao potencial de pico (no caso deste trabalho, $E_{ad} \sim -1,30 V$) (SANTOS; VILA FAMILA; GONÇALVES, 2002).

A amplitude de potencial utilizada foi igual a 2 mV. Isto porque, é sabido que mudanças neste parâmetro para valores menores ou iguais a 20 mV essencialmente não apresentam influência nos processos eletródicos AC (BOND, 1980).

7.4.3 Estudo do tempo de acúmulo (t_{ac})

O estudo do tempo de acúmulo foi realizado adicionando-se à célula eletroquímica 10 μL dos acilgliceróis em 25 mL de solução de sulfato de sódio 0,5 mol L^{-1} , correspondendo a uma concentração de $4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Os tempos de acúmulo estudados foram 15, 30, 60, 90 s, como mostram as Figuras 21, 22 e 23.

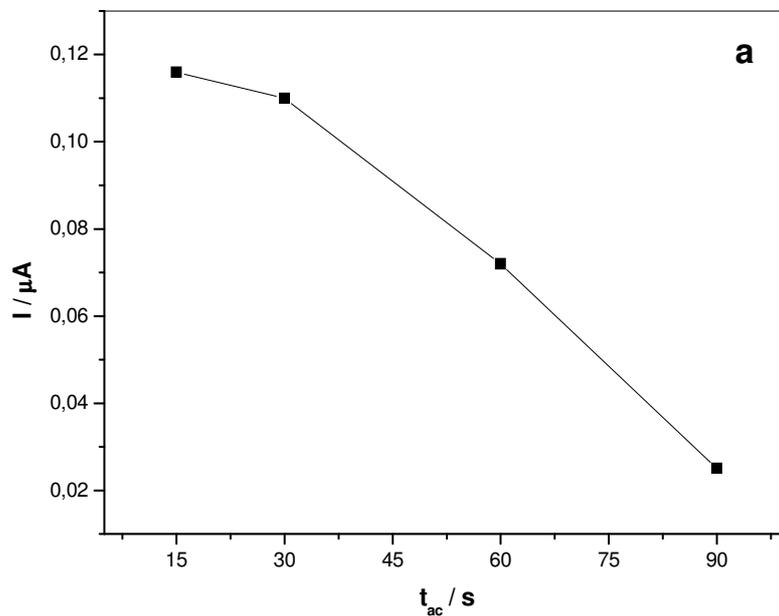


Figura 21. Influência do tempo de acúmulo (t_{ac}) nas correntes de pico para o monolinoleato de glicerina $4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

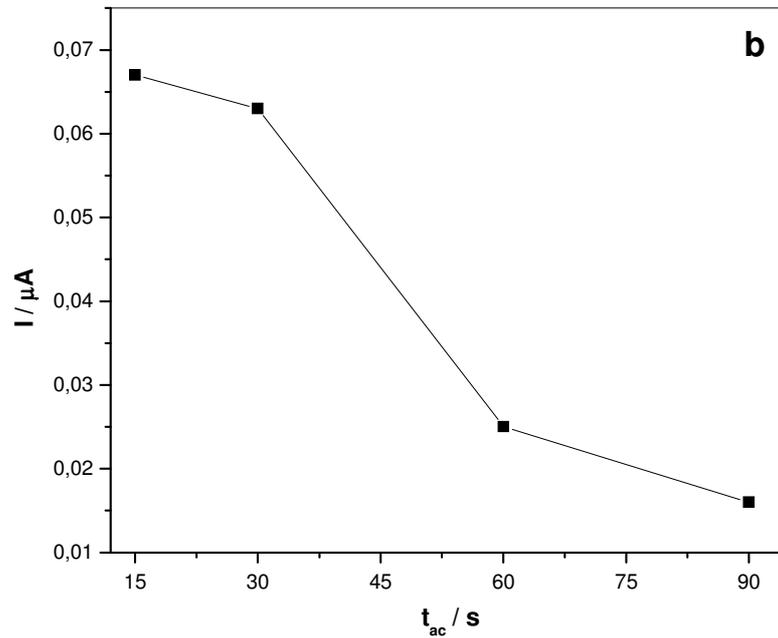


Figura 22. Influência do tempo de acúmulo (t_{ac}) nas correntes de pico para o dilinoleato de glicerina $4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

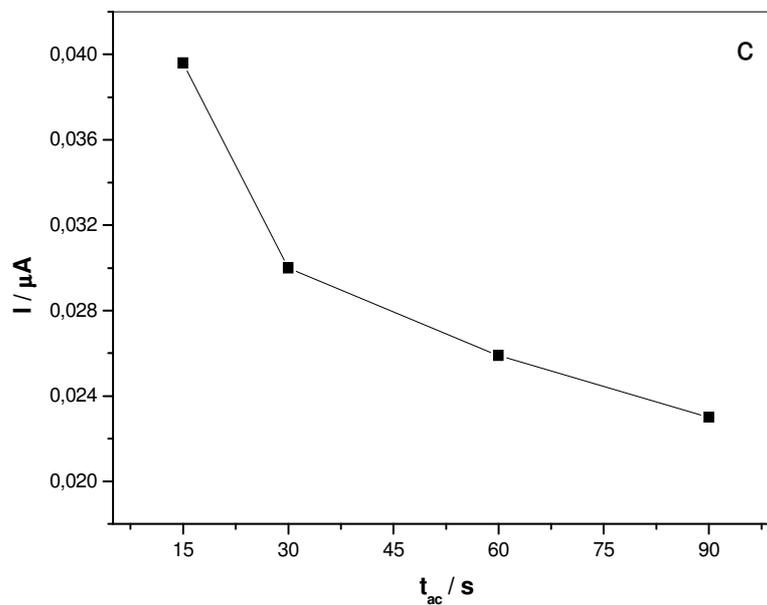


Figura 23. Influência do tempo de acúmulo (t_{ac}) nas correntes de pico para o trilinoleato de glicerina $4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

Observa-se nas Figuras 21, 22 e 23 um decréscimo na corrente de pico com o aumento dos tempos de deposição. Da mesma maneira, este efeito deve-se provavelmente ao fato de a adsorção dos acilgliceróis no eletrodo com filme de mercúrio ser relativamente forte e por isso, o filme é saturado muito rapidamente, sendo necessários somente 15 segundos. Além disso, o equilíbrio espécies adsorvidas-espécies desorvidas também é alcançado rapidamente, em apenas 15 segundos.

7.4.4 Influência da concentração dos acilgliceróis em um mesmo filme de mercúrio

Quando foram adicionadas sucessivamente alíquotas de concentrações conhecidas do mono, di e trilinoleato de glicerina em um mesmo filme de mercúrio, obteve-se o comportamento mostrado nas Figuras 24, 25 e 26.

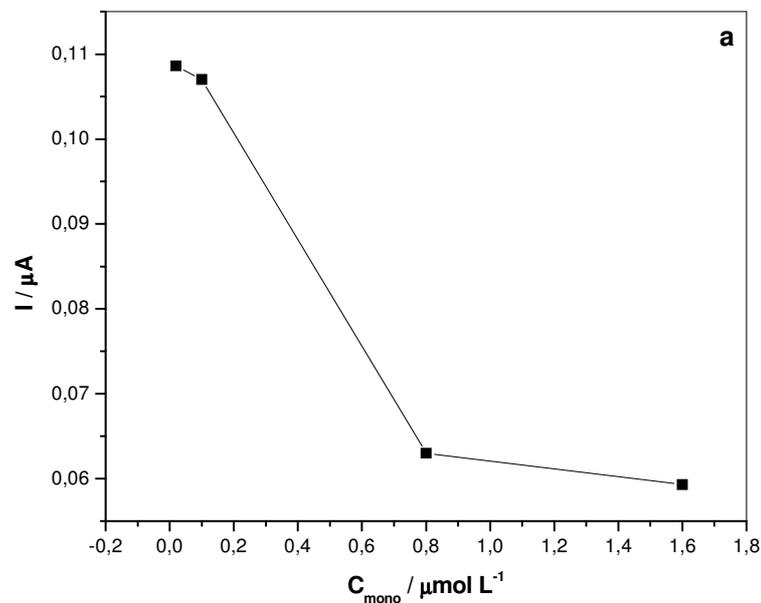


Figura 24. Influência da concentração de monolinoleato de glicerina em um mesmo filme de mercúrio.

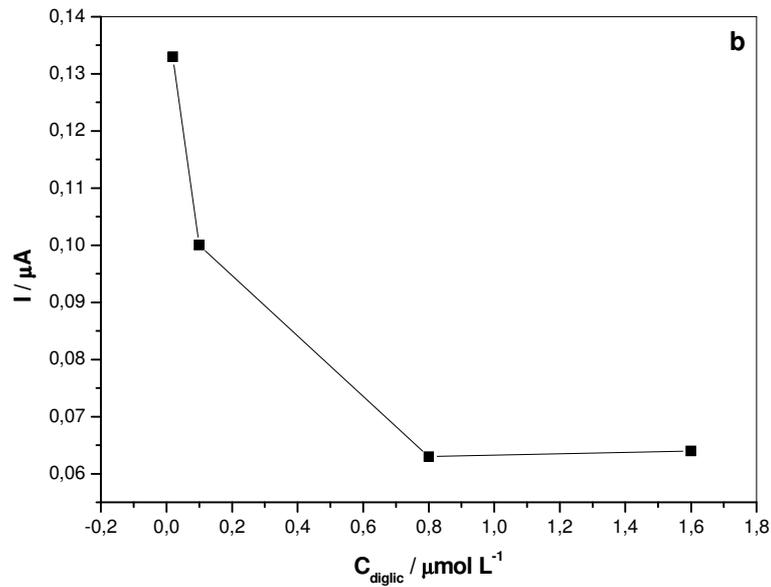


Figura 25. Influência da concentração de dilinoleato de glicerina em um mesmo filme de mercúrio.

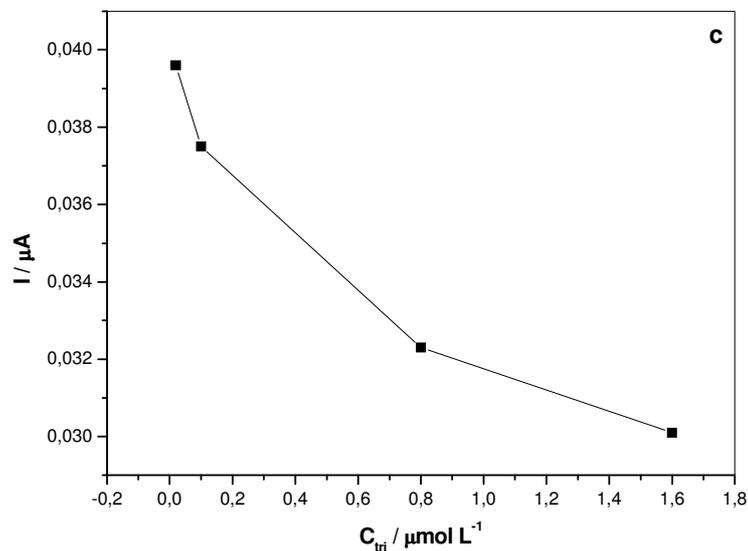


Figura 26. Influência da concentração de trilinoleato de glicerina em um mesmo filme de mercúrio.

