

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

HILTON COSTA LOUZEIRO

**DETERMINAÇÃO DE GLICERINA LIVRE EM BIODIESEL UTILIZANDO
MÉTODOS DE ANÁLISES ESPECTROFOTOMÉTRICO E
CROMATOGRÁFICO/CG-DIC**

São Luís - MA
2007

HILTON COSTA LOUZEIRO

**DETERMINAÇÃO DE GLICERINA LIVRE EM BIODIESEL UTILIZANDO
MÉTODOS DE ANÁLISES ESPECTROFOTOMÉTRICO E
CROMATOGRÁFICO/CG-DIC**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Química da Universidade Federal do Maranhão como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Carvalho Silva

São Luís - MA
2007

Louzeiro, Hilton Costa

Determinação de glicerina livre em biodiesel utilizando métodos de análises espectrofotométrico e cromatográfico / CG-DIC / Hilton Costa Louzeiro. – São Luís, 2006.

54 f: il

Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal do Maranhão, 2007.

1. Biodiesel – Glicerina – Determinação. 2. Espectrofotometria 4. Cromatografia. I. Título.

CDU 665.75:547.426.1

HILTON COSTA LOUZEIRO

**DETERMINAÇÃO DE GLICERINA LIVRE EM BIODIESEL UTILIZANDO
MÉTODOS DE ANÁLISES ESPECTROFOTOMÉTRICO E
CROMATOGRÁFICO/CG-DIC.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Química da Universidade Federal do Maranhão como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química Analítica.

Aprovado em: / /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fernando Carvalho Silva (Orientador)
Departamento de Química
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza
Departamento de Química
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr^a. Sônia Maria Carvalho Neiva Tanaka
Departamento de Tecnologia Química
Universidade Federal do Maranhão

A Deus fonte de toda a Ciência e Sabedoria.

Aos meus Pais, pelo constante incentivo.

Aos meus Irmãos, pelo companheirismo.

AGRADECIMENTOS

A Deus nosso Senhor, pela sua constante presença em todos os momentos de minha vida.

A minha família, pelo apoio em todas as minhas decisões.

Ao Prof. Dr. Fernando Carvalho Silva, pela orientação.

Aos amigos Angela, Alexandre e Caio, pela grande ajuda na conclusão deste trabalho.

Aos amigos e colegas Adilton, Kiany, Karlene, Maurício, Marcelle, Jaciene, Ronald, Euzenira, Tâmara, Ulisses, Poliana, pelos momentos de convivência.

Aos amigos da Central Analítica Janyeid, Luciana, Vivia, Marcelo e Jemmla, cujo apoio foi decisivo na realização deste trabalho.

Aos amigos e colegas do NARP, principalmente Marconiel, que também me ajudaram bastante.

A todos que direta ou indiretamente, também, contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

“Neste mundo vocês terão muitas aflições, mas tenham confiança! Eu venci o mundo”.

Jo 16, 33

“O meu Deus atenderá todas as suas necessidades, conforme as suas riquezas em Jesus Cristo, nosso Senhor”.

Fl 4, 19

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método para a análise do teor de glicerina livre em biodiesel por cromatografia a gás e validar um método por espectrofotometria na região do UV - Visível citado na literatura. O biodiesel é o produto resultante da reação entre óleos vegetais ou gordura animal (triglicerídeos) e álcoois (metanol ou etanol), produzindo ésteres de ácido graxo (biodiesel) e glicerina como subproduto. Mesmo depois do processo de purificação, existem traços de glicerina livre presentes no biodiesel. A Resolução ANP nº. 42 / 2004 propõe um limite máximo permitido de 0,02 % (200 mg/L) para o teor glicerina livre por massa de biodiesel (B100). A análise estatística dos dados mostrou para o método espectrofotométrico, uma faixa linear de 100 a 500 mg/L com coeficiente de correlação e coeficiente de determinação de 0,9931 e 0,9863, respectivamente; índice de recuperação médio de 110,68 % para um padrão de 100 mg/L e de 110,77 % para um padrão de 200 mg/L; uma precisão com coeficiente de variação de 7,94 % para um padrão de 200 mg/L e sensibilidade com limites de detecção e de quantificação do método de 5,69 mg/L e 18,11 mg/L, respectivamente. Para o método cromatográfico a faixa linear foi de 50 a 250 mg/L, com coeficiente de correlação e coeficiente de determinação de 0,9964 e 0,9928; índice de recuperação médio de 100,49 e 89,12 % para padrões de 150 e 250 mg/L, respectivamente; precisão com coeficiente de variação de 3,77 % para um padrão de 150 mg/L e sensibilidade com limites de detecção e de quantificação do método de 2,17 e 6,89 mg/L, respectivamente. Os dois métodos analíticos mostraram-se estatisticamente significativos e sensíveis para determinar concentrações de glicerina livre abaixo do limite estabelecido pela ANP. Entretanto, o método cromatográfico apresentou melhores resultados de ajuste ao modelo linear, de acordo com os parâmetros avaliados na análise de variância.

Palavras – chave: Biodiesel, Glicerina, Espectrofotometria, Cromatografia.

ABSTRACT

This work aim is to analyze the free glycerol content in biodiesel by means of gas chromatography and to establish a spectrophotometer method in the UV – Visible region to attain it, as found in the literature. Biodiesel is the result product from the reaction between vegetable oils or animal fat (triglycerides) and alcohols (methanol or ethanol), producing esters fatty acids (biodiesel) and the glycerol as by-product. Even before the purification process, there are traces of free glycerol in the biodiesel. The ANP n° 42 / 2004 Resolution, establishes a maximum allowed limit of 0,02 % (200 mg/L) for free glycerol content per biodiesel mass (B100). The statistical analysis of data showed for the spectrophotometer method, a linear range of 100 to 500 mg/L, with correlation and determination coefficients of 0,9931 and 0,9863; respectively; a mean recovery index of 110,68 % for standard of 100 mg/L and 110,77 % for a standard of 200 mg/L, respectively; accuracy with variation coefficient of 7,94 % for a 200 mg/L standard and sensitivity with detection and quantification limits for the method corresponding to 5,69 mg/L and 18,11 mg/L, respectively. For the chromatographic method the linear range was 50 to 250 mg/L, with correlation and determination coefficients of 0,9964 and 0,9928, respectively; mean recovery index of 100,49 and 89,12 % for standard of 150 and 250 mg/L, respectively; accuracy with variation coefficient of 3,77 % for a 150 mg/L standard and sensitivity with detection and quantification limits for the method of 2,17 and 6,89 mg/L, respectively. Both analytical methods showed to be statistically sensitive and significant for the determination of free glycerin below the limits established by the ANP. However, the chromatographic method presented better adjustment results for the linear model, in agreement with the appraised parameters in the variance analysis.

Key words: Biodiesel, Glycerol, Spectrophotometer, Chromatography.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Produção Mundial de Biodiesel entre 2000 a 2005.	5
Figura 2 – Usinas de Produção de Biodiesel no Brasil autorizadas pela ANP.....	6
Figura 3 - Principais aplicações da glicerina	10
Figura 4 - Impacto da produção de biodiesel no mercado da glicerina	11
Figura 5 - Formação de formaldeído (oxidação da glicerina com metaperiodato).	20
Figura 6 - Formação de 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidina (Reação de Hantzsch).	20
Figura 7 – Espectro na região do UV/Visível do padrão de 500 mg/L de glicerina livre em biodiesel.....	21
Figura 8 - Curva analítica de Glicerina Livre em Biodiesel por espectrofotometria na região do UV-VIS.....	24
Figura 9 - Concentrações da Curva Analítica por espectrofotometria na região do UV-VIS versus Distribuição Aleatória dos resíduos.	28
Figura 10 - Formação do Tris-o-trimetilsilil-1,2,3-propanotriol (silanização da glicerina com BSTFA).	31
Figura 11 - Formação do Bis-o-trimetilsilil-1,2-etanodiol (silanização do etilenoglicol com BSTFA).	31
Figura 12 – Perfil do pico da glicerina livre sem derivatização com BSTFA.....	32
Figura 13 – Perfil do pico da glicerina após derivatização com BSTFA.	33
Figura 14 - Cromatograma da glicerina livre e do padrão interno etilenoglicol em biodiesel de babaçú após silanização com BSTFA.	34
Figura 15 – Curva Analítica das Concentrações de Glicerina Livre no Biodiesel versus Razão (Área do pico da glicerina / Área do pico do padrão interno) por CG/DIC.	38
Figura 16 - Concentrações da Curva Analítica por CG/DIC versus Distribuição Aleatória dos resíduos.....	40

Figura 17 – Espectro na região do Infravermelho do óleo de babaçu.	43
Figura 18 – Espectro na região do Infravermelho da amostra de biodiesel de babaçu metílico.	44
Figura 19 – Espectro na região do infravermelho do óleo de mamona.....	46
Figura 20 – Espectro na região do infravermelho da amostra de biodiesel de mamona metílico.	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Precisão do método espectrofotométrico usando um padrão de 200 mg/L de glicerina livre em biodiesel.....	22
Tabela 2 - Recuperação das Soluções de Glicerina 100 e 200 (mg/L) em Biodiesel por espectrofotometria na região do UV-VIS.....	23
Tabela 3 - Dados da Curva Analítica de Glicerina Livre em Biodiesel por espectrofotometria na região do UV-VIS.....	25
Tabela 4 - Análise de variância da Curva Analítica de Glicerina em Biodiesel por espectrofotometria na região do UV-VIS.....	26
Tabela 5 - Análise de Glicerina Livre em várias espécies de Biodiesel por espectrofotometria na região do UV - Visível.....	30
Tabela 6 – Tempos de retenção dos compostos presentes no biodiesel de babaçu metílico, fortificado com o padrão interno e silanizado.	35
Tabela 7 – Precisão do método cromatográfico usando um padrão de 150 mg/L de glicerina livre em biodiesel.	36
Tabela 8 - Recuperação das Soluções de Glicerina 150 e 250 (mg/L) em Biodiesel por CG/DIC.....	37
Tabela 9 - Dados da Curva Analítica de Glicerina Livre em Biodiesel por CG/DIC.	39
Tabela 10 - Análise de variância da Curva Analítica de Glicerina em Biodiesel por CG/DIC.	40
Tabela 11 - Análise de glicerina livre em várias espécies de biodiesel por CG-DIC.....	41
Tabela 12 – Valores das frequências de vibração na região do IV da amostra de óleo de babaçu.....	43
Tabela 13 – Valores de frequência de vibração região do IV e correspondentes grupos estruturais da amostra de biodiesel de babaçu metílico.....	44

Tabela 14 – Valores de frequência de vibração região do IV e correspondentes grupos estruturais do óleo de mamona.	46
Tabela 15 – Valores de frequência de vibração região do IV e correspondentes grupos estruturais da amostra de biodiesel de mamona metílico.	47

EQUAÇÕES MATEMÁTICAS

Equação 1	28
Equação 2	28
Equação 3	29
Equação 4	30
Equação 5	30

LISTA DE SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas.

ANOVA – Análise de Variância.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

ASTM – American Society for Testing and Materials.

BSTFA – N,O-bis-trimetilsililtrifluoroacetamina.

BTEX – Benzeno, tolueno, etilbenzeno, orto- xileno, para-xileno e meta-xileno.

CENPES – Centro de Pesquisa da Petrobrás.

CG/DIC – Cromatografia a gás com detector de ionização em chama.

CV% - Coeficiente de variação.

DMF – N,N-dimetilformamida.

EPA – United States Environmental Protection Agency.

$F_{1,n-2}$ – Valor tabela da distribuição do teste F a 95 % de incerteza com 1 e n-2 graus de liberdade.

$F_{\text{calculado}}$ – Razão entre a média quadrática devido ao modelo de regressão e a média quadrática residual $MQ_{\text{reg}} / MQ_{\text{r}}$.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial.

ISO – International Organization for Standardization.

LDM – Limite de Detecção do Método.

LQM – Limite de Quantificação do Método.

MCT – Ministério da Ciência e Tecnologia.

MQ_{r} – Média quadrática residual.

MQ_{reg} – Média quadrática devido ao modelo de regressão.

MSTFA – N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamina.

NAE – Núcleo de Assuntos Estratégicos da Presidência da República.

NASA – National Aeronautics and Space Administration.

r – Coeficiente de correlação da curva analítica.

R% - Índice de recuperação.

R^2 – Coeficiente de determinação é a razão entre a soma quadrática explicada pela regressão e a soma quadrática total SQ_{reg} / SQ_t .

s – Estimativa do desvio padrão.

SQ_{reg} – Soma quadrática explicada pela regressão.

SQ_t - Soma quadrática total.

s_{x_0} – Desvio padrão do método

s_y – Desvio padrão residual ou erro padrão

UV-Visível – Região de absorção na região do ultravioleta – visível.

V_{x_0} – Coeficiente de variação do método

WCOT - “Wall Coated Open Tubular”, colunas capilares que possuem a parede interna do capilar recoberto com um filme da fase estacionária.

Ag/Api – Razão entre a área do pico da glicerina silanizada e a área do pico do padrão interno (etilenoglicol) silanizado.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Biodiesel.....	2
1.2 Biodiesel no mundo.....	4
1.3 Biodiesel no Brasil.....	5
1.4 Principais contaminantes presentes no biodiesel bruto.....	7
1.4.1 Quantidade residual de álcool.....	7
1.4.2 Quantidade residual do catalisador.....	7
1.4.3 Quantidade água.....	8
1.4.4 Traços de mono, di e triglicérides.....	8
1.5 Processos de Purificação do Biodiesel.....	8
1.5.1 Lavagem por Borbulhamento.....	8
1.5.2 Lavagem com Névoa.....	9
1.6 Glicerina.....	9
1.6.1 Controle de Glicerina no Biodiesel.....	12
2 oBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3 PARTE EXPERIMENTAL.....	15
3.1 Reagentes.....	16
3.2 Equipamentos e Acessórios.....	16
3.3 Metodologias.....	17
3.3.1 Método Espectrofotométrico.....	17
3.3.1.1 Soluções.....	17
3.3.1.2 Preparo da curva analítica em biodiesel.....	17

3.3.2 Método Cromatográfico	18
3.3.2.1 Soluções.....	18
3.3.2.2 Preparo da Curva Analítica	19
3.3.3 Espectrofotometria de absorção na região do Infravermelho com transformada de Fourier	19
3.3.3.1 Procedimento de preparo das amostras.	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 Método Espectrofotométrico	20
4.1.1 Tratamento estatístico.....	21
4.1.1.1 Precisão do Método	21
4.1.1.2 Exatidão do Método	22
4.1.1.3 Limites de Detecção e de Quantificação	23
4.1.1.4 Linearidade do Método.....	23
4.1.1.5 Avaliação da qualidade do procedimento analítico.....	29
4.1.1.6 Aplicação do Método.....	29
4.2 Método Cromatográfico	31
4.2.1 Tratamento estatístico.....	35
4.2.1.1 Precisão do Método	36
4.2.1.2 Exatidão do Método	36
4.2.1.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação	37
4.2.1.4 Linearidade do Método.....	37
4.2.1.5 Avaliação da qualidade do procedimento analítico.....	40
4.2.1.6 Aplicação do Método.....	41
4.3 Análise por Espectrometria na região do Infravermelho.....	42
5 CONCLUSÕES	49

REFERÊNCIAS-.....	50
-------------------	----

1. INTRODUÇÃO

Desde o início da civilização, o homem sempre esteve à procura de novas fontes de energia, necessárias para a consolidação do seu domínio sobre os recursos naturais do planeta e para o desenvolvimento da sociedade atual. Atualmente, o petróleo e seus derivados constituem as principais fontes energéticas do planeta, no entanto, estes combustíveis não são renováveis e a crescente demanda originada pelo crescimento acelerado dos países desenvolvidos, gera um aumento cada vez maior do consumo do petróleo. Em poucos anos, as fontes dos combustíveis fósseis serão completamente esgotadas. Além disso, qualquer ameaça de conflitos entre as grandes potências ocidentais e os países árabes produtores de petróleo ou alguma crise internacional, faz o preço do barril de petróleo elevar-se consideravelmente (ECOÓLEO, 2005).

