

QUANTIFICAÇÃO DE MISTURAS BIODIESEL:DIESEL: DESENVOLVIMENTO, VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DE UMA NOVA METODOLOGIA EMPREGANDO CROMATOGRAFIA GASOSA-ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Rita de Cassia de Moraes Faria¹ (IQ/UFRJ), Michelle Jakeline Cunha Rezende² (IQ/UFRJ), Angelo da Cunha Pinto³ (IQ/UFRJ)

¹Centro de Tecnologia, Bloco A, Sala 621, Ilha do Fundão, 21949-900, RJ, ritinhafaria@yahoo.com.br

²Centro de Tecnologia, Bloco A, Sala 621, Ilha do Fundão, 21949-900, RJ, mjcrezende@gmail.com

³Centro de Tecnologia, Bloco A, Sala 621, Ilha do Fundão, 21949-900, RJ, angelo@iq.ufrj.br

Nos últimos anos, a utilização de biodiesel como combustível vem apresentando potencial promissor no mundo inteiro. Em primeiro lugar, pela sua contribuição ao meio ambiente, com a redução qualitativa e quantitativa dos níveis de poluição ambiental. Em segundo lugar, como fonte estratégica de energia renovável em substituição ao óleo diesel. No cenário brasileiro, o seu uso pode também reduzir a dependência de importação deste combustível.

A Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, entrou em vigor em janeiro de 2006 e implementa a adição mínima obrigatória de 2 % de biodiesel ao óleo diesel. Neste contexto, a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, que é o órgão regulador, aponta para a necessidade de se avaliar a qualidade desta mistura a partir da realização de análises laboratoriais e emissão de boletim de conformidade. Em função disto, o desenvolvimento de metodologias para análise de misturas biodiesel:diesel passa a ser um recurso estratégico no controle de qualidade do combustível a ser disponibilizado nos postos de abastecimento.

Este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar uma metodologia de análise de misturas biodiesel:diesel empregando Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas no modo de análise por Monitoramento Seletivo de Íons. A faixa de concentração estudada foi de 0,5 a 5 % de biodiesel. Os limites de detecção e quantificação fornecidos pela análise foram de 0,004 % e 0,01 % de biodiesel, respectivamente. Logo, o método se mostrou viável uma vez que o teor de biodiesel nas misturas biodiesel:diesel a serem analisadas pode ser quantificado bem abaixo do valor autorizado pelo Governo. Além disto, o método de quantificação proposto apresentou uma boa recuperação, visto que para uma mistura de 1,9 % de biodiesel em diesel, o erro relativo foi inferior a 9 %. O estudo de repetitividade foi realizado por 3 analistas. O desvio padrão relativo manteve-se inferior a 2 % em toda a faixa de trabalho para os analistas AN2 e AN3 e, no caso do analista AN1, este valor foi inferior a 1 %, indicando uma boa precisão dos resultados. O estudo da precisão intermediária mostrou a necessidade de analistas com o mesmo nível de treinamento para a execução das análises.

Além do controle de qualidade do combustível, esta metodologia pode ser aplicada em estudos de estabilidade da mistura e de condições adequadas de estocagem. Uma avaliação preliminar das condições de estocagem do combustível mostrou que após o 11º dia, a amostra exposta à luz e mantida a temperatura ambiente foi a que teve a maior formação de produtos de degradação.

biodiesel, diesel e cromatografia

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a utilização de biodiesel como combustível vem apresentando potencial promissor no mundo inteiro. Em primeiro lugar, pela sua enorme contribuição ao meio ambiente, com a redução qualitativa e quantitativa dos níveis de poluição ambiental. Em segundo lugar, como fonte estratégica de energia renovável em substituição ao óleo diesel. No cenário brasileiro, o seu uso pode também reduzir a dependência de importação deste combustível.

Em 2004, foi lançado no Brasil o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel. A Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira. A Lei entrou em vigor a partir de janeiro de 2006 e implementa a adição obrigatória de 2% de biodiesel ao óleo diesel. Neste contexto, a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), que é o órgão regulador, aponta para a necessidade de se avaliar a qualidade desta mistura a partir da realização de análises laboratoriais e emissão de Boletim de Conformidade. Em função disto, o desenvolvimento de metodologias para análise de misturas biodiesel:diesel passa a ser um recurso estratégico no controle de qualidade do combustível a ser disponibilizado nos postos de abastecimento.