Como se pode observar nas Figuras 24, 25 e 26, tanto o mono, como o di e o tri apresentam basicamente o mesmo comportamento. Quando são adicionadas alíquotas dos acilgliceróis em um mesmo filme de mercúrio, a corrente de pico adsortiva decresce. Isto se deve provavelmente ao fato de que a superfície do

eletrodo é ocupada muito rapidamente logo na adição da primeira concentração. Além disso, em técnicas adsorptivas, pode ocorrer a formação de uma camada bloqueadora na superfície do eletrodo, inibindo a adsorção de novas moléculas. (BARD; FAULKNER, 2001).

Desta forma, tornou-se necessária a modificação do eletrodo com filme de mercúrio a cada nova adição. Assim, para cada medida, um filme de mercúrio era formado na superfície do eletrodo de trabalho.

7.4.5 Influência da concentração do mono, di e trilinoleato de glicerina

As Figuras 27, 28 e 29 mostram as curvas tensamétricas para os glicerídeos com adições crescentes dos respectivos padrões à célula eletroquímica contendo Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte. Nesta etapa, torna-se importante mencionar que para cada adição, um novo filme de mercúrio era formado na superfície do eletrodo.

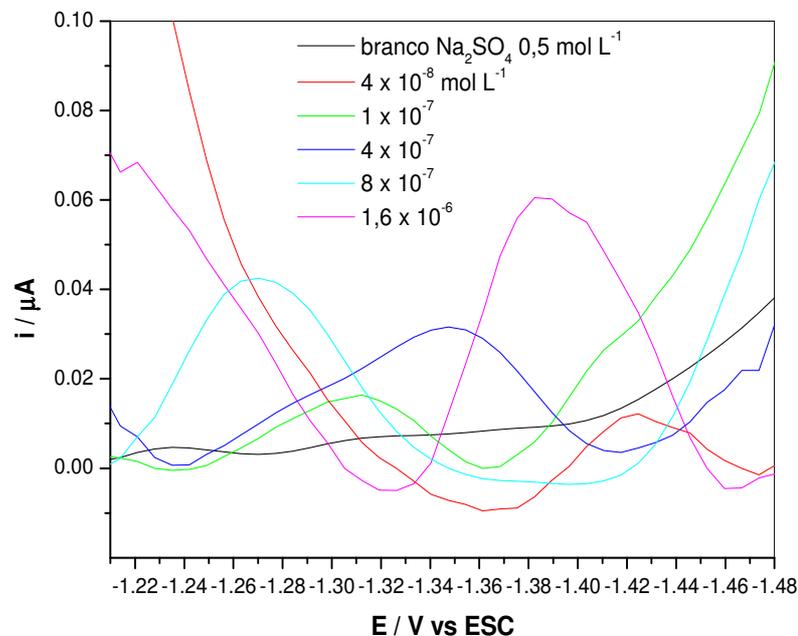


Figura 27. Curvas tensamétricas do monolinoleato de glicerina: adições de $4,0 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$, $v = 7 \text{ mV s}^{-1}$.

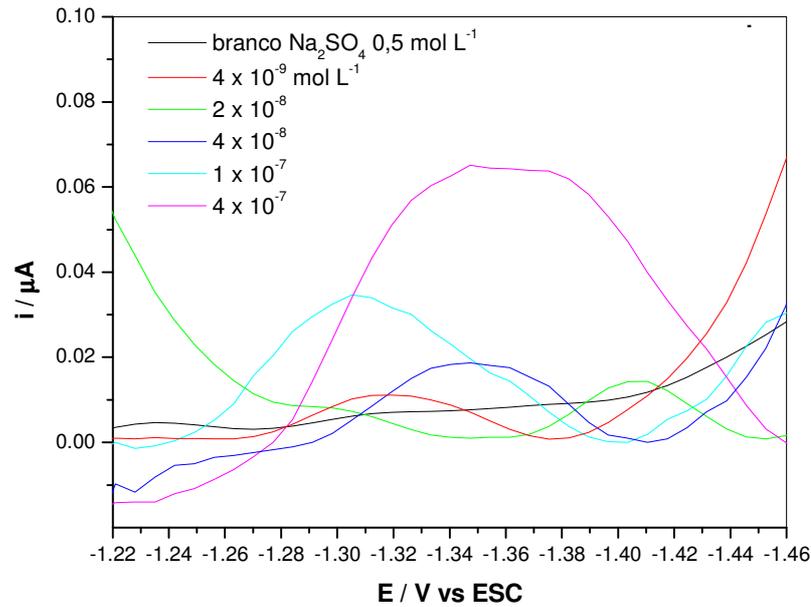


Figura 28. Curvas tensamétricas do dilinoleato de glicerina: adições de $4,0 \times 10^{-9}$ a $4,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$, $v = 7 \text{ mV s}^{-1}$.

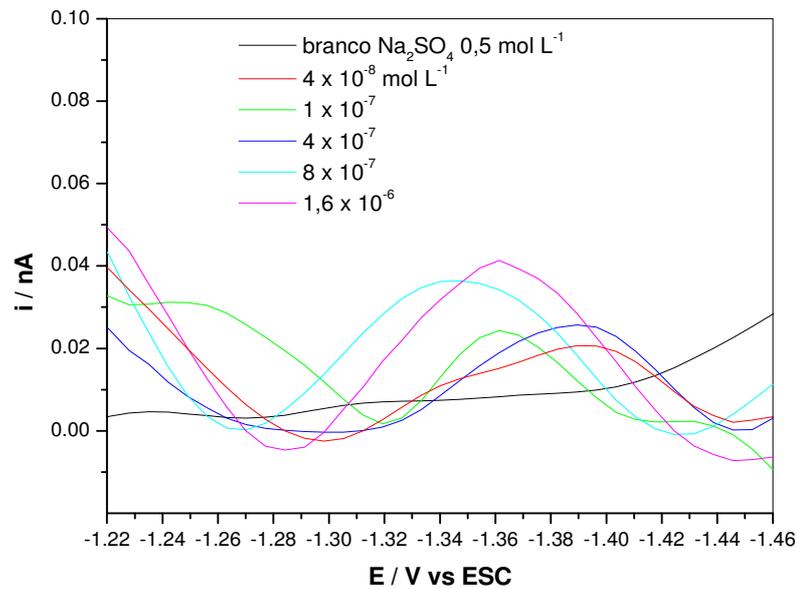


Figura 29. Curvas tensamétricas do trilinoleato de glicerina: adições de $4,0 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $t_{ac} = 15 \text{ s}$, $E_{ac} = -1,2 \text{ V}$, $v = 7 \text{ mV s}^{-1}$.

As Figuras mostram o comportamento adsorptivo dos acilgliceróis. Observa-se um aumento da corrente de pico com o aumento da concentração dos ésteres. Como as espécies são deslocadas do eletrodo para o seio da solução devido a uma maior afinidade com o eletrólito suporte, o intervalo de adsorção se torna dependente da concentração da espécie e pode se deslocar para valores positivos e negativos de potencial.

Este processo ocorre rapidamente, durante 15 segundos, entre o começo da medida e o início da obtenção do voltamograma adsorptivo (LUKASZEWSKI; SKYMANSKI, 2002).

Em todas as regiões de potencial, incluindo aquelas nas quais reações de transferência de carga não ocorrem por fatores termodinâmicos ou cinéticos, a estrutura da interface eletrodo-solução pode mudar com a mudança de potencial ou com a concentração da solução, e processos não envolvendo eletrólise, como adsorção ou desorção podem ocorrer. Devido ao fato de não existir transferência de elétrons, estes processos são chamados de não faradaicos. No entanto, eles podem contribuir com a corrente que flui na célula eletroquímica, da mesma maneira como nos processos faradaicos (nos quais ocorre transferência de elétrons) (BARD; FAULKNER, 2001).

Como consequência da adsorção da espécie não eletroativa na superfície do eletrodo (durante a varredura de potenciais), observa-se uma diminuição da capacitância da dupla camada (e, portanto, medido com um ângulo de fase de 90°). Esta diminuição da corrente capacitiva é dependente da concentração da espécie orgânica, ou seja, a diminuição da corrente capacitiva torna-se maior à medida que aumenta a concentração do composto orgânico até a saturação da superfície do eletrodo. No caso do mono e triglicerídeo, esta saturação ocorre em concentração igual a $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Já para o dilinoleato de glicerina, a saturação da superfície do eletrodo ocorre em concentração igual a $4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

A diminuição da corrente capacitiva é geralmente mais próxima ao potencial máximo de adsorção (E_m). Além da diminuição da corrente capacitiva, as curvas tensamétricas mostram variações nos potenciais de pico definindo limites de potenciais de adsorção.

Em geral, para as medidas de AC se utilizam os ângulos de 90° e 45° , o que distingue a ocorrência dos processos capacitivo e faradaico na superfície do eletrodo, uma vez que as correntes capacitiva e faradaica estão a 90° e 45° , respectivamente, fora de fase em relação à voltagem AC aplicada (SANDER; WAGNER; HENZW, 1995).

O provável mecanismo para a adsorção destes compostos não faradaicos pode ser representado por:

- etapa de pré – concentração:



- etapa de redissolução (voltametria AC)



onde A = mono ou di ou trilinoleato de glicerina.

7.4.6 Curvas analíticas do mono, di e trilinoleato de glicerina

Neste estudo, obtiveram-se curvas analíticas que apresentaram bons coeficientes de correlação linear para a faixa de $4,0 \times 10^{-9}$ a $1,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Outros parâmetros que permitem avaliar a confiabilidade dos dados obtidos, além da linearidade, são os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ). O LD representa a menor concentração do éster detectada enquanto o LQ é a menor concentração que pode ser quantificada. Para esses cálculos utilizaram-se os dados da curva analítica, conforme recomendado pela IUPAC (CURRIE, 1999a, b), $LD = 3 \times s/S$ e $LQ = 10 \times s/S$, onde s é o desvio padrão da curva analítica e S é a inclinação ou coeficiente angular da curva. A Tabela 2 apresenta a regressão linear, o coeficiente de correlação, o intervalo linear de concentração, bem como os limites de quantificação e detecção para cada éster. A Figura 30 ilustra as curvas analíticas nas análises quantitativas para o mono, di e trilinoleato de glicerina.