Com relação ao aspecto ambiental, o consumo cada vez maior de combustíveis fósseis derivados do petróleo, ocasiona um impacto negativo ao meio ambiente. A queima desses combustíveis geralmente está ligada ao aumento gradativo da temperatura do planeta, devido à emissão de excesso de dióxido de carbono na atmosfera, o que pode gerar mudanças no clima global, podendo ocasionar o derretimento das calotas polares e conseqüentemente, elevar o nível dos mares, submergindo todas as cidades costeiras do mundo, além de tornar determinadas regiões do planeta, desertos inóspitos para os seres humanos (SANTOS, 1999; MCT, 1999). Os derramamentos de petróleo e seus derivados provenientes da produção, do transporte e do uso dos combustíveis fósseis produzem um impacto ambiental significativo.

O enxofre é um poluente comum do petróleo e a sua queima junto com os derivados de petróleo emitem para a atmosfera óxidos de enxofre, causadores de chuva ácida. A combustão incompleta dos combustíveis fósseis, devido à deficiência de oxigênio, também libera para o ar material particulado de carbono ou fuligem (LIMA, 2005). Combustíveis derivados do petróleo, como a gasolina, têm em sua constituição hidrocarbonetos aromáticos

como o benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos conhecidos pela sigla BTEX e os policíclicos aromáticos, que são tóxicos e potencialmente carcinogênicos (LOUZEIRO & SILVA, 2003; MENÉNDEZ et al., 2000).

As constantes crises, os altos e baixos no preço do barril de petróleo e os problemas ambientais, fez o homem refletir sobre a necessidade de buscar novas fontes de energia, menos agressivas ao meio ambiente. Principalmente, devido ao compromisso assumido pelos países industrializados, com exceção dos Estados Unidos, que assinaram o Protocolo de Quioto, o qual determina a redução das emissões de gases tóxicos na atmosfera entre 2008 a 2012 (UNITED NATIONS, 2006), fizeram o homem refletir sobre a necessidade de procurar fontes alternativas de energia não poluidoras do ambiente, e ao mesmo tempo reduzir as emissões de gases na atmosfera. Dentre essas fontes alternativas merece destaque o Biodiesel, combustível obtido a partir de fontes renováveis.

1.1. Biodiesel

De acordo com a Resolução nº 42 de novembro de 2004 da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), o biodiesel é definido como um combustível composto de alquil-ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais conforme a especificação contida no Regulamento Técnico ANP nº. 4 / 2004, que integra a referida resolução (ANP, 2004).

O biodiesel é o produto resultante da reação entre óleos vegetais ou gordura animal (triglicédeos) e álcoois (metanol ou etanol), produzindo ésteres de ácido graxo (biodiesel) e glicerina como subproduto. Após a reação há a formação de duas fases: a fase superior é formada pelos ésteres de ácido graxos que constituem o biodiesel, a fase inferior é composta pela glicerina e traços de impurezas (NOUREDDINI, 2001).

Além de ser proveniente de fontes renováveis, como os óleos vegetais, o biodiesel apresenta diversas vantagens em comparação com o diesel derivado do petróleo, no aspecto sócio-econômico, como também no aspecto ambiental.

Ambientalmente, o biodiesel reduz os efeitos causados pela emissão dos óxidos de carbono e enxofre, causadores respectivamente do aquecimento global e da chuva ácida. O dióxido de carbono liberado na queima completa do biodiesel está inserido no ciclo do carbono, sendo absorvido pela oleaginosa durante o seu crescimento. O biodiesel não é contaminado por enxofre e não apresenta na sua constituição hidrocarbonetos aromáticos e poliaromáticos, é formado por ésteres que possuem dois átomos de oxigênio por molécula, o que reduz a emissão de partículas de carbono na atmosfera, os átomos de oxigênio facilitam uma queima completa do biodiesel em comparação ao diesel de petróleo, é biodegradável se exposto ao ambiente degrada-se bem mais rápido comparado com o petróleo (OLIVEIRA, 2006).

No aspecto social, o aumento da produção de oleaginosas destinadas ao biodiesel, pode possibilitar a geração de empregos tanto na agricultura como na indústria, evitando o êxodo rural. Além disso, pequenas propriedades rurais e povoadas de regiões remotas onde não há transmissão de linhas de energia elétrica, também podem produzir biodiesel em pequena escala para geração de energia elétrica, porque o transporte do diesel para essas regiões tem um preço maior que próprio combustível, entretanto, a produção de oleaginosas ligada à agricultura familiar pode ser uma boa alternativa para a redução da pobreza no país (COLETTI, 2006).

Economicamente o biodiesel pode também ser bastante vantajoso, visto que a produção de biodiesel em larga escala possibilitará a redução da importação de diesel. Como Biodiesel é um combustível renovável, o Brasil poderia aproveitar os créditos por “seqüestro de carbono” para comercialização conforme estabelecido pelo Protocolo de Quioto. Dessa

Forma, o país se tornaria auto-suficiente em termos energéticos, com a abertura de novos mercados para a produção de plantas oleaginosas e um maior fortalecimento do setor agrícola e dos agronegócios (SILVA, 2005; UNITED NATIONS, 2006).

O biodiesel pode ser usado em motores, tanto puro como misturado ao diesel de petróleo. Para identificar a proporção de biodiesel misturado no diesel, utiliza-se uma nomenclatura aceita mundialmente, o BXX, onde XX é percentagem do biodiesel misturado com o diesel. Por exemplo, B2, B5, B20 e B100 correspondem às concentrações de 2, 5, 20 e 100 % de biodiesel no diesel (MARQUES, 2006).

1.2 Biodiesel no mundo

Mundialmente, o biodiesel tem despertado o interesse de diversos países como, por exemplo, a Alemanha que é o maior produtor e consumidor de biodiesel da Europa, usando canola como matéria prima, utilizada em toda a união européia, possui uma capacidade de produção de um milhão de toneladas/ano de biodiesel. A canola é plantada geralmente com o objetivo de corrigir o teor de nitrogênio do solo e o óleo extraído é usado na produção do biodiesel, que é distribuído puro e isento de tributação em toda a sua cadeia produtiva, tornando o seu preço comercialmente competitivo ao diesel de petróleo (CHIARANDA, 2005).

A França com uma capacidade produtiva, em torno de 348 mil toneladas de biodiesel, também é livre de impostos em sua cadeia produtiva, no entanto este combustível não é comercializado na forma pura, mas misturado ao diesel numa proporção de 5 % (B5) com tendência de aumentar para 8 % (B8), porém os ônibus franceses da rede urbana consomem uma proporção de 30 % (B30) de biodiesel misturado ao diesel, com finalidades exclusivamente veiculares esse país visa reduzir as emissões tóxicas nos motores e melhorar a qualidade do ar nos seus centros urbanos (CHIARANDA, 2005).

Os Estados Unidos têm o objetivo de produzir biodiesel com a finalidade de melhorar a qualidade do ambiente, principalmente, nos seus grandes centros urbanos. A matéria prima para a produção de biodiesel é o óleo de soja e este país deve comercializar o biodiesel misturado ao diesel, numa proporção de 20 % (B20). Toda a política de produção americana está baseada em pequenos produtores e consumidores de biodiesel. Os padrões de qualidade do biodiesel nos Estados Unidos foram determinados pela norma ASTM D-6751 e o estabelecimento das políticas de produção e uso ficam a cargo da National Biodiesel Board (LIMA, 2005; MEIRELLES, 2003).

A Figura 1 mostra que a produção de biodiesel mundial cresceu de 2,1 para 3,9 bilhões de litros, considerando apenas o período de 2004 a 2005.

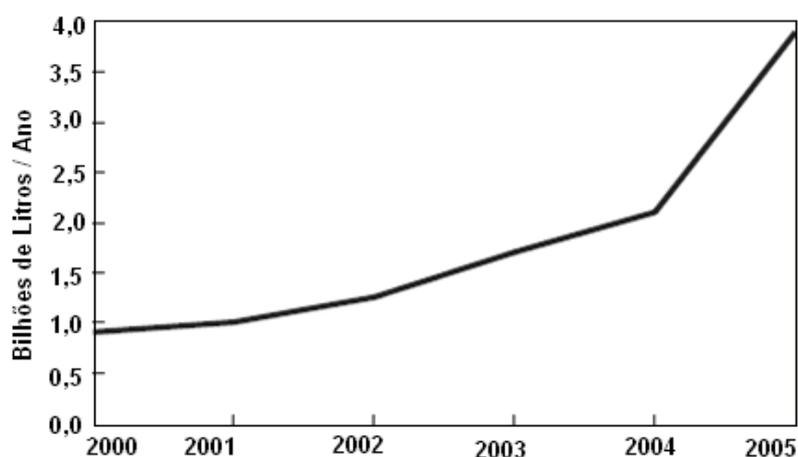


Figura 1 – Produção Mundial de Biodiesel entre 2000 a 2005.

Fonte: (REN 21, 2006).

1.3 Biodiesel no Brasil

O Brasil é o segundo maior produtor e exportador mundial de óleo de soja com uma produção de 50,19 milhões de toneladas, só perdendo para os Estados Unidos com uma produção de 85,50 milhões de toneladas (EMBRAPA, 2007), além disso, há a possibilidade de produzir óleos vegetais de outras oleaginosas, típicas de cada região brasileira. Dessa

forma, o Brasil possui um gigantesco potencial para produzir biodiesel, das mais diversas matérias primas e de se tornar no futuro o maior produtor e consumidor de biodiesel. (BILICH, 2006). Segundo estudos divulgados pela National Biodiesel Board, o Brasil tem condições de liderar a produção mundial de biodiesel podendo substituir até 60 % da demanda mundial de diesel (MEIRELLES, 2003).

A Figura 2 mostra as empresas com as suas capacidades de produção de biodiesel autorizadas pela ANP. Os dados mostram que a quantidade de biodiesel produzida hoje no país (cerca de 600 milhões litros / ano), ainda não atingiu o volume necessário para a adição dos 2% de biodiesel ao diesel de forma obrigatória em 2008, ou seja, (800 milhões de litros / ano).

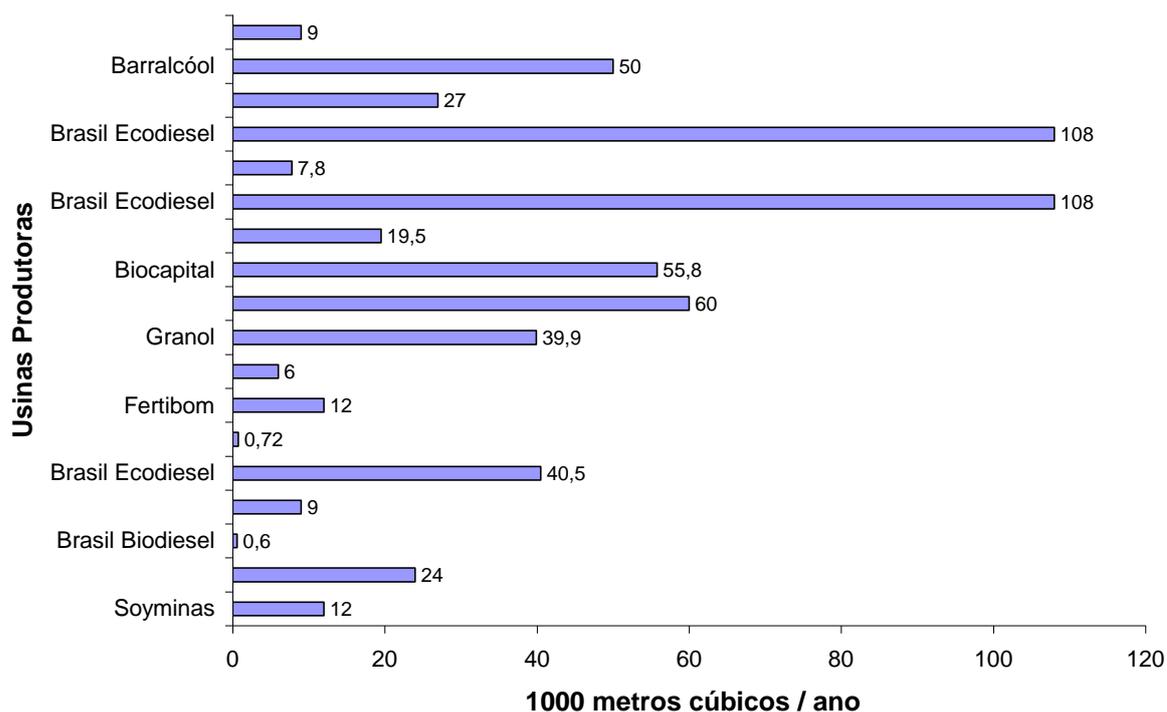


Figura 2 – Usinas de Produção de Biodiesel no Brasil autorizadas pela ANP

Fonte: (ANP, 2006).

O Maranhão é um estado que possui condições favoráveis à produção de espécies de plantas ricas em óleos, dentre as quais se destaca a palmeira nativa de babaçu encontrada

também nos estados do Mato Grosso, Tocantins e Piauí, esses quatro estados formam a chamada Região dos Babaçuais com 18,5 milhões de hectares. Entretanto, é no Maranhão que está concentrada a maior quantidade de palmeiras com cerca de 10,3 milhões de hectares (SILVA & ARAÚJO, 2004). Além do babaçu, outras culturas podem ser empregadas na produção de óleo para a fabricação do biodiesel tais como, mamona, algodão, amendoim, pinhão manso e gorduras animais (sebo bovino, gordura de frango e de suínos). Portanto, o estado do Maranhão tem uma forte tendência de ser no futuro um grande produtor de biodiesel.

1.4 Principais contaminantes presentes no biodiesel bruto

Após o processo de produção do biodiesel, estão presentes impurezas, entre essas impurezas algumas são solúveis em água. Entre os principais contaminantes estão os traços de álcool (metanol ou etanol), glicerina livre, além de traços de mono, di e triglicerídeos que não reagiram durante a produção do biodiesel.

1.4.1 Quantidade residual de álcool

O excesso de álcool usado na produção do biodiesel (metanol ou etanol), geralmente é retirado por destilação, os traços de álcool que permanecerem são removidos durante o processo de lavagem do biodiesel, a ANP propõe como limite, um teor de 0,5 % de álcool por massa de biodiesel. A presença de álcool no biodiesel causa uma diminuição no ponto de fulgor do combustível, embora tenha um impacto pequeno no desempenho no funcionamento do motor, essa diminuição no ponto de fulgor reflete numa menor segurança no armazenamento do combustível (GERPEN, 2007).

1.4.2 Quantidade residual do catalisador

Os traços de catalisador que permanecem no biodiesel bruto, são removidos durante o processo de lavagem, essa quantidade residual de catalisador não está presente nas

especificações ANP para o biodiesel, mas está contida na norma referente ao teor de cinzas. Um excesso de cinzas está associado a depósitos de material sólido no motor, a presença de resíduos de catalisadores básicos influencia no processo de lavagem por borbulhamento, devido à reação com resíduos de mono, di e triglicérides com a formação de sabão (GERPEN, 2007).

1.4.3 Quantidade água

A água está presente no biodiesel em duas formas, dissolvida ou suspensa na forma de gotículas, a presença de água no biodiesel está associada à corrosão do sistema de injeção e também ao aumento da atividade microbiana que contribui para a diminuição do pH e formação de bolores que causam entupimentos nos filtros de combustível (GERPEN, 2007).

1.4.4 Traços de mono, di e triglicérides

A presença de mono, di e triglicérides, indica uma reação incompleta na formação de biodiesel, esses compostos também contribuem para a formação de emulsão e sabão, durante o processo de lavagem do biodiesel (COLLABORATIVE BIODIESEL TUTORIAL, 2007).

1.5 Processos de Purificação do Biodiesel

Existem processos de purificação do biodiesel baseados em lavagem com água à temperatura ambiente, água aquecida ou água acidificada.

