

METODOLOGIA ANALÍTICA PARA GLICEROL EM BIODIESEL: cenário atual*

ANALYTICAL METHODOLOGY FOR GLYCEROL IN BIODIESEL: current scenario

METODOLOGÍA DE ANÁLISIS DE GLICEROL EN BIODIESEL: escenario actual

*Edmar Pereira Marques
Verônica Diniz da Silva
Joseany de Moraes Santos Almeida
Helmara Diniz Costa
Glene H. R. Cavalcante
Aldaléa Lopes Brandes Marques*

Resumo: O glicerol ou glicerina livre, principal subproduto no processo de produção do biodiesel, precisa ser isolado e também monitorado pois pode causar vários problemas, sendo o seu conteúdo um indicador da qualidade do Biodiesel. Tanto nas normas europeias, americanas como brasileiras, os métodos cromatográficos são recomendados. Vários outros métodos têm sido avaliados como procedimentos alternativos. O presente trabalho mostra o cenário atual das metodologias analíticas para o glicerol em biodiesel. A análise de glicerina livre (glicerol) e glicérides total (mono- di-e triglicérides) em biodiesel B100 tem sido realizada de acordo com os métodos EN ISO 14105, EN ISO 14106, e ASTM D6584. O trabalho também mostra as melhorias para os métodos, bem como orientações para a análise bem sucedida de glicerina livre e total em biodiesel.

Palavras-chave: Glicerol. Qualidade de biodiesel. Metodologia analítica.

Abstract: The glycerol or free glycerine, which is the main byproduct in the biodiesel production process, must be isolated because it can cause several problems, being its content an indicator of the quality of Biodiesel. As well as in the European, American and Brazilian standards, the chromatographic methods are recommended. Several other methods have been evaluated, as alternative procedures. The present work shows the current scenario of the analytical methodologies for glycerol in biodiesel. The analysis of free glycerin (glycerol) and glycerides (mono-, di-, and triglycerides) in B100 biodiesel has been performed according to EN ISO 14105, EN ISO 14106, e ASTM D6584. Improvements for the methods has been presented as well as guidelines for successful analysis of free and glycerin in biodiesel.

Keywords: Glycerol. Biodiesel quality. Analytical methods.

Resumen: El glicerol o glicerina libre, que es el principal subproducto en el proceso de producción de biodiesel, debe ser aislados y también controlados porque puede causar varios problemas, y su contenido es considerado un indicador de la calidad del biodiesel. Tanto en las normas europeas, como em las estadounidenses y en las brasileñas, los métodos recomendados son los cromatográficos. Varios otros métodos han sido evaluados como procedimientos alternativos. Este trabajo muestra el escenario actual de las metodologías analíticas para el glicerol em biodiesel. El análisis de glicerina libre (glicerol) y glicéridos totales (mono-, di-y triglicéridos) em biodiesel B100 se ha realizado según la normas EN ISO 14105, EN ISO 14106, e ASTM D6584. El documento también muestra lãs mejoras de los métodos y lineamientos para el éxito del análisis de glicerina total y libre em biodiesel.

Palabras clave: Glicerol. Calidad del biodiesel. Metodología de análisis.

1 INTRODUÇÃO

O alto consumo de produtos derivados do petróleo, como a gasolina e o diesel, e o crescente esforço em reduzir o aquecimento global causado pelas emissões dos gases, combustíveis alternativos que sejam renováveis e resultem em menor impacto ambiental têm atraído a atenção de mercados do mundo inteiro (LAMERS; McCORMICK; HILBERT, 2008). Por outro lado,

a energia proveniente da biomassa é apontada como uma grande opção na procura por novas fontes de energia, e o biodiesel aparece como uma alternativa promissora (DEMIRBAS, 2008; PINTO et al., 2005).

Biodiesel puro geralmente não é usado como combustível, em vez disso, é misturado com o diesel de petróleo. O custo tem sido um dos principais fatores que tem retardado

*Artigo recebido em outubro 2011
Aprovado em dezembro 2011

a comercialização do biodiesel como combustível puro. Seu papel atual no mercado é, em grande parte, ligado a preocupações ambientais e padrões estabelecidos pelo governo.

O biodiesel compõe, junto com o etanol, importante oferta para o segmento de combustíveis. Ambos são denominados de biocombustíveis por serem derivados de biomassa (matéria orgânica de origem vegetal ou animal que pode ser utilizada para a produção de energia), menos poluentes e renováveis.

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), através da Resolução nº 7 de 19/03/2008, define o biodiesel (B100) como um combustível composto de alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão, renovável e biodegradável, que possa substituir parcial ou totalmente o óleo diesel de origem fóssil. A mistura óleo diesel/biodiesel BX é o combustível comercial composto de (100-X)% em volume de óleo diesel, conforme especificação da ANP, e X% em volume do biodiesel (ANP, 2008a).

O mercado do biodiesel vem crescendo consideravelmente nos últimos anos em função das preocupações de vários países com o meio ambiente e a intenção de reduzir a dependência do petróleo importado (MELLO; PAULILLOS; VIAN, 2007).

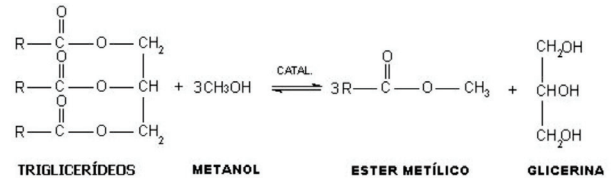
Desde 1º de janeiro de 2010, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 5% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pela Resolução nº 6/2009 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), publicada no Diário Oficial da União (DOU) em 26 de outubro de 2009, que aumentou de 4% para 5% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel (ANP, 2009).