Tabela 2. Parâmetros das curvas analíticas obtidas para os acilgliceróis analisados

	Equação da reta / $x = \text{mol L}^{-1}$; $y = A$	Coefficiente de correlação – R	Intervalo linear de concentração / mol L ⁻¹	LQ / mol L ⁻¹	LD / mol L ⁻¹
mono	$I = 4,3 \times 10^{-10} +$ $0,031 C_{\text{mono}}$	0,995	$4,0 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-6}$	$5,4 \times 10^{-8}$	$1,6 \times 10^{-8}$
di	$I = -2,9 \times 10^{-10} +$ $0,17 C_{\text{di}}$	0,978	$4,0 \times 10^{-9}$ a $4,0 \times 10^{-7}$	$1,6 \times 10^{-8}$	$3,3 \times 10^{-9}$
tri	$I = 2,3 \times 10^{-10} +$ $0,017 C_{\text{tri}}$	0,980	$4,0 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-6}$	$1,2 \times 10^{-7}$	$3,6 \times 10^{-8}$

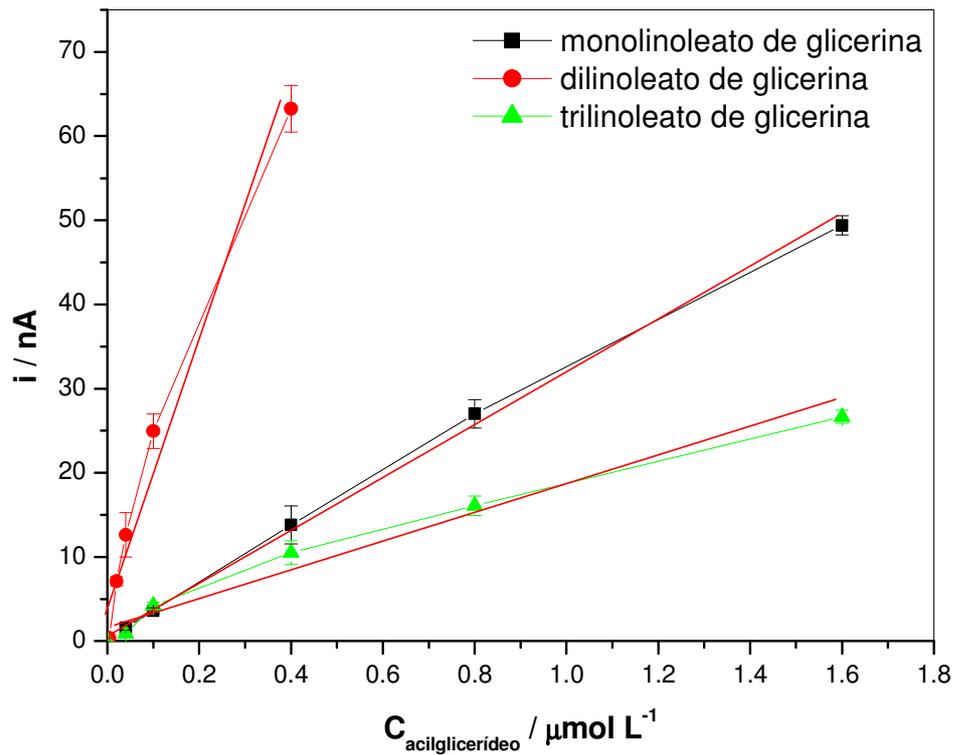


Figura 30. Curvas analíticas obtidas para os acilgliceróis: a) mono, b) di, c) trilinoleato de glicerina.

7.4.7 Acilgliceróis: Estudo teórico para a determinação das estruturas eletrônicas

Para entender o processo de adsorção desses compostos, foi realizado o estudo teórico para a determinação das estruturas eletrônicas. Todas as frequências vibracionais obtidas foram positivas, mostrando que as estruturas mais estáveis são as mostradas na Figura 31.

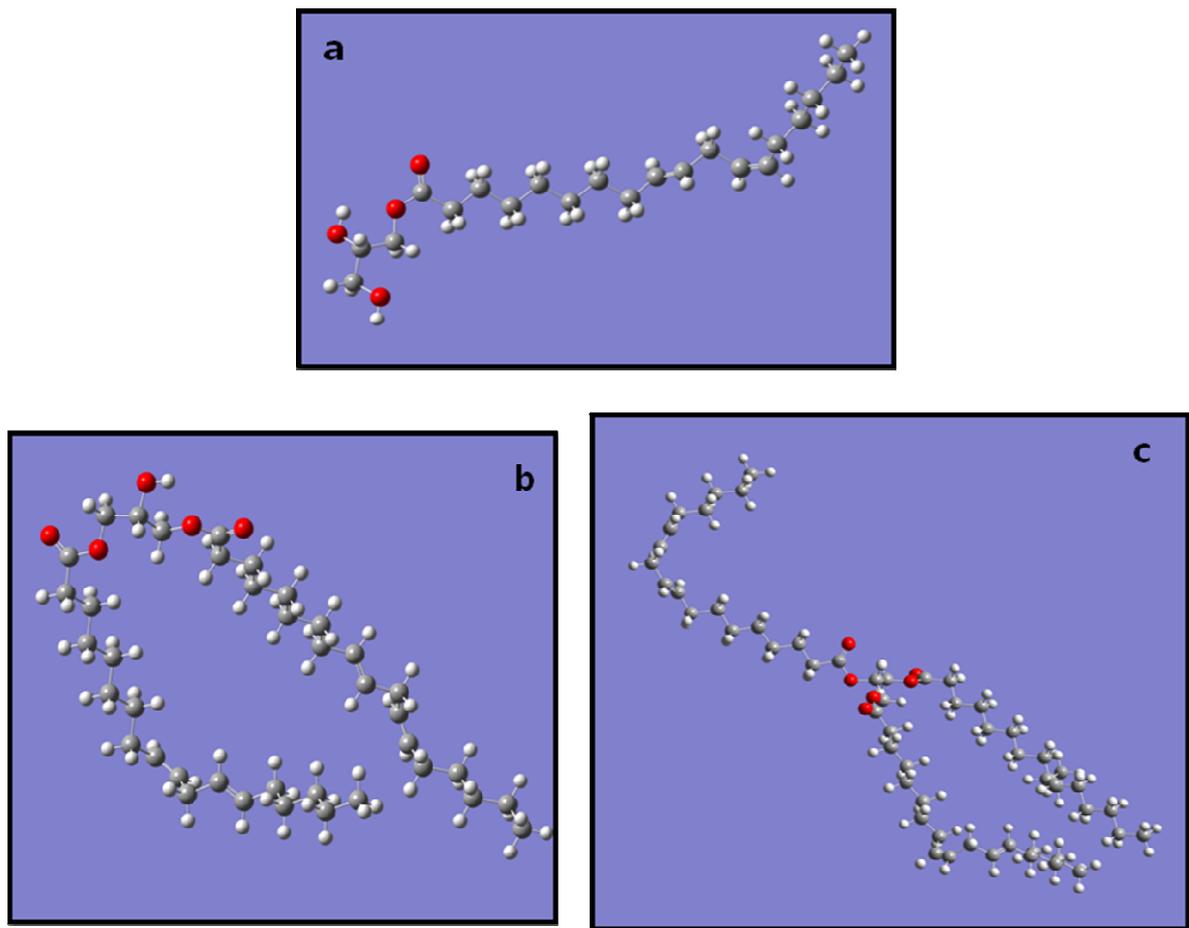


Figura 31. Estruturas mais estáveis do a) mono, b) di e c) trilinoleato de glicerina.

Uma vez que o filme de mercúrio na superfície do eletrodo apresentava carga negativa, tornou-se necessário saber a carga de cada átomo para se saber onde se encontravam os centros positivos em cada molécula (Figura 32).

No caso do monolinoleato de glicerina, há somente um centro positivo. Já no dilinoleato de glicerina existem dois centros positivos e no trilinoleato de glicerina são encontrados três centros positivos.

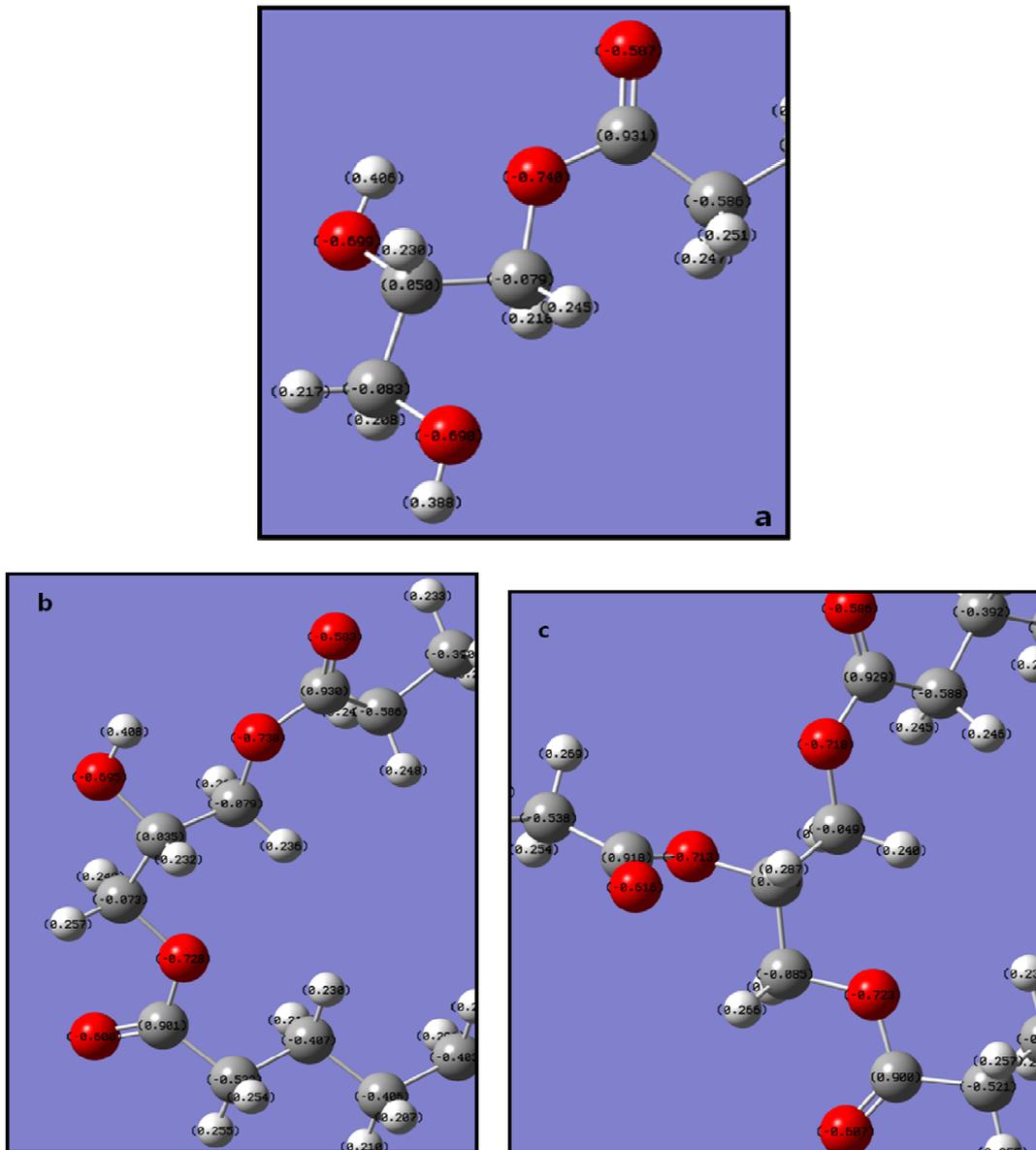


Figura 32. Carga de cada átomo em a) mono, b) di e c) trilinoato de glicerina.