Dentre as ferramentas analíticas disponíveis para identificação e quantificação de compostos em misturas pode-se destacar a Cromatografia Gasosa de Alta Resolução acoplada à Espectrometria de Massas (CGAR-EM), a Espectroscopia na Região do Infra-Vermelho (IV) e do Ultra-Violeta (UV) e a Ressonância Magnética Nuclear (RMN). A partir de uma pesquisa bibliográfica foi constatada a ausência de artigos que utilizasse CGAR-EM

como ferramenta para análise de misturas biodiesel:diesel. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar uma metodologia de análise de misturas biodiesel:diesel empregando CGAR-EM no modo de análise por Monitoramento Seletivo de Íons (MSI). Além do controle de qualidade do combustível, o desenvolvimento desta metodologia pode ser empregado no estudo de estabilidade da mistura e estudo das condições adequadas de estocagem.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Em maio de 2007 foi realizada uma consulta à base de dados *Chemical Abstracts* a fim de verificar a existência de trabalhos voltados para a aplicação das técnicas de CGAR-EM, IV, UV e RMN na análise de misturas biodiesel:diesel. O acesso forneceu aproximadamente 2647 referências utilizando biodiesel como tópico de pesquisa. Em seguida, a ferramenta de refino foi aplicada neste conjunto de referências utilizando, separadamente, *chromatography*, *infrared*, *nmr* e *ultra violet* como palavras-chave. O resultado da pesquisa selecionou 115, 52, 30 e 21 referências para cada palavra-chave, respectivamente. A partir da leitura cuidadosa deste conjunto de referências, pode-se constatar que somente 5 publicações tinham como objetivo analisar misturas biodiesel:diesel. Um artigo utiliza a cromatografia líquida com detector UV (FOGLIA *et al.*, 2005), três trabalhos empregam a técnica de IV (OLIVEIRA *et al.*, 2006; PIMENTEL *et al.*, 2006; ALISKE *et al.*, 2007) e o último compara a técnica de IV com RMN (KNOTHE, 2001). Com relação às demais publicações, nenhuma apresentou como objetivo central a análise de biodiesel em diesel, a grande maioria utilizava estas técnicas para o acompanhamento da produção de biodiesel.

3. METODOLOGIA

3.1 Síntese e purificação do padrão interno

O propanoato de pentadecanoíla foi o composto selecionado para uso como padrão interno (PI) na quantificação das misturas biodiesel:diesel por CGAR-EM-MSI. A síntese do éster foi realizada conforme descrito por REZENDE *et al.*, (2005). A pureza do padrão interno (>99 %) foi determinada por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução com Detector de Ionização por Chama (CGAR-DIC).

3.2 Instrumentação e condições cromatográficas

As análises por CGAR-EM foram realizadas em cromatógrafo Agilent modelo 6890 acoplado a um detector de massas Agilent modelo 5973 com ionização por impacto de elétrons a 70 eV. A coluna capilar utilizada foi DB-1 HT (composição-apolar) de 15 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,10 µm de espessura de fase. O gás de arraste utilizado foi hélio (1,7 mL/min) e a pressão na cabeça da coluna foi de 8 psi. O volume de injeção foi 1,0 µL com divisão de fluxo de 1:20. A temperatura inicial do forno foi de 80 °C seguida por três rampas de aquecimento: a primeira taxa de aquecimento foi de 10 °C/min até 150 °C; a segunda de 5 °C/min até 200 °C e a última de 15 °C/min até 300 °C permanecendo nesta temperatura por 5 min. O tempo total de corrida foi 28,7 min. O injetor foi operado a 290 °C e a interface a 300 °C. As medidas quantitativas foram realizadas no modo MSI. Os íons monitorados e os tempos de retenção dos compostos estão apresentados na Tabela 1. O modo SCAN, na faixa de massa de 40 a 500 Daltons, foi utilizado para confirmação dos espectros de massas.

Tabela 1. Tempos de retenção (t_R) e íons selecionados.