A produção do biodiesel ocorre através da reação de transesterificação de óleos vegetais ou gordura animal na presença de um catalisador em meio alcoólico, originando alquil ésteres derivados de ácidos graxos e a glicerina como co-produto (LÔBO; FERREIRA, 2009; RAMOS et al., 2009; FELIZARDO et al., 2006). O glicerol bruto é também chamado de glicerina porque a glicerina é constituída de, basicamente, 80% de glicerol (MOTA; SILVA; GONÇALVES, 2009).

O processo global da reação de transesterificação, como é mostrado na Figura 1, é uma seqüência de três reações reversíveis e consecutivas, em que os triglicerídeos são primeiramente reduzidos à diglicerídeos, depois estes

são reduzidos à monoglicerídeos, os quais são finalmente reduzidos aos ésteres de ácidos graxos (DEMIRBAS, 2008).

Figura 1 - Reação de transesterificação de triacilgliceróis (triglicerídeos), onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos



Nesta reação, são necessários três moles de álcool para cada mol de triglicerídeos (VARGAS; SCHCHARDT; SERCHELI, 1998). Na prática, é sempre utilizado álcool em excesso de modo a deslocar o equilíbrio da reação para o lado dos produtos, aumentando o rendimento em ésteres e ao mesmo tempo facilitando a separação do glicerol (glicerina livre) formado (FERRARI; OLIVEIRA; SCABIO, 2005).

No final da etapa de transesterificação, o glicerol e ésteres formam uma massa líquida de duas fases, que são facilmente separáveis por decantação ou centrifugação. A fase superior, a mais leve ou menos densa, contém os ésteres metílicos ou etílicos constituintes do biodiesel. A fase inferior ou pesada encontra-se composta de glicerol bruto e impurezas (RIVALDI et al., 2007).

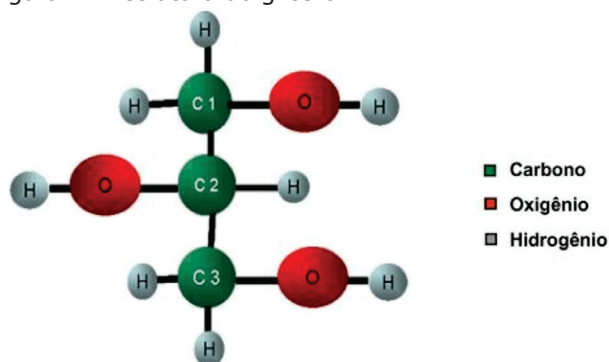
Altas concentrações de glicerol no biodiesel provocam problemas de armazenamento, pois quando o biodiesel é misturado com o diesel de petróleo, observa-se a separação do glicerol nos tanques de estocagem. Problemas como formação de depósitos, entupimento dos bicos injetores do motor e emissões de aldeídos também estão relacionados com a alta concentração da glicerina livre no biodiesel.

Assim a determinação de glicerol é um parâmetro muito importante para verificar a eficiência do processo de purificação do biodiesel (LÔBO; PERREIRA, 2009).

1.1 Glicerol

O glicerol (1,2,3 propanotriol ou glicerina livre) foi descoberto por Scheele em 1779 durante o processo de saponificação de azeite de oliva. É um poliálcool de fórmula estrutural apresentada na Figura 2, o qual está presente em diferentes espécies (ARRUDA; RODRIGUES; FELIPE, 2007).

Figura 2 - Estrutura do glicerol



Fonte: (ARRUDA; RODRIGUES; FELIPE, 2007)

O glicerol é uma substância com diversas aplicações na indústria química, de alimentos, terapêuticas e em diagnósticos, sendo ainda empregado para produção de resinas e poliésteres devido à sua reatividade polifuncional, e também como lubrificante na indústria têxtil. Entretanto, com o aumento da produção de biodiesel, a quantidade de glicerol no mercado é muito maior que a demanda, o que faz com que o preço desse produto diminua (CHUN et al., 2007). Devido a isso, é necessária a busca por alternativas para a conversão de glicerol em produtos de maior valor agregado, tornando cada vez mais viável o processo de produção de biodiesel. Ele pode ser encontrado, em grande quantidade, em óleos ou azeites, assim como em gorduras animais (ARRUDA RODRIGUES; FELIPE, 2007).

Para OOI et al. (2004), é de extrema importância evitar futuros problemas derivados da acumulação de glicerol, tornando a produção de biodiesel mais competitiva, assim, é necessária a busca de alternativas para o uso do glicerol bruto gerado nesta produção. Este subproduto, na forma pura, possui inúmeras aplicações industriais como, aditivos para a indústria de alimentos, indústrias química e farmacêutica.

1.2 Problemas gerados pela presença do glicerol no biodiesel

Quando o processo de purificação do biodiesel não é eficaz, a presença de glicerol livre pode causar uma série de problemas durante o armazenamento do biodiesel e, após a sua mistura com o diesel de petróleo, devido à separação do glicerol, pode levar o injetor ao entupimento ou à formação de maior emissões de aldeídos (LUETKMEYER; SANTOS, 2010). Sua queima a partir de 180 °C juntamente com o biodiesel pode acarretar a emissão de uma substância altamente tóxica para o ambiente, conhecida como acroleína (NEHER,

1995). Além disso, a presença da glicerina no biodiesel pode gerar baixo desempenho nos atuais motores (MITTELBAACH, 1996).

Embora a glicerina possa ser facilmente eliminada através de lavagens do biodiesel, torna-se praticamente insolúvel no biodiesel, podendo ser encontrada dispersa na forma de gotículas. A presença de sabões residuais pode interferir, aumentando a concentração de glicerina no biodiesel devido à formação de emulsões (SHARMA; SINGH; UPADHYAY, 2008).