Estudando-se então o vetor momento dipolo para cada molécula (Figura 33), pôde-se saber a direção da adsorção na superfície do eletrodo, uma vez que o vetor aponta da região com densidade positiva para a região com densidade negativa.

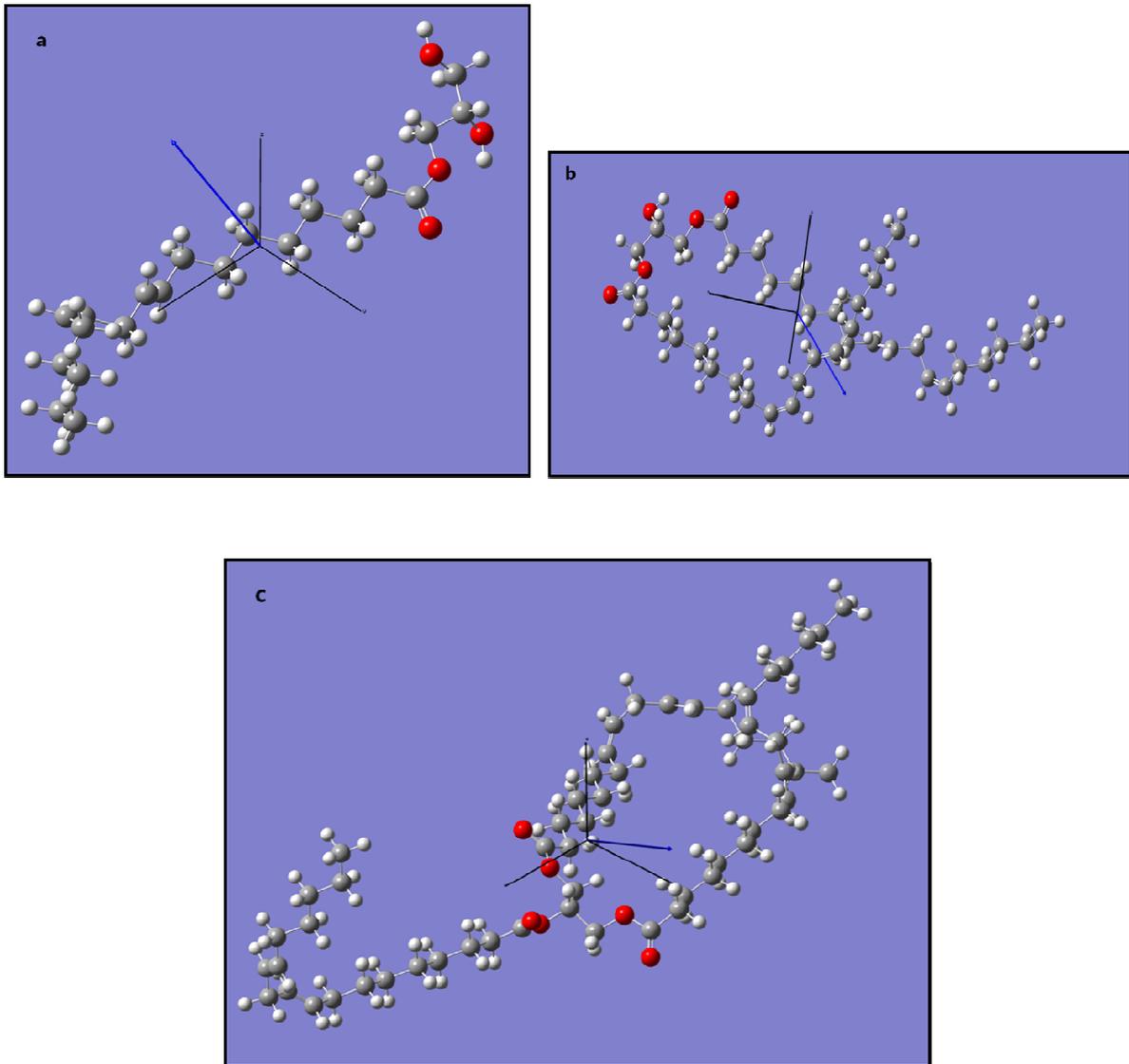


Figura 33. Vetor momento dipolo para a) mono, b) di e c) trilinoleato de glicerina.

Entre os acilgliceróis, o di adsorve mais fortemente que o mono, por possuir dois centros positivos e conseqüentemente uma densidade positiva maior. Já o tri, apesar da existência de três centros positivos, apresenta um forte impedimento estérico. Ele possui uma cadeia localizada exatamente no sentido em que se acredita ocorrer a adsorção. Portanto, o dilinoleato de glicerina adsorve mais fortemente que o monolinoleato de glicerina, que por sua vez adsorve mais fortemente que o trilinoleato de glicerina.

7.4.8 Estudo de interferência na corrente de pico

A possível interferência de um acilglicerol no pico adsorptivo de outro foi investigada adicionando-se quantidades conhecidas dos três juntos à célula eletroquímica. A concentração adicionada foi igual a $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados estão na Figura 34 e na Tabela 3.

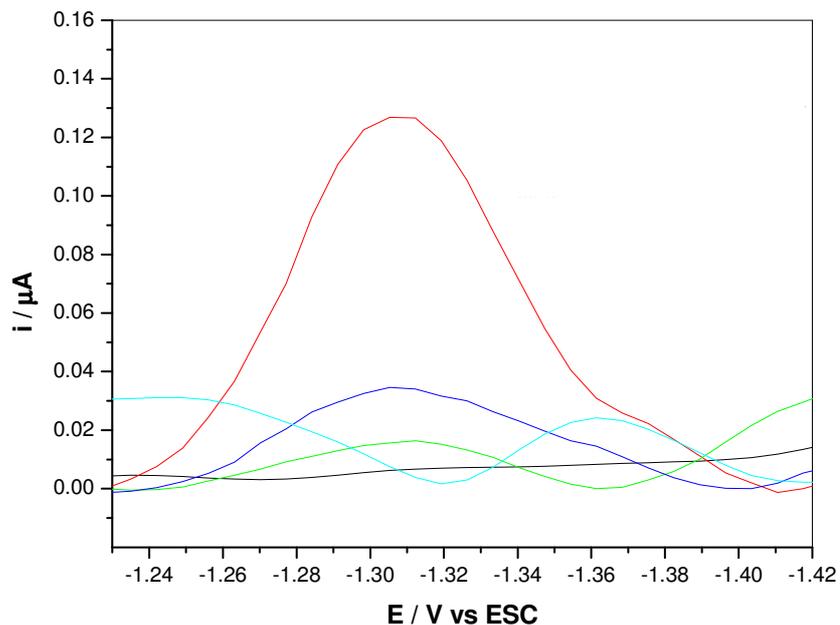


Figura 34. Curvas tensamétricas: (---) branco Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, (---) mistura dos acilgliceróis, (---) mono, (---) di e (---) triglicerídeo; $C = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 3. Variação dos principais parâmetros voltamétricos para mono, di e triglicerídeos determinados separadamente e misturados; $C = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$

	$E_{p \text{ ad}} / \text{V}$	$I_{p \text{ ad}} / 10^{-8} \text{ A}$
mono	-1,31	2,30
di	-1,30	3,60
tri	-1,36	2,50
	$\bar{E} = -1,32$	$\Sigma i = 8,4$

mono + di + tri	-1,31	10,3
----------------------------	-------	------

De acordo com a Tabela 3, observa-se que quando um acilglicerol está na presença de outro há uma interferência significativa no sinal tensamétrico, isto é, há um aumento no valor da corrente de pico adsortiva. Quando os três são misturados na célula eletroquímica, a corrente resultante é aproximadamente a soma das correntes de adsorção de cada composto separadamente. Da mesma maneira, o valor médio do potencial de pico para os três separadamente é bem próximo ao potencial de pico quando os três estão misturados.

Pode-se concluir então que o mono, o di e o trilinoleato de glicerina não podem ser determinados simultaneamente pela técnica de Redissolução Adsortiva com Voltametria AC.

7.5 Acilgliceróis: CLAE-DE direta

Antes do início de qualquer corrida cromatográfica, o sistema deve ser estabilizado, ou seja, o monitoramento da linha base torna-se necessário, a fim de se obter uma corrente de fundo bem estável. Tal processo leva aproximadamente 2 - 2:30 h. Porém, ao fim dessa estabilização, o filme de mercúrio não se manteve na superfície do eletrodo, impossibilitando o desenvolvimento do trabalho por este método.

7.6 Acilgliceróis: CLAE-DE indireta

A primeira consideração quando se trata de detecção eletroquímica indireta em cromatografia líquida é a seleção da espécie eletroativa a ser adicionada à fase móvel. A escolha para este trabalho foi o ácido ascórbico, cujo comportamento redox

consiste de um sistema quimicamente reversível e a oxidação leva ao ácido deidroascórbico

O cromatograma na Figura 35 mostra a injeção do triglicerídeo nas condições cromatográficas já citadas, porém, sem o ácido ascórbico na fase móvel. Ou seja, quando a fase móvel é composta somente pelo tampão fosfato e pelo metanol, nenhuma resposta é observada com a detecção eletroquímica destes ésteres eletroinativos, mesmo em concentrações altas.

Sendo assim, fica claro que a adição do ácido ascórbico é necessária para a análise destes tipos de substância.

