



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL:
DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA *HOMEMADE* PARA
O ESTUDO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA E
DETERMINAÇÃO DE FORMIATO COMO PRODUTO DE
OXIDAÇÃO DO BIODIESEL DE SOJA POR
ELETROFORESE CAPILAR**

PATRÍCIA SILVEIRA KAYO

Florianópolis
Novembro/2017

Patrícia Silveira Kayo

Estabilidade oxidativa do biodiesel: desenvolvimento de um sistema *homemade* para o estudo da estabilidade oxidativa e determinação de formiato como produto de oxidação do biodiesel de soja por eletroforese capilar

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio II (QMC 5512)

Prof. Dr. Gustavo Amadeu Micke

Florianópolis
Novembro/2017

À Priscila e Michelle pelo amor incondicional, pela linda amizade e união que nos mantêm juntas, mesmo distantes; por me ensinarem a ser forte e não desistir de meus sonhos, dedico este trabalho a vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Luciene Kayo e Mário Kayo, pelo amor, zelo e confiança que depositaram, desde de pequena, em mim. Agradeço imensamente aos esforços de vocês por sempre priorizarem a minha educação e meu sonhos. Obrigada por me ensinarem a lutar e ser forte para encarar a vida. Eu sou o que sou graças a vocês.

Agradeço às minhas irmãs Priscila Kayo e Michelle Kayo pela amizade e cumplicidade. Aos meus sobrinhos Guilherme e Sabrina por serem a minha alegria e meus grandes motivos por querer um mundo melhor.

Ao meu grande amor, Emanuel Behrens, pelo respeito, pelas alegrias, pelo amor e carinho de cada dia. Obrigada por estar ao meu lado nas luzes e nas trevas. Obrigada pela compreensão e, principalmente, obrigada por fazer de mim, uma pessoa inteiramente feliz ao seu lado.

Aos sempre presentes Luiz Felipe de Azevedo, Samantha Gonçalves e Victor Rodrigues por serem meu alicerce em todos esses anos; por serem minha família e os melhores seres humanos que existem. Minha vida não tem o menor sentido sem vocês.

Agradeço ao Professor Gustavo pelos ensinamentos e orientação, pela amizade, pelo carinho e, principalmente, por sempre me receber de braços abertos com este coração de ouro.

Aos colegas de laboratório, principalmente à Kheytyani Lopes que me proporcionou inúmeras risadas e o incondicional apoio na realização deste trabalho. À Jacqueline Vistuba e Melina Heller, por todos os aprendizados e conhecimentos a mim passados.

À UFSC pelo amparo e apoio financeiro, ao INCT-Catálise e ao CNPq.

A todos, meu muito obrigada.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	06
2 REVISÃO DA LITERATURA	08
2.1 Biodiesel	08
2.1.1 Processo de síntese do biodiesel	09
2.1.2 Estabilidade oxidativa do biodiesel	09
2.2 Teste de oxidação acelerada.....	12
2.3 Eletroforese Capilar	13
3 OBJETIVOS	17
3.1 Objetivo geral	17
3.2 Objetivos específicos	17
4 MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 Reagentes	18
4.2 Preparo do biodiesel.....	18
4.3 Preparo das soluções e amostras	19
4.4 Instrumentação	19
4.4.1 Teste de oxidação acelerada	19
4.4.2 Eletroforese Capilar	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1 Estabilidade oxidativa do biodiesel.....	22
5.2 Escolha do padrão interno	23
5.3 Otimização do método	24
5.4 Curva de calibração externa	26
5.4 Aplicação do método e determinação da estabilidade oxidativa do biodiesel por eletroforese capilar	28
6 CONCLUSÃO	32
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
APÊNDICE	33

RESUMO

Este trabalho propõe um equipamento de baixo custo para medição da estabilidade oxidativa do biodiesel por condutividade. As amostras de biodiesel submetidas à oxidação acelerada à 120 °C são provenientes de óleo de soja com e sem antioxidantes em sua composição. O biodiesel sem antioxidante obteve um período de indução de 35 min, enquanto que na presença de antioxidante, o tempo foi de 55 min. Posterior a isso, este trabalho apresenta a técnica de eletroforese capilar de zona com detector UV-Vis como alternativa para a avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel a partir do seu produto de oxidação, o formiato. A realização das análises fez uso de um capilar de sílica fundida com 32 cm de comprimento total, 24 cm de tamanho efetivo e 75 µm de diâmetro interno. As amostras e o padrão foram injetados hidrodinamicamente a 25 mbar/5s. O sistema eletroforético operado sob voltagem constante de -30 kV, polaridade negativa na extremidade de injeção, temperatura de 25 °C e monitoramento em 240 nm. O eletrólito de corrida foi composto de 20 mmol L⁻¹ de ácido ftálico, 17 mmol L⁻¹ de Tris e 0.8 mmol L⁻¹ de CTAB, pH 3,6. Tempo de total de análise de 2 min e tempo de separação inferior à 1 min. A avaliação dos parâmetros analíticos do método mostrou linearidade adequada ($r^2 > 0,999$) nas faixas de concentração estudadas, limite de detecção de 1,3 mg L⁻¹, limite de quantificação 3,9 mg L⁻¹. Este trabalho contribuiu para o entendimento sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja, além da identificação e quantificação do formiato, como um de seus produtos de oxidação via eletroforese capilar.

Palavras-chave: biodiesel, eletroforese capilar, estabilidade oxidativa, formiato.

1 INTRODUÇÃO

Biocombustíveis são derivados de biomassa renovável que podem substituir, parcial ou totalmente, combustíveis derivados de petróleo e gás natural em motores a combustão ou em outro tipo de geração de energia. São todas as fontes de energia de origem biológica e não fóssil, nos estados sólido, líquido e gasoso. No Brasil, os dois principais biocombustíveis líquidos utilizados são o etanol e, em escala crescente, o biodiesel.

Cerca de 45% da energia e 18% dos combustíveis consumidos no Brasil já são renováveis. No resto do mundo, 86% da energia vêm de fontes energéticas não renováveis. Pioneiro mundial no uso de biocombustíveis, o Brasil alcançou uma posição almejada por muitos países que buscam desenvolver fontes renováveis de energia como alternativas estratégicas ao petróleo¹.

Um biocombustível pode substituir, parcial ou integralmente, compostos de origem fóssil em motores ou em outros tipos de geração de energia. Por serem biodegradáveis, e praticamente livres de enxofre e compostos aromáticos, não causam impactos elevados ao meio ambiente.

A disponibilidade territorial e condições climáticas favoráveis propiciam o cultivo das matérias-primas necessárias à produção dos biocombustíveis, o que tem incentivado investimentos em políticas públicas no âmbito social para o aproveitamento das potencialidades regionais, com geração de renda e empregos e um desenvolvimento sustentável.

Em 2008, a mistura de biodiesel puro (B100) ao óleo diesel passou a ser obrigatória. A Lei nº 13.263/2016 alterou a Lei nº 13.033/2014, determinando um cronograma de aumento do teor de biodiesel a partir de 2017. Atualmente, há um teor de 8% de biodiesel no diesel. Até março de 2018, este teor deverá subir para 9% e, até março de 2019, o diesel deverá apresentar 10% de biodiesel, em mistura². Dessa forma, estudos acerca da qualidade de biocombustíveis como o biodiesel são necessários cada vez mais, resultando diretamente em grandes impactos, além de ambientais, também econômicos.

A estabilidade oxidativa está diretamente relacionada à degradação do biocombustível. Analisar os produtos de oxidação do biodiesel, bem como os aditivos antioxidantes presentes no mesmo que aumentam seu tempo de oxidação, é de extrema importância para verificar a qualidade do produto.

Dentre as principais técnicas analíticas utilizadas para estas finalidades, encontram-se a cromatografia líquida de alta eficiência e a cromatografia gasosa. No entanto, a eletroforese capilar vem apresentando-se de maneira complementar e alternativa às técnicas cromatográficas por diversas razões, dentre elas o baixo custo de análise, a alta frequência analítica e o preparo simples de amostra. Com base nesses fatos, este trabalho tem como objetivo analisar a estabilidade oxidativa de biodiesel por meio da oxidação acelerada e eletroforese capilar, analisar e quantificar um dos seus produtos de oxidação, o formiato.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Biodiesel

Segundo a Lei nº 11.097 de 13 de janeiro de 2005³, biodiesel é um “biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil”.

Os dois principais biocombustíveis líquidos utilizados no Brasil são o etanol e o biodiesel. O etanol é proveniente da cana-de-açúcar e utilizado nos veículos leves; o biodiesel é produzido a partir de óleos vegetais ou gorduras animais.

A utilização de biodiesel como combustível vem se apresentando bastante promissor no mundo, uma vez que se apresenta como um combustível estratégico em casos de crise energética, tanto no que se refere à produção petrolífera, mas também para a geração de energia elétrica e termoeletrica.

Houve um avanço significativo de produção de biodiesel no Brasil desde 2004. Hoje, o Brasil conta com indústria de biodiesel consolidada, com usinas aptas a produzi-lo e comercializá-lo, e com capacidade instalada superior a seis milhões de metros cúbicos⁴. Atualmente, a Alemanha, os Estados Unidos e o Brasil são os maiores mercados mundiais de biodiesel.

O biodiesel no Brasil é utilizado como combustível tanto em seu estado puro quanto misturado ao diesel comum. O índice de mistura é indicado pela letra B e o percentual de biodiesel na mistura; se o diesel possui 10% de biodiesel, por exemplo, é representado pela sigla B10. Caso seja 100% de biodiesel, é representado então pela sigla B100.

Mais especificamente, o biodiesel é um combustível renovável obtido a partir de um processo químico denominado transesterificação. Por meio desse processo, os triglicerídeos presentes nos óleos e gordura animal reagem com um álcool primário, metanol ou etanol, gerando dois produtos: o éster e a glicerina⁴.

2.1.1 Processo de síntese do biodiesel

A reação de transesterificação é o método mais utilizado para o processo de síntese do biodiesel. Consiste na reação química do óleo ou gordura, essencialmente constituído de triacilglicerídeos, com um mono-álcool de cadeia curta na presença de um catalisador, levando à formação de mono-ésteres – conhecidos como biodiesel – e glicerina. Já a esterificação consiste na reação de ácidos graxos com mono-álcoois na presença de catalisadores, levando também à formação de mono-ésteres – conhecidos como biodiesel – e água⁶.

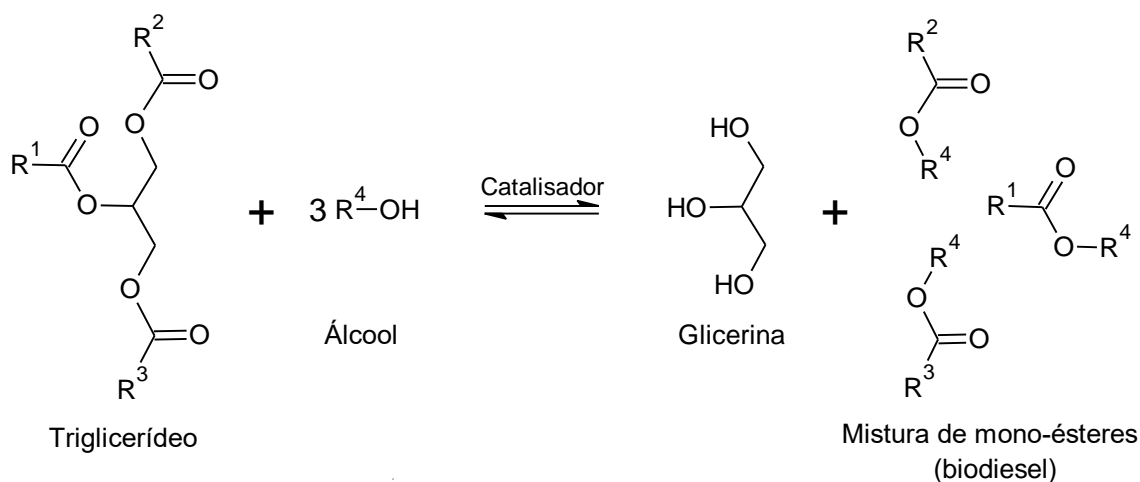


Figura 1. Reação geral de transesterificação.