Tanto no Brasil, quanto na Europa e nos Estados Unidos, o teor máximo permitido de glicerina livre no biodiesel é de 0,02% massa e a sua determinação é realizada através dos métodos cromatográficos EN ISO 14105 e EN ISO 14106, estabelecidos pela norma europeia, e o método ASTM D6584, pela norma americana. Esses métodos de análise também foram adotados pela norma brasileira, havendo ressalva quanto à necessidade de validação para biodieseis de matérias primas não previstas nos métodos e proveniente da rota etílica. Para biodieseis de misturas de matérias primas distintas, onde faça parte o óleo de mamona, a RANP 07/08 recomenda o método ABNT NBR 15341 (LÔBO; FERREIRA, 2009).

Na produção do biodiesel, os álcoois mais empregados na transesterificação de óleos e gorduras são metanol e etanol. O metanol é mais amplamente aplicado na produção de biodiesel em escala comercial e, por ser mais reativo, implica em menor temperatura e tempo de reação. O etanol, além de ter produção consolidada no Brasil, é consideravelmente menos tóxico, é renovável e produz biodiesel com maior número de cetano e lubrificidade. Uma grande desvantagem do etanol está no fato deste promover uma maior dispersão da glicerina no biodiesel, dificultando a sua separação. Para a obtenção de maiores rendimentos na reação de transesterificação costuma-se utilizar excesso de álcool e remoção da glicerina.

Além dos aspectos gerais sobre o glicerol abordados, o principal objetivo do presente trabalho é o de apresentar e discutir sobre métodos analíticos utilizados para controle de qualidade do biodiesel, no que diz respeito à quantificação da glicerina livre.

2 METODOLOGIA ANALÍTICA PARA AVALIAR A QUALIDADE DO BIODIESEL

A garantia da qualidade do biodiesel está diretamente ligada ao atendimento das es-

pecificações deste combustível, normatizado oficialmente pela ANP. O estabelecimento de padrões de qualidade objetiva a fixação de teores limites dos contaminantes que não venham a prejudicar a qualidade das emissões da queima, bem como o desempenho, a integridade do motor e a segurança no transporte e manuseio. Por outro lado, um outro aspecto relevante vem a ser a monitoração de possíveis degradações do produto durante o processo de estocagem.

O primeiro país a se preocupar e estabelecer padrões de qualidade para o biodiesel foi a Áustria, para biodiesel (ésteres metílicos) oriundos da colza. Depois, outros países, inclusive o Brasil, também estabeleceram suas especificações (SHARMA; SINGH; UPADHYAY, 2008).

Atualmente o padrão de qualidade americano, elaborado pela *American Society of Testing and Materials* (ASTM), através da norma ASTM D6751, e o estabelecido na União Europeia através da norma EN 14214 do Comitê Europeu de Normalização (CEN) - *Comité Européen de Normalisation* figuram como os mais conhecidos e são geralmente usados como referência ou base para outros padrões (KNOTHE, 2005).

No Brasil, desde janeiro de 2008, a Lei nº 11097/05 instituiu a obrigatoriedade da adição de 2% de biodiesel ao diesel (mistura B2), sendo que foi antecipada em três anos a mistura de 5% de biodiesel ao óleo diesel no Brasil. O chamado B5, que entraria em vigor apenas em 2013, passou a ser instituído em janeiro de 2010. Esta medida, além de fortalecer a indústria nacional e reduzir a participação do diesel mineral na matriz energética nacional, visa também escoar a produção nacional de biodiesel.

As especificações do B100, misturado com o diesel mineral, estabelecidas pela ANP (Resolução nº 07 de 2008 (RANP 07/08)), que substituiu a Resolução nº 42 de 2004, tornam os critérios de avaliação da qualidade do biodiesel brasileiro mais restritivos. Os padrões de qualidades presentes nesta resolução foram constituídos com base nas normas ASTM D6751 e EN 14214 (Tabela 1). A mistura óleo diesel/biodiesel tem sua especificação estabelecida, atualmente, pela Resolução ANP nº 42, de 16.12.2009, que substitui a Resolução ANP nº 15/2006. Através desta nova regulamentação da ANP (Resolução nº 42/2009), fica estabelecido o uso obrigatório da nomenclatura "óleo diesel B" em substituição à nomenclatura "mistura óleo diesel/biodiesel".

Entre os parâmetros instituídos nas normas, encontram-se os que são provenientes da normatização do diesel mineral e os que foram originados de análises de óleos vegetais, comumente utilizados na indústria óleo-química. Parâmetros como viscosidade cinemática, ponto de fulgor e cinzas sulfatadas, embora tenham origem na normatização do diesel mineral, fornecem resultados bastante esclarecedores quanto à qualidade do biodiesel, conforme será descrito a seguir.

A qualidade do biodiesel pode sofrer variações conforme as estruturas moleculares dos seus ésteres constituintes ou devido à presença de contaminantes oriundos da matéria prima, do processo de produção ou formados durante a estocagem do biodiesel. As estruturas moleculares dos ésteres podem variar tanto no tamanho da cadeia carbônica, quanto na quantidade e posição de insaturações ou mesmo devido à presença de agrupamentos na cadeia, a exemplo da hidroxila ligada à cadeia carbônica do alquiléster derivado do ácido ricinoléico proveniente da mamona. Contaminantes procedentes da matéria prima, a exemplo do fósforo, enxofre, cálcio e magnésio, podem também ser encontrados no biodiesel. Dependendo da eficiência do processo de produção do biodiesel, podem estar presentes em maior ou menor quantidade: glicerina livre, glicerídeos não reagidos, sabões, álcool residual.

A qualidade do Biodiesel está intimamente ligada ao conteúdo de glicerina, que pode indicar a qualidade do Biodiesel. As especificações constantes nas normas adotadas pelo Brasil servem de referência para identificar os padrões que o combustível (B100) precisa atender antes de ser usado como combustível ou ser misturado com o Petrodiesel. Portanto, o conhecimento, estabelecimento e aplicação de metodologias oficiais ou alternativas é um assunto de grande relevância para a qualidade do Biodiesel.