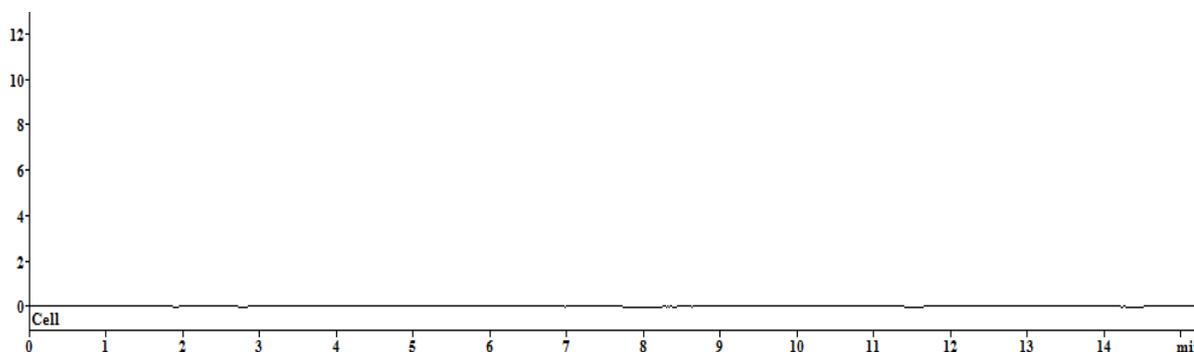


Figura 35. Cromatograma referente à eluição da solução de trilinoleato de glicerina $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando-se coluna Luna $5\mu \text{ C18}$ ($250 \times 4,6 \text{ mm d.i.}$) da Phenomenex e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução tampão fosfato e metanol (60:40 v/v) sem ácido ascórbico como aditivo, com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl, em + 0,28 V.

Como mencionado anteriormente, a substância adicionada à fase móvel deve ser inerte aos analitos, mas principalmente eletroativa frente à detecção eletroquímica. Dessa maneira, injetou-se uma solução $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico com fase móvel contendo somente o tampão fosfato e o metanol na proporção 60:40 (v/v). O cromatograma obtido está na Figura 36.

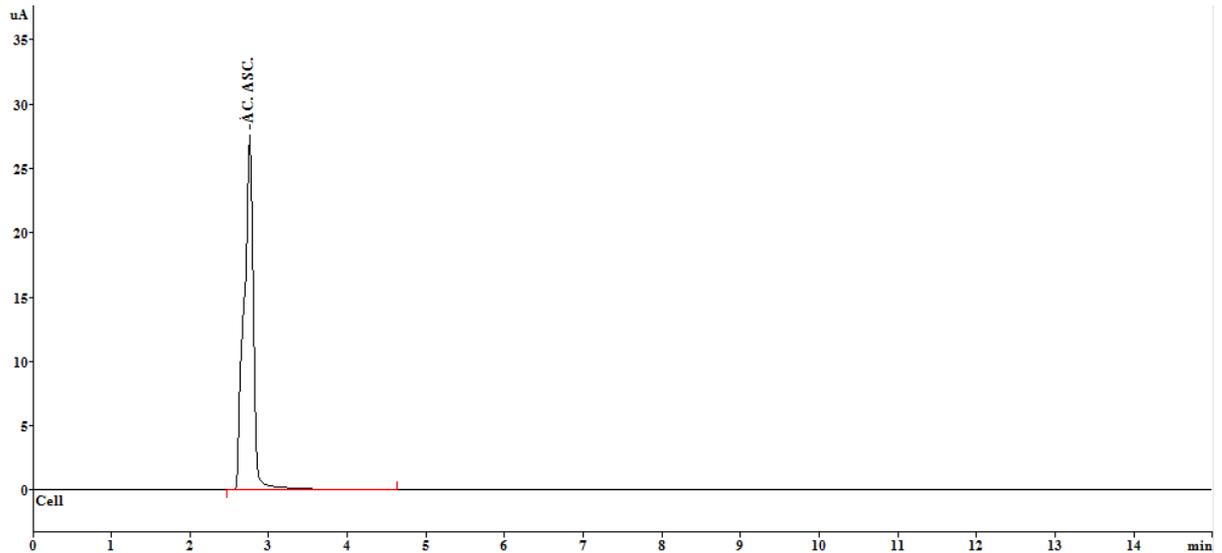


Figura 36. Cromatograma referente à eluição da solução de Ácido Ascórbico $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} utilizando-se coluna Luna 5μ C18 ($250 \times 4,6$ mm d.i.) da Phenomenex e vazão de $1,0$ mL min^{-1} . Injeção de $20 \mu L$ e fase móvel contendo tampão fosfato e metanol (60:40 v/v) sem ácido ascórbico como aditivo, com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl, em $+0,28$ V.

Como observado, o ácido ascórbico apresenta um pico com $t_R = 2,76$ e $I_p = 27,70$ uA.

A Figura 37 apresenta um cromatograma com detecção eletroquímica em potencial de oxidação de $+0,28$ V, obtido após a injeção de $20 \mu L$ de solução de mono, di e trilinoleato de glicerina, na faixa de concentração de $5,0 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} , diretamente em uma coluna cromatográfica Luna 5μ C18 ($250 \times 4,6$ mm d.i.) da Phenomenex em condições isocráticas. Torna-se importante mencionar que, para melhor visualização e interpretação, foi escolhida uma representação positiva dos picos cromatográficos.

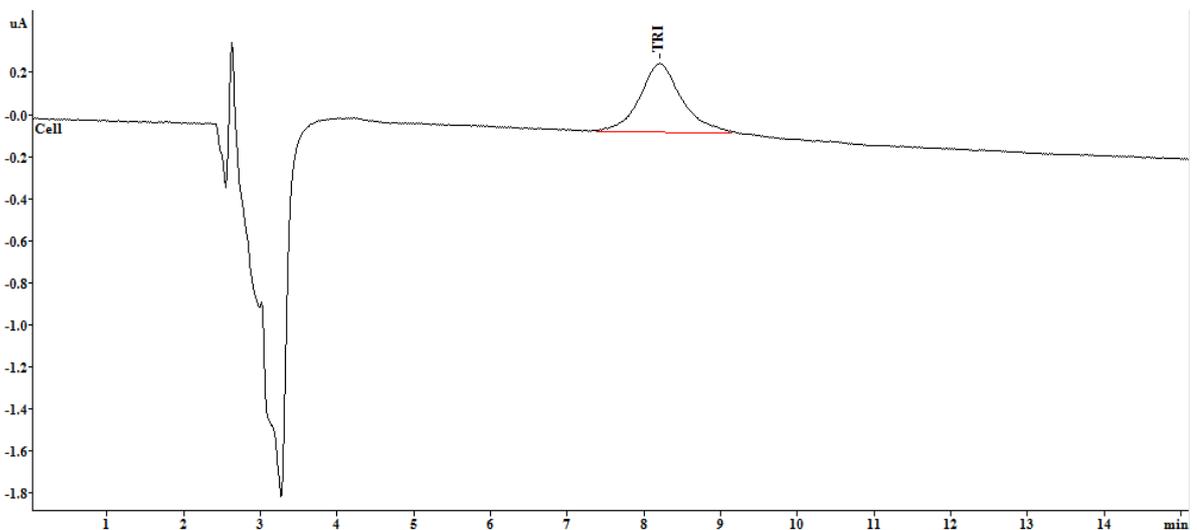
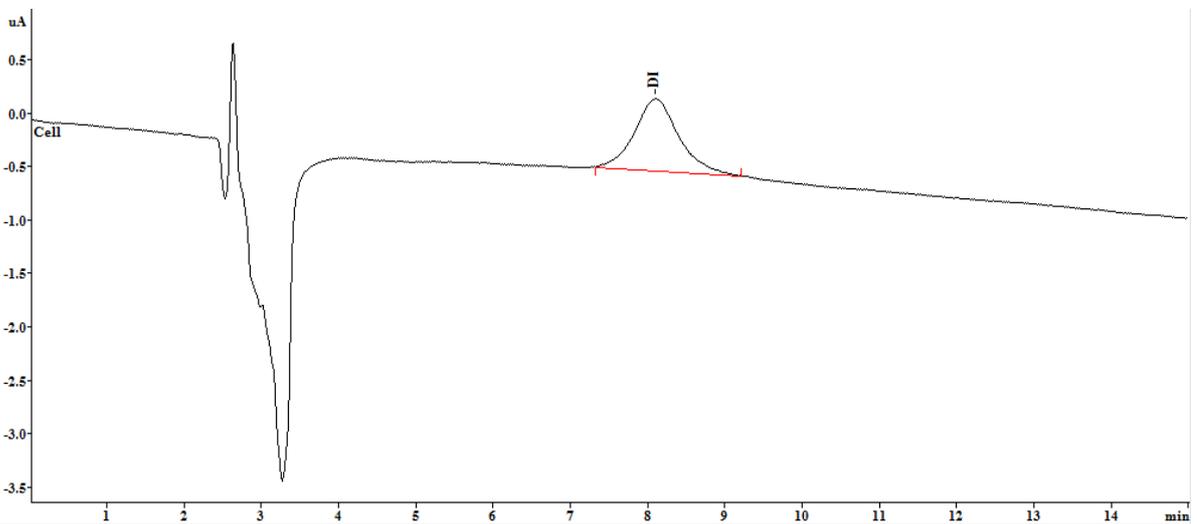
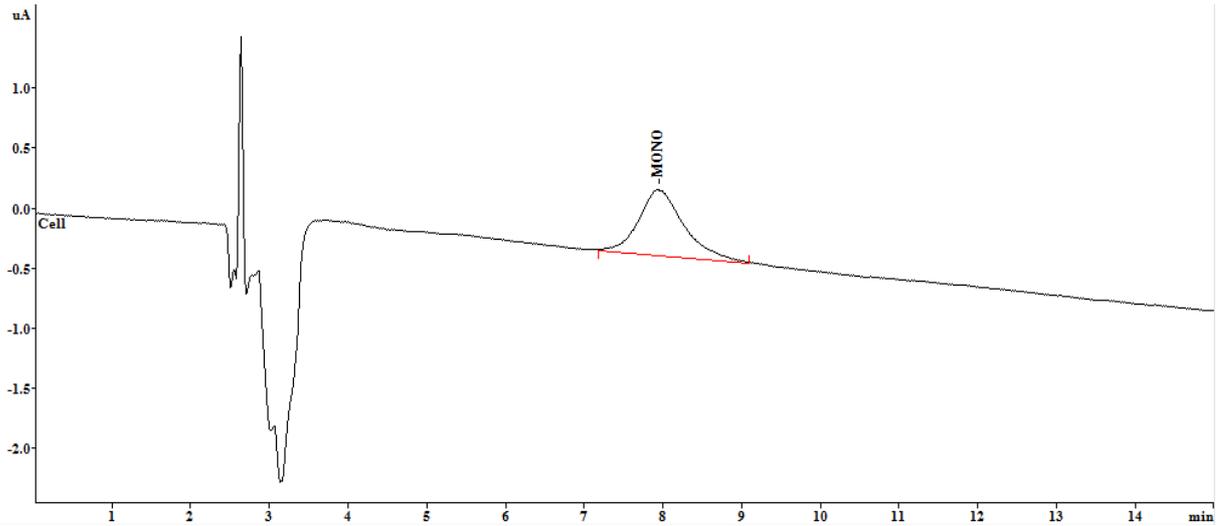


Figura 37. Cromatogramas referentes à eluição dos padrões de mono, di e trilinoleato de glicerina utilizando-se coluna Luna 5 μ C18 (250 \times 4,6 mm d.i.) da Phenomenex e vazão de 1,0 mL min⁻¹. Injeção de 20 μ L e fase móvel contendo tampão fosfato e metanol (60:40 v/v)

com ácido ascórbico como aditivo, com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl, em + 0,28 V.