1.5.1 Lavagem por Borbulhamento

Este processo consiste em adicionar água ao biodiesel, em seguida borbulhar bolhas de ar através da água, essas bolhas de ar permitem um espécie de agitação, as bolhas levam uma pequena quantidade de água, que arrasta os contaminantes solúveis. Esse processo tem algumas vantagens, usa uma pequena quantidade de água que pode ser reutilizada no

processo, é um processo simples, também é possível montar sistemas baratos usando bombas de aquário que custam em torno de R\$ 100,00. Um problema encontrado nesse processo é a formação de emulsão, as bolhas de ar podem provocar uma agitação em excesso da água com o biodiesel causando a emulsificação, dificultando a separação do biodiesel da fase aquosa (COLLABORATIVE BIODIESEL TUTORIAL, 2007).

1.5.2 Lavagem com Névoa

O processo de lavagem com névoa, foi desenvolvido como solução para evitar a formação de emulsão entre o biodiesel e água. Neste processo um suave spray de água incide sobre o biodiesel, a água passa pelo biodiesel arrastando as impurezas solúveis, sem a agitação que formaria emulsão. Por outro lado, esse processo requer sistemas mais complexos que a lavagem por borbulhamento e utiliza um volume maior de água (COLLABORATIVE BIODIESEL TUTORIAL, 2007).

1.6 Glicerina

O 1,2,3 – propanotriol (nome oficial), glicerina ou glicerol puro é um líquido incolor, viscoso, não tóxico e higroscópico pertencente à função álcool com três hidroxilas, sua fórmula molecular é $C_3H_8O_3$. Esse composto pode ser produzido na síntese do propileno para a produção de polímeros plástico, ou formado por via fermentativa com a ajuda de microorganismos (KURBANOUĞLU, 2004). Trata-se de uma substância com muitas aplicações industriais (NAE, 2005), tais como:

- i. Em drogas, a glicerina faz parte da composição de cápsulas, supositórios, anestésicos, xaropes e emolientes para cremes pomadas, antibióticos e anti-sépticos;
- ii. Em cosméticos, é usada como umectante e emoliente, por não ser um composto tóxico e nem irritante, sem odor e sabor é usado em cremes dentais e de pele, loções pós-barba, desodorantes, batons e maquiagens;

iii. No tabaco, usa-se glicerina para tornar as fibras do fumo mais resistentes à quebra e em filtros de cigarros como veículo de aromas;

iv. Na indústria têxtil, utiliza-se a glicerina para amaciar e aumentar a flexibilidade das fibras dos tecidos;

v. A glicerina é, também, empregada como lubrificante para máquinas, na fabricação de tintas e explosivos;

vi. Em alimentos e bebidas a glicerina pode vir a ser um futuro substituto do sorbitol como umectante e conservante de refrigerantes, balas, bolos, pastas de queijo e carne, ração animal seca e por ser um componente da estrutura de lipídeos pode também ser empregada em molhos de salada, cobertura de bolos e sobremesas geladas.

A Figura 3 mostra um resumo das principais aplicações da glicerina.

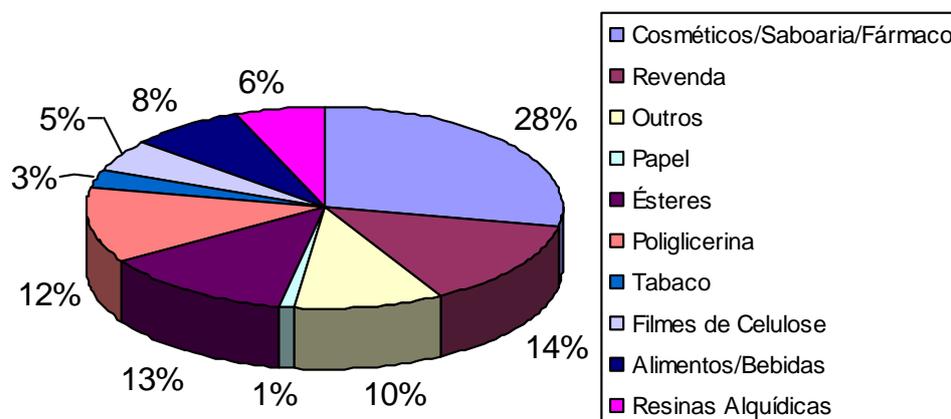


Figura 3 - Principais aplicações da glicerina

Fonte: (CALDEIRA & MOTA, 2006).

Atualmente, a maior parte da glicerina comercializada no mercado internacional é proveniente da produção de biodiesel, através da reação de transesterificação dos óleos vegetais, o restante é produzido através de processos de fermentação. Portanto, a produção de biodiesel em larga escala deve aumentar substancialmente a oferta de glicerina, com conseqüente desvalorização no mercado internacional. A redução do preço da glicerina já está

ocorrendo e pode ser observada na Figura 4. Informações obtidas nos sites de empresas de exportação e importação de glicerina mostram que o preço da deste produto bi-distilado por tonelada, gira em torno de 700 dólares (UNIAMERICA, 2006).

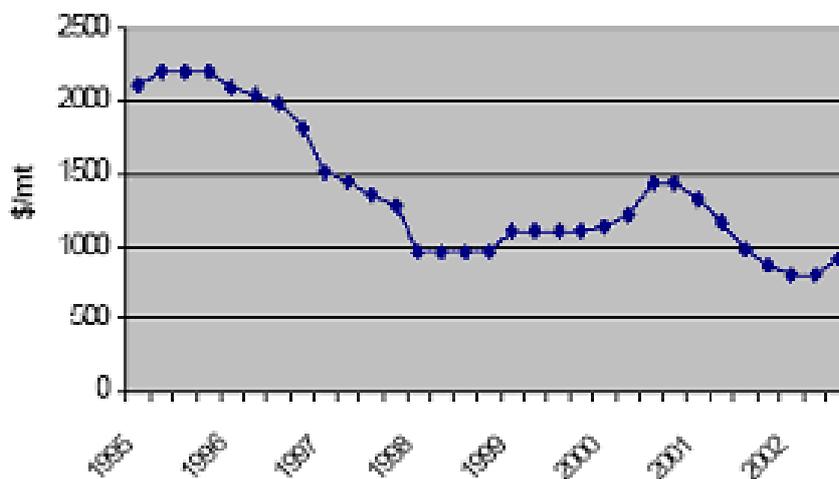


Figura 4 - Impacto da produção de biodiesel no mercado da glicerina.

Fonte: (TYSON, 2003).

Portanto, torna-se necessário o desenvolvimento de processos de recuperação e reaproveitamento da glicerina, com o objetivo de agregar valor a esse produto. Uma alternativa seria a produção de éteres da glicerina para adicioná-los ao biodiesel, a partir da reação com olefinas usando como catalisador uma resina sulfônica ácida de troca iônica (BEHR & OBENDOF, 2003).

A glicerina também poderia ser usada na produção de dióis como o 1,3 – propanodiol, um importante componente na produção de polímeros plásticos, por via fermentativa (CAMERON, 1994; KRETSCHMANN, 1993) ou por um processo de desidratação de glicerina a acroleína (BROSSMER, 2000).

A partir da glicerina, também é possível obter o carbonato de glicerina, através de uma reação entre a glicerina e a uréia, na presença de catalisador de óxido metálico sob condições brandas de temperatura (80 °C) e pressão atmosférica. O carbonato de glicerina é usado como solvente não tóxico, com aplicações nas indústrias de cosméticos e tintas,

emulsificante para cosméticos, monômero no preparo de poliésteres, policarbonatos e intermediário químico no preparo de surfatantes e lubrificante (OKUTSU, 2002; SYLVAIN, 2000; QUAGLIO, 2006; VIEVILLE, 1998).

Poliglicerinas lineares, também podem ser produzidas em batelada de glicerina usando hidróxido de cálcio como catalisador, aplicadas como aditivos em alimentos e cosméticos, emulsificantes farmacêuticos e lubrificantes têxteis (LEMKE, 2003).

O ácido acrílico pode ser produzido, através da oxidação em fase gasosa da acroleína obtida da glicerina, o mesmo é usado na síntese de plásticos e fibras sintéticas (TANIMOTO, 2003).

1.6.1 Controle de Glicerina no Biodiesel

Um importante parâmetro no controle de qualidade do biodiesel é a quantidade de glicerina livre, a Resolução ANP nº. 42 / 2004 propõe um limite máximo permitido de 0,02% (200 mg/L) em massa de biodiesel (B100).

Glicerol livre é a denominação dada a traços de glicerina, que permanecem no biodiesel, devido à separação insuficiente ou purificação ineficiente. A presença desses traços de glicerina no biodiesel, gera uma série de problemas, pois estes não se separam facilmente do biodiesel, podendo prejudicar o sistema de injeção do combustível, devido ao aumento da viscosidade.

Além disso, a queima da glicerina a partir de 180 °C junto com o biodiesel pode causar a emissão de acroleína (NEHER, 1995) uma substância altamente tóxica para as pessoas. A presença de traços de glicerina está associada com depósitos no fundo dos tanques de combustível atraindo outros contaminantes como água, aumentando assim a corrosão do motor e diminuindo a sua vida útil.

A previsão para o futuro é que o limite máximo permitido para a glicerina no biodiesel seja reduzido ainda mais, logo serão necessários métodos analíticos com

sensibilidade para determinar a concentração desse composto no biodiesel. Atualmente na literatura são citados vários métodos visando à determinação da glicerina no biodiesel.

Bondioli, P. et. al. (1992) publicou um método para determinar glicerina livre em biodiesel, onde a glicerina é extraída do biodiesel com água/etanol e pequena concentração de ácido fórmico, após essa extração a glicerina é analisada por cromatografia a gás com detecção por ionização em chama.

Mittelbach, M. (1993) realizou a determinação de glicerina livre em biodiesel por padronização interna com 1,4-butanodiol, análise por cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama e por espectrometria de massas. A glicerina foi derivatizada com N,O-bis-trimetilsililtrifluoroacetamida (BSTFA), as amostras foram injetadas com uma razão de split de 1:10, a separação foi realizada numa coluna DB-5 para altas temperaturas.

Plank, C. & Lobeer, E. (1995) determinaram simultaneamente a glicerina livre e os triglicerídeos não transesterificados no biodiesel, por cromatografia gasosa, usando o 1,2,4-butanotriol e tricaprina como padrões internos, injeção on-column, derivatização com N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA) e separação dos compostos numa coluna DB-5 para altas temperaturas, a detecção foi por ionização em chama.

A ASTM (2000) apresentou o método oficial, ASTM D 6584, para a determinação da glicerina livre e glicerina total no biodiesel (B-100) por cromatografia a gás. A glicerina foi derivatizada com N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA), 1,2,4-butanotriol e tricaprina, foram usados como padrões internos, os composto foram injetados diretamente num injetor on-column, a separação foi realizada com uma coluna DB-5 para altas temperaturas e detecção por de ionização em chama.

O método EN 14105 (2003) propõe a determinação de glicerina livre e glicerina total no biodiesel por cromatografia a gás, com derivatização com MSTFA, seguida de injeção on-column e detecção por ionização em chama (DIC).

A Resolução nº. 42 da ANP (ANP, 2004), em seu conteúdo propõe um método desenvolvido pelos pesquisadores do CENPES (2004), para a determinação de glicerina livre no biodiesel por cromatografia gasosa, com detecção por ionização em chama e quantificação por padronização interna com etilenoglicol, visando substituir o método ASTM D 6584, uma vez que essa metodologia não é adequada para o biodiesel proveniente dos óleos de mamona e babaçu, nesse método a amostra de biodiesel é diluída em etanol e injetada diretamente num injetor on-column, a separação foi realizada numa coluna capilar de fase polimérica de 50% cianopropilfenil-50% dimetilpolisiloxano.

Bondioli P. et. al. (2005) desenvolveu um método alternativo às metodologias por cromatografia, para a determinação de glicerina livre em biodiesel por espectrofotometria na região do UV - Visível, onde primeiramente a glicerina foi extraída do biodiesel por centrifugação, oxidada com metaperiodato de sódio para formaldeído, que reage com acetilacetona, havendo a formação de um composto colorido que absorve na região do UV-Visível a 410 nm.

A Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (2005) apresentou um método para a determinação de glicerina total em biodiesel de mamona, onde os triglicérides não transesterificados são saponificados, gerando glicerina que reage com ácido periódico em excesso, formando formaldeído, ácido fórmico e ácido iódico, o excesso de ácido periódico e o ácido iódico formado são determinados por iodometria.

A maioria dos métodos para determinar o teor de glicerina livre e total em biodiesel encontrados na literatura, assim como os métodos oficiais ASTM D 6584 e EN 14105 utilizam a cromatografia a gás como técnica de análises, porém alguns acessórios e padrões usados nesses métodos não são acessíveis a todos os laboratórios de química analítica, como o injetor on-column e o 1,2,4-butanotriol usado, como padrão interno.

Este trabalho propõe desenvolver um método por cromatografia a gás para determinar o teor de glicerina livre em biodiesel, utilizando um injetor split / splitless, acessório usual em todo cromatógrafo a gás, substituir o 1,2,4-butanotriol por etilenoglicol como padrão interno, composto disponível no mercado nacional. Além de validar o método proposto por Bondioli P. et. al. (2005), que utiliza espectrofotometria na região por UV – Visível, técnica disponível em todo laboratório de química analítica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver um método para determinar o teor de glicerina livre em biodiesel.

2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver um método para determinar o teor de glicerina livre em biodiesel por cromatografia a gás;
- Validar um método por espectrofotometria de absorção na região do UV/Visível para determinar glicerina livre em biodiesel, publicado na literatura;
- Avaliação estatística desses dois métodos através de parâmetros como: precisão, exatidão, sensibilidade e linearidade.
- Aplicar os métodos na análise de glicerina livre de amostras de biodiesel obtido de diversos óleos vegetais (algodão, babaçu, soja, pequi e mamona) e gordura animal (sebo bovino).

3 PARTE EXPERIMENTAL

Neste item estão relacionados os reagentes, equipamentos, acessórios, as soluções e o preparo das soluções, assim como a descrição do procedimento metodológico de cada

método. A maioria das análises foi efetuada no Laboratório Central Analítica, no Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão.

3.1 Reagentes

- ✓ Acetato de Amônio 98 % Merck;
- ✓ Acetilacetona 99 % Merck;
- ✓ Ácido Acético 99,7 % Quimex;
- ✓ Etanol 99,3 % Quimex;
- ✓ Etilenoglicol 99,5 % Merck;
- ✓ Glicerina 99,5 % QM Reagentes;
- ✓ Hexano 98,5 % Quimex;
- ✓ Metaperiodato de Sódio Merck;
- ✓ N,N-Dimetilformamida (DMF) 99,8 % Carlo Erba;
- ✓ N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) 99,5 % Aldrich.

3.2 Equipamentos e Acessórios

- Agitador Vortex, IKA MS2 Minishaker;
- Balança Digital, ACCULAB LT-320;
- Balança Digital, Marte AS5500C
- Banho Termostático, Quimis Q-218.2;
- Centrífuga Refrigerada, Sigma Laboratory Centrifuges 4K15;
- Cromatógrafo a Gás, VARIAN, CP 3800, equipado com injetor 1175 com e sem divisão de fluxo (split/splitless), coluna capilar VARIAN (WCOT sílica fundida) de fase estacionária 5% fenil 95 % dimetilpolisiloxano com dimensões 30 m de comprimento, 0.25 mm diâmetro interno e 0.25 µm de espessura de filme e um detector de ionização em chama (DIC);

- Espectrômetro UV-VIS, VARIAN, Cary 50;
- PHmetro, Quimis, Q-400M2;
- Espectrômetro Infravermelho Médio, BOMEM Hartmann and Braun, MB Séries.

3.3 Metodologias

Os procedimentos de preparo da curva analítica, do método espectrofotométrico e do método cromatográfico, foram realizados em triplicata.

3.3.1 Método Espectrofotométrico

3.3.1.1 Soluções

- Glicerina 10^5 mg/L em etanol (10 g em 100 mL de etanol);
- Ácido acético 1,6 mol/L aquoso;
- Acetato de amônio 4,0 mol/L aquoso;
- Solvente de trabalho (etanol 50 % aquoso);
- Padrões de glicerina: 100, 200, 300, 400 e 500 mg/L em biodiesel.
- Acetilacetona 0,2 mol/L em tampão de acetato pH 5,50 (volumes iguais das soluções aquosas de ácido acético e acetato de amônio);
- Metaperiodato de sódio 0,01 mol/L em tampão de acetato pH 5,50.