Após a reação de transesterificação, a mistura reacional final é constituída por duas fases. A fase superior contém biodiesel e a fase inferior, mais densa, possui glicerina bruta contendo álcool, sais de ácidos graxos, mono e diglicerídeos, o catalisador e outras impurezas inerentes ao óleo vegetal.

2.1.2 Estabilidade oxidativa do biodiesel

DAMASCENO *et al.*⁷ (2013) pontua que a estabilidade oxidativa do biodiesel é a resistência apresentada pelos componentes lipídicos à reação de oxidação. O óleo de soja, uma das fontes vegetais preponderantes para a preparação do biodiesel, é

um dos óleos mais susceptíveis à oxidação – também conhecido com o processo de rancidez oxidativa – devido ao seu maior grau de insaturação, caracterizado pelo alto teor de ácido lenoléico (C18:2) e pelo teor relativamente elevado de ácido linolênico (C18:3). O aumento do número de insaturações de um ácido graxo ocasiona a redução do seu ponto de ebulição. Dessa forma, quanto maior o grau de insaturação de um ácido, menor será sua estabilidade oxidativa⁸.

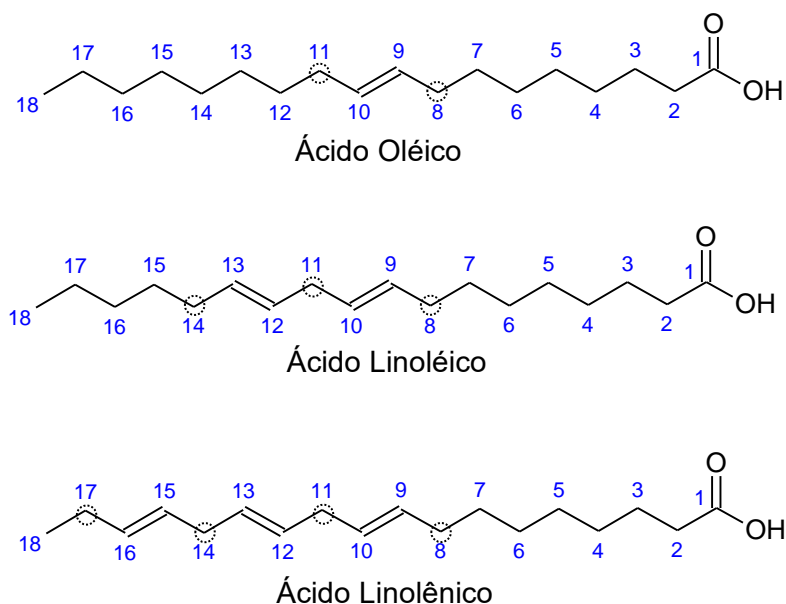


Figura 2. Pontos reativos nas moléculas de ácidos graxos.

Fonte: DANTAS, 2010. Adaptada.

Na presença de oxigênio, ácidos graxos insaturados sofrem oxidação, mesmo a baixas temperaturas. Os ácidos graxos saturados são, relativamente, mais estáveis à oxidação a temperaturas menores que 60° C, no entanto, oxidam a temperaturas mais elevadas. Como resultado da auto-oxidação, inicialmente são formados monohidroperóxidos que, eventualmente, quebram as ligações, resultando em produtos voláteis, principalmente aldeídos, cetonas, alcoóis e ácidos carboxílicos⁹.

A oxidação é proveniente de sucessivas reações radiculares que ocorrem nas insaturações dos ésteres de cadeias graxas, em contato com o oxigênio atmosférico. É acelerada pela presença de íons metálicos, luz, temperatura, radiação ionizante e outros agentes oxidantes, de modo a formar peróxidos e, conseqüentemente, outros produtos oxidativos, conforme descrito por PULLEN e KHIZER¹⁰, 2012.

Segundo proposto por CHOE *et al.*¹¹ (2006), a reação de oxidação dos ésteres metílicos derivados de óleos de ácidos graxos ocorre na insaturação presente no ácido ou éster. Considerando que a cadeia carbônica não é alterada durante o processo de transesterificação do ácido graxo em alquil ésteres, a química da degradação do biodiesel será a mesma que do ácido graxo que lhe deu origem.

O ácido fórmico pode ser formado pela peroxidação de aldeídos como produto da auto-oxidação de óleos vegetais como foi proposto por LOURY *et al.*¹²(1972). A oxidação começa com a remoção de um hidrogênio do carbono α . A retirada do hidrogênio do carbono α é mais fácil, pois o radical formado é estabilizado por ressonância com a carbonila, conforme ilustrado na Figura 3. Em seguida ocorre a adição do oxigênio no C- α para produzir o aldeído α -hidroperóxido. Por último, observa-se a formação do ácido fórmico e de um novo aldeído pelo rompimento da ligação O-O e C-C do aldeído α -hidroperóxido. Esse produto instável se decompõe, provavelmente, por meio de um estado de transição cíclico em que o grupo hidroxila migra da ligação peroxílica para o carbono carbonílico formando o ácido fórmico.

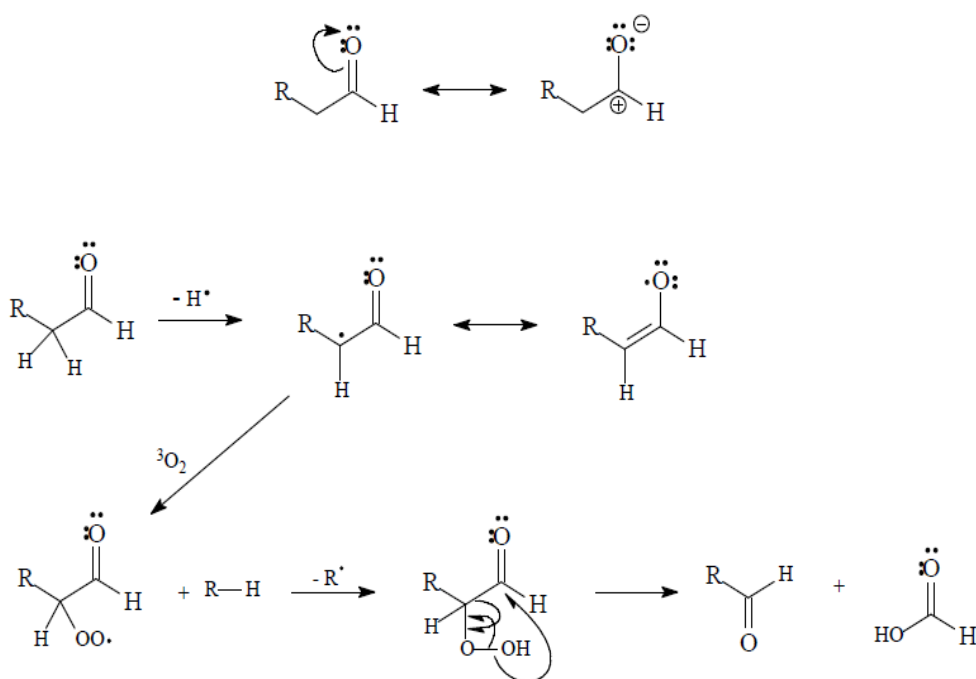


Figura 3. Proposta de mecanismo para formação do ácido fórmico a partir de um aldeído.

Fonte: LOURY, 1972.

NOGUEIRA *et al.*¹³ (2011) desenvolveu um estudo que apresentou a formação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular durante a etapa de oxidação de biodiesel produzido a partir de diferentes matérias primas (algodão, soja, pala e sebo bovino). Para oxidação dessas amostras, um sistema para acelerar a oxidação foi montado e as espécies formadas foram coletadas em diferentes intervalos de oxidação. As análises foram feitas por eletroforese capilar. As principais espécies ácidas encontradas foram os ácidos acético e fórmico, contudo, outras espécies foram formadas durante a etapa de oxidação, como os ácidos acrílico, glicólico, glioxílico, láctico e propiônico.

2.2 Teste de oxidação acelerada

A determinação da estabilidade oxidativa do biodiesel é baseada na aceleração do processo de envelhecimento da amostra pelo aumento da temperatura e passagem de corrente de ar contínuo sobre a mesma. Segundo MAKAREVICIENE *et al.*¹⁴(2005), o fluxo de ar transporta produtos voláteis da oxidação do vaso de reação para o vaso de medida contendo água destilada (Figura 6). A condutividade desta água é medida continuamente até um súbito aumento de condutividade da solução absorvedora dos produtos de degradação. O tempo decorrido até este súbito aumento da condutividade é chamado de período de indução. Acima deste ponto é constatado um rápido aumento da taxa de oxidação, da absorção de oxigênio e de formação de voláteis. Porém, vale destacar que o período de indução não representa todos os fenômenos da oxidação do biodiesel, pois somente os produtos voláteis influenciam na medida de condutividade da água absorvedora presente na célula de medida.

Os períodos de indução das amostras de biodiesel devem ser determinados conforme norma EN 14112²¹ que define o teste para medição da estabilidade oxidativa do biodiesel. Uma implementação dessa norma é o teste Rancimat, no qual uma amostra de biodiesel é aquecida a 110°C e misturada numa corrente de ar filtrado. O presente estudo elaborou uma proposta alternativa ao teste Rancimat que visa obter os mesmo resultados, mesma reprodutibilidade, porém com um custo menor.

2.3 Eletroforese Capilar

Eletroforese Capilar é uma técnica de separação e identificação baseada na migração diferenciada de compostos neutros, iônicos ou ionizáveis em solução tampão, no interior de um capilar, sob a ação de um campo elétrico. A técnica destaca-se pelas suas vantagens como, rapidez, baixo custo por análise, consumo mínimo de reagentes e solventes, pouco volume de amostra requerida para injeção, alto poder de separação e completa automação da análise¹⁵. É aplicável na determinação de uma grande variedade de amostras, incluindo hidrocarbonetos aromáticos, vitaminas hidro e lipossolúveis, amino ácidos, íons inorgânicos, ácidos orgânicos, fármacos, catecolaminas, substâncias quirais, proteínas, peptídeos e muitos outros³².

Uma das características importantes da CE (do inglês, *Capillary Electrophoresis*) é a simplicidade da sua instrumentação, como mostrado na Figura 4. O equipamento consiste basicamente em uma fonte de alta tensão, um capilar composto, normalmente de sílica fundida, com diâmetro interno de 15 a 100 μm e comprimento entre 30 e 150 cm, dois eletrodos, geralmente de platina, um detector apropriado e um computador para o tratamento dos dados¹⁶.