Compostos	t_R (min)	Íons característicos (m/z)
Propanoato de pentadecanoíla	10,30	182 / 210 / 255
Linoleato de metila	11,49	220 / 262 / 263

Íons para análise quantitativa em negrito.

3.3 Avaliação de interferentes

Para verificar possíveis interferentes no método proposto, a matriz diesel foi diluída em acetato de etila na razão 1:10 e em seguida analisada por CGAR-EM no modo MSI. Foram monitorados os íons de m/z 182, m/z 210 e m/z 255, referentes ao propanoato de pentadecanoíla, e de m/z 220, m/z 262 e m/z 263, referentes ao linoleato de metila.

3.4 Preparo das amostras padrão para curva de calibração

Foram construídas três curvas padrão, sendo cada uma, realizada por um analista diferente (AN1, AN2 e AN3). Cada curva foi constituída por seis pontos e, cada ponto, foi analisado em triplicata. As amostras padrão

foram preparadas a partir de um volume conhecido (25, 50, 75, 100, 150 e 250 μL) da solução estoque de linoleato de metila 5000 mg.L^{-1} , 50 μL de diesel e 100 μL da solução estoque de padrão interno 2000 mg.L^{-1} . O volume final foi completado até 500 μL com acetato de etila.

3.5 Preparo das misturas biodiesel:diesel para o estudo de recuperação

O biodiesel foi preparado a partir da reação de transesterificação do óleo de soja com metanol na razão molar óleo:álcool 1:9 e utilizando 3 mol % de carbonato de potássio como catalisador. A mistura foi mantida sob refluxo e agitação constante por 3 horas. Os ésteres metílicos foram isolados após neutralização do meio reacional, seguida de extração com acetato de etila e lavagens com água destilada. A fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio anidro, filtrada e em seguida evaporada. A conversão em ésteres metílicos (99 %) foi calculada por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) conforme descrito por GELBARD *et al.* (1995). A análise do biodiesel por CGAR-DIC mostrou a presença de 57,2 % de linoleato de metila no biocombustível.

Para o estudo de recuperação, foram selecionadas três concentrações diferentes de biodiesel em diesel (B0,7, B1,9 e B4,3), dentro da faixa de trabalho do método proposto. Para cada concentração foram preparadas três misturas de biodiesel:diesel. Cada amostra a ser analisada foi composta por 50 μL da mistura correspondente, 100 μL da solução estoque de padrão interno 2000 mg.L^{-1} e 350 μL de acetato de etila. Foram preparadas 9 amostras e, cada uma, foi analisada em triplicata. Vale ressaltar que as concentrações selecionadas para o estudo da recuperação foram diferentes das concentrações estabelecidas para construção das curvas de calibração.

4. RESULTADOS

4.1 Desenvolvimento do método cromatográfico

Em virtude da complexidade da matriz diesel, o método foi desenvolvido no modo de análise por monitoramento seletivo de íons. Esta técnica é frequentemente aplicada para misturas de compostos onde é requerida uma análise quantitativa mais sensível e específica (BARKER, 1999).

O éster linoleato de metila (LIN) foi selecionado para o monitoramento e quantificação do biodiesel presente nas misturas biodiesel:diesel. O ácido linoleico está presente majoritariamente em diversos óleos vegetais, dentre eles, óleo de soja (53-55%), óleo de milho (57-60%), óleo de algodão (55-57%) e óleo de girassol (68-73%) (GOERING *et al.*, 1982). Esta foi a principal motivação para a escolha deste éster no desenvolvimento deste primeiro estudo.

A quantificação foi realizada pelo método de padronização interna, empregando propanoato de pentadecanoíla como padrão interno. Este composto é diferente de qualquer éster graxo oriundo de óleo vegetal (REZENDE *et al.*, 2005). Adicionalmente, possui boa estabilidade e tempo de retenção distinto do analito, ou seja, do linoleato de metila. A partir dos espectros de massas do linoleato de metila e do propanoato de pentadecanoíla, apresentados na Figura 1, foram selecionados três íons característicos de cada éster para caracterização. Após esta seleção, os picos correspondentes ao padrão interno e ao linoleato de metila foram confirmados pela injeção em diesel, em diferentes concentrações.