3.3.1.2 Preparo da curva analítica em biodiesel

Pesou-se em balões de 250 mL, 100 g de biodiesel purificado e com quantidade de glicerina desprezível, preparado conforme condições otimizadas no laboratório do núcleo de biodiesel: pesar 1000 g de óleo vegetal de babaçu, 20 g de catalisador (KOH) e medir 0,27 L de álcool (metanol), dissolver o catalisador no álcool e depois misturar ao óleo, agitar por 1 h em seguida decantar por 24 h (SILVA & LACERDA, 2004). Adicionou-se volumes

adequados de solução estoque de glicerina 10^5 mg/L a este biodiesel purificado, para preparar padrões em biodiesel na faixa de 100 a 500 mg/L.

Em seguida, o seguinte procedimento foi efetuado: em tubos de ensaio de 10 mL com tampa rosqueada, pesou-se 1 g de cada padrão de glicerina em biodiesel, depois se dissolveu em 4 mL de hexano e adicionou-se 4 mL de solvente de trabalho, havendo a formação de duas fases. Logo após, agitou-se por 5 min, seguido de centrifugação a 2000 rpm por 15 min.

Após o tempo de centrifugação, removeu-se a fase superior e transferiu-se 0,5 mL da fase inferior para outro tubo de ensaio e dissolveu-se em 1,5 mL de solvente de trabalho. Adicionou-se a cada tubo de ensaio 1,2 mL da solução de metaperiodato de sódio 0,01 mol/L, agitou-se por 30 s e adicionou-se 1,2 mL da solução de acetilacetona 0,2 mol/L. Depois aqueceu-se por 1 min a 70 °C sob agitação, após esse tempo esfriou-se imediatamente a temperatura ambiente, em seguida mediu-se absorvância a 410 nm.

Esse mesmo procedimento foi utilizado para na análise das amostras de biodiesel de diversos óleos vegetais (algodão, babaçu, soja, pequi e mamona) e gordura animal (sebo bovino).

3.3.2 Método Cromatográfico

3.3.2.1 Soluções

- Glicerina 10^5 mg/L em DMF (10 g em 100 mL de DMF);
- Etilenoglicol 1000 mg/L em DMF (25 mg em 25 mL de DMF).
- Padrões de glicerina: 50, 100, 150, 200 e 250 mg/L em biodiesel.

3.3.2.2 Preparo da Curva Analítica

Inicialmente pesou-se 100 g de biodiesel isento de glicerina em balões de 250 mL, em seguida adicionou-se volumes adequados de solução estoque de glicerina 10^5 mg/L para preparar padrões em biodiesel na faixa de 50 a 250 mg/L.

Pesou-se 0,1 g de cada padrão de glicerina em biodiesel, adicionou-se 0,1 mL da solução de etilenoglicol 1000 mg/L seguido de 0,1 mL de BSTFA, agitou-se e deixou-se em repouso por 15 a 20 min a 70 °C, em seguida injetou-se 1 µL no injetor aquecido do cromatógrafo a gás nas seguintes condições: temperatura do injetor 1177 foi de 290 °C com razão de split 1:20; gás de arraste hélio com fluxo de 1,2 mL/min; rampa de temperatura do forno de 50 °C por 1 min, em seguida variou-se de 15 °C/min até 180 °C, depois se 50 °C/min até 300 °C mantendo-se por 10 min; detector DIC com temperatura de 300 °C, fluxo de hidrogênio 30 mL/min, fluxo do ar sintético 300 mL/min e fluxo do gás auxiliar (make up) nitrogênio 30 mL/min.

Utilizou-se o mesmo procedimento na preparação da curva analítica para determinar o teor de glicerina livre nas amostras de biodiesel obtidos de vários óleos vegetais (algodão, babaçu, soja, pequi e mamona) e gordura animal (sebo bovino).

3.3.3 Espectrofotometria de absorção na região do Infravermelho com transformada de Fourier

A espectrofotometria de absorção na região do infravermelho foi usada como técnica auxiliar na caracterização dos óleos vegetais e das amostras de biodiesel.

3.3.3.1 Procedimento de preparo das amostras.

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos por meio de pastilhas de brometo de potássio preparadas no laboratório, o brometo de potássio foi seco em estufa por 24 h antes da análise e depois prensado na formar de pastilha. As amostras foram

aplicadas à superfície da pastilha com o auxílio de uma pipeta Pasteur. Antes da análise das amostras, foi feito um branco com uma pastilha de KBr. Em seguida efetuou-se a medida do espectro na região do infravermelho das amostras de diversos óleos vegetais (algodão, babaçu, soja, pequi e mamona) e gordura animal (sebo bovino), com seus correspondentes biodiesel metílicos e etílicos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Método Espectrofotométrico

O método espectrofotométrico consiste num método alternativo às metodologias cromatográficas. Este método foi desenvolvido por Bondioli et al. (2005), a percentagem de glicerina livre é oxidada com metaperiodato de sódio (Figura 5), formando formaldeído, seguida de reação de Hantzsch (Figura 6), ou seja, reação entre o formaldeído formado e acetilacetona na presença de íons amônio formando o composto 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidina, que absorve a 410 nm.

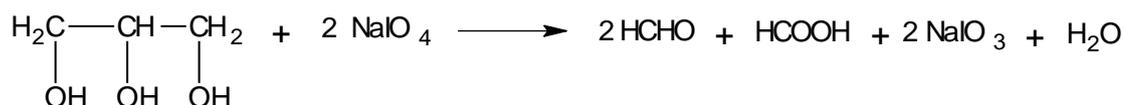


Figura 5 - Formação de formaldeído (oxidação da glicerina com metaperiodato).

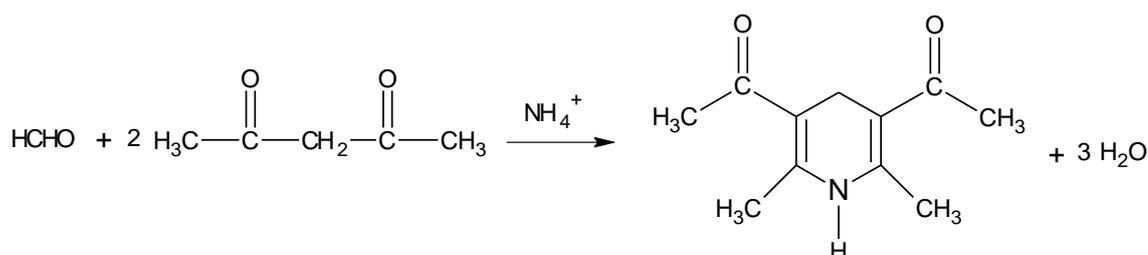


Figura 6 - Formação de 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidina (Reação de Hantzsch).

A Figura 7 ilustra o espectro na região do UV-Visível, de uma fortificação de 500 mg/L de glicerina em biodiesel de babaçu, obtido em nosso laboratório, após extração e reação de Hantzsch. Observa-se, no espectro, uma maior absorção no comprimento de onda de 410 nm. Esse valor foi utilizado como comprimento de onda fixo nas leituras dos padrões e das amostras de biodiesel.

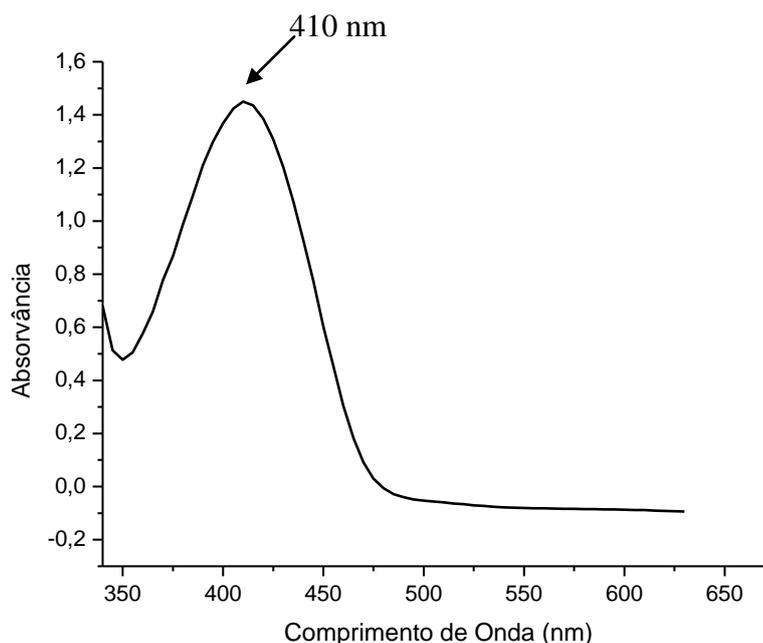


Figura 7 – Espectro na região do UV/Visível do padrão de 500 mg/L de glicerina livre em biodiesel.

4.1.1 Tratamento estatístico

A avaliação estatística foi executada validando os parâmetros de desempenho do método proposto por Bondioli et al (2005). Entre esses parâmetros está a precisão, a exatidão, os limites de detecção e de quantificação do método e a linearidade.

4.1.1.1 Precisão do Método

A precisão do método foi avaliada através da repetitividade, calculada conforme procedimento analítico delineado pelo INMETRO (INMETRO, 2003). O cálculo da repetitividade do método envolveu as etapas de extração e análises e foi expressa através da estimativa do desvio padrão (s) e do coeficiente de variação (CV %). Na avaliação desse

parâmetro preparou-se um padrão de glicerina em biodiesel de 200 mg/L, pesou-se sete alíquotas de 1 g desse padrão, que foram analisadas seguindo todo o procedimento estabelecido no método avaliado, obtendo-se a seguinte média das absorvâncias, para essas sete determinações 0,4551, a estimativa do desvio padrão foi 0,0361 e o coeficiente de variação 7,9368 %. Observou-se na Tabela 1 que a precisão do método ficou dentro dos limites aceitáveis, ou seja, menores que 16 % (WOOD, 1999).

Tabela 1 – Precisão do método espectrofotométrico usando um padrão de 200 mg/L de glicerina livre em biodiesel

Concentração (mg/L)	Absorvâncias das Replicatas						Média	(s)	(CV%)	
200	0,4828	0,4921	0,4998	0,4353	0,4314	0,4387	0,4054	0,4551 ± 0,0334	0,0361	7,9368

4.1.1.2 Exatidão do Método

A exatidão do método é a relação entre a quantidade da substância estimada pelo processo analítico e a quantidade real da substância presente na amostra. Uma das formas de determinar esse parâmetro é calcular o índice ou fator de recuperação (R %) de um analito ou grupos de analitos. Nesse caso, a amostra deve ser fortificada com uma quantidade conhecida do analito, extraída e analisada e a razão entre o valor obtido e a quantidade real do analito presente na amostra multiplicada por 100 (RIBANI, 2004).

Para o cálculo do índice de recuperação da glicerina, um biodiesel isento desse composto foi fortificado para obter as concentrações de 100 e 200 mg/L, que são a menor e média concentração da curva analítica, respectivamente. Em seguida, esses padrões de glicerina em biodiesel foram analisadas três alíquotas de 1 g desses padrões usando o procedimento do método avaliado. A Tabela 2 mostra os índices de recuperação para a glicerina. Os valores desses índices de recuperação ficaram dentro dos limites estabelecidos pela EPA (EPA, 2000), que aceita percentagens de recuperação no intervalo de 80 a 120 %.

Tabela 2 - Recuperação das Soluções de Glicerina 100 e 200 (mg/L) em Biodiesel por espectrofotometria na região do UV-VIS.

Concentração Teórica (mg/L)	Média das Absorvâncias	Desvio Padrão (s)	Coefficiente de Variação (CV%)	Concentração Determinada (mg/L)	R (%)
100	0,2479	0,0074	2,9875	110,68 ± 64,46	110,68
200	0,4397	0,0294	6,6862	221,53 ± 52,65	110,77

4.1.1.3 Limites de Detecção e de Quantificação

A sensibilidade do método foi verificada pela determinação do Limite de Detecção do Método (LDM) e do Limite de Quantificação do Método (LQM). Limite de Detecção é definido como a menor concentração do analito detectada pelo método, sem necessariamente ser quantificada. O Limite de Quantificação expressa a menor concentração do analito detectada e quantificada pelo método (SILVA & CARDEAL, 2002).

Para determinar esses parâmetros foi utilizado o procedimento estabelecido pelo INMETRO (INMETRO, 2003). Inicialmente foi preparada uma solução na concentração de 5 mg/L de glicerina num biodiesel livre dessa substância, em seguida sete alíquotas de 1 g desse padrão foram analisados seguindo o procedimento do método (ver seção 3.3.2.2), logo após foi determinado o desvio padrão dessas sete análises. O Limite de Detecção do Método foi determinado multiplicando-se o desvio padrão pelo valor de t_{n-1} , onde $n = 7$, da tabela de Student ($t = 3,143$) com incerteza de 98% ($LDM = DP \times t_{7-1}$). O Limite de Quantificação do Método foi determinado como dez vezes o valor do desvio padrão ($LQM = DP \times 10$). O valor encontrado para o Limite de Detecção do Método foi 5,69 e 18,11 mg/L foi o valor determinado para o Limite de Quantificação do Método. Portanto o método possui sensibilidade para determinar concentrações de glicerina livre, abaixo do valor máximo de 200 mg/L, sugerido como limite pela ANP para a especificação do biodiesel.

4.1.1.4 Linearidade do Método

A linearidade é uma variável do processo de validação que indica uma relação linear entre as concentrações dos padrões usados na curva analítica com as suas respostas.

Existem vários testes para estabelecer a linearidade de um método, entretanto os mais freqüentes são: avaliação do coeficiente de correlação da equação de regressão (r), do coeficiente de determinação (R^2) e através da análise de variância - ANOVA (RIBANI, 2004).

Determinou-se a linearidade do método, analisando padrões glicerina em biodiesel na faixa de concentração de 100 a 500 mg/L. A Figura 8 ilustra a relação entre as concentrações e as respostas da glicerina no método espectrofotométrico. A Tabela 3 apresenta dados da curva analítica, como desvio padrão, coeficiente de variação e limites de confiança. Todos os pontos apresentaram variação abaixo de 10 % e estão dentro dos limites de confiança determinados.

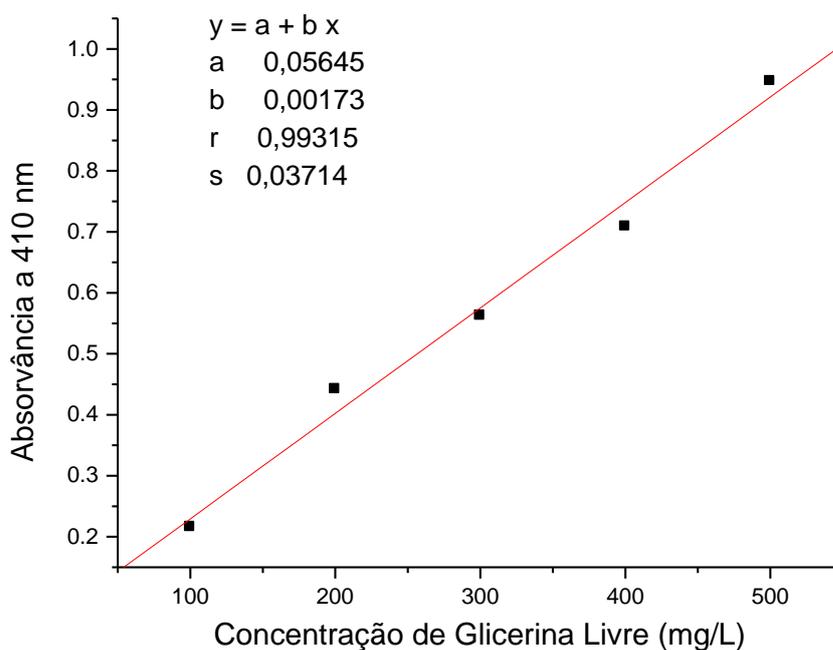


Figura 8 - Curva analítica de Glicerina Livre em Biodiesel por espectrofotometria na região do UV-VIS.

Tabela 3 - Dados da Curva Analítica de Glicerina Livre em Biodiesel por espectrofotometria na região do UV-VIS.