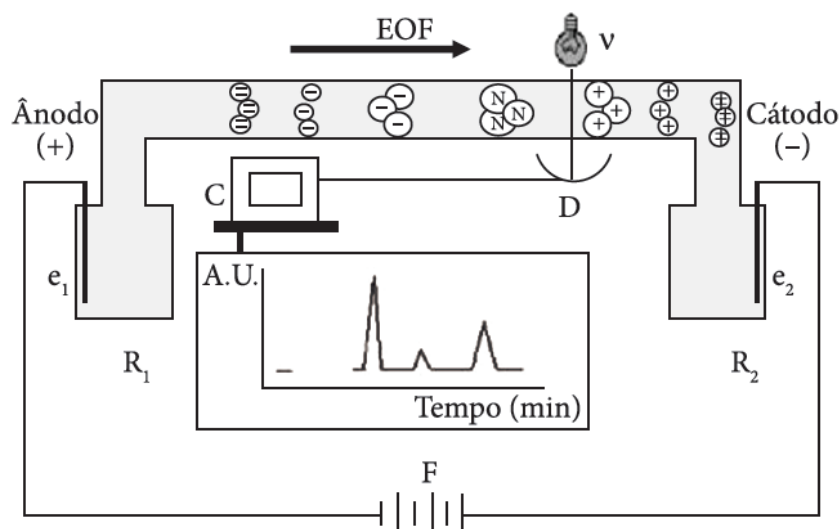


Figura 4. Esquema ilustrativo de um equipamento de Eletroforese capilar. Onde R_1 e R_2 , e_1 e e_2 são os reservatórios e eletrodos, respectivamente. F representa a fonte de alta tensão, D é o detector, C é o computador para obtenção dos dados e EOF representa o fluxo eletrosmótico, que é gerado após ser aplicado o potencial.

Fonte: VITALI, 2011.

A introdução da amostra no capilar pode ser feita de modo eletrocinético ou hidrodinâmico. No primeiro caso, a amostra é introduzida no capilar através da aplicação de uma tensão elétrica, enquanto que na injeção hidrodinâmica – amplamente utilizada – a amostra é introduzida por pressão^{15, 16}.

Muitos tipos de detectores podem ser utilizados em CE, como espectrometria de massas, detectores eletroquímicos e de fluorescência. Porém, os detectores usuais mais empregados são baseados em medição da absorbância UV-Vis, como o DAD (do inglês, *diode array detector*). É possível um modo de detecção indireto, que utiliza um componente do eletrólito de corrida com grupos cromóforos. A presença destes grupos no eletrólito faz com que o detector receba um sinal constante, enquanto o analito, que não absorve, atinge o detector e ocorre uma queda no sinal, e um pico negativo é então registrado¹⁷.

Uma característica particular da técnica é importante para o entendimento da separação química que ocorre no interior do capilar, é o fluxo eletrosmótico (EOF, do inglês *electroosmotic flow*). Este fenômeno ocorre devido a presença dos grupos silanóis (SiOH) presentes na sílica, a qual compõe os capilares utilizados em CE. Em valores de pH maiores que 3, a parede interna de um capilar de sílica encontra-se carregada negativamente devido à ionização dos grupos silanóis (Si-OH) da sua superfície. Os cátions do tampão se agregam em uma camada elétrica dupla adjacente à superfície do capilar de sílica³¹. A aplicação de um potencial faz com que esses cátions se movam em direção ao eletrodo de carga negativa, gerando um deslocamento denominado de fluxo eletrosmótico normal^{18, 19}.

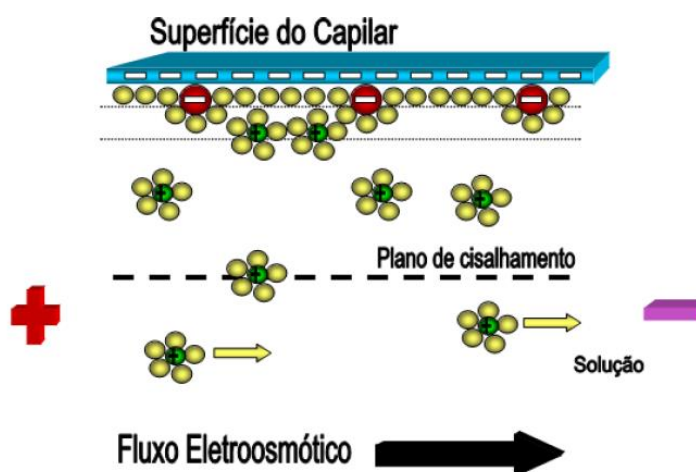


Figura 5. Representação esquemática do fluxo eletrosmótico.

Fonte: SPUDEIT, 2012.

É possível inverter a direção do fluxo eletrosmótico normal pela adição de um surfactante catiônico ao tampão. O surfactante é adsorvido na parede do capilar, deixando a superfície carregada positivamente. Neste caso, os ânions do tampão se agregam próximos à parede e são arrastados na direção do eletrodo positivo. Este artifício é frequentemente utilizado para acelerar as separações dos ânions³¹.

A técnica de CE possui amplos modos de análise. No presente estudo será utilizada a eletroforese capilar de zona (CZE, do inglês *capillary zone electrophoresis*), que consiste na separação química de compostos ionizados pela diferença de velocidade de migração dos mesmos frente à solução de um eletrólito de corrida (BGE, do inglês *background electrolyte*), o qual deve preencher completamente o interior do capilar. Ao aplicar potencial, um campo elétrico é gerado fazendo com que os solutos migrem em zonas distintas dentro do capilar^{17,19}. A CZE é considerada o modo de operação mais simples utilizado em CE e foi escolhida para o desenvolvimento deste trabalho que consiste na avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel a partir da determinação de formiato como produto de oxidação de biodiesel de soja.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo principal deste trabalho é avaliar a eficiência do sistema *homemade* quanto às medidas de condutividade referente ao teste de oxidação do biodiesel de soja e identificar a espécie orgânica formiato originada com sua oxidação e quantificá-la por meio da técnica analítica de eletroforese capilar.

3.2 Objetivos específicos

- Preparar o biodiesel do óleo de soja por meio da reação de transesterificação
- Propor um sistema para avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja;
- Investigar o período de indução do biodiesel de soja e analisar sua estabilidade oxidativa por meio do teste de oxidação acelerada;
- Empregar a técnica de eletroforese capilar equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) para a determinação e quantificação da espécie orgânica formiato como produto de oxidação do biodiesel de soja submetido à oxidação acelerada;
- Escolher um padrão interno adequado para a análise do produto de oxidação do biodiesel por eletroforese capilar;
- Ratificar o uso da técnica analítica de eletroforese capilar para o estudo da estabilidade oxidativa do biodiesel;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Todas as soluções utilizadas foram preparadas com reagentes de grau analítico e água deionizada em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, E.U.A), resistividade de 18,2 MΩ cm. A solução de hidróxido de sódio foi obtida da Agilent Technologies (Palo Alto, CA, E.U.A). O formiato de amônio, o sulfato de sódio, o tris(hidroximetil)aminometano (Tris), e o brometo de cetrimônio (CTAB) foram adquiridos da Sigma Aldrich (São Paulo, SP, Brasil). O citrato de potássio e o ácido ftálico foram obtidos da Synth (Diadema, SP, Brasil). O metanol foi adquirido da Tedia (São Paulo, SP, Brasil).

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Eletroforese Capilar (LabEC), situado na Universidade Federal de Santa Catarina, de Florianópolis - Santa Catarina, Brasil.

4.2 Preparo do biodiesel

A reação de transesterificação para o preparo do biodiesel foi realizada a partir do óleo de soja comercial, de duas marcas distintas. No rótulo da embalagem de uma das marcas do óleo havia a informação do produto conter antioxidantes e, no outro, apenas óleo de soja puro refinado. Os óleos foram adquiridos em um mercado local, o álcool utilizado para a reação de transesterificação foi o álcool metílico, MeOH, e como catalisador, o hidróxido de sódio, NaOH. Foi adotado a relação molar de 1:6 (óleo de soja: álcool), na presença de 1% de catalisador em relação ao óleo de soja, proporção massa/massa.

Inicialmente, o hidróxido de sódio foi dissolvido em metanol e, em paralelo, o óleo foi aquecido a 60 °C. Após isso, lentamente, o óleo foi vertido na mistura de metanol e hidróxido de sódio, sob constante agitação magnética, e tempo reacional de 1h. Após a reação de transesterificação, a mistura reacional foi vertida a um funil de separação, n qual permaneceu até completa separação das fases éster/glicerina, por gravidade. Após esta etapa de separação, a fase éster passou por cinco lavagens com água deionizada para retirar o excesso de catalisador e álcool. Logo em seguida, sulfato de sódio foi adicionado para retirar toda a água residual. Por fim,

o biodiesel foi filtrado e armazenado em frasco âmbar, em local seco, longe de raios solares e umidade.

4.3 Preparo das soluções e amostras

O BGE empregado foi preparado a partir de uma solução estoque – mantida sob refrigeração – de ácido ftálico 20 mmol L^{-1} e tris(hidroximetil)aminometano 17 mmol L^{-1} . O pH da solução tris/ácido ftálico, nestas proporções, foi de 3,6. Uma solução aquosa de CTAB 100 mmol L^{-1} foi preparada e mantida à temperatura ambiente. Todas as soluções foram preparadas com água deionizada.

Para análise das amostras no CE, a solução estoque do padrão de formiato foi preparada em água, com concentração de 1000 mg L^{-1} . A partir desta solução foram feitas diluições em água para a construção da curva de calibração externa. A solução do padrão interno, citrato, foi preparada da mesma forma: em água, com concentração de 1000 mg L^{-1} e, em seguida, o mesmo foi diluído em água para obtenção de um segundo estoque na concentração de 100 mg L^{-1} , o qual foi utilizado para o preparo das soluções de trabalho. A concentração final do padrão interno nas análises foi de 50 mg L^{-1} .

Para avaliação da oxidação foi utilizado um volume de 50 mL de biodiesel que, ao ser submetido à oxidação acelerada, produz produtos orgânicos voláteis que se concentram na água presente na célula de medida. O volume de água nesta célula é de 150 mL e foram coletadas alíquotas de 250 μL dos produtos de oxidação em um intervalo de tempo de 15 em 15 min.

4.4 Instrumentação

4.4.1 Teste de oxidação acelerada

Os ensaios da estabilidade oxidativa para as amostras de biodiesel de soja foram realizados por meio de um equipamento *homemade*, baseado no Rancimat, da Metrohm. A oxidação forçada é obtida fazendo-se uma corrente de ar atravessar o combustível. Vapores gerados pelo processo de oxidação são carregados juntamente com o ar e capturados em um frasco contendo água deionizada. A solução aquosa presente na célula de medição tem sua condutividade monitorada. A

determinação da estabilidade oxidativa é baseada no aumento da condutividade elétrica. A Figura 6 ilustra uma representação esquemática da montagem do sistema.