2.1 Metodologia analítica para glicerol

O biodiesel produzido em escala comercial, em todo o mundo, é obtido, geralmente, através da rota metílica e, em maior parte, originário da soja ou canola. Já no Brasil, uma grande variedade de matérias primas são utilizadas na produção do biodiesel, além do uso da rota etanólica que vem sendo avaliada para possível implementação. Estes fatos determinam a premente importância da validação dos

métodos analíticos ou o desenvolvimento de novos métodos de determinação de glicerina livre e total para biodieséis de diferentes matérias primas e rotas de transesterificação.

A quantidade de glicerina livre, termo que se refere aos traços de glicerina dissolvida no biodiesel é um importante parâmetro no controle de qualidade do biodiesel (LOUZEIRO et al., 2006).

A glicerina total também é um importante parâmetro de qualidade, a qual é o somatório da glicerina livre e da glicerina combinada, ou seja, a glicerina que faz parte da estrutura dos glicerídeos não transesterificados (LÔBO; FERREIRA, 2009).

Ambas as normas, europeia e americana, utilizam a Cromatografia gasosa de alta temperatura (HTGC) para determinação de glicerina livre e glicerídeos não reagidos em biodiesel. Muito pouca variação é observada entre os métodos empregados (LÔBO; FERREIRA, 2009). Esses métodos são recomendados pela norma brasileira para análise de biodiesel. Quanto à análise de glicerina total em biodieséis de misturas de matérias primas distintas, que contém o óleo de mamona, a RANP 07/08 recomenda o método ABNT NBR 15344.

O padrão de qualidade americano é normatizado pela ASTM (American Society of Testing and Materials), através da norma ASTM D6751, enquanto o padrão adotado pela União Europeia é feito através da norma EN 14214 do Comitê Europeu de Normatização (CEN). Ambos são utilizados como referência ou base para outros padrões de qualidade (KNOTHE, 2005).

No Brasil, o órgão oficial que a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), através da Resolução nº. 07 de 2008, que substitui a Resolução nº 42 de 2004, apresenta as especificações do biodiesel B100 (biodiesel puro) e torna mais restritivos os critérios de avaliação da qualidade do biodiesel brasileiro. As normas ASTM D6751 e EN 14214 serviram de base para especificar os padrões de qualidade presentes na nova Resolução (KNOTHE, 2005). A Tabela 1 apresenta as especificações do biodiesel de acordo com esta Resolução. O Anexo I apresenta a tabela de parâmetros do biodiesel, segundo a ANP, com os respectivos métodos analíticos utilizados nas análises do biodiesel.

Tabela 1 - Padrões de qualidade do biodiesel

| CARACTERÍSTICA | UNIDADE | Brasil ANP 07/2008 | UE EN 14214 | EUA ASTM D6751 |
|---|-------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| Aspecto | --- | Límpido e isento de impurezas | --- | --- |
| Massa específica * | kg/m ³ | 850-900 a 20 °C | 860-900 a 15 °C | --- |
| Viscosidade cinemática a 40 °C * | mm ² /s | 3,0-6,0 | 3,5-5,0 | 1,9-6,0 |
| Água e sedimentos, máx. * | % volume | --- | --- | 0,05 |
| Ponto de fulgor, mín. * | °C | 100 | 120 | 130 |
| Destilação; 90% vol. recuperados, máx. * | % massa | Em 100% da amostra 0,050 | 10% residual da destilação 0,3 | Em 100% da amostra 0,05 |
| Cinzas sulfatadas, máx. * | % massa | 0,020 | 0,02 | --- |
| Enxofre total, máx. * | mg/kg | 50 | 10 | 15 |
| Corrosividade ao cobre, 3 h a 50 °C, máx. * | --- | 1 | 1 | 1 |
| Número de cetanos * | --- | Anotar | 51 (mín.) | 47 (mín.) |
| Ponto de entupimento de filtro a frio, máx. * | °C | 19 | Por região | --- |
| Ponto de fluidez (pour point - PP) * | °C | --- | Por região | --- |
| Ponto de nuvem (cloud point - CP) * | °C | --- | --- | Registrar |
| Sódio + Potássio, máx | mg/kg | 5 | 5 | --- |
| Cálcio + Magnésio, máx | mg/kg | 5 | 5 | --- |
| Fósforo, máx | mg/kg | 10 | 10 | 10 |
| Contaminação total, máx | mg/kg | 24 | 24 | --- |
| Teor de éster , min. | % massa | 96,5 | 96,5 | --- |
| Índice de acidez, máx. | mg KOH/g | 0,50 | 0,5 | 0,5 |
| Glicerina livre, máx. | % massa | 0,02 | 0,02 | 0,02 |
| Glicerina total, máx. | % massa | 0,25 | 0,25 | 0,24 |
| Monoglicerídeos | % massa | Anotar | 0,8 (máx) | --- |
| Diglicerídeos | % massa | Anotar | 0,2 (máx) | --- |
| Metanol ou Etanol, máx. | % massa | 0,20 | 0,20 | --- |
| Índice de iodo | g I ₂ /100 g | Anotar | 120 (máx) | --- |
| Estabilidade à oxidação a 110 °C, mín | h | 6 | 6 | --- |
| Água, máx | mg/kg | 500 | 500 | 500 |
| Ácido linoléico | % massa | --- | 12 max | --- |
| Metil ésteres com mais que 4 insaturações | %mass | --- | 1 max | --- |

*Parâmetros típicos da normatização do diesel mineral

Fonte: (LÔBO; FERREIRA, 2009)

A literatura mostra vários métodos analíticos para a determinação de glicerina livre e total, entretanto, os métodos cromatográficos são os mais aplicados, sendo a cromatografia a gás em altas temperaturas - *High temperature gas chromatography* (HTGC) a mais amplamente utilizada para análise de glicerina livre e total em biodiesel.