Concentração (mg/L)	Média das Absorvâncias	Desvio Padrão (s)	Coefficiente de Variação (CV %)
100	0,2159 ± 0,0308	0,0124	5,7365
200	0,4419 ± 0,0668	0,0269	6,0791
300	0,5625 ± 0,1096	0,0441	7,8426
400	0,7087 ± 0,1729	0,0696	9,8203
500	0,9471 ± 0,1659	0,0668	7,0520

O coeficiente de correlação (r) representa a correlação entre as respostas observadas e os valores previstos pela análise de regressão, ou seja, quanto mais próximo de 1, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais, e menores são as incertezas dos coeficientes de regressão **a** e **b** estimados. Mark Green (GREEN, 1996) recomenda um coeficiente de correlação acima de 0,9990 para que a linearidade seja considerada significativa, já a EPA (EPA, 2000) apresenta com critério mínimo aceitável um coeficiente de correlação com valor igual ou superior a 0,9950.

Embora os coeficientes de correlação sejam utilizados como referência para avaliação da linearidade é sempre interessante verificar a validade dos modelos, através da significância estatística das curvas de calibração e da análise da distribuição normal dos resíduos, utilizando ANOVA (Análise de Variância).

Avaliou-se o modelo através do valor da razão entre a Média Quadrática devido à regressão (MQ_{reg}) e a Média Quadrática residual (MQ_r). O melhor modelo deve apresentar um grande valor para a razão MQ_{reg}/MQ_r também chamada de $F_{calculado}$, com valor tabelado da distribuição $F_{1,n-2}$ no nível de 95% ($F_{1,3} = 10,13$ com $n = 5$). Quanto maior for a razão entre MQ_{reg}/MQ_r com relação ao valor de $F_{1,n-2}$, maior será a indicação de uma relação linear entre as concentrações e as absorvâncias da glicerina. Box & Wetz (1973 conforme BRUNS et. al 2001, p. 224) estabeleceram que o valor de $F_{calculado}$ deve ser no mínimo dez vezes maior que o valor de $F_{1,n-2}$ para uma regressão ser estatisticamente significativa e predizer resultados.

Os dados da Tabela 4 mostram que a equação de regressão é estatisticamente significativa, pois o valor da razão MQ_{reg}/MQ_r ou valor de $F_{calculado}$, foi dez vezes o valor tabelado de $F_{1,3}$ no nível de 95% de confiança, indicando que o modelo é representativo.

Tabela 4 - Análise de variância da Curva Analítica de Glicerina em Biodiesel por espectrofotometria na região do UV-VIS.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	SQ	R^2 (%)	MQ	$F_{calculado}$	$F_{1,3}$	$F_{calculado}/F_{1,3}$
Regressão	1	0,299036	98,63	0,299036	216,74	10,13	21,40
Resíduo	3	0,004139		0,00138			
Total	4	0,303175					

O coeficiente de determinação (R^2) é a razão entre a soma quadrática explicada pela regressão (SQ_{reg}) e a soma quadrática total (SQ_t) ($R^2 = SQ_{reg} / SQ_t$). Ele é utilizado com frequência para verificar se uma equação de regressão está ajustada. Quanto mais próximo de 1 estiver o valor de R^2 , mais ajustado se encontra o modelo (PIMENTEL, M. F. & NETO, 1996).

Na Tabela 4 está o coeficiente de determinação na forma de variação percentual, com valor de 98,63% da variação explicada para a glicerina, BONDIOLI, p. et al. (2005) em seu trabalho recomenda um coeficiente de determinação acima de 99,00%.

Nos resultados apresentados na Figura 1 e na Tabela 4, observamos valores de coeficiente de correlação e de coeficiente de determinação menores que os recomendados pela literatura, de acordo com esses resultados apenas 98,63% da variação em torno da média pode ser explicada pelo modelo, os outros 1,37% são resíduos gerados pelo modelo de regressão, que podem estar localizados num ponto específico da curva analítica causando falta de ajuste. Essa variação tem origem em erros aleatórios inerentes ao próprio procedimento do método em estudo, uma vez que este é suscetível de erros por sucessivas de transferência de volumes, a incidência de luz também pode influenciar após a reação com acetilacetona, assim a variação da temperatura do banho usado para aquecer ou a temperatura ambiente e a agitação

dos tubos de ensaio que é feita manualmente, além dos vários tubos de ensaio usados que embora tivessem os mesmo volume e fabricante, não foram calibrados. Enfim, são várias as fontes de variação, que para serem investigadas e resolvidas, necessitam de um estudo mais aprofundado com a adoção de procedimentos de calibração, compra de equipamentos mais precisos e um controle de temperatura e de incidência de luz mais rigorosos. Porém, tais procedimentos são dispendiosos e dispensáveis no momento, além de fugirem do principal objetivo do trabalho.

Vale lembrar, que apenas a avaliação dos coeficientes de correlação e de determinação não é suficiente para concluir falta de ajuste do modelo, segundo a avaliação do teste F mencionada anteriormente, o valor de $F_{\text{calculado}}$ foi mais de dez vezes o valor de F_{tabelado} , como sugerido na literatura tal resultado indica ajuste e significância do modelo de regressão, portanto, a resposta obtida pelo método é proporcional às concentrações da glicerina livre no biodiesel.

O perfil do gráfico dos resíduos em função das concentrações é um outro parâmetro que indica se o modelo de regressão está ajustado. Os resíduos devem apresentar uma distribuição aleatória sem padrão geométrico definido, condição satisfeita para a glicerina (Figura 9), este resultado mostra que a variação em torno da média é contínua, indicando que o modelo de regressão está ajustado.

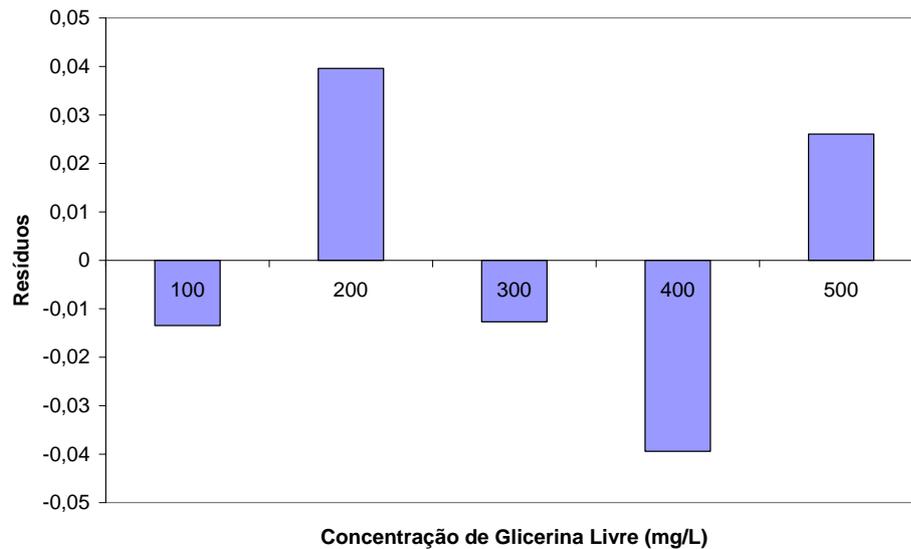


Figura 9 - Concentrações da Curva Analítica por espectrofotometria na região do UV-VIS versus Distribuição Aleatória dos resíduos.

Através do desvio padrão residual, é possível calcular o intervalo de confiança inclinação (b) e intercessão (a) da reta do modelo de regressão. No caso do método espectrofotométrico o modelo linear apresentou a seguinte equação de regressão para a glicerina livre: $y = 0,05645 (\pm 0,11262) + 0,00173 (\pm 0,00037) x$. Os cálculos para a incerteza desses parâmetros envolveram as seguintes equações matemáticas (CAULCUTT & BODDY, 1983):

i. Desvio padrão residual (DPR)

$$DPR = \frac{SQ_r}{\text{graus de liberdade}} \quad \text{Equação 1}$$

onde SQ_r é a soma quadrática residual.

ii. Incerteza para a inclinação (b) a 95 %

$$b \pm \frac{t_{n-2} \cdot DPR}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Equação 2}$$

onde t_{n-2} é o valor tabelado de Student com n-2 graus de liberdade, x_i é um nível de concentração da curva analítica, \bar{x} é a média dos níveis de concentração x_i .

iii. Incerteza para a intercessão (a) a 95 %

$$a \pm \frac{t_{n-2} \cdot \overline{OPR}}{\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\overline{x}^2}{\sum (x_i - \overline{x})^2}}} \quad \text{Equação 3}$$

onde n é o número de níveis de concentração da curva analítica.

4.1.1.5 Avaliação da qualidade do procedimento analítico

Utilizou-se a norma ISO 8466-1:1990 "Statistical evaluation of the linear calibration function" (ISO, 1990) para determinar o desvio padrão do método (s_{x_0}) e o coeficiente de variação do método (V_{x_0}). O primeiro é definido como a razão entre o desvio padrão residual ou erro padrão (s_y) e o coeficiente angular das equações de regressão, sendo responsável pela qualidade do método analítico dentro da faixa de concentração de trabalho, ou seja, indica o desvio padrão do procedimento de calibração. Já V_{x_0} é a razão entre o desvio padrão do método e a média das concentrações, sendo utilizado principalmente na comparação do desempenho de métodos diferentes. A qualidade do procedimento analítico é inversamente proporcional aos valores dessas variáveis. Os valores determinados para esses parâmetros foi 0,067897 para s_{x_0} e 0,000226 para V_{x_0} . Os pequenos valores encontrados indicam que não existem grandes variações no procedimento analítico, quando ele é aplicado à glicerina usando a metodologia avaliada.

4.1.1.6 Aplicação do Método

Foram analisadas amostras de biodiesel metílico e etílico, obtidas de vários óleos vegetais (algodão, babaçu, soja, pequi e mamona) e gordura animal (sebo bovino), os resultados dessas análises encontram-se na Tabela 5, os valores não determinados estão abaixo do limite de detecção do método, com exceção do biodiesel de babaçu etílico, da mamona metílico t1 e da mamona metílico t2. A maioria das amostras está abaixo do limite

máximo permitido para o teor de glicerina livre apresentado pela Resolução n°. 42 da ANP de 0,02 % (200 mg/L) por massa de biodiesel.

Tabela 5 - Análise de Glicerina Livre em várias espécies de Biodiesel por espectrofotometria na região do UV - Visível

Biodiesel	Média das Absorvâncias	Estimativa do Desvio Padrão (s)	Coefficiente de Variação (CV %)	Concentração Determinada (mg/L)
Algodão Metílico	nd*	-	-	-
Babaçú Etílico	0,6374	0,003	0,555	335,81 ± 50,46
Soja Etílico	nd*	-	-	-
Sebo Bovino Metílico	nd*	-	-	-
Pequi Metílico	nd*	-	-	-
Babaçú Metílico	nd*	-	-	-
Mamona Metílico t1	1,0469	0,018	1,743	572,50 ± 77,15
Mamona Metílico t2	0,4799	0,038	8,081	244,75 ± 51,26

*nd – não determinado

A estimativa da incerteza das concentrações determinadas para as amostras de biodiesel, foi calculada a partir de dados da curva analítica de acordo com a seguinte equação (CAULCUTT & BODDY, 1983):

$$x \pm \frac{t_{n-2,95\%} \cdot OPR}{b} \sqrt{\left[\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{\left(\frac{y - \bar{y}}{b} \right)^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2} \right]} \quad \text{Equação 4}$$

onde b é inclinação da reta, m é o número de replicatas de análises de um mesmo nível de concentração, n é o número de níveis de concentrações da curva analítica, y é a resposta dada pelo método à análise da amostra, \bar{y} é a média das respostas dos padrões da curva analítica e x é a concentração determinada para a amostra através da equação de regressão inversa.

$$\left(x = \frac{y - a}{b} \right) \quad \text{Equação 5}$$

4.2 Método Cromatográfico

No desenvolvimento do método, a glicerina e o padrão interno (etilenoglicol) foram derivatizados, através da silanização com N,O-bis(trimetilsilil)-trifluoroacetamida (BSTFA) (Figuras 10 e 11). Este procedimento visa reduzir a polaridade para uma melhor resolução do pico no cromatograma, durante a eluição numa coluna cromatográfica apolar.

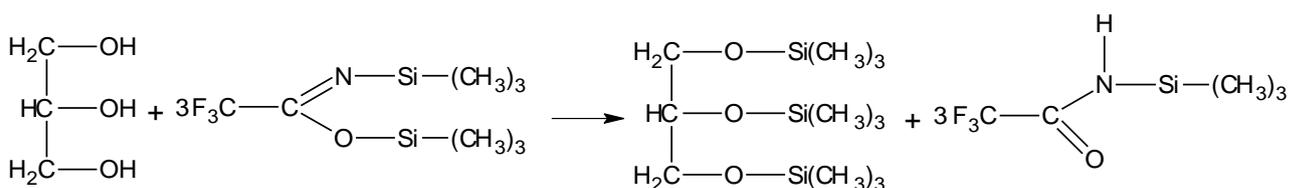


Figura 10 - Formação do Tris-o-trimetilsilil-1,2,3-propanotriol (silanização da glicerina com BSTFA).

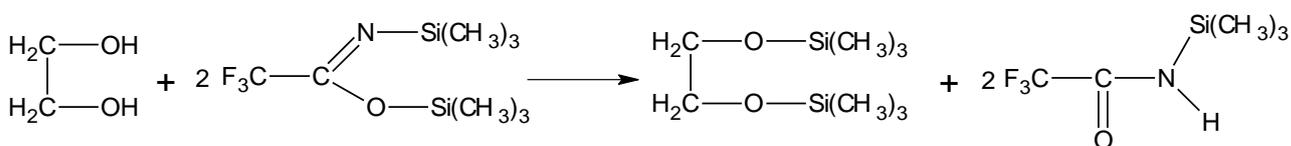


Figura 11 - Formação do Bis-o-trimetilsilil-1,2-etanodiol (silanização do etilenoglicol com BSTFA).

A Figura 12, ilustra o perfil do pico da glicerina sem derivatização, observa-se um pico largo, devido à fraca afinidade da glicerina com a coluna cromatográfica apolar, tornando assim, impossível a obtenção de picos bem definidos.

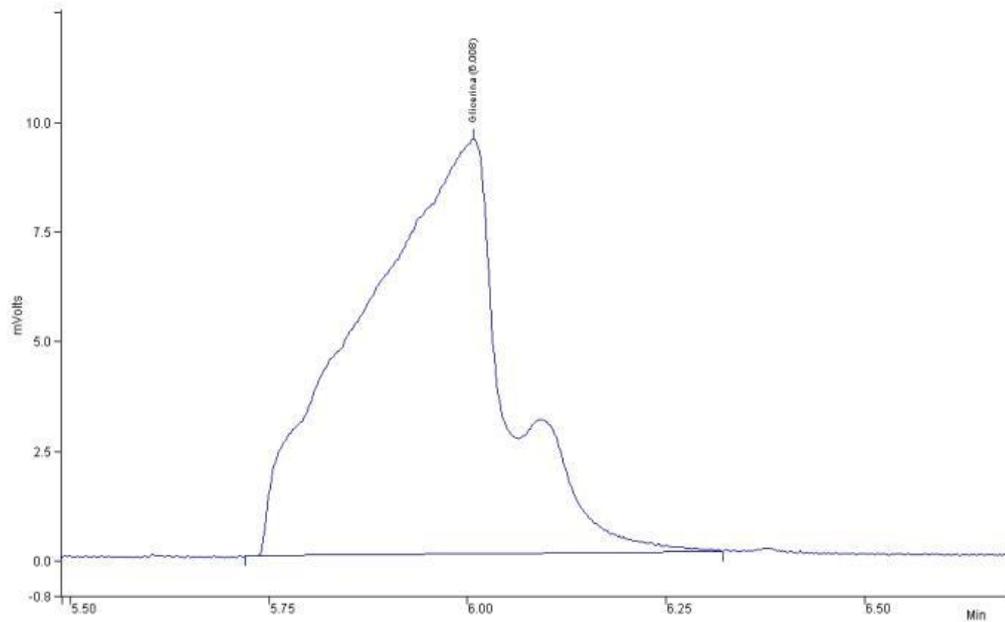


Figura 12 – Perfil do pico da glicerina livre sem derivatização com BSTFA.