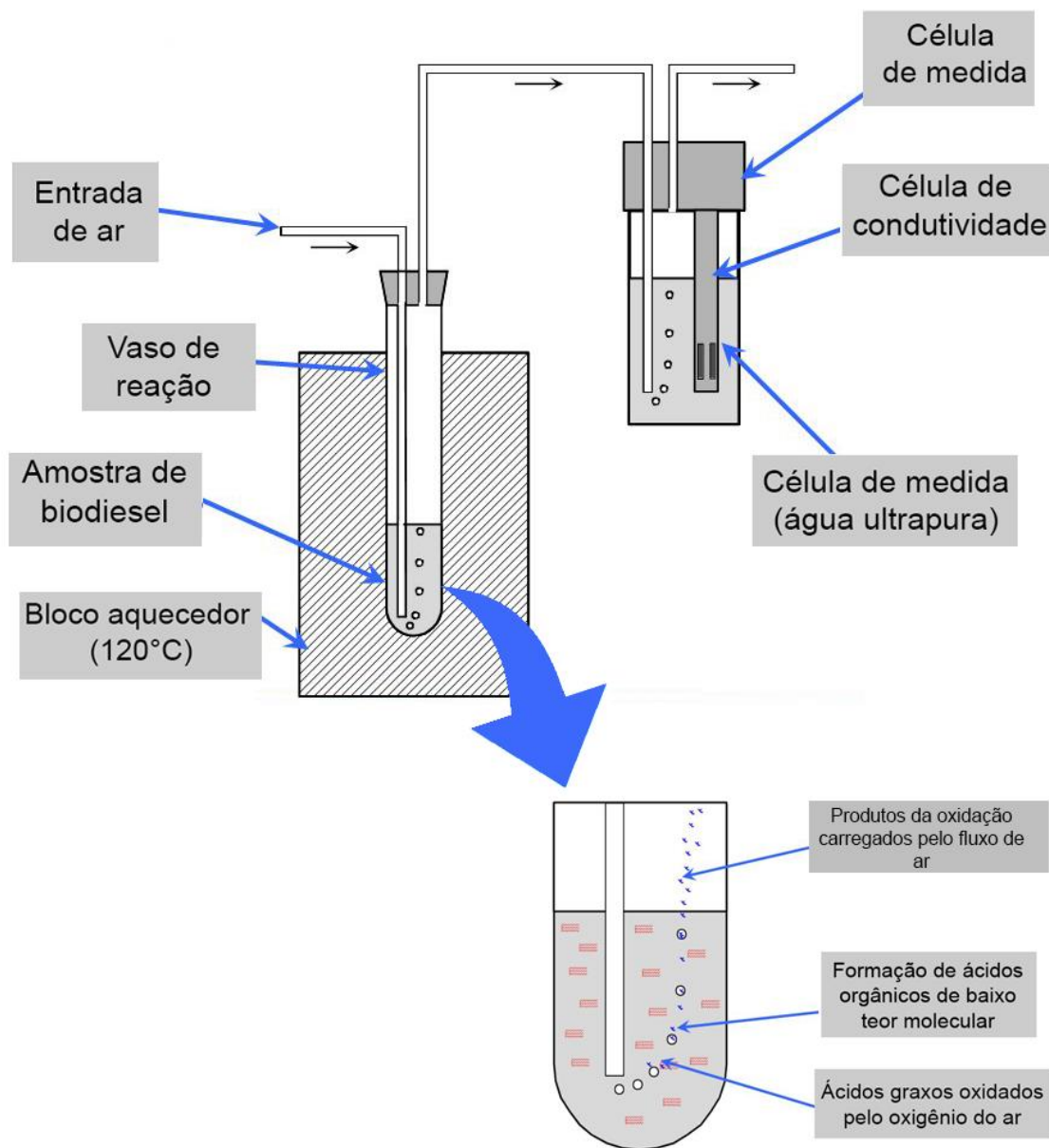


Figura 6. Representação esquemática da coleta dos produtos de degradação do biodiesel de soja via oxidação acelerada.

Fonte: PULLEN&KHIZER, 2012. Adaptado.

O condutímetro utilizado para análise da estabilidade oxidativa do biodiesel foi o da marca Digimed, modelo DM-32. A aquisição dos dados foi realizada utilizando o *software Hercules*, versão 3.1.2, disponibilizado pelo grupo HM. Mais detalhes sobre este processo encontram-se no Apêndice.

4.4.2 Eletroforese Capilar

Para as análises foi utilizado um equipamento de eletroforese capilar com detector de arranjo de diodos (DAD), modelo HP^{3d} CE da marca Agilent Technologies (Palo Alto, CA, E.U.A). A aquisição e o tratamento de dados foram realizados utilizando o *software Chemstation®*, ver. A.06.01.

As medidas foram realizadas em 240 nm à 25°C em um capilar de sílica fundida com revestimento externo de poliimida (Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, E.U.A). O capilar utilizado possuía comprimento total (L_{tot}) de 32 cm, comprimento efetivo (distância até o detector - L_{det}) de 24 cm, 75 μ m de diâmetro interno e 375 μ m de diâmetro externo. O BGE utilizado foi composto de 20 mmol L⁻¹ de ácido ftálico, 17 mmol L⁻¹ de Tris e 0,8 mmol L⁻¹ de CTAB, pH 3,6. O método aplicado foi proposto por OLIVEIRA *et al.* (2012) com algumas modificações, como tamanho do capilar, tempo de injeção e voltagem aplicada.

Para o condicionamento inicial do capilar utilizou-se uma solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹ por 30 min. Posterior a isso, a cada nova condição experimental, utilizou-se NaOH 1,0 mol L⁻¹, seguida de água deionizada, ambos por 5 min, e BGE por 10 min para lavagem. Entre as análises o condicionamento foi de 1 min com BGE.

Para a injeção das amostras utilizou-se o modo hidrodinâmico com aplicação de 25 mbar por 5 segundos. A tensão aplicada foi de -30 kV e a polaridade negativa na extremidade de injeção.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estabilidade oxidativa do biodiesel

A estabilidade oxidativa está entre os parâmetros para avaliação da qualidade do biodiesel e é definida como a resistência da amostra à oxidação e é expressa pelo período de indução, tempo entre o início da medição e o aumento brusco na formação dos produtos de oxidação, acompanhados pela condutividade²⁹.

O teste de oxidação acelerada, monitorado pela condutividade, indica o final do período de indução, no qual a condutividade da água aumenta rapidamente. Tal comportamento é ocasionado pela dissociação de ácidos carboxílicos voláteis produzidos durante o processo de oxidação.

As amostras de biodiesel de soja foram preparadas a partir de dois óleos de soja comerciais distintos. No primeiro deles, há indicação no rótulo da embalagem de que o óleo presente no frasco é óleo de soja puro refinado, sem adição de antioxidantes. No segundo, há indicação de que, no óleo, estão presentes dois antioxidantes: terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e ácido cítrico. A condutividade da água presente na célula de medida foi acompanhada de cinco em cinco minutos e o tempo de indução, Figura 7, é indicado por meio de um gráfico da condutividade pelo tempo.

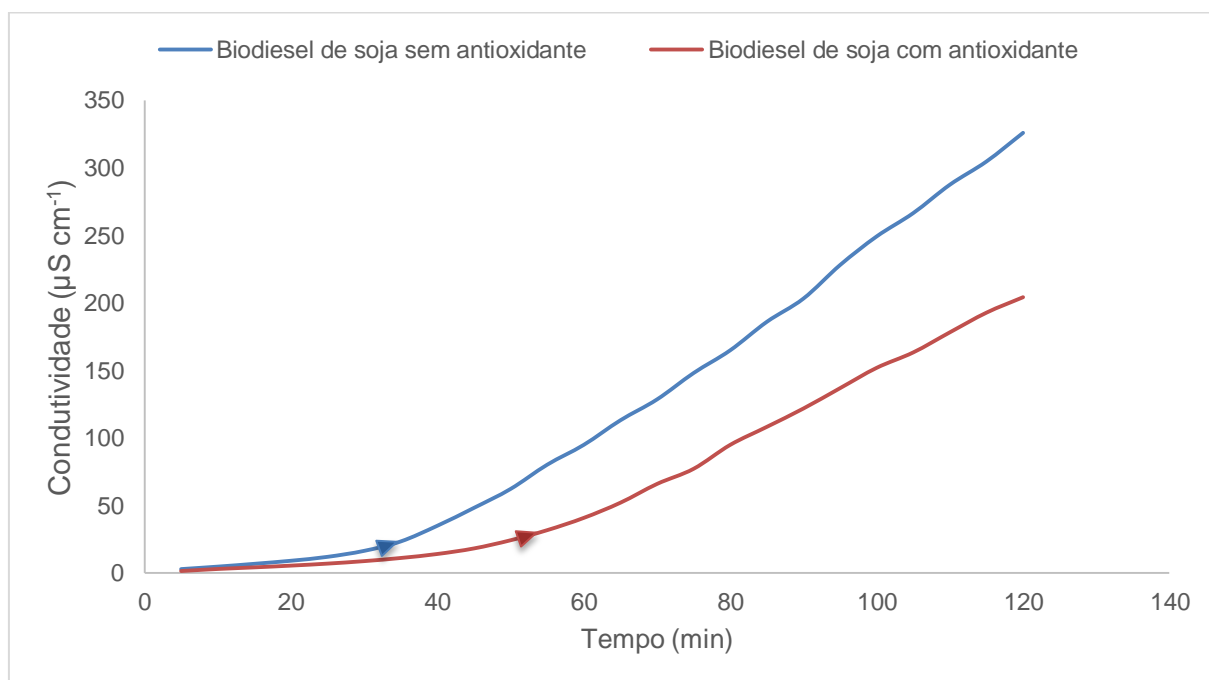


Figura 7. Tempo de estabilidade oxidativa do biodiesel de soja com e sem antioxidante.

A estabilidade oxidativa do biodiesel de soja sem antioxidante foi de 35 min, enquanto que com antioxidante, o tempo da estabilidade saltou para 55 min.

De fato, estes resultados eram os esperados, pois na presença de antioxidante, o biodiesel deve demorar mais tempo para oxidar. Quanto maior o período de indução, melhor será o biodiesel, pois maior será o tempo para sua oxidação.

É importante estabelecer a distinção entre os testes de estabilidade oxidativa em tempo real que determinam a estabilidade oxidativa nas condições normais de armazenamento ou de distribuição, e os testes de estabilidade oxidativa acelerados que avaliam a resistência à oxidação efetuada por testes preditivos, os quais promovem um envelhecimento acelerado à amostra. Os testes acelerados, recorrendo a condições padronizadas de oxidação acelerada (oxigenação intensiva, tratamento térmico e/ou catálise metálica) e permitem estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa de uma matéria graxa ou a eficácia “teórica” de um antioxidante³⁰. Quando submetido à 110 °C, o biodiesel possui um tempo de, aproximadamente, 6h para se obter seu período de indução. Em 120 °C, esse tempo cai pela metade. O controle da temperatura é, portanto, essencial durante todo o processo de oxidação.

O biodiesel é menos resistente à oxidação quando comparado com os combustíveis fósseis típicos e, portanto, a presença de biodiesel no óleo diesel mineral pode afetar a estabilidade desta mistura de forma significativa²⁶. Sendo assim, estudos de avaliação e desenvolvimento de tecnologias que aumentem sua resistência à oxidação durante longos tempos de estocagem são importantes²⁷.

Uma vez realizado o teste de oxidação acelerada fazendo uso do equipamento *homemade* e ratificado seu uso para a determinação do tempo de estabilidade oxidativa do biodiesel, um dos produtos proveniente da oxidação, o formiato, foi então monitorado por eletroforese capilar a fim de se poder acompanhar a qualidade do biodiesel também por esta técnica analítica. Para isto, foi realizado o estudo acerca da escolha do padrão interno e otimização do método aplicado. Além disso, para a quantificação fez-se uso da curva de calibração externa.

5.2 Escolha do padrão interno

É interessante, em eletroforese capilar, a utilização de um padrão interno nas análises para minimizar os efeitos causados por mudanças experimentais e oscilações instrumentais, principalmente relacionadas à injeção e fluxo eletrosmótico. Para que o padrão interno desempenhe seu papel corretamente, é necessário que este apresente propriedades físicas e químicas semelhantes à do analito, de modo que sofra as mesmas variações durante a análise, mas sem comigrar com o mesmo. É adequado que esse composto não esteja presente nas amostras e, ainda, para a análise proposta, é necessário que o mesmo não apresente absorção na região do UV assim como o analito estudado.