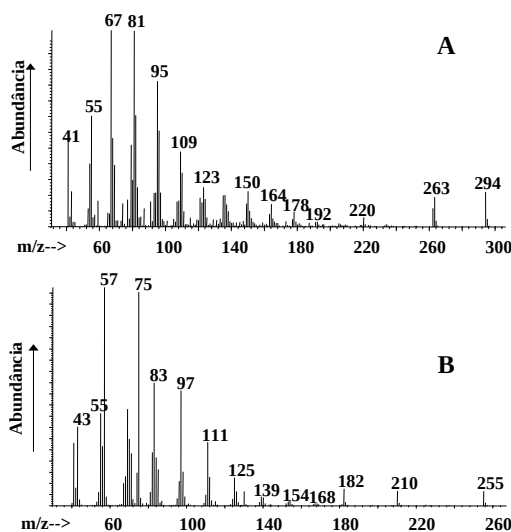


Figura 1. Espectros de massas: A) linoleato de metila e B) propanoato de pentadecanoíla.

4.2 Validação do método proposto

A validação do método foi realizada a partir da análise dos seguintes critérios de desempenho: análise de interferentes, linearidade, limite de detecção e quantificação, exatidão e precisão. Os testes estatísticos utilizados incluíram a análise de resíduo, o teste de *Grubbs* e o teste de *Cochran*. A exatidão foi avaliada por ensaios de recuperação e a precisão foi avaliada por estudo de repetitividade e precisão intermediária a partir da comparação entre as variâncias obtidas por três analistas. Este estudo foi realizado baseando-se nas orientações sobre validação descritas por RIBANI *et al.*, (2004) e FERNANDES (2004). A seguir serão apresentados os resultados de cada critério de desempenho.

4.2.1 Determinação de Interferentes

Para avaliar a presença de interferentes no método, o diesel puro foi analisado por CGAR-EM-MSI. O objetivo desta caracterização foi detectar na matriz, compostos que possam apresentar os íons selecionados para quantificar o linoleato de metila e o padrão interno. A Figura 2 apresenta o cromatograma dos íons m/z 255 e m/z 263 do diesel analisado.

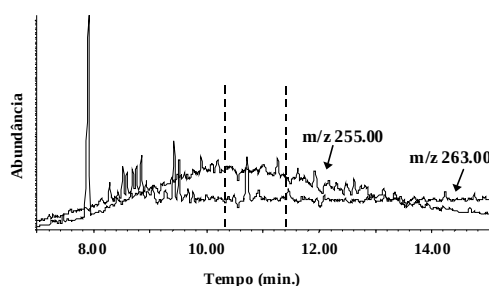


Figura 2. Cromatograma CGAR-EM-MSI m/z 255 e m/z 263 do diesel.

O cromatograma mostra que o diesel não possui interferentes nos tempos de retenção do propanoato de pentadecanoíla e do linoleato de metila (linhas tracejadas), ou seja, os registros dos íons de m/z 255 e m/z 263 nos cromatogramas das misturas biodiesel:diesel não pertencem ao diesel, mas sim aos ésteres em questão.

4.2.2 Determinação da faixa de trabalho

A seleção da faixa de trabalho foi realizada com base na proposta do governo brasileiro de implementação da mistura B2 (2 % de biodiesel em diesel). A faixa de trabalho selecionada foi de 250 a 2500 mg.L^{-1} de linoleato de metila. Nesta faixa, o método permite a quantificação de 0,5 a 5 % de biodiesel.

4.2.3 Avaliação da linearidade

As curvas de calibração dos analistas AN1, AN2 e AN3 foram construídas a partir de 6 pontos em triplicata, nas concentrações de 250 a 2500 mg.L^{-1} de linoleato de metila e 400 mg.L^{-1} do padrão interno em diesel.

Uma sequência de ajustes e testes estatísticos foram aplicados aos dados experimentais obtidos. Os dados foram ajustados ao modelo de regressão linear ($y = a + bx$), sendo submetidos ao teste de *Grubbs*, que se destina a verificar valores aberrantes. De acordo com o teste, nenhum valor foi descartado com 95 % de confiança. Em seguida, as curvas de calibração foram submetidas ao teste de *Cochran* para avaliar o desvio bilateral das variâncias a um nível de significância de 5 %. Este teste designa-se a avaliar a homogeneidade das variâncias, o que permite utilizar a curva de calibração obtida com um limite de confiança aceitável. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4 para as curvas obtidas pelos analistas AN1, AN2 e AN3, respectivamente.