Na Figura 13, está ilustrado o perfil do pico glicerina derivatizada a Tris-*o*-trimetilsilil-1,2,3-propanotriol, após reação de silanização com BSTFA, o pico apresentou uma boa resolução, mostrando-se definido devido à diminuição da polaridade da glicerina com a silanização das hidroxilas, ou seja, aumentando-se a afinidade da glicerina com a coluna cromatográfica com uma maior definição dos picos da glicerina e do padrão interno.

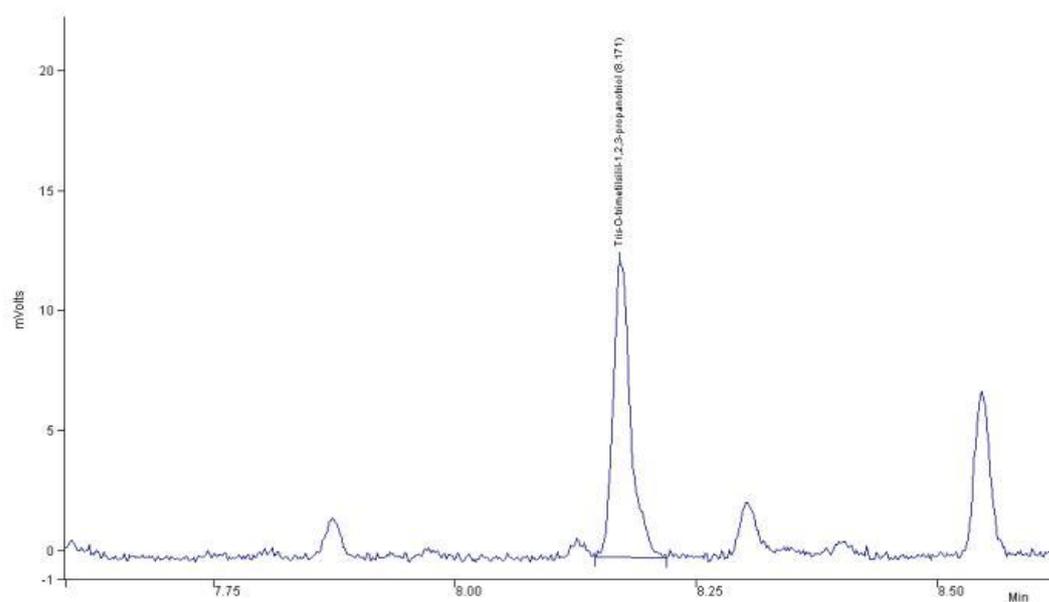
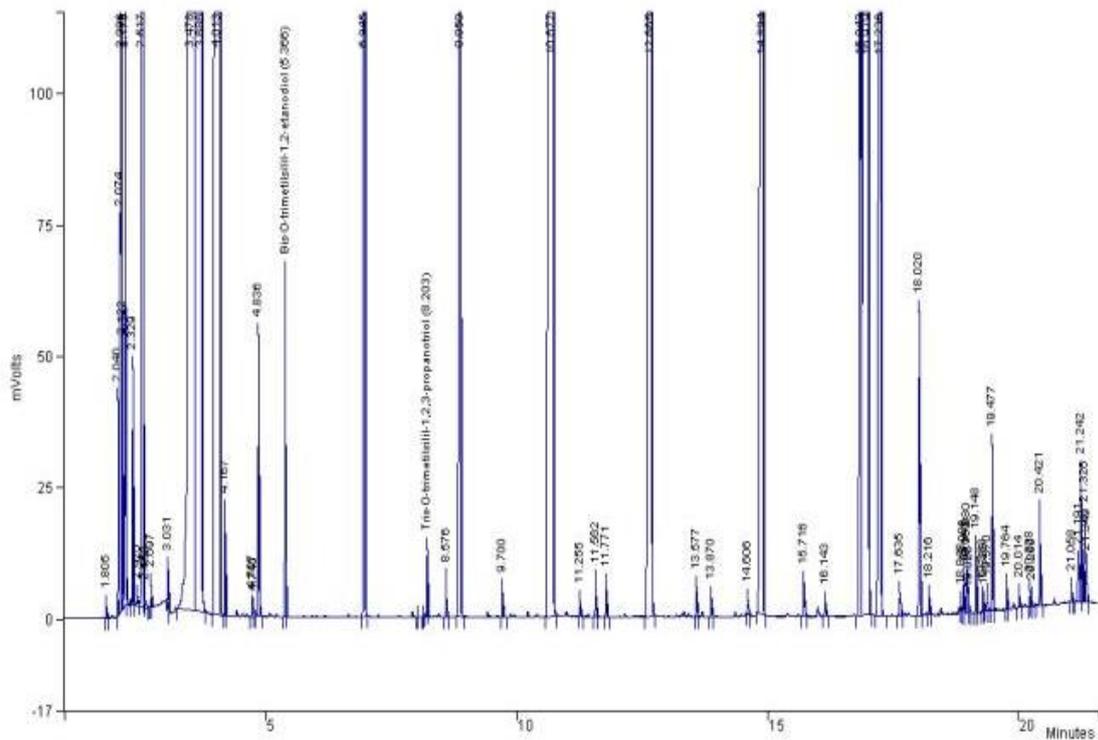


Figura 13 – Perfil do pico da glicerina após derivatização com BSTFA.

A Figura 14 mostra o cromatograma de uma amostra de biodiesel de babaçu analisada após a derivatização com BSTFA. Como podemos observar os picos da glicerina e do etilenoglicol (padrão interno) estão bem definidos e separados dos picos dos outros compostos.



A Tabela 6 mostra os tempos de retenção dos picos presentes no cromatograma da amostra de biodiesel de babaçu metílico já fortificada com o padrão interno e silanizada, ilustrado na Figura 14.

Tabela 6 – Tempos de retenção dos compostos presentes no biodiesel de babaçu metílico, fortificado com o padrão interno e silanizado.

Compostos	Tempo de Retenção (min)
Bis – o – trimetilsilil-1,2-etanodiol	5,366
Hexanoato	6,946
Tris - o – trimetilsilil-1,2,3 - propanotriol	8,203
Octanoato	8,850
Decanoato	10,677
Dodecanoato	12,665
Tetradecanoato	14,894
Hexadecanoato	16,843
Estereato + Oleato	16,979
Linoleato	17,236
Linolenato	18,020

Este método foi desenvolvido a partir de algumas modificações do método oficial ASTM, ou seja, derivatização da glicerina com BSTFA em vez de MSTFA como no método desenvolvido por Mittelbach M. (1993); as amostras não foram injetadas diretamente na coluna, em vez de um injetor on-column usou-se um injetor 1177 split/splitless; o tempo de análise também foi reduzido de 31,81 para 22,07 min; N,N-Dimetilformamida (DMF) foi usada no lugar da piridina como solvente no preparo das soluções estoque e a curva analítica foi feita diretamente em biodiesel em vez de ser construída em piridina.

4.2.1 Tratamento estatístico

A avaliação estatística é um procedimento que determina se um método é cientificamente viável para fornecer resultados analíticos com precisão e exatidão. O processo de validação não pode ser separado do desenvolvimento de um método, pois o analista não sabe se as condições do mesmo são adequadas até que seja feito o processo de validação, logo existe um processo iterativo, onde os resultados da validação podem indicar mudanças no procedimento analítico. Os parâmetros de desempenho utilizados na avaliação de um método

estão vinculados às especificações requeridas para o mesmo. Entre esses parâmetros estão: a precisão, a exatidão, os limites de detecção e de quantificação do método e a linearidade (SILVA & CARDEAL, 2002).

4.2.1.1 Precisão do Método

A precisão do método foi avaliada através da repetitividade, a avaliação desse parâmetro envolveu as etapas de silanização e análises e foi expressa através da estimativa do desvio padrão (s) e do coeficiente de variação (CV %), para tanto foi preparado um padrão de glicerina em biodiesel de 150 mg/L, foram analisadas cinco alíquotas de 0,1 g desse padrão, seguindo todo o procedimento estabelecido no método avaliado. As análises foram realizadas sucessivamente, a média das razões (área da glicerina / área do padrão interno) dessas análises foi 0,2329, o desvio padrão foi 0,0088 e o coeficiente de variação 3,7682%. Observou-se na Tabela 7, que a precisão do método ficou dentro de limites aceitáveis, isto é com coeficientes de variação inferiores a 16 % (WOOD, 1999).

Tabela 7 – Precisão do método cromatográfico usando um padrão de 150 mg/L de glicerina livre em biodiesel.

Concentração (mg/L)	Razão (Ag/Api) das Replicatas					Média	s	CV%
150	0,2264	0,2441	0,2337	0,2223	0,2380	0,2329 ± 0,0109	0,0088	3,7682

4.2.1.2 Exatidão do Método

A exatidão do método foi calculada através do índice de recuperação (**R**) da glicerina. Para calcular esse valor fortificou-se uma amostra de biodiesel purificado e com concentração de glicerina livre desprezível, para obter as concentrações de 150 e 250 mg/L que é a média e a maior concentração utilizadas na curva analítica. Em seguida, três alíquotas de 0,1 g desses padrões, foram analisadas e silanizadas seguindo o procedimento do método em estudo. Os valores dos índices de recuperação encontram-se na Tabela 8, permanecendo dentro dos limites aceitáveis entre 80 a 120 % (EPA, 2000).

Tabela 8 - Recuperação das Soluções de Glicerina 150 e 250 (mg/L) em Biodiesel por CG/DIC.

Concentração Teórica (mg/L)	Médias das Razões (Ag/Api)	Desvio Padrão (s)	Coefficiente de Variação (CV%)	Concentração Determinada (mg/L)	R (%)
150	0,2313	0,0043	1,8417	150,74 ± 18,01	100,49
250	0,3394	0,0070	2,0593	222,79 ± 21,27	89,12

4.2.1.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O limite de detecção e o limite de quantificação do método cromatográfico para a glicerina livre no biodiesel, foram determinados usando o mesmo procedimento do método espectrofotométrico (ver seção 4.1.1). Inicialmente preparou-se uma fortificação de 2 mg/L num biodiesel isento de glicerina, em seguida foram analisadas sete alíquotas de 0,1 g desse padrão, seguindo todo o procedimento proposto no método (ver seção 3.3.2.2), por último o limite de detecção do método foi calculando multiplicando-se o desvio padrão dessas análises pelo valor de t_{n-1} , onde $n = 7$, da tabela de student ($t = 3,143$) com incerteza de 98% ($LDM = DP \times t_{7-1}$), já o limite de quantificação do método foi determinado multiplicando-se o valor do desvio padrão das análises das 7 análises por dez ($LQM = DP \times 10$). Os valores encontrados para o Limite de Detecção do Método e para o Limite de Quantificação do Método foram, respectivamente, 2,17 mg/L e 6,89 mg/L.

4.2.1.4 Linearidade do Método

Para avaliar a linearidade do método preparou-se a curva analítica com cinco padrões da glicerina em biodiesel, distribuídos em cinco níveis de concentrações: 50, 100, 150, 200 e 250 mg/L. A Figura 15 abaixo ilustra o gráfico que relaciona as concentrações com as respostas da glicerina obtidas pelo método. Verificou-se que a glicerina apresentou coeficiente de correlação igual a 0,9964, acima do valor mínimo considerado pela EPA (EPA, 2000) que apresenta com critério mínimo aceitável um coeficiente de correlação com valor igual ou superior a 0,9950. Outros dados da curva analítica, como desvio padrão, coeficiente

de variação e limites de confiança, encontram-se relacionados na Tabela 9, todos os pontos apresentaram variação abaixo de 10 %, com exceção do padrão de 50 mg/L. Observou-se na avaliação dessa metodologia que ao diminuir o nível da concentração analisada aumenta-se o valor do coeficiente de variação, uma possível explicação, seria devido aos traços de glicerina não se distribuírem de forma homogênea no biodiesel, o que aumenta a variação entre as concentrações das alíquotas retiradas da mesma solução, uma solução para esse problema seria o aumento do número de replicatas para os níveis menores de concentração.

Esse resultado, entretanto, não garante que o modelo linear esteja ajustado para prever as concentrações da glicerina no biodiesel.

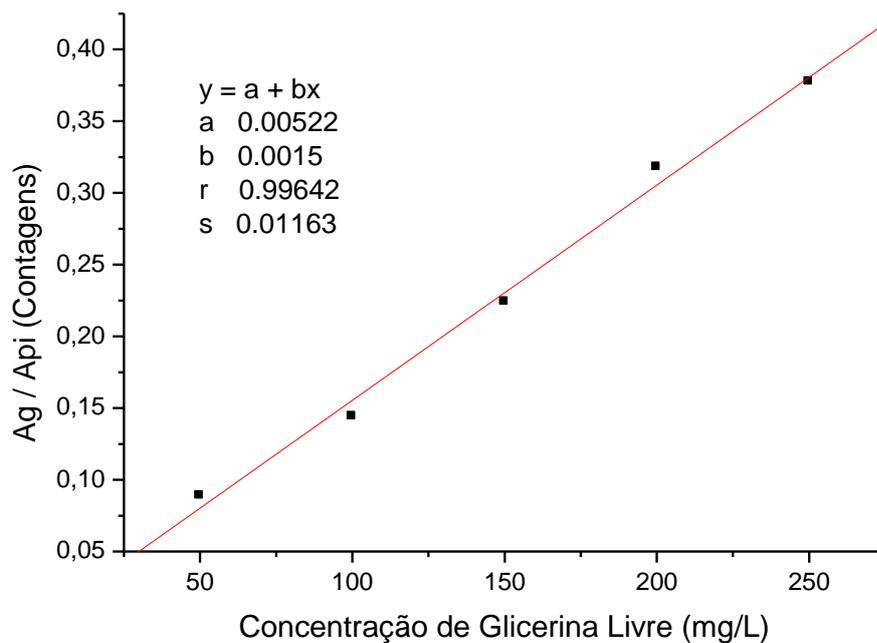


Figura 15 – Curva Analítica das Concentrações de Glicerina Livre no Biodiesel versus Razão (Área do pico da glicerina / Área do pico do padrão interno) por CG/DIC.

Tabela 9 - Dados da Curva Analítica de Glicerina Livre em Biodiesel por CG/DIC.

Concentração (mg/L)	Média das Razões (A_g/A_{pi}) (Contagens)	Desvio Padrão (s)	Coefficiente de Variação (CV %)
50	0,0889 ± 0,1311	0,0146	16,4157
100	0,1441 ± 0,0060	0,0007	0,4670
150	0,2240 ± 0,0860	0,0096	4,2723
200	0,3179 ± 0,1134	0,0126	3,9694
250	0,3774 ± 0,2714	0,0302	8,0028

O modelo de regressão linear para a glicerina pelo método cromatográfico, apresentou a seguinte equação $y = 0,00522 (\pm 0,03527) + 0,0015 (\pm 0,0002) x$, as incertezas da intercessão e da inclinação da curva analítica, foram calculadas como no procedimento discutido no método espectrofotométrico (ver seção 4.1.1.4).

Utilizou-se a Análise da Variância para averiguar se o modelo de regressão linear está realmente ajustado. Avaliou-se o modelo linear, através da significância estatística da equação de regressão e do coeficiente de determinação da glicerina. A Tabela 10 mostra o resultado da análise de variância, como a razão entre a Média Quadrática da regressão e Média Quadrática residual (MQ_{reg} / MQ_r), também conhecida como $F_{calculado}$ e o coeficiente de determinação (R^2) na forma percentual. Os resultados indicam que a equação de regressão linear é estatisticamente significativa, pois o valor de MQ_{reg} / MQ_r foi mais do que dez vezes o valor tabelado de $F_{1,n-2}$ no nível de 95 % de confiança, ($F_{1,3} = 10,13$ com $n = 5$). O coeficiente de determinação ou de correlação múltipla (R^2) da glicerina foi fornecido na forma percentual. Obteve-se um valor superior a 99,00 %, assinalando que o modelo consegue explicar quase a totalidade da variação em torno da média.