A partir da Figura 37, fica clara a importância da utilização do ácido ascórbico como aditivo na fase móvel para a detecção de compostos eletroativos.

Na Tabela 4 são mostrados os valores de alguns parâmetros importantes na análise dos cromatogramas. São eles: tempo de retenção (t_R), fator de capacidade (K), número de pratos teóricos (N) e altura equivalente a um prato teórico (H).

Tabela 4. Principais parâmetros cromatográficos calculados para mono, di e trilinoleato de glicerina. $C = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$

	t_R / min	K	N	H / mm
Mono	8,25	2,05	900	0,27
Di	8,32	2,03	916	0,27
Tri	8,35	2,15	921	0,27

Esses parâmetros forneceram informações importantes quanto à eficiência da coluna cromatográfica, resolução entre dois picos e seletividade, entre outros. Conforme observado na tabela abaixo, o número de pratos teóricos calculados na análise cromatográfica para a coluna Luna 5 μ C18 (250 \times 4,6 mm d.i.) da Phenomenex, em todas as análises, foi considerado satisfatório, confirmando uma eficiência razoável, já que os valores de N encontrados não foram tão elevados. Diversos são os fatores que afetam o número de pratos teóricos, dentre eles: tempo de retenção, comprimento da coluna, temperatura da coluna, soluto, etc. O N pode ser mudado desde que se variem estas condições, o que torna difícil uma comparação entre o número de pratos de diferentes colunas e instrumentos.

Os valores ideais de K devem variar de 2 a 10. Os encontrados neste trabalho ficaram perto de 2,0. Valores menores que 2 implicam em pouca interação do soluto com a fase estacionária, o que pode ser prejudicial à análise.

Todas as definições dos parâmetros cromatográficos, bem como as equações utilizadas para os cálculos destes foram descritas no APÊNDICE A (LANÇAS, 1993).

Os gráficos da influência da concentração na resposta do detector, a partir das soluções de mono, di e trilinoleato de glicerina, foram obtidos através de diluições de soluções estoque ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) em ACN. A detecção eletroquímica dos padrões no sistema cromatográfico foi realizada medindo-se a resposta do

detector (altura do pico) em função da concentração, em potencial de oxidação de +0,28 V. A utilização da altura do pico após a eluição dos glicerídeos no sistema CLAE-DE foi preferida em relação à área do pico porque ocorre a adsorção destes analitos na superfície do eletrodo de trabalho (como mostrado, essas substâncias eletroinativas têm propriedades adsortivas) (ALBERY 1981). Com isso, ocorre uma diminuição na resposta do detector, como mostrado na Figura 38.

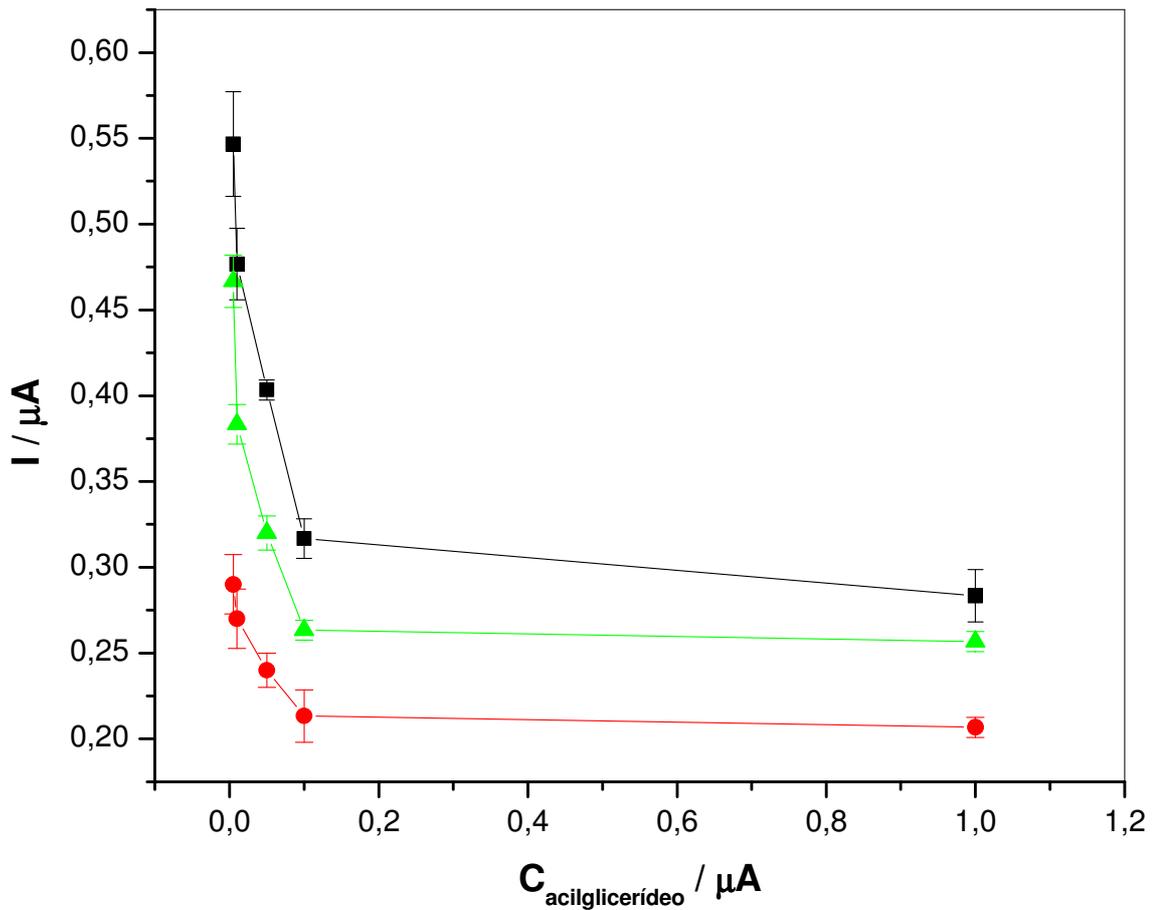


Figura 38. Influência da concentração dos acilgliceróis: (---) mono, (---) di, (---) trilinoleato de glicerina na resposta do detector.

8. Conclusões

Através dos estudos voltamétricos envolvendo o mono, di e trilinoleato de glicerina, pode-se concluir que apesar da existência de insaturações, estas não são conjugadas, conferindo a estes compostos característica eletroativa.

Além disso, observa-se que estes compostos possuem propriedades adsorptivas, uma vez que os voltamogramas mostram uma grande corrente capacitiva.

Desta maneira, a utilização da técnica de Redissolução Adsorptiva com voltametria de corrente alternada (AC) mostrou-se bem eficaz na detecção e determinação do mono, di e trilinoleato de glicerina, uma vez que é muito utilizada em processos nos quais ocorre adsorção e desorção. Principais parâmetros da técnica como tempo e potencial de acúmulo, variação da amplitude de potencial e frequência foram estudados, sendo que os melhores valores obtidos foram: $t_{ac} = 15$ s, $E_{ac} = -1,2$ V, $\Delta E = 2$ mV e $f = 60$ Hz.

As curvas analíticas do mono e trilinoleato de glicerina, apresentaram linearidade de 4×10^{-8} a $1,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com limites de detecção da ordem de 10^{-8} mol L⁻¹. Já a curva analítica do dilinoleato de glicerina mostrou-se linear de $4,0 \times 10^{-9}$ a 4×10^{-7} mol L⁻¹, com limite de detecção da ordem de 10^{-9} mol L⁻¹.

Através do estudo teórico quântico, pôde-se explicar o porquê da ordem de adsorção ser: di > mono > tri. Além disso, foi possível o entendimento das estruturas destes compostos e como eles se adsorvem na superfície do eletrodo de filme de mercúrio.

A partir do estudo de interferentes, pode-se concluir que a determinação simultânea do mono, di e trilinoleato de glicerina não é possível, uma vez que estes apresentam mesmo potencial de adsorção quando misturados na célula eletroquímica.

Pelo método de CLAE-DE direta não foi possível a detecção e determinação destes compostos, uma vez que estes são eletroativos e além do fato de que o filme de mercúrio não se manteve na superfície do eletrodo após a etapa e estabilização do equipamento.

Por isso, estudou-se o método CLAE-DE indireto. Nele, o ácido ascórbico, cujo comportamento redox é bem conhecido, foi adicionado à fase móvel

cromatográfica (tampão fosfato: metanol), permitindo a detecção eletroquímica indireta do mono, di e trilinoato de glicerina por cromatografia líquida de alta eficiência. Porém, a separação destes não foi muito satisfatória, uma vez que os tempos de retenção foram bem próximos.

Assim sendo, levando-se em consideração todos os resultados apresentados, conclui-se que o mono, di e trilinoato de glicerina podem ser detectados pela técnica de Redissolução Adsorbtiva com Voltametria de corrente alternada e pela técnica de CLAE-DE indireta.

9. Propostas Futuras

- ✓ Melhorar a separação dos glicerídeos de interesse através de ajustes na polaridade dos solventes ou mudanças na fase móvel e na velocidade de fluxo.
- ✓ Avaliar outros parâmetros cromatográficos como Resolução (R_s) e Fator de Separação (α).
- ✓ Após otimização e atingida uma boa separação e resolução do mono, di e trilinoleato de glicerina, aplicar a metodologia em amostras reais de Biodiesel.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Legislação**. Disponível em: < www.anp.gov.br>. Acesso em: 15 out. 2010.

ALBERY, W. J. et al. The determination of noradrenaline using differential double pulse voltammetry. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 125, p. 205-217, 1981.