Para utilização de um padrão interno adequado para a determinação de formiato, foram avaliados os compostos tartarato e citrato. Na Figura 8 são apresentados os eletroferogramas de ambos compostos, bem como suas estruturas químicas, na presença de formiato. Os dois foram previamente selecionados por se apresentarem ionizados no pH estudado, além de não proporcionarem absorção no comprimento de onda de 240 nm, o qual foi utilizado para monitoramento do analito.

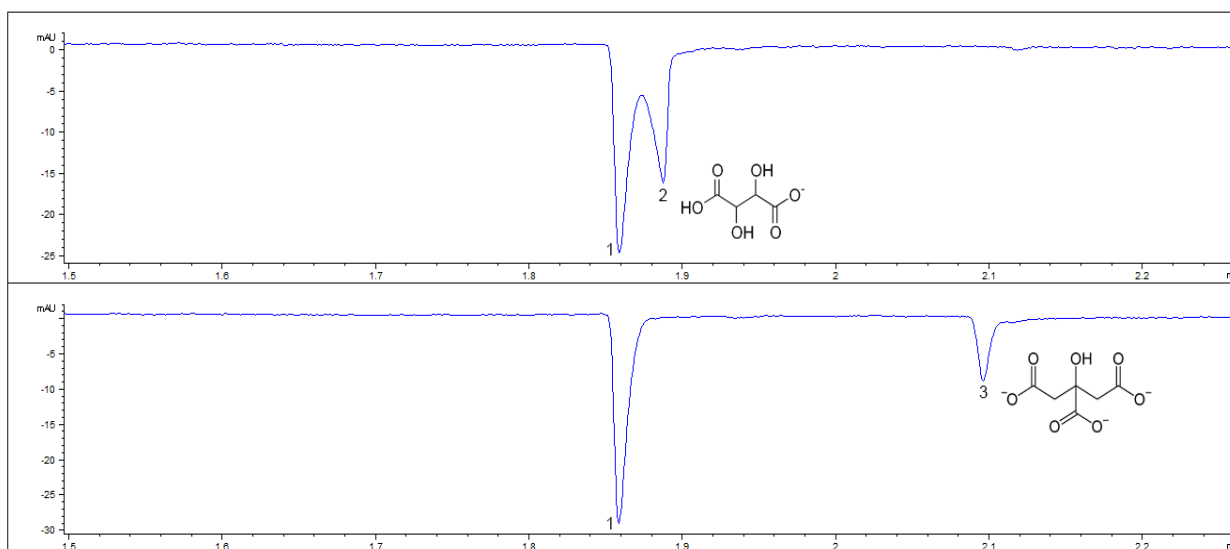


Figura 8. Eletroferogramas obtidos para a escolha do padrão interno tartarato (2) e citrato (3). Condições experimentais: capilar de sílica fundida (32 cm comprimento total, 24 cm comprimento efetivo, 75 μm d.i.); BGE: 20 mmol L^{-1} de ácido ftálico, 17 mmol L^{-1} de Tris e 0,8 mmol L^{-1} de CTAB, pH 3,6; injeção: 25 mbar/5 s; $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\lambda = 240\text{ nm}$.

O tartarato apresentou tempo de migração muito semelhante ao do formiato e sua utilização como padrão interno prejudicaria a determinação do analito. O citrato,

por sua vez, apresentou um tempo de migração mais apropriado, apresentando-se próximo ao pico do formiato, porém não perto o suficiente para prejudicar sua determinação, com resolução adequada e sem alterar o tempo de análise. Sendo assim, dentre os dois compostos avaliados, o citrato foi escolhido como o padrão interno mais adequado para utilização no método. Sua concentração foi fixada em 50 mg L^{-1} .

5.3 Otimização do método

OLIVEIRA *et al* propõe um método por eletroforese capilar para análise de diversas espécies orgânicas, derivadas de ácidos orgânicos, e dentre elas, encontra-se o formiato. O método proposto pelo autor é analisado também em 240 nm à 25°C em um capilar de sílica fundida com revestimento externo de poliimida (Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, E.U.A). Porém, o capilar possui comprimento total (L_{tot}) de $48,5 \text{ cm}$, comprimento efetivo (L_{det}) de 40 cm , $75 \text{ }\mu\text{m}$ de diâmetro interno e $375 \text{ }\mu\text{m}$ de diâmetro externo. O BGE deste método é composto de 20 mmol L^{-1} de ácido ftálico, 16 mmol L^{-1} de Tris e $0,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de CTAB, pH 3,4. Para a injeção das amostras utilizou-se o modo hidrodinâmico com aplicação de 25 mbar por 2 segundos. A tensão aplicada foi de -15 kV e a polaridade negativa na extremidade de injeção. O tempo total de análise proposto pelo método foi de, aproximadamente, 10 min .

O objetivo principal da otimização do método foi diminuir o tempo de análise de tal forma que se obtivesse um bom limite de detecção, no menor tempo possível. Para isto, diminui-se o comprimento total e efetivo do capilar para 32 e 24 cm , respectivamente, pois se o analito percorrer um menor comprimento, mais rápido será detectado. Além disso, o BGE utilizado com 17 mmol L^{-1} de Tris, apresentou um pH 3,6. Para a injeção das amostras utilizou-se o modo hidrodinâmico com aplicação de 25 mbar por 5 segundos e, por fim, a tensão aplicada foi de -30 kV .

A junção de todos os fatores fez com que o tempo de análise diminuísse consideravelmente, porém o fator que mais agregou valor foi a tensão aplicada. Uma vez que a voltagem está diretamente relacionada com o campo elétrico gerado no interior do capilar – e este com a velocidade do fluxo eletrosmótico, quanto maior a voltagem aplicada, maior é o campo elétrico formado e, conseqüentemente, a velocidade do EOF, o que diminui o tempo de análise. Afim de avaliar esta influência

foram estudadas a aplicação de -15, -20, -25 e -30 kV, mantendo constantes a temperatura, dimensão do capilar e tempo de injeção. A Figura 9 apresenta os eletroferogramas obtidos neste estudo, utilizando o BGE previamente selecionado (20 mmol L⁻¹ de ácido ftálico, 16 mmol L⁻¹ de Tris e 0,8 mmol L⁻¹ de CTAB, pH 3,6).

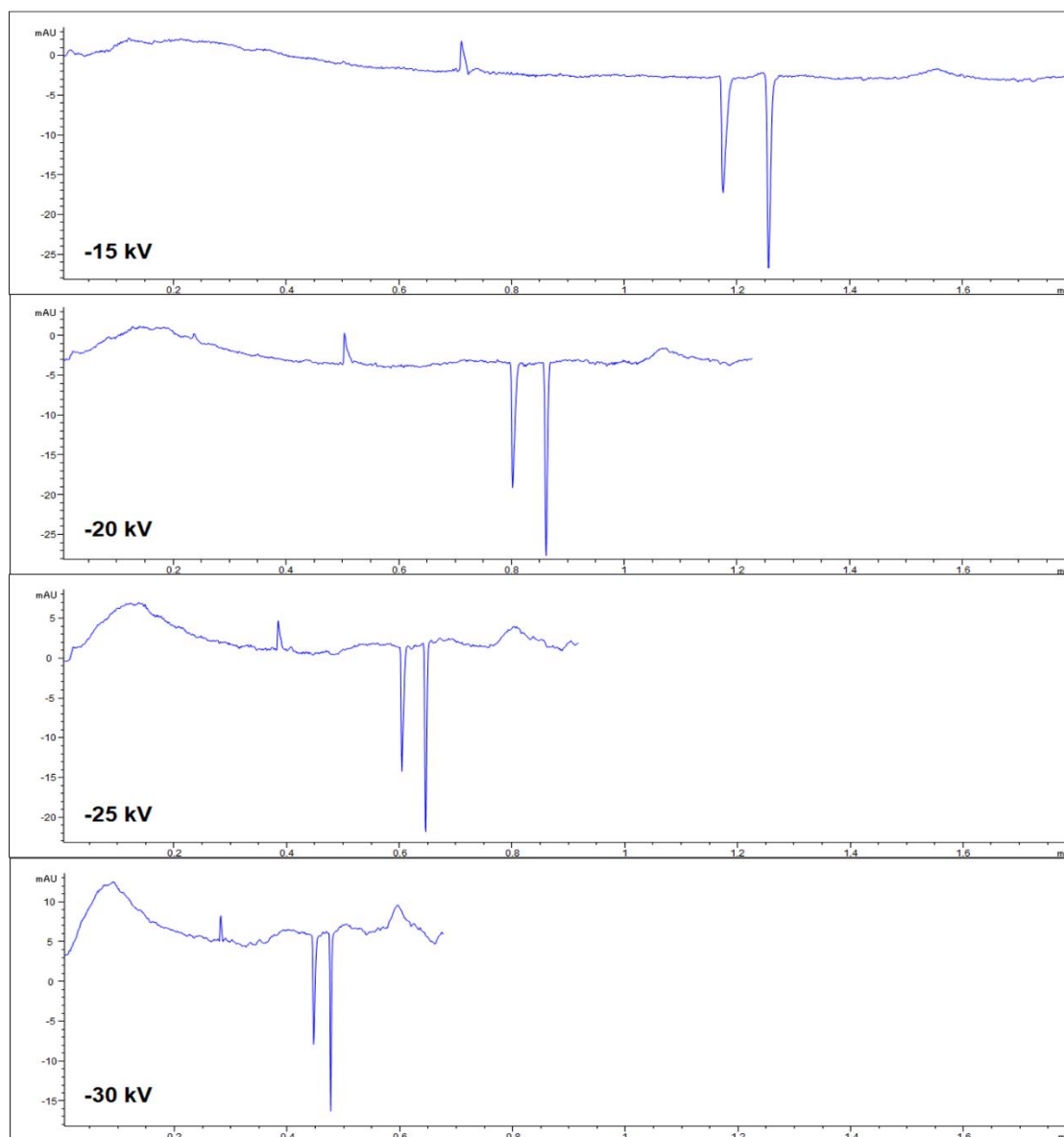


Figura 9. Eletroferogramas obtidos para a identificação de formiato (1), aplicando-se -15, -20, -25 e -30 kV. Condições experimentais: capilar de sílica fundida (32 cm comprimento total, 24 cm comprimento efetivo, 75 μ m d.i.); BGE: 20 mmol L⁻¹ de ácido ftálico, 17 mmol L⁻¹ de Tris e 0,8 mmol L⁻¹ de CTAB, pH 3,6; injeção: 25 mbar/5 s; T = 25 °C; λ = 240 nm. Pico 2: citrato.

Analisando os resultados obtidos, verificou-se que aplicando -30 kV durante a análise, é possível identificar o formiato em 0,5 min e em uma boa resolução. Sendo

assim, a voltagem de -30 kV foi escolhida para utilização no método, o tempo total de corrida igual a 2 min e tempo de análise do analito igual a 1 min.

5.4 Curva de calibração externa

Uma medida analítica quantitativa tem por objetivo determinar a quantidade de uma dada espécie analito em uma massa ou volume definido da amostra. Se o analito não pode ser diretamente medido, então um parâmetro macroscópico deve ser encontrado que seja funcionalmente relacionado à concentração do analito.