Os valores de *Cochran* calculados foram inferiores ao valor de *Cochran* tabelado, mostrando variâncias homogêneas conforme o aumento da concentração. Este resultado indica que ao longo da faixa de concentração estudada o modelo tem um comportamento homocedástico. Como o teste mostrou que as variâncias são estatisticamente equivalentes, as curvas de calibração foram determinadas através de regressão linear. A Tabela 5 apresenta as equações das retas e os valores de R^2 obtidos para cada analista.

Para verificar a eficiência do modelo de regressão linear proposto foram analisados os gráficos de resíduo das três curvas de calibração. O resíduo foi calculado através da diferença entre o valor observado e o valor calculado pela equação da reta de regressão para cada valor de concentração de linoleato de metila. Esta análise corroborou a conclusão do teste de *Cochran*, que indicou o método como homocedástico na faixa de concentração estudada.

Tabela 2. Resultado do teste de *Cochran* para o analista AN1.

	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5	Ponto 6
$\bar{x}$	0,9153	1,7429	2,5259	3,3541	4,9763	8,2743
s	0,0048	0,0076	0,0166	0,0268	0,0390	0,0169
s ²	0,0231e-03	0,0585e-03	0,2754e-03	0,7162e-03	1,5183e-03	0,2862e-03
DPR	0,5248	0,4390	0,6570	0,7979	0,7830	0,2045
$\sum s^2$			0,0029			
C _{cal}			0,5276			
C _{tab}			0,6160			

$\bar{x}$: valor médio de Área LIN/Área PI; s: desvio padrão; s² variância; $\sum s^2$: somatório das variâncias; DPR: desvio padrão relativo; C_{cal} e C_{tab}: valor calculado e tabelado, respectivamente, de *Cochran* (95% de confiança).

Tabela 3. Resultado do teste de *Cochran* para o analista AN2.

	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5	Ponto 6
$\bar{x}$	0,8860	1,7125	2,5007	3,2551	4,7611	7,7456
s	0,0133	0,0230	0,0199	0,0346	0,0131	0,0113
s ²	0,1775e-03	0,5307e-03	0,3964e-03	1,1947e-03	0,1725e-03	0,1285e-03
DPR	1,5037	1,3452	0,7962	1,0619	0,2759	0,1464
$\sum s^2$			0,0026			
C _{cal}			0,4595			
C _{tab}			0,6160			

$\bar{x}$: valor médio de Área LIN/Área PI; s: desvio padrão; s² variância; $\sum s^2$: somatório das variâncias; DPR: desvio padrão relativo; C_{cal} e C_{tab}: valor calculado e tabelado, respectivamente, de *Cochran* (95% de confiança).

Tabela 4. Resultados do teste de *Cochran* para o analista AN3.

	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5	Ponto 6
$\bar{x}$	0,8909	1,6683	2,4583	3,1602	4,6943	7,6388
s	0,0103	0,0246	0,0043	0,0099	0,0249	0,0409
s ²	0,1063e-03	0,6054e-03	0,0189e-03	0,0998e-03	0,6228e-03	1,6710e-03
DPR	1,1573	1,4749	0,1770	0,3162	0,5316	0,5351
$\sum s^2$			0,0031			
C _{cal}			0,1993			
C _{tab}			0,6160			

$\bar{x}$: valor médio de Área LIN/Área PI; s: desvio padrão; s² variância; $\sum s^2$: somatório das variâncias; DPR: desvio padrão relativo; C_{cal} e C_{tab}: valor calculado e tabelado, respectivamente, de *Cochran* (95% de confiança).