AMBIENTE SÃO PAULO. **Bioenergia do estado de São Paulo**. Disponível em: <http://homologa.ambiente.sp.gov.br/biogas/docs/livro_bioenergia.pdf>. Acesso em: 07 dez. 2010.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Ce 5b-89**: triacylglycerols in vegetable oils by HPLC. Urbana, 2009a.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Ce 5c-93**: individual triglycerides in oils and fats by HPLC. Urbana, 2009b.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Cd 11d-96**: mono and diacylglycerols determination by HPLC ELSD. Urbana, 2009c.

ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de química**: questionando a vida moderna e o meio ambiente. Porto Alegre: Bookman, 2001.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods**: fundamentals and applications. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 2001.

BAUER, H. H. Alternating current polarography and tensammetry. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 1, p. 363-378, 1959.

BOCKRIS, J. O. M. **Modern electrochemistry**. 2nd ed. New York: Plenum/Rosetta, 1973.

BOND, A. M. **Modern polarographic in analytical chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1980.

BREYER, B.; BAUER, H. H. **Alternating current polarography and tensammetry**. New York: John Wiley & Sons, 1963.

BREYER, B.; HACOBIAN, S. Tensammetry: a method of investigation surface phenomena by a.c. current measurements. **Australian Journal of Scientific Research**, v. 5, n. 5, p. 500-520. 1952.

CATALDI, T. R. I.; CAMPA, C.; CENTONZE, D. Electrocatalytic oxidation and amperometric detection of aliphatic and furanic aldehydes at a mixed-valent ruthenium oxide-ruthenium cyanide film on glassy carbon electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 20, p. 3740-3745, 1995.

CATALDI, T. R. I.; CENTONZE, D.; DESIMONI, E. Sensitive determination of ethanol in low-alcohol samples by ion-exclusion chromatography with EC detection using a ruthenium-based inorganic film electrode. **Food Chemistry**, v. 55, n. 1, p. 17-21, 1996.

CATALDI, T. R. I.; CENTOZONE, D.; GUERRIERI, A. Mixed-valent ruthenium oxide-ruthenium cyanide inorganic film on glassy carbon electrodes as an amperometric sensor of aliphatic alcohols. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 1, p. 101-107, 1995.

CHEMKEYS. **Voltametria**: conceitos e técnicas. Disponível em: < www.chemkey.com >. Acesso em: 21 out. 2010.

COLLINS, C. H.; COUTRIM, M. X.; NAKAMURA, L. A. Quantification of 2,4-dinitrophenyl-hydrazones of low molecular mass aldehydes and ketones using HPLC. **Chromatographia**, v. 37, n. 3-4, p. 185-190, 1993.

COLLINS, C. H.; MANFREDI, J. F.; VALENTE, A. L. P. O que é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). **Química Nova**, v. 6, n. 2, p. 46-57, 1983.

COLLINS, C. H. et al. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7. ed. Campinas: Ed. UNICAMP, 1999.

CONCEIÇÃO, M. M.; CANDEIA, R. A.; SILVA, F. C. Thermoanalytical characterization of castor oil biodiesel. **Renewable Sustainable Energy Reviews**, v. 11, n. 5, p. 964-975, 2007.

CURRIE, L. Detection and quantification limits: origins and historical overview. **Analytica Chimica Acta**, v. 391, n. 2, p. 127-134, 1999a.

CURRIE, L. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Analytica Chimica Acta**, v. 391, n. 2, p. 105-126, 1999b.

DE CLERCQ, N.; FOURBERT, I.; DEWETTINCK, K. Separation and analysis of acylglycerols by chromatographic methods. **Lipid Technology**, v. 20, n. 10, p. 232-234, 2008.

DI NICOLA, G. et al. Development and optimization of a method for analysing biodiesel mixtures with non-aqueous reversed phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1190, p. 120-126, 2008.

FRUMKIN, A. N.; DAMASKIN, B. B. The so-called tensammetric waves. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 3, p. 36-44, 1962.

GOLDENBERG, J. **Bioenergia no estado de São Paulo**: situação atual, perspectivas, barreiras e propostas. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, 2008. Disponível em:
<http://www.desenvolvimento.sp.gov.br/noticias//files/livro_bioenergia.pdf>. Acesso em: 10 out. 2010.

GOLDRING, C.; CASINI, A. F.; MAELLARO, E. Determination of 4-hydroxynonanal by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Lipids**, v. 28, n. 2, p. 141-145, 1993.

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

KNOTHE, G.; DUNN, R. O.; BAGBY, M. O. Derivatives as alternative diesel fuels. **ACS Symposium Series**, v. 666, n. 10, p. 172- 208, 1997.

LACOURSE, W. R.; JOHNSON, D. C.; REY, M. A. Pulsed amperometric detection of aliphatic alcohols in liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 63, n. 2, p. 134-139, 1991.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia em fase gasosa**. 3. ed. São Carlos: Acta, 1993.

LIMA, J. R. O.; SILVA, R. D.; SILVA, C. C. M. Biodiesel de babaçu obtido por via etanólica. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 600-603, 2007.

LIN, J.; WOODRUFF, C. L.; McKEON, T. A. Non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography of synthetic triacylglycerols and diacylglycerols. **Journal of Chromatography A**, v. 782, p. 41-48, 1997.

LIN, J. et al. Identification and quantification of the molecular species of acylglycerols in castor oil by HPLC using ELSD. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 26, n. 5, p. 773-780, 2003.

LI-TONG, J.; JIAN-NONG, Y.; WEI, S. Indirect electrochemical detection with liquid chromatography for non-electroactive esters. **Chemical Journal of Chinese Universities**, v. 14, n. 4, p. 468-471, 1993.

LUKASZEWSKI, Z.; SKYMANSKI, A. The adsorptive stripping indirect tensammetric technique. **Electroanalysis**, v. 14, n. 2, p. 106-111, 2002.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, v. 70, n. 1, p. 1-15, 1990.

MARTINS, D. M. S. **Desenvolvimento de eletrodos modificados para a determinação de compostos sulfurados em gasolina**. 2008. 166 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

MEHER, L. C.; VIDYA, D. S.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. **Renewable Sustainable Energy Review**, v. 10, n. 3, p. 248-268, 2006.

MOREDA, W.; PÉREZ-CAMINO, M. C.; CERT, A. Improved method for the determination of triacylglycerols in olive oil by high performance liquid chromatography. **Grasas y Aceites**, v. 54, n. 2, p. 175-179, 2003.

PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. N.; REZENDE, M. J. C. Biodiesel: an overview. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, p. 1313-1330, 2005.

PLANK, C.; LORBEER, E. Simultaneous determination of glycerol, and mono-, di- and triglycerides in vegetable oil methyl esters by capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 697, p. 461-468, 1995.

PORTAL DO BIODIESEL. **O biodiesel**. Disponível em:
<[http:// www.biodiesel.gov.br](http://www.biodiesel.gov.br)>. Acesso em: 23 nov. 2010.

PUNGOR, E. et al. Design and evaluation of electrochemical detectors for HPLC. **Journal of Chromatographic Science**, v. 12, n. 12, p. 747-752, 1974.

SANDER, S.; WAGNER, W.; HENZW, G. Direct determination of uranium traces by adsorptive stripping voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 305, n.1-3, p. 154-158, 1995.

SANTOS, M. M. C.; VILA FAMILA, V.; GONÇALVES, M. L. S. Copper-psychoactive drug complexes: a voltammetric approach to complexation by 1,4-benzodiazepines. **Analytical Biochemistry**, v. 303, n. 2, p. 11-119, 2002.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R. M. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 9, n. 1, p. 199-210, 1998.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis**. 5th ed. Orlando: Harcourt College Publishers, 1998.

STRANSBURG, J. M. **Ethanol versus biodiesel**. Disponível em:
<[http:// www.treehugger.com/files/2006/07/ethanol_vs_biod.php](http://www.treehugger.com/files/2006/07/ethanol_vs_biod.php)>.
Acesso em: 05 dez. 2010.

SUAREZ, P. A. Z.; OLIVEIRA, F. C. C.; SANTOS, W. L. P. Biodiesel: possibilidades e desafios. **Química Nova na Escola**, v. 28, p. 3-8, 2008.

SURMANN, J. P.; BERNDT, G. Elektroanalytik unter ausnutzung von adsorptionen. **Pharmazeutische Industrie**, v. 59, n. 4, p. 352-354, 1997.

TICIANELLI, E. A. **Eletroquímica**: princípios e aplicações. São Paulo: Ed. USP, 1998.

THESSSEN, B. **America's first advanced biofuel**. Disponível em:
<<http://biodiesel.org/resources/fuelfactsheets>>. Acesso em: 10 dez. 2010.

VICENTE, G.; MARTINEZ, M.; ARACIL, J. Kinetics of sunflower oil methanolysis. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 44, n.15, p. 5447-5454, 2005.

VOGEL, A. **Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC,1992.

WOJTUSIK, M. J.; BROWN, P. R.; TURCOTTE, J. G. Separation and detection of triglycerols by high-performance liquid chromatography. **Chemical Reviews**, v. 89, p. 397-406, 1989.

ANEXO A – Resolução nº 7 da ANP que estabelece critérios de qualidade para os Biocombustíveis para uso comercial

MÉTODO	TÍTULO
NBR 6294	Óleos lubrificantes e aditivos - Determinação de cinza sulfatada
NBR 7148	Petróleo e produtos de petróleo - Determinação da massa específica, densidade relativa e °API - Método do densímetro
NBR 10441	Produtos de petróleo - Líquidos transparentes e opacos - Determinação da viscosidade cinemática e cálculo da viscosidade dinâmica
NBR 14065	Destilados de petróleo e óleos viscosos - Determinação da massa específica e da densidade relativa pelo densímetro digital.
NBR 14359	Produtos de petróleo - Determinação da corrosividade - método da lâmina de cobre
NBR 14448	Produtos de petróleo - Determinação do índice de acidez pelo método de titulação potenciométrica
NBR 14598	Produtos de petróleo - Determinação do Ponto de Fulgor pelo aparelho de vaso fechado Pensky-Martens
NBR 14747	Óleo Diesel - Determinação do ponto de entupimento de filtro a frio
NBR 15341	Biodiesel - Determinação de glicerina livre em biodiesel de mamona por cromatografia em fase gasosa
NBR 15342	Biodiesel - Determinação de monoglicerídeos, diglicerídeos em biodiesel de mamona por cromatografia em fase gasosa
NBR 15343	Biodiesel - Determinação da concentração de metanol e/ou etanol por cromatografia gasosa
NBR 15344	Biodiesel - Determinação de glicerina total e do teor de triglicerídeos em biodiesel de mamona
NBR 15553	Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos - Determinação dos teores de

	cálcio, magnésio, sódio, fósforo e potássio por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICPOES)
NBR 15554	Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos - Determinação do teor de sódio por espectrometria de absorção atômica
NBR 15555	Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos - Determinação do teor de potássio por espectrometria de absorção atômica
NBR 15556	Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos - Determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio por espectrometria de absorção atômica
NBR 15586	Produtos de petróleo - Determinação de microrresíduo de carbono
NBR 15764	Biodiesel - Determinação do teor total de ésteres por cromatografia em fase gasosa
NBR 15771	Biodiesel - Determinação de glicerina livre - Método Volumétrico
ASTM D93	Flash Point by Pensky-Martens Closed Cup Tester
ASTM D130	Detection of Copper Corrosion from Petroleum Products by the Copper Strip Tarnish Test
ASTM D445	Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and the Calculation of Dynamic Viscosity)
ASTM D613	Cetane Number of Diesel Fuel Oil
ASTM D664	Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration
ASTM D874	Sulfated Ash from Lubricating Oils and Additives
ASTM D1298	Density, Relative Density (Specific Gravity) or API Gravity of Crude Petroleum and Liquid Petroleum Products by Hydrometer
ASTM D4052	Density and Relative Density of Liquids by Digital Density Meter
ASTM D4530	Determination of Carbon Residue (Micro Method)
ASTM D4951	Determination of Additive Elements in Lubricating Oils by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry
ASTM D5453	Total Sulfur in Light Hydrocarbons, Motor Fuels and Oils by Ultraviolet Fluorescence