Mais especificamente, o método de padronização externa compara a área da substância a ser quantificada na amostra com as áreas obtidas com soluções de concentrações conhecidas preparadas a partir de um padrão. Preparam-se soluções da substância a ser quantificada em diversas concentrações; obtém-se o eletroferograma correspondente a cada uma delas e, em um gráfico, relacionam-se as áreas obtidas com as concentrações. Utilizando este gráfico ou a equação da curva resultante, pode-se calcular a concentração desta substância na amostra a partir da área da substância obtida no eletroferograma resultante de uma injeção separada²⁴.

Para a curva de calibração externa preparada, mediu-se a resposta do instrumento para sete níveis de concentração de padrão analítico: 10,0 mg L⁻¹, 20,0 mg L⁻¹, 30,0 mg L⁻¹, 40,0 mg L⁻¹, 50,0 mg L⁻¹, 60,0 mg L⁻¹ e 70,0 mg L⁻¹. A Figura 10 representa a curva de calibração para o analito formiato e, na Tabela 1 encontram-se os dados obtidos para os parâmetros do método proposto.

Tabela 1. Parâmetros de validação do método proposto para análise de formiato por CE-UV.

PARÂMETRO	Formiato
Faixa linear (mg L ⁻¹) ^a	10,0 – 70,0
Equação da curva ^a	y = 0,0992x - 0,228
Desvio padrão da inclinação	0,04
r ²	0,999
LD (mg L ⁻¹)	1,3
LQ (mg L ⁻¹)	3,9

^an = 7, cada ponto da curva foi injetado em triplicata.

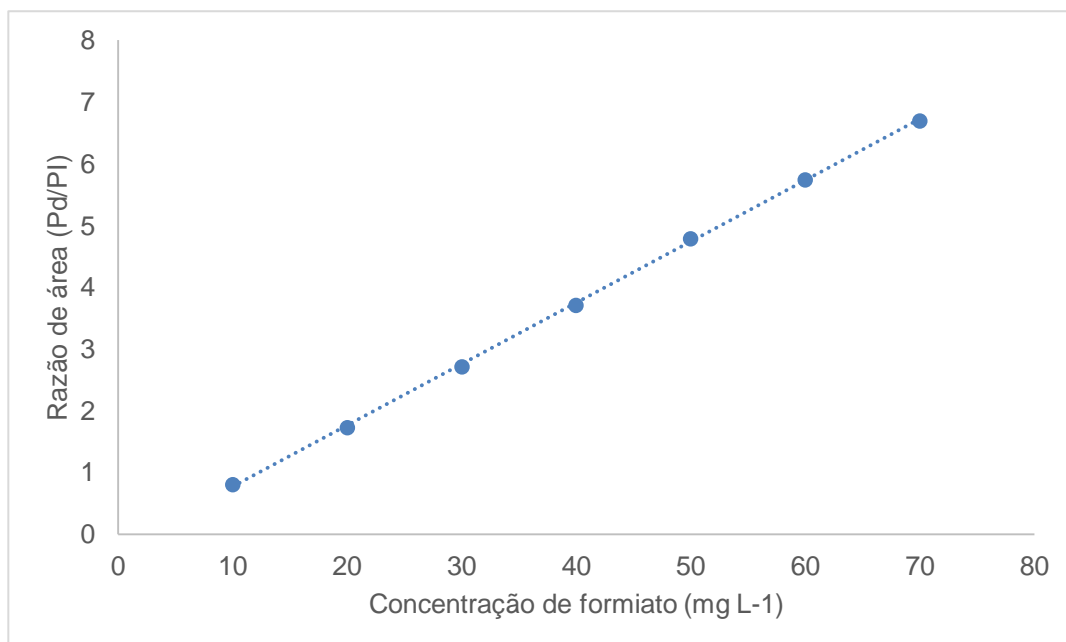


Figura 10. Curva de calibração externa obtida para formiato, utilizando citrato como padrão interno em concentração de 50 mg L⁻¹. A curva é resultado das médias obtidas de uma triplicata.

A linearidade corresponde a capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais a concentração do analito, dentro de uma determinada faixa de aplicação (ou faixa de trabalho). Este parâmetro foi avaliado a partir do coeficiente de determinação (r^2) da curva de calibração. A ANVISA recomenda um r^2 igual ou superior a 0,99. O valor de r^2 obtido foi igual a 0,999, o que indica que o método apresentou uma relação linear entre a razão área do analito/área do PI e a concentração do analito, dentro da faixa de aplicação estudada.

O limite de detecção representa a menor concentração do analito que pode ser detectada e o limite de quantificação representa a menor concentração do analito que pode ser quantificada pelo método. Os valores encontrados para LD foi de 1,3 mg L⁻¹ e para LQ igual a 3,9 mg L⁻¹.

5.5 Aplicação do método e determinação da estabilidade oxidativa do biodiesel por eletroforese capilar

Foram realizados seis testes de estabilidade oxidativa do biodiesel de soja via condutividade, todos à 120° C. Três testes são referentes ao biodiesel de óleo de soja sem antioxidantes, e os outros três do biodiesel de óleo de soja com antioxidantes. Em cada teste, oito alíquotas da solução absorvedora foram coletadas de 15 em 15 min e analisadas por eletroforese capilar. A Figura 11 representa os

gráficos da estabilidade oxidativa via oxidação acelerada, e a Figura 12 a formação de formiato ao longo do tempo de oxidação, por análise em CE.

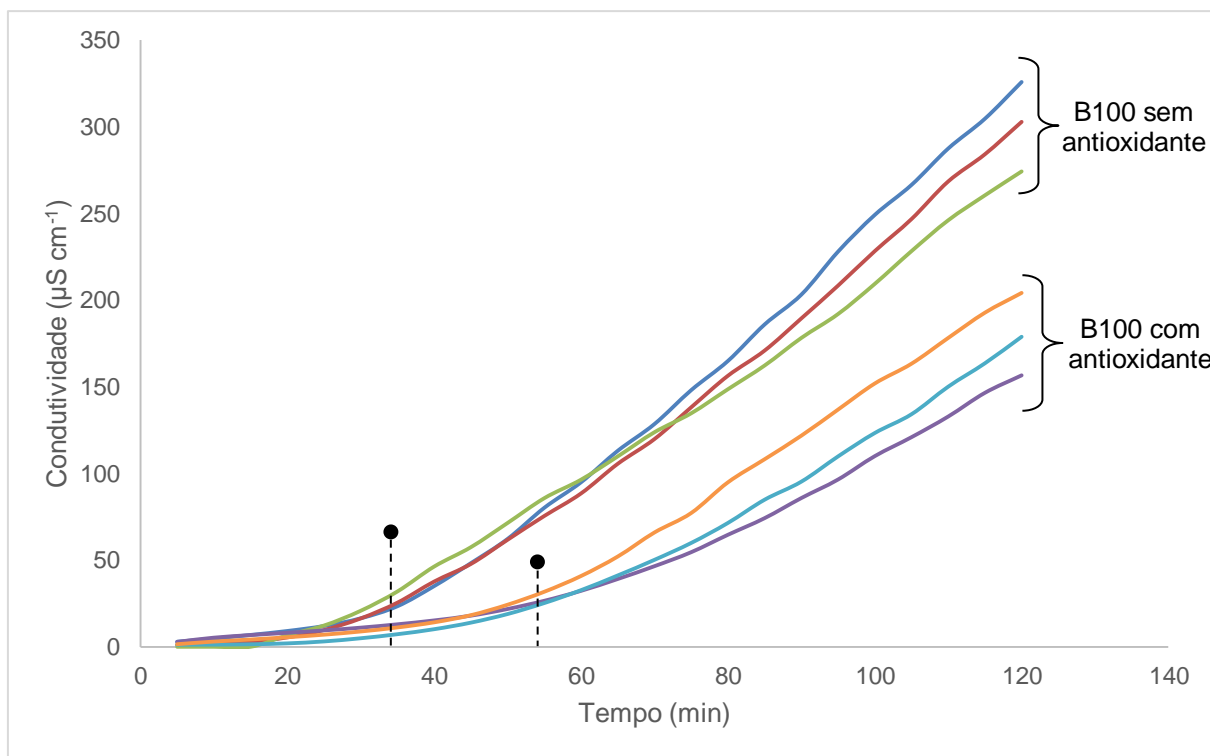


Figura 11. Tempo de estabilidade oxidativa do biodiesel de soja com e sem antioxidante.

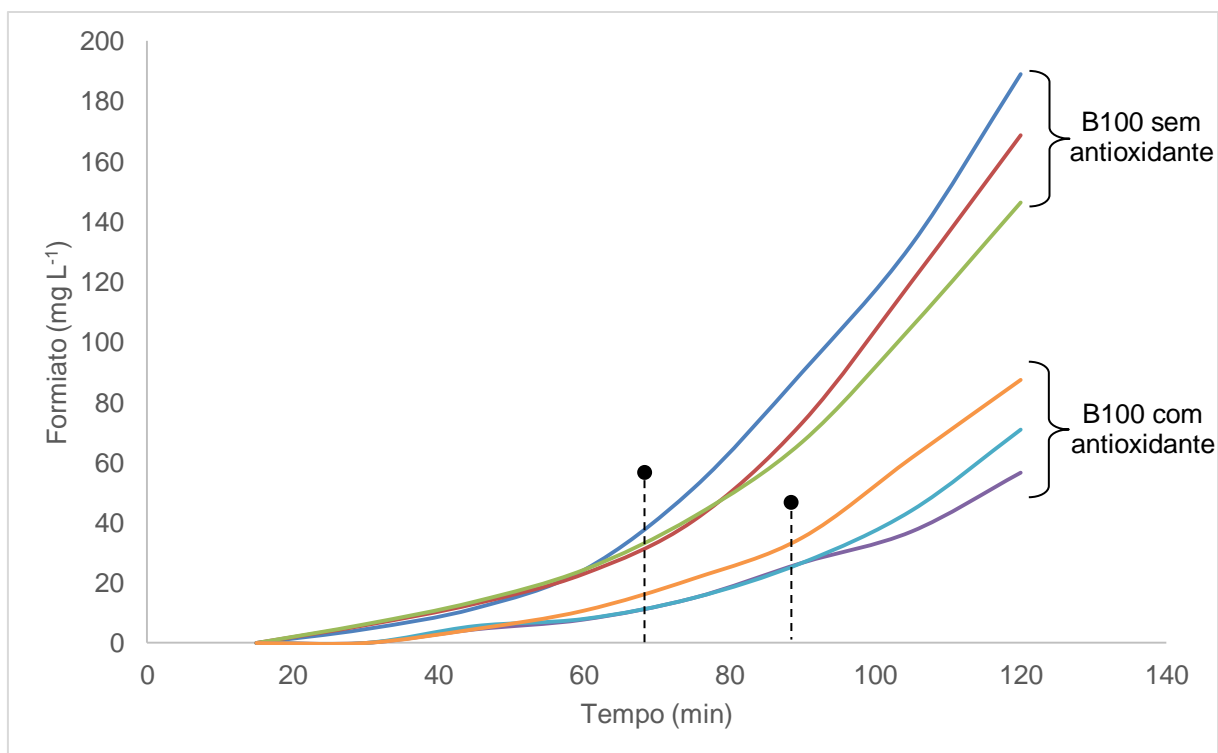


Figura 12. Variação da quantidade de formiato ao longo do tempo de oxidação acelerada de amostras de biodiesel de soja com e sem antioxidante.

Os pontos de indução das amostras de biodiesel de soja via oxidação acelerada sem antioxidante foram por volta de 35 min, já as amostras que indicam uso de antioxidantes, por volta de 55 min.