Tanto na Europa como nos EUA, os métodos analíticos foram desenvolvidos para análise de glicerina livre e total, tendo como base biodieséis metílicos de soja (ASTM D6584), canola e girassol (EN ISO 14105), respectivamente.

2.2 Métodos cromatográficos

São métodos físico-químicos de separação, que se fundamentam na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases

imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária. A variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias torna a Cromatografia uma técnica extremamente versátil e de ampla aplicação (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

A Tabela 2 mostra vários métodos cromatográficos que foram propostos para análise de biodiesel no período de 1984 a 2006.

Tabela 2 - Métodos cromatográficos para análise de biodiesel

| Técnica | Parâmetro analisado no Biodiesel | Observação | Ref. |
|---|---|---|-------------------------|
| TLC/FID | metil ésteres, mono-, di- e triglicéridos. | Baixa precisão, sensibilidade à umidade e custo alto do equipamento. | FREEDMAN et al., 1984 |
| HTGC/FID | ésteres, mono-, di- e triglicéridos | Análise na mesma corrida, para estudo da reação de transesterificação de óleos soja. Separação do éster e dos mono-, di- e triglicéridos, em 12 min. | FREEDMAN et al., 1986 |
| HPLC | Determinados ésteres metílicos, mono-, di- e triglicéridos. | Avaliação da taxa de conversão numa reação de transesterificação metílica. | TRATHNIGG et al., 1990 |
| GC/MS GC/FID | glicerina livre | Avaliação dos sistemas de detecção FID e MS para análise de glicerina livre. Elevados percentuais de recuperação do analito e limites de detecção da ordem de 10-5% para MS e 10-4% para FID. Detecção MS evita a sobreposição de picos, permitindo o uso de colunas mais curtas. | MITTELBACH, 1996 |
| HTGC/FID | glicerina livre, mono-, di- e triglicéridos, na mesma corrida cromatográfica. | Observada a maior eficiência do MSTFA como derivatizante quando comparado ao BSTFA. Calibração externa com soluções padrões de glicerina, mono-, di- e trioleína. Base do método ASTM D6584. | PLANK e LORBEER, 1995. |
| HPLC/ API-MS HPLC/UV HPLC/ ELSD | ésteres metílicos, mono-, di- e triglicéridos. | Comparação entre 3 diferentes sistemas de detecção: API-MS, UV em 205 nm, ELSD. UV não quantificou os compostos saturados. API-MS e ELSD apresentaram decréscimo na sensibilidade com incremento das ligações duplas nos alquilésteres. Detecção por API-MS mostrou-se mais adequada para análise de óleo de colza e biodiesel. | HOLCAPEK et al., 1999 |
| HTGC HPLC | Produtos de oxidação do biodiesel | Comparação entre as técnicas. Não encontraram diferença estatisticamente significativa entre os resultados obtidos. Produtos de oxidação do biodiesel são detectados por HPLC, mais não por HTGC. | FLOGIA et al., 2004 |
| SEC | mono-, di- e triglicéridos, ésteres metílicos, ácidos graxos, glicerina livre e metanol | Numa mesma corrida cromatográfica (36 min) foram quantificados, os teores de mono-, di- e triglicéridos, além de dos ésteres metílicos, ácidos graxos, glicerina livre e metanol em biodiesel de girassol. | ARZAMENDI, et al., 2006 |
| HTGC | álcool, glicerina livre, ésteres, mono-, di- e triglicéridos | uso de injeção <i>split</i> pulsado para análise dos parâmetros utilizando uma única condição cromatográfica. | REZENDE et al., 2006 |
| HTGC | ésteres, mono-, di- e triglicéridos | monitoramento dos parâmetros durante a transesterificação da gordura de frango | REZENDE et al., 2007 |

Fonte: (LÔBO; FERREIRA, 2009) adaptado

Entre os principais estudos realizados no período, foram feitas comparações entre técnicas cromatográficas, uso de derivatizantes e entre sistemas de detecção.

Entre as principais técnicas usadas neste período, estão a cromatografia a gás em altas

temperaturas (HTGC/FID - *High temperature gas chromatography with flame-ionization detection*), cromatografia em camada delgada com detecção por ionização de chama (TLC/FID - *Thin-layer chromatography with Flame-Ionization Detection*), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*) e a cromatografia por exclusão molecular (SEC - *Size-Exclusion Chromatography*). Diferentes formas de detecção tem sido avaliadas, tais como: espectrometria de massa por ionização química à pressão atmosférica (HPLC/API-MS - *High Performance Liquid Chromatography with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry detection*); por ultravioleta (*High Performance Liquid Chromatography with ultraviolet detection*); por espalhamento de luz por evaporação (HPLC/ELSD - *High Performance Liquid Chromatography with evaporative light scattering detection*).

Dos métodos cromatográficos acima apresentados, para a análise de biodiesel, o primeiro utilizou a cromatografia em camada delgada com detecção por ionização de chama (TLC/FID), assim foram determinados metil ésteres, mono-, di- e triglicéridos presentes em amostras de biodiesel. Entretanto essa metodologia proposta apresenta algumas desvantagens como: uma baixa precisão, sensibilidade à umidade e custo alto do equipamento (FREEDMAN; PRYDE; KWOLEK, 1984).

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi amplamente empregada na análise do biodiesel, com diferentes formas de detecção: por espectrometria de massa por ionização química à pressão atmosférica (HPLC/API); por ultravioleta (HPLC/UV) por espalhamento de luz por evaporação (HPLC/ELSD).