Tabela 10 - Análise de variância da Curva Analítica de Glicerina em Biodiesel por CG/DIC.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	SQ	R ² (%)	MQ	F _{Calculado}	F _{1,3}	F _{Calculado} /F _{1,3}
Regressão	1	0,056368	99,28	0,056368	416,80	10,13	41,14
Resíduo	3	0,000406		0,000135			
Total	4	0,056774					

Avaliou-se também os resíduos do modelo linear para a glicerina no método, através do gráfico das concentrações contra os resíduos (Figura 16). O gráfico indica uma distribuição aleatória dos resíduos, confirmando que o modelo linear está bem ajustado.

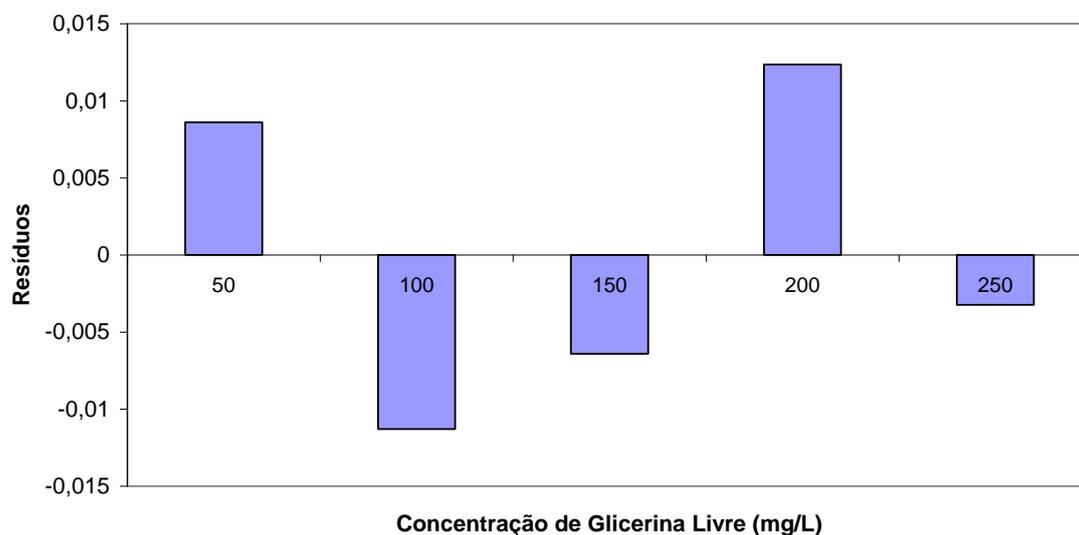


Figura 16 - Concentrações da Curva Analítica por CG/DIC versus Distribuição Aleatória dos resíduos.

4.2.1.5 Avaliação da qualidade do procedimento analítico

Utilizou-se a norma ISO 8466-1:1990 "Statistical evaluation of the linear calibration function" (ISO, 1990) para determinar o desvio padrão do método (s_{x_0}) e o coeficiente de variação do método (V_{x_0}). Os valores determinados para esses parâmetros foram 0,0490 para s_{x_0} e 0,0327 para V_{x_0} . Os pequenos valores encontrados indicam que não

existem grandes variações no procedimento analítico, quando ele é aplicado à glicerina usando a metodologia avaliada.

4.2.1.6 Aplicação do Método

Foram analisadas amostras de biodiesel metílico e etílico, obtidas de vários óleos vegetais (algodão, babaçu, soja, pequi e mamona) e gordura animal (sebo bovino) os resultados dessas análises encontram-se na Tabela 11. As maiorias das amostras encontraram-se abaixo do limite máximo proposto para o teor de glicerina livre apresentado pela Resolução nº. 42 da ANP que é de 0,02 % (200 mg/L). Com exceção do biodiesel de babaçu etílico, fato atribuído à purificação insuficiente dessa amostra.

Tabela 11 - Análise de glicerina livre em várias espécies de biodiesel por CG-DIC.

Biodiesel	Média das Razões A_g/A_{pi}	Estimativa do Desvio Padrão (s)	Coefficiente de Variação (CV %)	Concentração Determinada (mg/L)
Algodão Metílico	0,0268	0,002	7,371	14,41 ± 27,80
Babaçu Etílico	0,5577	0,003	0,542	368,29 ± 38,50
Soja Etílico	0,0257	0,001	4,577	13,67 ± 27,89
Sebo Bovino Metílico	0,1119	0,000	0,190	71,10 ± 21,83
Pequi Metílico	0,0166	0,001	8,980	7,59 ± 28,62
Babaçu Metílico	0,0352	0,004	10,225	19,99 ± 27,14
Mamona Metílico t1	0,0467	0,000	0,767	27,68 ± 26,26
Mamona Metílico t2	0,0245	0,002	9,295	12,88 ± 27,99

As incertezas para as concentrações determinadas para as amostras de biodiesel, apresentadas na Tabela 11 acima, foram calculadas de acordo com o procedimento descrito no método espectrofotométrico (ver seção 4.1.1.6), os valores altos para os limites de confiança são resultados de um número pequeno de replicatas, a medida que se aumenta os número de determinações a incerteza é reduzida.

Comparando-se os resultados das análises das amostras de biodiesel, realizadas através dos métodos espectrofotométrico e cromatográfico, observa-se uma acentuada

diferença para o resultado das amostras de biodiesel de mamona, uma provável explicação para esse fato é a presença do ácido ricinoléico, como composto majoritário na constituição do óleo de mamona, durante a transesterificação há a formação do ricinoleato, este composto possui um grupo hidroxila ligado ao carbono 12. Esta hidroxila também pode ser silanizada, consumindo o agente derivatizante BSTFA, que não seria suficiente para silanizar a glicerina e o padrão interno (etilenoglicol).

4.3 Análise por Espectrometria na região do Infravermelho.

As amostras de biodiesel, juntamente com os seus respectivos óleos vegetais foram avaliadas qualitativamente por espectrometria na região do infravermelho. Os espectros apresentaram um perfil muito semelhante. O óleo e o biodiesel de mamona são uma exceção, que apresentam na sua constituição, a cadeia carbônica do ácido ricinoléico com uma hidroxila no carbono 12. Assim, os espectros do óleo e do biodiesel de babaçu e mamona foram selecionados para mostrar as principais frequências de vibrações.

As Figuras 17 e 18 mostram os espectros do óleo vegetal e do biodiesel metílico de babaçu e as Tabelas 12 e 13 os valores atribuídos às frequências de vibração das ligações.

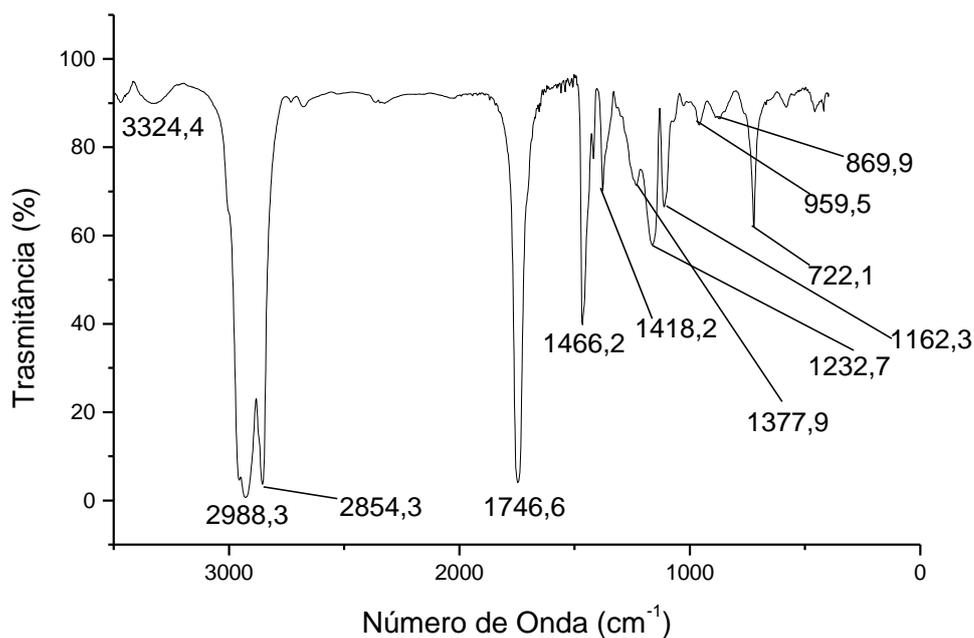


Figura 17 – Espectro na região do Infravermelho do óleo de babaçu.

Tabela 12 – Valores das frequências de vibração na região do IV da amostra de óleo de babaçu.

Número de Onda (cm ⁻¹)	Intensidade	Atribuição
3324,4	Fraca	O-H
2928,3	Muito Forte	CH ₂ , CH ₃
2854,3	Muito Forte	CH ₂ , CH ₃
1746,6	Muito Forte	C = O
1466,2	Forte	CH ₂
1418,2	Fraca	CH ₂
1377,9	Muito Fraca	C-O
1232,7	Média	C-O
1162,3	Fraca	C-O
1232,7	Média	C-O
1162,3	Fraca	C-O
959,5	Muito Fraca	C-O
869,9	Muito Fraca	C-O
722,1	Média	CH ₂

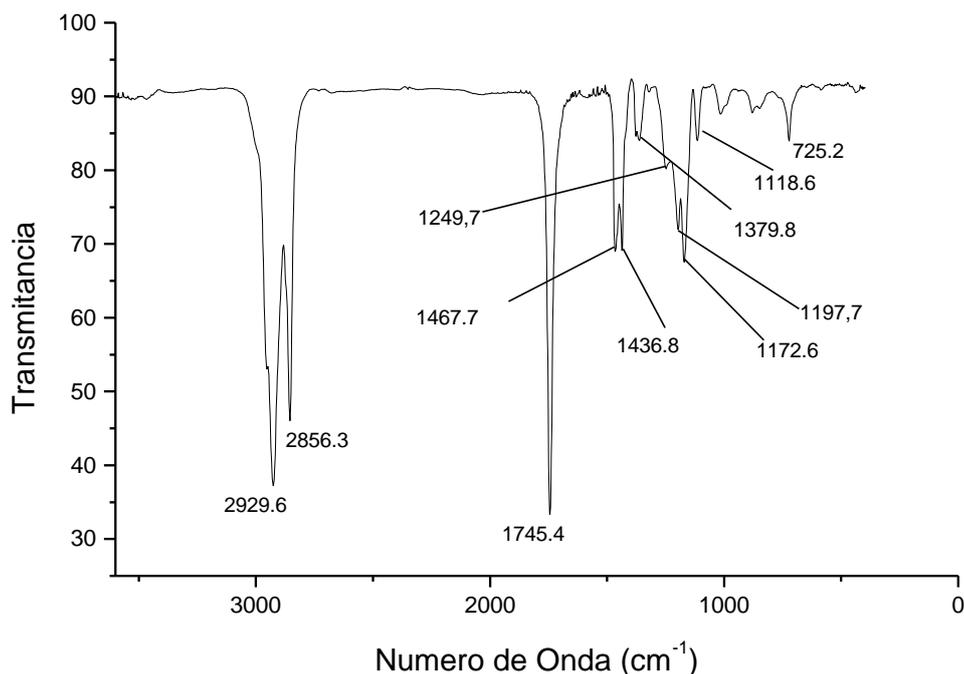


Figura 18 – Espectro na região do Infravermelho da amostra de biodiesel de babaçu metílico.

Tabela 13 – Valores de freqüência de vibração região do IV e correspondentes grupos estruturais da amostra de biodiesel de babaçu metílico.

Número de Onda (cm ⁻¹)	Intensidade	Atribuição
2929,6	Muito Forte	CH ₂ , CH ₃
2856,3	Forte	CH ₂ , CH ₃
1745,4	Muito Forte	C = O
1467,7	Média	CH ₂
1436,8	Média	CH ₂
1379,8	Fraca	C-O
1249,7	Fraca	C-O
1197,7	Fraca	C-O
1172,6	Média	C-O
1118,6	Fraca	C-O
725,2	Fraca	CH ₂

Os espectros do óleo e do biodiesel de babaçu praticamente apresentaram as mesmas bandas, sendo observado no espectro do biodiesel metílico um pequeno deslocamento para valores de número de onda maiores. Na região compreendida entre os números de onda de 1100 a 1400 cm⁻¹ encontram-se as bandas correspondentes à freqüência

de estiramento C-O. No caso do espectro do biodiesel temos três bandas bem próximas 1172,6; 1197,7; e 1249,7 cm^{-1} que são características da vibração de estiramento assimétrico da ligação C-O de ésteres metílicos de cadeia longa. Verificou-se também nos dois espectros, uma banda intensa em torno de 1746 cm^{-1} referente à deformação axial da ligação C = O.

Observou-se ainda na região de 2800 a 3000 cm^{-1} , duas bandas intensas referentes às vibrações de estiramento assimétrico e simétrico do grupo metileno (CH_2), presentes na estrutura dos triglicerídeos e do biodiesel metílico.

O espectro do óleo de babaçu apresentou uma banda de baixa intensidade em 3324,4 cm^{-1} referente à vibração de estiramento da ligação O-H. Esta banda é atribuída à presença de umidade e tem uma amplitude larga porque o grupo hidroxila não está livre, mas participando de ligações hidrogênio intermoleculares. Este estiramento não está presente no espectro da amostra de biodiesel metílico.

Os espectros do óleo e do biodiesel metílico de mamona, estão ilustrados nas Figuras 19 e 20. Nas Tabelas 14 e 15 estão os valores atribuídos às frequências de vibração e seus respectivos grupos estruturais.

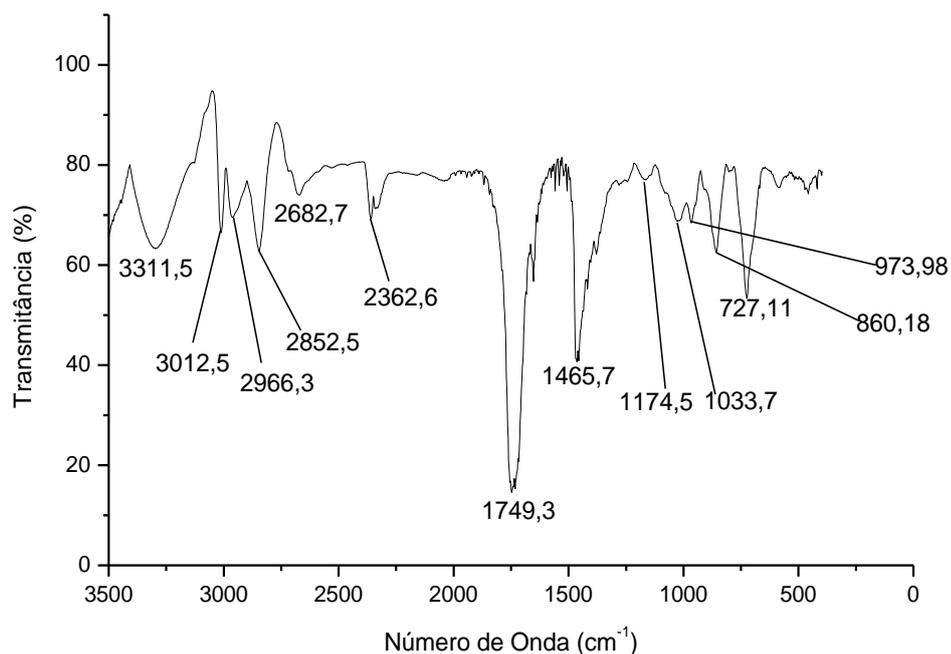


Figura 19 – Espectro na região do infravermelho do óleo de mamona

Tabela 14 – Valores de frequência de vibração região do IV e correspondentes grupos estruturais do óleo de mamona.