No início da oxidação acelerada, em seus 15 min, não há formação de formiato. Essa constatação é válida para todas as amostras analisadas. A partir dos 30 min é possível detectar o aparecimento do analito para as amostras de biodiesel sem antioxidante, mas em quantidades não quantificáveis.

Nos gráficos elaborados a partir da análise por eletroforese, entretanto, o aparecimento de formiato se dá após o período de indução de maneira significativa. Uma vez que o período de indução corresponde ao tempo necessário para um aumento rápido na condutividade medida, esse comportamento se dá devido ao aumento de íons presentes em solução. Obter um crescimento rápido na concentração de formiato após o período de indução é, portanto, esperado e condiz com o apresentado pela análise por eletroforese. Além de formiato, há também outras espécies que contribuem com o aumento da condutividade que, no presente estudo, não foram avaliadas. Portanto, mesmo sem a detecção do analito de estudo, a condutividade crescerá devido à presença dessas outras espécies.

A estabilidade oxidativa de matrizes graxas geralmente é acompanhada pelo equipamento Rancimat da Metrohm. Este equipamento, porém, tem um elevado custo de compra e o sistema *homemade* desenvolvido de baixo custo, garantiu o acompanhamento do período de indução das amostras. A condutividade, porém, não é seletiva em nenhum dos dois sistemas. Diversas espécies orgânicas e inorgânicas que são produtos de oxidação do biodiesel irão contribuir com o aumento da condutividade e apenas por ela, não se pode afirmar qual é a maior espécie contribuinte. A CE, por sua vez, é seletiva, rápida, tem baixo custo de análise e pode analisar tanto espécies orgânicas e inorgânicas. Para projetos futuros, outros produtos de oxidação poderiam ser acompanhados a fim de identificar àquele que mais contribui para o aumento de condutividade e também para o desgaste do biodiesel, a fim de melhorar sua qualidade quando em uso por motores e geradores.

A Figura 13 ilustra os eletroferogramas de formiato de um dos testes de estabilidade oxidativa do biodiesel ao decorrer do tempo. O método otimizado e aplicado se mostrou eficaz para a determinação e quantificação do analito em um curto tempo de análise.

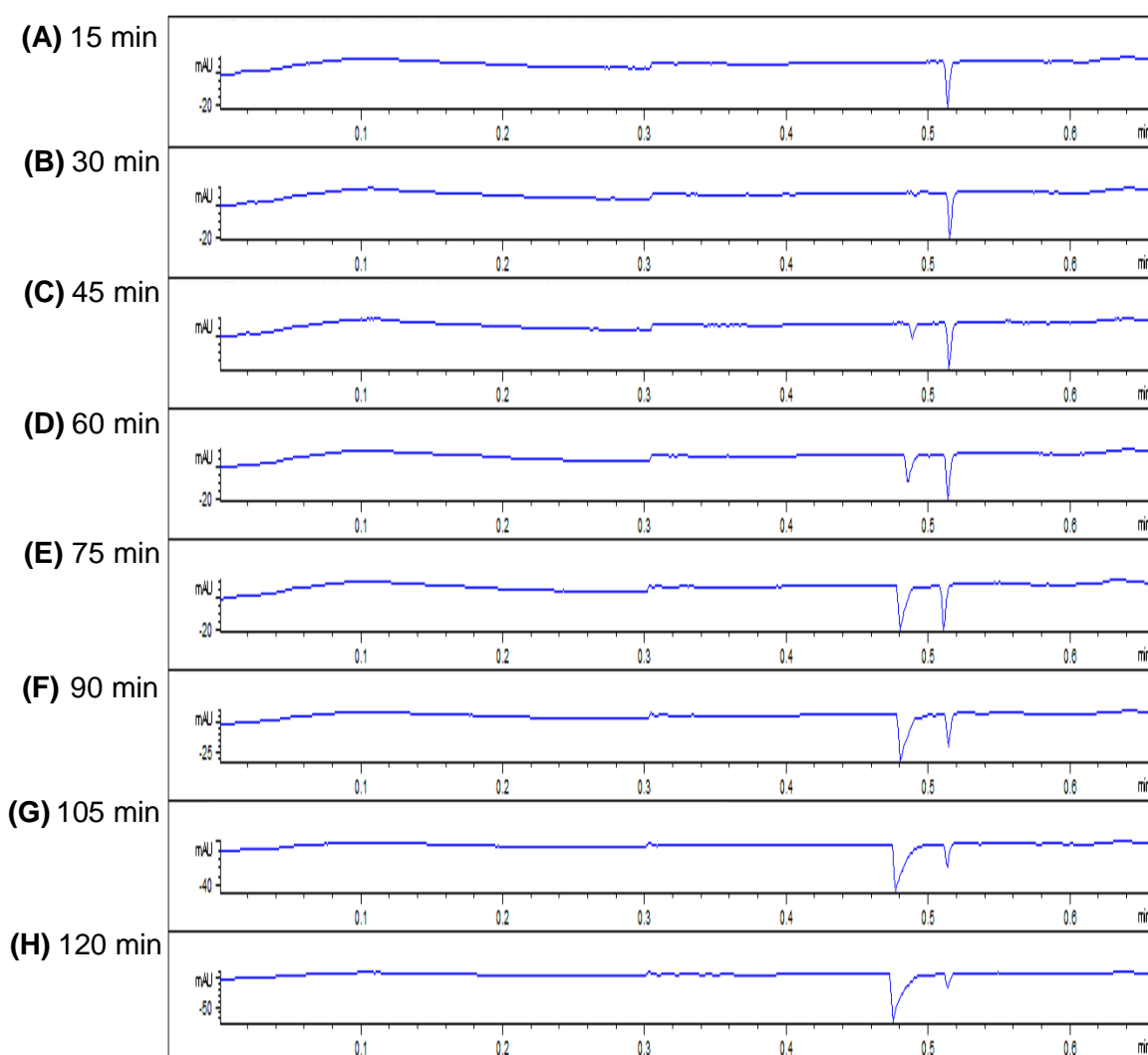


Figura 13. Eletroferogramas obtidos para a identificação e quantificação de formiato como produto de oxidação do biodiesel de soja ao longo do tempo. Condições experimentais: capilar de sílica fundida (32 cm comprimento total, 24 cm comprimento efetivo, 75 μm d.i.); BGE: 20 mmol L^{-1} de ácido ftálico, 17 mmol L^{-1} de Tris e 0,8 mmol L^{-1} de CTAB, pH 3,6; injeção: 25 mbar/5 s; $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\lambda = 240\text{ nm}$.

Dentre todas as amostras quantificadas, o valor máximo de formiato para o período de 120 min de oxidação do biodiesel de soja sem a presença de antioxidante foi de 189 mg L^{-1} , enquanto que para o biodiesel com antioxidante, o valor máximo encontrado para o formiato foi de 87 mg L^{-1} . A quantidade mensurada de formiato expressa que, apesar do período de indução já ter ocorrido ao final de 120 min, a presença do antioxidante, de fato, aumenta a estabilidade oxidativa do biodiesel no que diz respeito aos produtos formados de sua oxidação.

6 CONCLUSÃO

O sistema desenvolvido para a investigação da estabilidade oxidativa e coleta de um dos produtos de oxidação do biodiesel de soja, o formiato, se mostrou adequado, uma vez que foi possível identificar a espécie e também analisar o período de indução de amostras de biodiesel de soja com e sem antioxidantes – provenientes da fabricação do óleo de soja comercial.

Uma vez que os fenômenos naturais de oxidação são processos lentos, desenrolando-se freqüentemente ao longo de vários meses, os testes de estabilidade em tempo real tornam-se por vezes incompatíveis com o controle de qualidade a nível industrial. Deste modo, os testes de estabilidade acelerados assumem particular importância na rotina analítica.

A estabilidade oxidativa do biodiesel de soja sem antioxidante foi de 35 min, enquanto que com antioxidante, o tempo da estabilidade saltou para 55 min. Dessa forma, na presença de antioxidante, a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja aumentou em 57%. Esta resposta condiz com o fato teórico de que o antioxidante deve aumentar o tempo necessário para a degradação do biocombustível.

O método por eletroforese capilar proposto e otimizado a partir do método descrito por OLIVEIRA *et al.* apresentou linearidade adequada ($r^2 > 0,999$) para o analito formiato. A técnica de eletroforese capilar se mostrou eficiente e eficaz para a determinação e quantificação da espécie orgânica proveniente da oxidação acelerada do biodiesel. Além disso, os custos da análise foram baixos quando comparados com as técnicas cromatográficas que necessitam de solventes e gases de pureza elevada, sendo uma alternativa viável para o monitoramento de outros produtos de oxidação provenientes do B100.

Sabendo-se que até de março de 2019 haverá, por lei, 10% de biodiesel no diesel, em mistura, toneladas desse biocombustível entrará no mercado nacional. É importante, portanto, pesquisas acerca da qualidade deste produto para garantir o bom funcionamento e durabilidade de motores e, principalmente, estudos acerca de como e quais produtos de oxidação afetam nosso meio ambiente.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹**Biocombustíveis**, Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/wwwanp/biocombustiveis>>. Acesso em 29 de outubro de 2017.

²**Biodiesel**, Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/wwwanp/biocombustiveis/biodiesel>>. Acesso em 29 de outubro de 2017.

³BRASIL, **Lei Nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005**. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis nºs 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/lei/l11097.htm>. Acesso em 4 de novembro de 2017.

⁴**País revoluciona o uso e a produção de biocombustível**, Governo do Brasil. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/infraestrutura/2011/12/pais-revoluciona-o-uso-e-a-producao-de-biocombustivel>. Acesso em 29 de outubro de 2017.

⁵SANTOS, Francisco Francielle Pinheiro. **Avaliação de antioxidantes aplicados à produção de biodiesel**. 2013. 154 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará.

⁶MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO. **Parâmetros físico-químicos para os processos de produção de biodiesel**. Brasília, DF. CNPq 2015. 214 p.

⁷DAMASCENO, S.S.; SANTOS, N. A.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. L.; SOUZA, A. G.; QUEIROZ, N. Caffeic and ferulic acids: an investigations of the effect of antioxidants on the stability of soybean biodiesel during storage. **Fuel**. v.107, p. 641-646, 2013.

⁸MORAES E SANTOS, T. Lipídios, In: DUTRA-deOLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, J. S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo: Sarvier, p87-97, 1997.

⁹WANASUNDARA, U. N.; SHAHIDI, F. Application of NMR spectroscopy to assess oxidative stability of canola and soybean oils. **Journal Food Lipids**. v.1, p. 15-24, 1993.

¹⁰PULLEN J., KHIZER S., An overview of biodiesel oxidation stability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v16, p.5924-595, 2012.

¹¹CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 5, p.169-186,2006.

¹²LOURY, M. Possible mechanisms of autoxidative rancidity. **Lipids**. v. 7, p. 671-675, 1972.

¹³NOGUEIRA, T.; do LAGO, C. L. Determination of Ca, K, Mg, Na, sulfate, phosphate, formate, acetate, propionate, and glycerol in biodiesel by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. **Microchemical Journal**. v. 99, p.267-272, 2011.

¹⁴SENDZIKIENE, E.; MAKAREVICIENE, V.; JANULIS, P. Oxidation stability of biodiesel fuel produced from fatty wastes. **Polish Journal of Environmental Studies**. v.14, p. 335-339, 2005.

¹⁵LANDERS, J. P. Handbook of capillary and microchip electrophoresis and associated microtechniques. **CRC press**, 2007. ISBN 1420004956.