Ruppel e Hall, em 2007, demonstraram a aplicação da metodologia ASTM D-6584 em combustível Biodiesel de óleo de soja. Segundo os autores, o método demonstrou excelente linearidade. A Glicerina livre foi calculada pela área do pico da glicerina, os mono-, di- e triglicéridos também foram analisados. Entretanto, o método ainda pode necessitar de otimizações para ser aplicado a outras fontes de biodiesel, que podem produzir outros componentes no produto final.

Os trabalhos citados adiante incluirão a avaliação da metodologia por HPLC e comparação desta com a Cromatografia a Gás (CG) quanto a suas compatibilidades e aplicações.

Em 2004, uma comparação entre a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e

a cromatografia a gás em altas temperaturas (HTGC) na análise de glicerídeos em biodiesel foi realizada por Flogia et al. Nesse estudo, os autores não encontraram diferenças estatisticamente significativas entre os resultados obtidos. Exceções foram encontradas quando estavam presentes produtos de oxidação do biodiesel detectados por HPLC, mas não por HTGC, pois são eluídos juntamente com os diglicerídeos. Porém, algumas desvantagens foram apontadas pelos autores quanto ao emprego da cromatografia a gás (GC) para análise de glicerídeos em biodiesel, tais como a necessidade de derivatização (tornando a GC mais limitada no monitoramento do processo de transesterificação), uso de padrões internos de glicerídeos, não especificação de alquilésteres e de glicerídeos residuais, uso de diferentes padrões em função da matéria prima empregada na produção de biodiesel, limitação na determinação dos alquilésteres.

2.3 Métodos espectroscópicos

Devido o alto custo das técnicas cromatográficas, outros métodos analíticos também foram propostos para análise de glicerina livre, presente no biodiesel.

Em 1996, Lozano et al. (1996), fizeram uso do ácido cromotrópico para quantificação da glicerina livre em bio-diesel. O limite de detecção alcançado foi de $1 \mu\text{g g}^{-1}$, utilizando-se quantificação via HPLC, com detecção amperométrica pulsada.

Bondioli e Bella (2005) propuseram um método espectrofotométrico para quantificação da glicerina livre em biodiesel. O princípio do método é a reação do formaldeído, originado da oxidação da glicerina com o ácido periódico, com a acetilacetona segundo a reação de Hantzsch. O composto formado é 3,5-diacetil-1,4-di-hidrolutidina, que absorve a 410 nm. Conforme os testes aplicados, os autores constataram a aplicabilidade do método tanto para a quantificação de glicerina livre como também na mistura diesel/biodiesel. Porém, para Mittelbach (1996), este método não possui sensibilidade suficiente para quantificação da glicerina livre em biodiesel.

Plank e Lobeer (1995) determinaram simultaneamente a glicerina livre e a glicerina total, que é o somatório do teor de glicerina livre com o teor dos triacilglicerídeos não transesterificados por cromatografia gasosa com padronização interna usando 1,2,4-butanotriol e tricaprina, silanização com N-metil-N-trime-

tilsililtrifluoroacetamida, seguida de injeção direta num injetor on-column.

Louzeiro e colaboradores, propuseram avaliar estatisticamente o método desenvolvido por Bondioli et al. que utiliza a técnica de espectrofotometria na região do UV-Visível para a determinação do teor de glicerina livre no biodiesel. A precisão do método envolveu as etapas de extração e análises e foi dada pelo desvio padrão (s) e coeficiente de variação (CV) e os valores obtidos foram de 0,046 e 9,434%, respectivamente. Segundo os autores, o método avaliado pode detectar e quantificar quantidades de glicerina livre no biodiesel, em níveis bem abaixo do estabelecido pela ANP. Porém, para os autores, a precisão do método ficou um pouco comprometida com as variações de temperatura do laboratório e do banho termostático. A curva de regressão foi considerada estatisticamente significativa, portanto o método pode ser aplicado na determinação de glicerina livre no controle de qualidade do biodiesel. O método é sensível o suficiente para determinar o teor de glicerina livre em níveis bem abaixo do limite máximo exigido pela ANP. Praticamente todas as amostras de biodiesel analisadas tinham um teor de glicerina livre abaixo do limite de detecção do método. Somente as amostras de biodiesel de babaçu etílico e mamona metílico apresentaram quantidades de glicerina dentro da série de concentrações da curva analítica, mesmo assim as concentrações ficaram abaixo do limite estabelecido pela ANP.

Os métodos espectrofotométricos de quantificação da glicerina livre ou total em biodiesel, baseados na oxidação da glicerina e quantificação indireta através do formaldeído gerado, foram propostos como alternativa aos métodos cromatográficos, por serem muito mais rápidos na etapa de quantificação e apresentarem custos mais baixos que os métodos cromatográficos. No entanto, os métodos espectrofotométricos apresentados são muito mais laboriosos na etapa de preparação da amostra (LÔBO; FERREIRA, 2009).

Visando a caracterização de ácidos graxos, intermediários da reação de transesterificação, entre outros constituintes do biodiesel, Catharino e colaboradores desenvolveram um método empregando a espectrometria de massa por ionização através de eletronebulização (*Eletrospray Ionisation Mass Spectrometry* - ESI-MS). O método possibilita a identificação do glicerol, glicerídeos (mono, di e tri), além do álcool utilizado no processo de produção do

biodiesel, entre outros componentes. Nesse trabalho é possível a identificação da origem e da presença de espécies contaminantes, como o glicerol, em amostras de biodiesel.

2.4 Métodos eletroanalíticos

Além dos métodos já citados, mais recentemente estão sendo desenvolvidos trabalhos que utilizam métodos eletroanalíticos para a análise qualitativa e quantitativa do glicerol em amostras de biodiesel, por estes apresentarem rapidez e baixo custo quando comparados a outras técnicas.