ASTM D6304	Test Method for Determination of Water in Petroleum Products, Lubricating Oils, and Additives by Coulometric Karl Fisher Titration
ASTM D6371	Cold Filter Plugging Point of Diesel and Heating Fuels
ASTM D6584	Determination of Free and Total Glycerine in Biodiesel Methyl Esters by Gas Chromatography
ASTM D6890	Determination of Ignition Delay and Derived Cetane Number (DCN) of Diesel Fuel Oils by Combustion in a Constant Volume Chamber
EN ISO 116	Determination of Cold Filter Plugging Point
EN ISO 2160	Petroleum Products – Corrosiveness to copper – Copper strip test
EN ISO 3104	Petroleum Products – Transparent and opaque liquids – Determination of kinematic viscosity and calculation of dynamic viscosity
EN ISO 3675	Crude petroleum and liquid petroleum products – Laboratory determination of density – Hydrometer method
EN ISO 3679	Determination of flash point – Rapid equilibrium closed cup method
EN ISO 3987	Petroleum Products – Lubricating oils and additives – Determination of sulfated ash
EN ISO 5165	Diesel fuels – Determination of the ignition quality of diesel fuels – Cetane engine
EN ISO 10370	Petroleum Products – Determination of carbon residue – Micro Method
EN ISO 12185	Crude petroleum and liquid petroleum products. Oscillating U-tube
EN ISO 12662	Liquid Petroleum Products – Determination of contamination in middle distillates
EN ISO 12937	Petroleum Products – Determination of water – Coulometric Karl Fischer Titration
EN ISO 14103	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents
EM ISO 14104	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) –

Determination of acid value

EN ISO 14105	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of free and total glycerol and mono-, di- and triglyceride content – (Reference Method)
EM ISO 14106	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of free glycerol content
EN ISO 14107	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of phosphorous content by inductively coupled plasma (ICP) emission spectrometry
EN ISO 14108	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of sodium content by atomic absorption spectrometry
EN ISO 14109	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of potassium content by atomic absorption spectrometry
EN ISO 14110	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of methanol content
EM ISO14111	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of iodine value
EN ISO 14112	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test)
EN ISO 14538	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of Ca, K, Mg and Na content by optical emission spectral analysis with inductively coupled plasma (ICP-OES)
EN ISO 20846	Petroleum Products – Determination of low sulfur content – Ultraviolet fluorescence method
EN ISO 20884	Petroleum Products – Determination of sulfur content of automotive fuels – Wavelength- dispersive X-ray fluorescence spectrometry

ANEXO B – ESPECIFICAÇÕES DO BIODIESEL

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	LIMITE	MÉTODO		
			ABNT NBR	ASTM D	EN/ISO
Aspecto	-	LII (1)	-	-	-
Massa específica a 20° C	kg/m ³	850- 900	7148 14065	1298 4052	3675 - 12185
Viscosidade Cinemática a 40°C	Mm ² /s	3,0-6,0	10441	445	3104
Teor de Água, máx. (2)	mg/kg	500	-	6304	12937
Contaminação Total, máx.	mg/kg	24	-	-	12662
Ponto de fulgor, mín. (3)	°C	100,0	14598	93	3679
Teor de éster, mín	% massa	96,5	15764	-	14103
Resíduo de carbono (4)	% massa	0,050	15586	4530	-
Cinzas sulfatadas, máx.	% massa	0,020	6294	874	3987
Enxofre total, máx.	mg/kg	50	- -	5453	- 20846 20884
Sódio + Potássio, máx.	mg/kg	5	15554 15555 15553 15556	-	14108 EN 14109 14538
Cálcio + Magnésio, máx.	mg/kg	5	15553 15556	-	14538

Fósforo, máx.	mg/kg	10	15553	4951	14107
Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx.	-	1	14359	130	2160
Número de Cetano (5)	-	Anotar	-	613 6890 (6)	5165
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.	°C	19 (7)	14747	6371	116
Índice de acidez, máx.	mg KOH/g	0,50	14448	664	- 14104 (8)
Glicerol livre, máx.	% massa	0,02	15341 15771 - -	6584 (8) -	- 14105 (8) 14106 (8)
Glicerol total, máx.	% massa	0,25	15344 -	6584 (8) -	- 14105 (10)
Mono, di, triacilglicerol (5)	% massa	Anotar	15342 15344	6584 (8)	14105 (8)
Metanol ou Etanol, máx.	% massa	0,20	15343	-	14110
Índice de lodo (5)	g/100g	Anotar	-	-	14111
Estabilidade à oxidação a 110°C, mín.(2)	h	6	-	-	14112 (8)

Nota:

- (1) Límpido e isento de impurezas com anotação da temperatura de ensaio.
- (2) O limite indicado deve ser atendido na certificação do biodiesel pelo produtor ou importador.
- (3) Quando a análise de ponto de fulgor resultar em valor superior a 130°C, fica dispensada a análise de teor de metanol ou etanol.
- (4) O resíduo deve ser avaliado em 100% da amostra.

(5) Estas características devem ser analisadas em conjunto com as demais constantes da tabela de especificação a cada trimestre civil. Os resultados devem ser enviados pelo produtor de biodiesel à ANP, tomando uma amostra do biodiesel comercializado no trimestre e, em caso de neste período haver mudança de tipo de matéria-prima, o produtor deverá analisar número de amostras correspondente ao número de tipos de matérias-primas utilizadas.

(6) Poderá ser utilizado como método alternativo o método ASTM D6890 para número de cetano.

(7) O limite máximo de 19°C é válido para as regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Bahia, devendo ser anotado para as demais regiões. O biodiesel poderá ser entregue com temperaturas superiores ao limite supramencionado, caso haja acordo entre as partes envolvidas. Os métodos de análise indicados não podem ser empregados para biodiesel oriundo apenas de mamona.

(8) Os métodos referenciados demandam validação para as matérias-primas não previstas no método e rota de produção etílica.

Fonte: AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS.

Legislação. Disponível em: < www.anp.gov.br>. Acesso em: 15 out. 2010.

APÊNDICE A - Avaliação dos Parâmetros Cromatográficos Referente à Eluição do mono, di e trilinoleato de glicerina.

A avaliação dos parâmetros cromatográficos referente à eluição do mono, di e trilinoleato de glicerina foi obtida após a separação cromatográfica em CLAE com detecção eletroquímica, em módulo de oxidação, com potencial fixado em +0,28 V.

✓ Tempo de retenção (t_R)

O tempo de retenção é o tempo gasto desde o momento da injeção (t_0) até a saída do componente do sistema (t_R), e é a variável impressa pelos dispositivos eletrônicos freqüentemente acoplados a sistemas automatizados de cromatografia. Na falta deste dispositivo, o t_R é calculado a partir das medidas feitas no cromatograma. O tempo de retenção engloba todo o tempo que o componente em questão fica no sistema cromatográfico, quer na fase móvel, quer na fase estacionária.

$$t_R = d_R / f \text{ ou } t_M = d_M / f$$

onde: t_R = tempo de retenção de cada analito (min); t_M = tempo morto ou tempo de retenção dos analitos não retidos (min); d_R = distância de retenção do soluto; d_M = distância de retenção de um soluto não retido ou da fase móvel; f = velocidade (min).

✓ Número de Pratos Teóricos (N)

A eficiência da coluna cromatográfica é, em geral, determinada pelo número de pratos teóricos, sendo este definido como um segmento da coluna onde se atinge um equilíbrio termodinâmico entre a fase móvel, a fase estacionária e o componente que está sendo analisado. Em cromatografia líquida, quanto maior o número de pratos da coluna, maior a intensidade dos picos e menor a possibilidade de ocorrer sobreposição (overlap). Porém, este valor só seria válido quando calculado com a coluna mantendo todas as outras variáveis iguais e após um condicionamento de algumas horas. O conceito de número de pratos teóricos somente é válido para cromatogramas obtidos isotermicamente e em condições isocráticas, e é calculado a partir do próprio cromatograma (LANÇAS, 1993; atkins, 2001).

$$N = 16 (t_R / W_b)^2$$

onde: N = número de pratos teóricos; t_R = tempo de retenção do analito (min.); W_b = largura da base do.

✓ Altura equivalente a um prato teórico (H)

Os parâmetros operacionais de uma coluna podem ser mais bem avaliados por seu efeito sobre a altura equivalente a um prato teórico.

Segundo a equação de Van Demter, o valor equivalente a um prato teórico além de grande importância na eficiência da coluna, também é utilizado para avaliar a fase móvel empregada. Entende-se por H o comprimento da coluna no qual o equilíbrio termodinâmico foi atingido entre a substância, a fase móvel e a fase estacionária. Este valor é calculado dividindo-se o valor do comprimento da coluna pelo número de pratos teóricos calculado (LANÇAS, 1993; ATKINS, 2001; SKOOG, 1998).

$$H = L / N$$

onde: H = altura equivalente a um prato teórico (mm); L = comprimento da coluna (mm); N = número de pratos teóricos.

✓ Fator de retenção (K)

O fator de capacidade ou fator de retenção diz respeito à retenção do soluto que é determinado pela razão entre os tempos em que as moléculas do soluto ficam retidas na fase estacionária e percorre a coluna na fase móvel, de acordo com a expressão (LANÇAS, 1993; ATKINS, 2001; SKOOG, 1998):

$$K = (t_R - t_M) / t_M = t'_R / t_M$$

Onde: t_R = tempo de retenção do analito; t_M = tempo "morto"; t'_R = tempo de retenção ajustado.