¹⁶TAVARES, M. F. M. Capillary electrophoresis: Basic concepts. **Quimica Nova**, v. 19, n. 2, p. 173-181, Mar-Apr 1996.

¹⁷TAVARES, M. F. Separation mechanisms in capillary electrophoresis. **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 493-511, 1997.

¹⁸SKOOG, D. A. H., F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5ª Ed. 2002.

¹⁹SPUDEIT, D. A.; DOLZAN, M. D.; MICKE, G. A. Conceitos básicos em Eletroforese Capilar. **Scentia Chromatographica**, p.288-297, 2012.

²⁰BARCELLOS, M. **Eletroforese capilar na determinação rápida de nitrato e nicotina em diferentes amostras**. 2012. Universidade Federal de Santa Catarina

²¹EN14112, 2003. **Fat and Oil Derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test)**.

²²DANTAS, M. B. **Blendas de Biodiesel: Propriedades de Fluxo, Estabilidade Térmica e Oxidativa e Monitoramento Durante Armazenamento**. 2010. 118 f. Tese de Doutorado (Livre-Docência em Química) - Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-Paraíba, 2010.

²³BANNISTER, C.D. et al., 2011. Oxidative stability of biodiesel fuel. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part D Journal of Automobile Engineering**, 80(10), pp.1047-1048.

²⁴RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004. ISSN 0100-4042.

²⁵OLIVEIRA, Marcone Augusto Leal de et al. Optimisation of a Capillary Zone Electrophoresis Methodology for Simultaneous Analysis of Organic Aliphatic Acids in Extracts of *Brachiaria brizantha*. **Phytochemical Analysis**, v. 23, p. 569-575, 2012.

²⁶DUNN, R. O., KNOTHE, G. Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v 80, p 1021–1026, 2003.

²⁷QUINTELLA, C. M. *et al.* Biodiesel chain from the lab bench to the industry: an overview with technology assesment, R&D&I opportunities and tasks. **Química Nova**. v. 32, p. 793-808, 2009.

²⁸VITALI, L. *et al.* Using multiple short-end injections to develop fast electrophoretic separations-applications in iodide analysis. **Journal of Chromatography A**, 2011.

²⁹CARVALHO, Anaildes Lago. **Biodiesel de soja: estudo sobre estabilidade e produtos de oxidação**. 201. 189 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Bahia.

³⁰BORGES, F.F. M., SILVA, F. A. M., FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**. 1998

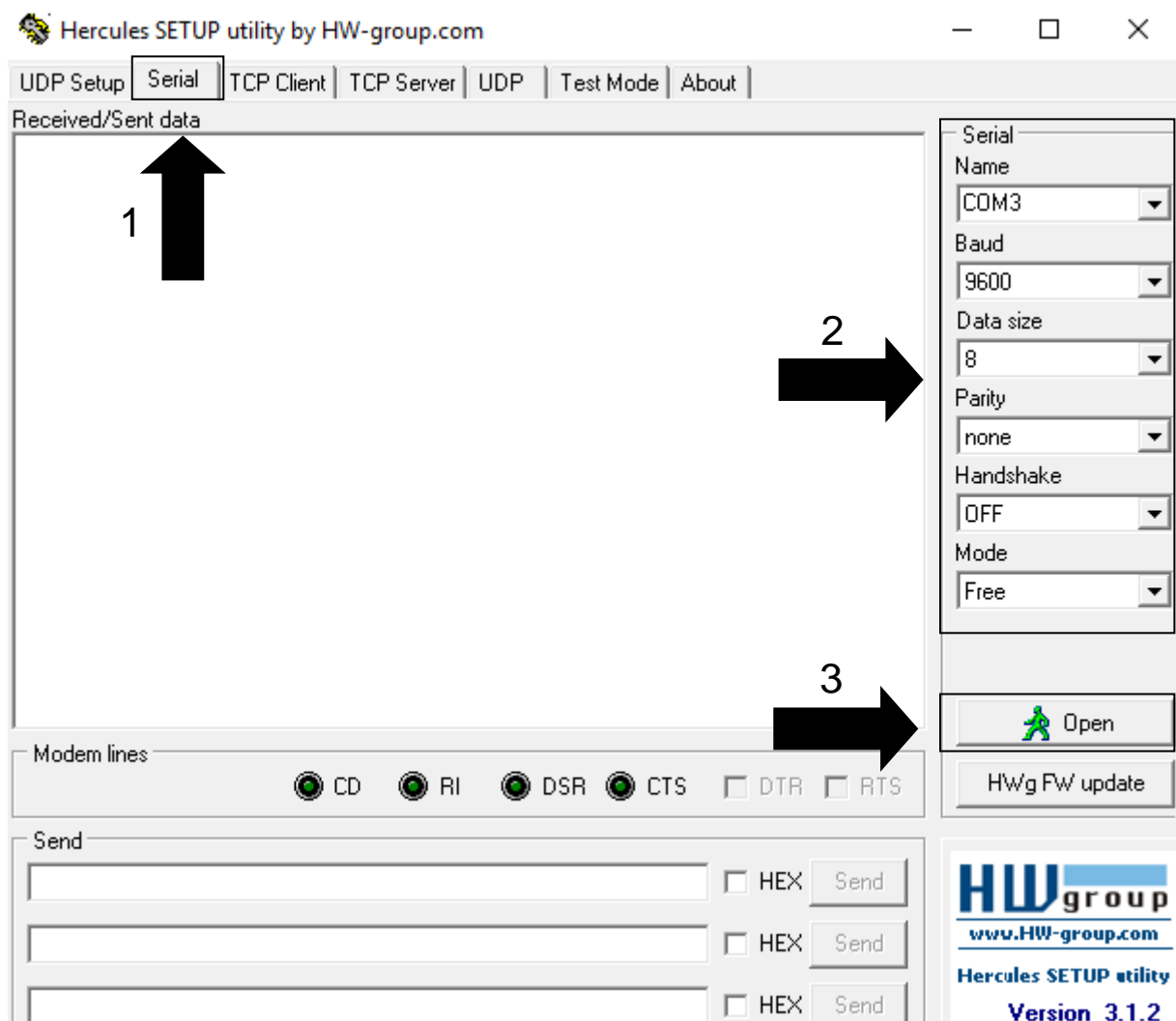
³¹HOLLER, F. J., SKOOG, D. A., CROUCH, S. R., **Princípios de análise instrumental**. Tradução Celio Pasquini, Jarbas José Rodrigues Rohwedder *et al.*. 6. ed. 1056p. Porto Alegre, Bookman, 2009.

³²QUEIROZ, S. C. N. JARDIM, I. S. C. F., Eletroforese Capilar. **Chemkeys**, 2001.

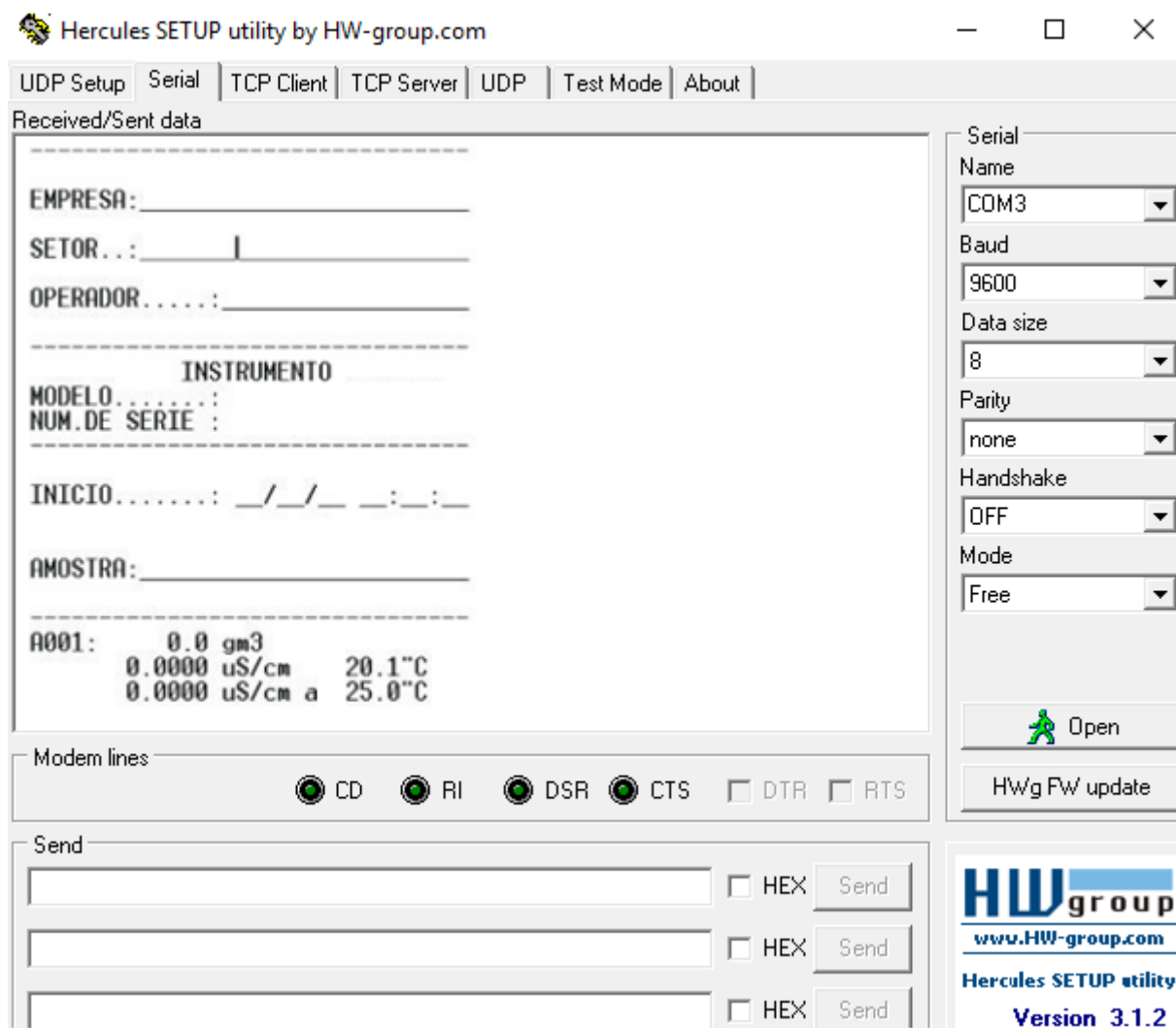
APÊNDICE

O *software* Hercules, versão 3.2.1 veio da necessidade de introduzir uma ferramenta computacional que auxilie na coleta dos dados dos valores da condutividade fornecidos pelo condutivímetro Digimed DM-32. As operações básicas para a conexão com o computador são:

1. Conecte a saída serial do equipamento à saída serial do computador
2. Configure a saída do equipamento para IMPRESSORA
3. Abra o *software* Hercules (Iniciar > Pesquisar > Hercules)
4. Vá na aba Serial e configure o menu à direita, conforme a figura abaixo e depois clique em Open. Siga a ordem das setas.



5. Coloque o equipamento em modo de leitura, os dados serão exibidos automaticamente no Hercules e poderão ser impressos se necessário.



6. A comunicação do aparelho é um conector fêmea. Um cabo de comunicação de dados com as duas pontas fêmeas é conectado a um outro cabo com uma ponta fêmea e a outra ponta, uma saída USB, que é conectada ao computador.
7. Uma alternativa para a comunicação do aparelho, é dispor de um conversor RS485/RS232.