Lourenço e Stradiotto (2009) desenvolveram um método eletroanalítico para quantificar o glicerol livre em amostras de biodiesel tipo B100 utilizando a técnica de varredura sucessiva de potencial. Após o processo de extração do glicerol, a quantificação foi feita através da oxidação do glicerol usando eletrodos de platina versus Ag/AgCl(sat) em ácido perclórico diluído. Segundo o autor, o tempo de análise desse método quando comparado com os cromatográficos é relativamente mais curto.

Outro trabalho desenvolvido por Luetk-meyer e colaboradores baseia-se em uma metodologia eletroenzimática onde duas atividades enzimáticas estão acopladas (glycerokinase e glicerol-3-fosfato oxidase) e foram desenvolvidos usando um eletrodo de oxigênio tipo Clark para a determinação de glicerol livre e total em amostras de biodiesel. Assim, com a conversão enzimática de glicerol ocorre o consumo de oxigênio, que é medido amperometricamente em um eletrodo tipo Clark. Esses dados são correlacionados com a concentração de glicerol na amostra.

Em relação aos métodos eletroanalíticos utilizados nas análises de glicerina livre presentes no biodiesel, encontram-se pouquíssimos trabalhos na literatura que abordam esse tema, mostrando a necessidade de novas pesquisas nessa área.

2.5 Alguns estudos relevantes e recentes

Um estudo recente (MARUTA; PAIXÃO, 2011) mostrou um método analítico simples para a quantificação do glicerol com base na oxidação eletrocatalítica de glicerol sobre a superfície de cobre adaptada em um sistema de injeção em fluxo. Sob ótimas condições experimentais, a resposta pico de corrente aumenta linearmente com a concentração de glicerol sobre a faixa a 60 -3200 mg kg⁻¹ (equivalente a 3-160 mg L⁻¹ em solução). O

método mostrou eficiência e bom desempenho analítico, com boa precisão (DPR= 5%; n = 10), limite de detecção de 5 mg kg⁻¹ (S / N = 3) e boa exatidão (recuperação na faixa de 93-120%). O único pré-tratamento das amostras foi a extração de glicerol que compreendeu uma razão de 5mL de água para 250 mg de biodiesel.

Gomes, Arroyo e Pereira (2011) removeram glicerina livre do biodiesel usando um processo de separação de membrana. Água acidificada teve um grande efeito na remoção de glicerol da fase de biodiesel. Este novo processo não requer decantação prévia para separar a glicerina. A partir deste procedimento a glicerina livre pode ser quantificada, facilmente, por diversos métodos, além de purificar o biodiesel.

Pinzi et al. (2011) desenvolveram um procedimento baseado em NIRS (near infrared spectroscopy) para prever o rendimento de glicérides e ésteres em biodiesel. O procedimento analítico mostrou-se eficiente para determinar a qualidade do biodiesel, inclusive a determinação de glicerol. A técnica utilizada mostrou ser uma valiosa ferramenta para prever o rendimento de conversão em biodiesel. Por outro lado, o agrupamento de amostras permitiu o uso da análise de componentes principais.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O controle de qualidade do biodiesel está estreitamente relacionado com o monitoramento de glicerina livre, tanto durante o processo de obtenção do biodiesel, como no produto final, sendo os métodos cromatográficos adotados por todas as normas, nacionais e internacionais.

A necessidade de se desenvolver novos métodos alternativos para a análise de glicerol presente no biodiesel é de fundamental importância, pois verifica-se a necessidade de métodos mais versáteis, rápidos e de baixo custo. Apesar de algumas desvantagens, os métodos que não utilizam cromatografia indicam ser uma alternativa promissora, pois são métodos bastante sensíveis, rápidos, precisos e exatos.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCMBUSTÍVEIS. Resolução nº 7, de 19 de março de 2008. Regulamento Técnico nº 01/ 2008. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 20 mar. 2008.

- AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Resolução nº 6, de 16 de setembro de 2009. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 26 out. 2009. Disponível em: <[http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/folder_resolucoes/resolucoes_cnpe/2009/rcnpe%206%20-%202009.xml?f=templates\\$fn=document-frame.htm\\$3.0\\$q=\\$x=\\$nc=4231](http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/folder_resolucoes/resolucoes_cnpe/2009/rcnpe%206%20-%202009.xml?f=templates$fn=document-frame.htm$3.0$q=$x=$nc=4231)>. Acesso em: 15 nov. 2011.
- ARRUDA, P. V.; RODRIGUES, R. C. L. B.; FELIPE, M. G. A. Glicerol: um subproduto com grande capacidade industrial e metabólica. *Revista Analytica*, n. 26, p. 56-62, 2007.
- ARZAMENDI, G. et al. Monitoring of biodiesel production: simultaneous analysis of the transesterification products using size-exclusion chromatography. *Chem. Eng. J. (Amsterdam, Neth.)*, Amsterdam, v. 122, n. 1/2, p. 31-40, Sept. 2006.
- BONDIOLI, P.; BELLA, L. D. An alternative spectrophotometric method for the determination of free glycerol in biodiesel. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, Weinheim, v. 107, n. 3, p. 153-157, 2005.
- CATHARINO, R. R. et al. Biodiesel typification and quality control by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting. *Energy Fuels*, Washington, v. 21, n. 6, p. 3698-3701, 2007.
- CHUN, H. Z. et al. Chemoselective catalytic conversion of glycerol as a biorenewable source to valuable commodity chemicals. *Chemical Society Reviews*, Australia, v. 37, n. 1, p. 527-549, nov. 2007.
- DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P.C. Cromatografia: um breve ensaio. *Química Nova na Escola*, n. 7, p. 21-25, 1998.
- DEMIRBAS, Ayhan. *Biodiesel: a realistic fuel alternative for diesel engines*. London: Springer-Verlag, 2008.
- FOGLIA, T. A. et al. Comparison of chromatographic methods for the determination of bound glycerol in biodiesel. *Chromatographia*, v. 60, p. 305-311, 2004
- FELIZARDO, P. et al. Production of biodiesel from waste frying oils. *Waste Management*, v. 26, p. 487-494, 2006.
- FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. *Química Nova*, v. 28, n.1, p. 19-23, 2005.
- FREEDMAN, B.; PRYDE, E. H.; MOUNTS, T. L. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Berlin, v. 61, n. 10, p. 1638-1643, Oct. 1984.
- FREEDMAN, B.; PRYDE, E. H.; KWOLEK, W. F. Thin layer chromatography/flame ionization analysis of transesterified vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Berlin, v. 61, n. 7, p. 1215-1220, July 1984.
- GOMES, M. C. S.; ARROYO, P. A.; PEREIRA, N. C. Biodiesel production from degummed soybean oil and glycerol removal using ceramic membrane. *Journal of Membrane Science*, v. 378, p. 453-461, 2011.
- HOLCAPEK, M. et al. Analytical monitoring of the production of biodiesel by high-performance liquid chromatography with various detection methods. *J. Chromatogr.*, Amsterdam, v. 858, n. 1, p. 13-31, Oct. 1999.
- KNOTHE G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Processing Technology*, v. 86, p. 1059-1070, 2005.
- LAMERS, P.; McCORMICK, K.; HILBERT, J. A. The emerging liquid biofuel market in Argentina: Implications for domestic demand and international trade. *Energy Policy*, v. 36, p. 1479-1490, 2008.
- LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Química Nova*, v.32, n.6, p. 1596-1608, 2009.
- LOURENÇO, L. M.; STRADIOTTO, N. R. Determination of free glycerol in biodiesel at a platinum oxide surface using potential cycling technique. *Talanta*, n. 79, p. 92-96, 2009.
- LOUZEIRO H. C. et al. Determinação do teor de glicerina livre em biodiesel por espectrofotometria do UV-Visível. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESL, 1., 2006, Brasília, DF. *Artigos Técnicos-científicos...* Brasília, DF: [s.n.], 2006. v.1. p. 286-290.
- LOZANO, P. et al. Measurement of free glycerol in biofuels. *Fresenius J. Anal. Chem.*, Berlin, v. 354, n. 3, p. 319-322, Jan. 1996.
- LUETKMEYER, T. et al. Analysis of free and total glycerol in biodiesel using an electrochemical assay based on a Two-Enzyme Oxygen-Electrode System. *Electroanalysis*, v.22, n. 9, p.995-999, 2010.
- MARUTA, A. H.; PAIXÃO, T. R. L. C. Flow injection analysis of free glycerol in

- biodiesel using a copper electrode as an amperometric detector. *Fuel*, July 2011. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/fuel>. Acesso em: 26 jul. 2011.
- MELLO, F. O. T.; PAULILLOS, L. F.; VIAN, C. E. de F. O biodiesel no Brasil: panorama, perspectivas e desafios. *Informações Econômicas*, v.37 n. 1, 2007.
- MITTELBAACH, M. Diesel fuel derived from vegetable oils, VI: specifications and quality control of biodiesel. *Bioresour. Technol.*, New York, v. 56, n. 1, p. 7-11, Apr. 1996.
- MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. X. ; GONÇALVES, V. L. C.. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 639-648, mar. 2009.
- NEHER, A. et al. *Process for the production of acrolein*. USPTO Patent Full. Patent nº 5,387,720, 1995.
- OOI, T. L. et al. Glycerol residue: a rich source of glycerol and medium chain fatty acids. *Journal of Oleo Science*, v. 53, n. 1, p.29-33, 2004.
- PINTO, A. C. et al. Biodiesel: an overview. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 16, p. 1313-1330, 2005.
- PINZI, S. et al. P. Near infrared reflectance spectroscopy and multivariate analysis to monitor reaction products during biodiesel production. *Fuel*, Corrected Proof, Available online 21, 2011.
- PLANK, C.; LORBEER, E. Quality control of vegetable oil methyl esters used as diesel fuel substitutes: quantitative determination of mono-, di-, and triglycerides by capillary GC. *J. High Resolut. Chromatogr.*, Weinheim, v. 15, n. 9, p. 609-612, 1995.
- RAMOS, M. J. et al. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 261-268, 2009.
- REZENDE, D. R.; ALVES, M. I. R.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Controle de qualidade dos conteúdos de álcool (metanol ou etanol), glicerol, ésteres de ácidos graxos (metílicos ou etílicos), mono-, di-, e triacilglicerídeos em biodiesel por HT-CGC. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 1., 2006, Brasília, DF. *Artigos Técnico-científicos...*, Brasília, DF, 2006.
- REZENDE, D. R.; FLEURY FILHO, N.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Acompanhamento cromatográfico da produção de biodiesel pela conversão de triacilglicerídeos em diacilglicerídeos, monoacilglicerídeos e ésteres de ácidos graxos. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 2., 2007, Brasília, DF. *Livro de resumos...* Brasília, DF, 2007.
- RIVALDI, JD et al. Glicerol de biodiesel: estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção do biodiesel. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, n. 37, p. 44-51, 2007.
- RUPPEL, T; HALL, G. Glicerina livre e total em biodiesel B100 por cromatografia a gás. *Revista Analytica*, n. 30, ago./set. 2007.
- SHARMA, Y. C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S. N. Advancements in development and characterization of biodiesel. *A review. Fuel*, v. 87, p. 2355-2373, 2008.
- TRATHNIGG, B.; MITTELBAACH, M. Analysis of triglyceride methanolysis mixtures using isocratic HPLC with density detection. *J. Liq. Chrom.*, Philadelphia, v. 13, n. 1, p. 95-105, Jan. 1990.
- VARGAS, R. M.; SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R. Transesterification of vegetable oils: a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 9, p. 199-210, 1998.