Número de Onda (cm ⁻¹)	Intensidade	Atribuição
3311,5	Média	O-H
3012,5	Fraca	CH ₂ , CH ₃
2966,3	Muito Fraca	CH ₂ , CH ₃
2852,5	Fraca	CH ₂ , CH ₃
2682,7	Muito Fraca	CH ₂
2362,6	Fraca	-
1749,3	Muito Forte	C = O
1465,7	Forte	CH ₂ ,
1174,5	Fraca	C-O
1033,7	Muito Fraca	C-O
973,98	Muito Fraca	C-O
860,18	Fraca	C-O
727,11	Média	CH ₂ ,

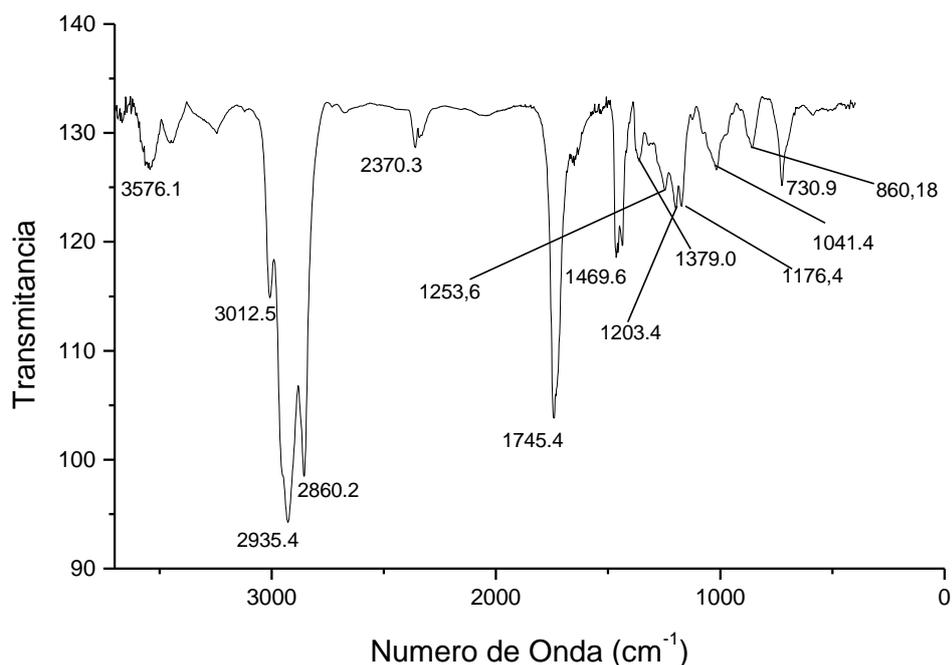


Figura 20 – Espectro na região do infravermelho da amostra de biodiesel de mamona metílico.

Tabela 15 – Valores de frequência de vibração região do IV e correspondentes grupos estruturais da amostra de biodiesel de mamona metílico.

Número de Onda (cm ⁻¹)	Intensidade	Atribuição
3566,1	Fraca	O-H
3012,5	Fraca	CH ₂ , CH ₃
2935,4	Muito Forte	CH ₂ , CH ₃
2860,2	Muito Forte	CH ₂ , CH ₃
2370,3	Fraca	-
1745,4	Forte	C = O
1469,6	Média	CH ₂
1379,0	Muito Fraca	C-O
1253,6	Muito Fraca	C-O
1203,4	Fraca	C-O
1176,4	Muito Fraca	C-O
1041,4	Fraca	C-O
730,9	Fraca	CH ₂

No espectro do biodiesel metílico de mamona estão presentes três bandas de número de onda 1253,6; 1203,4 e 1176,4 cm⁻¹ e no espectro do óleo vegetal uma banda com

baixa intensidade em $1174,5\text{ cm}^{-1}$, referentes à vibração de estiramento acoplado da ligação C-O, características da função éster.

Observou-se nos espectros do óleo e do biodiesel de mamona, uma banda de forte intensidade referente à deformação axial da ligação C = O de ésteres de ácidos graxos com números de onda $1749,3$ e $1745,4\text{ cm}^{-1}$, respectivamente.

Três bandas de forte intensidade na região compreendida entre 2800 e 3012 cm^{-1} estão presentes no espectro do biodiesel metílico de mamona e são atribuídas às vibrações de estiramento assimétrico e simétrico do grupo metileno (CH_2). No espectro do óleo vegetal estas deformações apresentam baixa intensidade.

Os espectros do óleo vegetal e do biodiesel de mamona, apresentaram na região compreendida entre 3100 e 3600 cm^{-1} , vibrações de estiramento do grupo O-H atribuída à presença de umidade e à estrutura do ácido ricinoléico, constituinte majoritário do óleo de mamona.

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados da análise de variância, os dois métodos avaliados estão ajustados ao modelo linear.

Os métodos apresentaram índices de recuperação aceitáveis e boa precisão com baixos valores de coeficiente de variação: 3,7682 % (Método Cromatográfico) e 7,9368 % (Método Espectrofotométrico).

Observou-se que os dois métodos possuem sensibilidade para determinar traços de glicerina livre no biodiesel, abaixo de 200 mg/L, valor recomendado como limite máximo para a glicerina livre em biodiesel segundo a ANP.

Foi observada uma diferença na concentração das amostras de biodiesel metílico e etílico, com exceção do biodiesel de babaçu etílico, analisadas pelos dois métodos. Este resultado é consequência de usar na avaliação dos métodos somente biodiesel etílico de babaçu como matriz, sugerindo uma nova avaliação dos métodos para a análise do biodiesel das outras oleaginosas.

O método cromatográfico não é adequado para a análise de glicerina livre no biodiesel de mamona, devido à presença do ricinoleato como composto majoritário, a hidroxila ligada ao carbono 12 desse composto pode ser silanizada consumindo o agente derivatizante (BSTFA) necessário para silanizar a glicerina e o padrão interno (etilenoglicol).

REFERÊNCIAS-

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. Projeto 00.001062-004: Determinação de glicerina total e do teor de triglicérides em biodiesel de mamona. Disponível em: www.abnt.org.br, nov. 2005.

ANP – Agência Nacional do Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis. Capacidade Autorizada de Plantas Produtoras de Biodiesel. Disponível em: http://www.anp.gov.br/petro/capacidade_plantas.asp Acesso em: set/2006.

ANP – Agência Nacional do Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução nº 42, de 24 de novembro de 2004. Diário Oficial da União, ed. 236, 9 de dezembro de 2004.

ASTM D 6584. Test method for determination of free and total glycerol in B 100 biodiesel methyl esters by gas chromatography. ASTM International. Available in: www.astm.org

BEHR, A. & OBENDORF, L. Development of a process for the acid-catalyzed etherification of glycerol and isobutene forming glycerol tertiary butyl ethers. **Engeneering in Life Sciences**, volume 2, Issue 7, pages 185-189, 2003.

BILICH, F.& SILVA, R. da. Análise do potencial brasileiro na produção de biodiesel. Disponível em: <http://www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/agricultura/AnalisePotencial.pdf>. Acesso em: dez / 2006.

BONDIOLI, P. & BELLA, L. D. An alternative spectrophotometric method for the determination of free glycerol in biodiesel. **Eur. J. Sc. Technol.**, v. 107, p. 153-157, 2005.

BONDIOLI, P; MARIANI, C; LANZANI, A.; FEDELI, E. and VERONESE, E. Vegetable oil derivatives as diesel fuel substitutes. Analytical aspects. Note 2: determination of free glycerol. **La Revista Italiana Delle Sostanze Grasse**, v. 69, p. 7-9, 1992.

BOX, G. E. P. & WENTZ, J. Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function. In: BRUNS, Roy. E. et. al. Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. Campinas: Unicamp, 2001.

BRITO. N. M. Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão. Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente, Curitiba, v. 13, p 129-146, jan / dez, 2003.

BROSSMER, C. & DIETRICH, A. Process for the production of 1,3-propanediol. **USPTO Patent Full**. Patent nº 6,140,543, 2000.

CALDEIRA, A. & MOTA, C. Reações de conversão de glicerina a intermediários petroquímicos. Apresentação no Workop MCT. Disponível em: www.biodiesel.gov.br/rede.html. Acesso em: marc. 2006.

CAMERON, Douglas C. & KOUTSKY, James A. Conversion of glycerol from soydiesel production to 1,3 – propanediol. Final Report National Biodiesel Development Board, 1994.

CAULCUTT, R. & BODDY, R. Statistics for analytical chemists. **Chapman and Hall Ltda**, 1983.

CENPES - Determinação de glicerina livre em biodiesel por cromatografia em fase gasosa. Diário Oficial da União, ed. 236, Ministério de Minas e Energia, Agencia Nacional do Petróleo, Resolução nº. 42, Anexo B, Capítulo 1, 2004.

CHIARANDA, M.; JUNIOR ANDRADE, A. M. A.; OLIVEIRA, G. T.; VIAN, C. E. de Freitas. A produção de biodiesel no Brasil e aspectos do PNPB. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

COLETTI, R. A. Biodiesel: Combustível renovável e ambientalmente correto. BiodieselBR. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/destaques/2005/combustivel-renovavel.htm>>. Acesso em: dez / 2006.

COLLABORATIVE BIODIESEL TUTORIAL. Bebbleshooting Biodiesel & Emulsion. Disponível em: <www.localb100.com/cbt/bubblewashingbiodiesel>. Acesso em: jan / 2007.

ECOÓLEO. Disponível em: <www.biodieselecooleo.com.br/biodiesel/biodiesel.htm>. Acesso em: nov. 2005.

EMBRAPA. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=294&cod_pai=17>. Acesso em: jan. 2007

EN 14105. Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of free and total glycerol and mono-, di-, triglyceride contents (Reference Method). European Committee for Standardization, 2003.

EPA - United States Environmental Protection Agency: Unregulated Contaminant Monitoring Regulation Analytical Methods and Quality Control Manual. EPA 815 -R-00-006, 2000.

GERPEN, J. V. Biodiesel production and fuel quality. Disponível em: <<http://www.uidaho.edu/bioenergy/biodieselED/publication/01.pdf>>. Acesso em: jan / 2007.

GREEN, J. M. A practical guide to analytical method validation. **Analytical Chemistry**, v. 68, P. A 305, 1996.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; Orientações sobre validação de métodos de ensaios, DOQ-CGCRE-008, 2003.

ISO 8466-1: 1990. Water Quality - Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics. Part 1- Statistical evaluation of the linear calibration function. Switzerland, p.8, 1990.

KRETSCHMANN, J.; CARDUCK, F. J.; DECKWER, W. D.; TAG, C.; BIEBL, H. Fermentive production of 1,3-propanediol. **USPTO Patent Full**. Patent nº 5,254,467, 1993.

KURBANOĞLU, E. B. & KURBANOĞLU, N. I. The Use of Ram Horn Hydrolysate as a Supplement for Glycerol Production by Yeast. **Turk J Biol**, v. 28, p. 117-122, 2004.

LEMKE, D. W. Processes for preparing linear polyglycerols and polyglycerol esters. **USPTO Patent Full**. Patent nº 6,620,90), 2003.

LIMA, Paulo César Ribeiro. Biodiesel: Um novo combustível para o Brasil, Brasília (DF): Consultoria Legislativa, Fev. 2005.

LOUZEIRO, H. C. & SILVA, F. C. Método para analisar BTEX em gasolina usando MEFS / CG / EM. Monografia (Graduação em Química Licenciatura). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2003.

MARQUES, G.& SÁ, A. de. Maranhão rumo à produção de biodiesel. **Revista Inovação** Ano I, FAPEMA, jan. 2006.

MCT-Ministério da Ciência e Tecnologia. Efeito Estufa e a Convenção sobre Mudança do Clima. Gabinete do Ministro: Coordenação de Pesquisa em Mudanças Globais, Set. 1999.

MEIRELLES, Fábio de Salles. Biodiesel. Brasília, set. 2003.

MENÉNDEZ, J.C. F.; SANCHEZ M, L. F.; URA, J. E. S.; MARTNEZ, E. F.; SANZ-MEDEL A. Static Headspace, Solid-Phase Microextraction and Headspace Solid-Phase Microextraction for BTEX Determination in Aqueous Samples by Gas Chromatography. **Analytica Chemical Acta**, v. 415, p. 9–20, 2000.

MITTELBAACH, M. Diesel fuel derived from vegetable oils, v[1]: Gas chromatographic determination of free glycerol in transesterified vegetable oils. **Chromatographia**, v. 37, n.11/12, p.623-626, 1993.

NAE - Núcleo de Assuntos Estratégicos da Presidência da República. - Cadernos nº. 2: Biocombustíveis. Brasília: NAE, Secretaria de Comunicação de Governo e Gestão Estratégica, jan 2005.

NEHER, Armin; HAAS, T.; ARNTZ, D.; KLENK H.; GIRKE, W. Process for the production of acrolein. **USPTO Patent Full**. Patent nº 5,387,720, 1995.

NOUREDDINI; Hossein. System and process for producing biodiesel fuel with reduced viscosity and a cloud point below thirty-two (32) degrees Fahrenheit. **USPTO Patent Full**. Patent nº 6,174,501, p. 4-14, 2001.

OKUTSU, M. KITSUKI, T. Process for the preparation of glycerol carbonate. **USPTO Patent Full**. Patent nº. 6,495,703, 2002.

OLIVEIRA, L. B.; COSTA, A. O. da. Biodiesel: uma experiência de desenvolvimento sustentável. Disponível em: < <http://www.ivig.coppe.ufrj.br/doc/biodiesel.pdf>>. Acesso em: dez / 2006

PIMENTEL, M. F. & NETO, B. de Barros. Calibração: Uma revisão para químicos analíticos. **Química Nova**, v. 19, n. 3, p 268-277, 1996.

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

QUAGLIO, Claudinei Luiz. Carbonatos Orgânicos – Uma nova classe de solventes biodegradáveis. Disponível em: <www.carbono.com.br/artigo/p4.htm>. Acesso em: marco/2006.

REN 21 - Renewable Energy Policy Network for the 21st Century. Renewables Global Status Report, 2006 Update. Disponível em: <www.ren21.net>. Acesso em: set/2006.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v 27, n 5, p 771-780, 2004.

SANTOS, E. O. dos. Contribuição ao estudo do dióxido de carbono dentro da Floresta Amazônica. Dissertação (Mestrado em Ciências em Engenharia Mecânica). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

SILVA, C. L. M. da. Obtenção de ésteres etílicos a partir da transesterificação do óleo de andiroba com etanol. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

SILVA, F. C. & CARDEAL, Z. L. Desenvolvimento de métodos para análises de agrotóxicos organofosforados e organoclorados em água e solo utilizando as técnicas de extração MEFS, EFS e análises por CG / DNF, CG / DSM. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

SILVA, F. C. & LACERDA, F. B. Estudo e otimização do processo de produção de biodiesel etílico, obtido pela transesterificação do óleo vegetal de babaçú (*Orbignya Martiana*). Monografia (Graduação em Química Industrial). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2004.

SILVA, M. H. P. & ARAÚJO, H. Agroextrativismo: uma alternativa sustentável para a produção familiar na região dos babaçuais. **Agriculturas**, v. 1, no 1, novembro de 2004.

SYLVAIN, Claude, MOULOUGUI, Z.; YOO, J. W.; GASET, A. Method for Preparing glycerol carbonate. **United States Patent**, Patent n° 6, 025, 504, 2000.

TANIMOTO, M. NAKAMURA, D.; YUNOKI, H. Complex oxide catalyst and process for preparation of acrylic acid. **USPTO Patent Full**. Patent n ° 6,545,177, 2003.

TYSON, K. Shaine, - NREL, Biodiesel R&D Potential, Presentation at the Montana Biodiesel Workshop, October 8, 2003.

UNIAMERICA, Informe semanal. Disponível em: <<http://www.uniamericabrasil.com.br/portugues/informe.php>>. Acesso em: dez / 2006

UNITED NATIONS. Kyoto Protocol to the United Nations Framework Convention on Climate Change. Disponível em: < http://unfccc.int/kyoto_protocol/items/2830.php>. Acesso em: dez / 2006.

VIEVILLE, C. YOO, J.W.; PELET, S.; MOULOUGUI, Z. Synthesis of glycerol carbonate by direct carbonatation of glycerol in supercritical CO₂ in the presence of zeolites and ion exchange resins. **Catalysis Letters**, v. 56, p. 245-247, 1998.

WOOD, Roger. How to validate analytical methods. **Trends in analytical chemistry**, v. 18, p. 624-632, 1999.