4.2.4 Determinação dos limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados pelo método da relação sinal-ruído que pode ser aplicado somente em procedimentos que mostram o ruído da linha base. A relação sinal-ruído utilizada para o cálculo do LD e do LQ foi 3:1 e 10:1, respectivamente. Os limites de detecção e quantificação fornecidos pela análise foram de 2 e 5 mg.L⁻¹ de linoleato de metila, respectivamente. Considerando que o diesel foi diluído em uma razão 1:10 para minimizar o efeito da matriz, o limite de quantificação do método corresponde a uma concentração de linoleato de metila de 50 mg.L⁻¹ na mistura biodiesel:diesel.

Tabela 5. Dados das curvas de calibração dos analistas AN1, AN2 e AN3.

Analistas	Equação	R ²
AN1	$Y = 1,3629X + 0,0908$	0,9999
AN2	$Y = 1,2653X + 0,1896$	0,9997
AN3	$Y = 1,2484X + 0,1753$	0,9998

Y = área LIN/área PI;

X = concentração LIN/concentração PI.

A quantificação do biodiesel presente no diesel, entretanto, é realizada em função do óleo vegetal empregado para sua produção, ou seja, com base na concentração de éster linoleico presente na matéria-prima. O cálculo de quantificação do biodiesel presente na mistura biodiesel:diesel será mais detalhado a seguir, no estudo de recuperação.

4.2.5 Avaliação da precisão por estudo de repetitividade e precisão intermediária

Neste trabalho a precisão foi avaliada em função da repetitividade e precisão intermediária. Para avaliar a precisão do método proposto, três analistas (analistas AN1, AN2 e AN3), em dias diferentes, realizaram, no mesmo aparelho, o procedimento para construção de três curvas de calibração na mesma faixa de concentração. A repetitividade foi avaliada a partir da estimativa do desvio padrão relativo (DPR) para cada analista. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4, já citadas anteriormente. Pode-se observar que o DPR obtido pelo analista AN2 foi inferior a 2 % em toda faixa de trabalho. O mesmo comportamento foi observado para o analista AN3, onde o desvio também foi inferior a 2 %. No caso do analista AN1 este desvio padrão relativo ficou abaixo de 1 %.

Para verificar a precisão intermediária do método, foi feito um estudo comparativo das variâncias das retas obtidas pelos analistas AN1, AN2 e AN3. Para esta avaliação foi utilizada a ANOVA de fator duplo com repetição (Tabela 6) que compara as variâncias das curvas de calibração obtidas pelos três analistas. O objetivo deste estudo foi verificar se o método fornece os mesmos resultados para analistas diferentes.

Ao comparar as variâncias dos pontos das curvas de calibração obtidas pelos três analistas foi verificado um valor de F calculado maior que F tabelado e, com isso, pode-se concluir que existe variação entre os analistas. Isto se deve aos diferentes graus de treinamento entre os mesmos. Logo, para que não ocorra variação no resultado final da análise devido a mudança de analista é necessário o mesmo nível de treinamento entre eles.

Ao comparar também as variâncias entre os pontos das curvas de calibração de um mesmo analista foi obtido um F calculado maior que o F tabelado. Esta variação ocorreu devido ao espaçamento não homogêneo entre as concentrações dos pontos das curvas.

Como foi constatada a diferença nos resultados devido a mudança de analista, os cálculos do estudo da recuperação e estocagem foram efetuados com a curva de calibração do analista AN1, pois foi este analista que realizou as análises.

4.2.6 Avaliação da exatidão por estudo de recuperação

A recuperação do método foi avaliada a partir de amostras preparadas com biodiesel de óleo de soja misturado ao óleo diesel nas concentrações B0,7, B1,9 e B4,3. Para cada concentração foram preparadas três amostras e estas foram analisadas em triplicata.

A partir do método desenvolvido foi determinada a concentração de linoleato de metila presente em cada amostra. Considerando que o éster compreende 57,2 % do biodiesel utilizado no preparo das amostras, foi calculada a quantidade do biocombustível presente nas mesmas. A Tabela 7 apresenta os resultados obtidos.

O erro relativo encontrado variou de 5 a 18 %. A recuperação variou de 82 a 94 %. Para as amostras B0,7 e B1,9 o erro relativo foi menor que 9 % enquanto que para as amostras B4,3 este erro variou de 16,9 a 18,0 %. Esta diferença ocorreu devido ao espaçamento não constante entre as concentrações selecionadas para este estudo. Assim, pode-se concluir que o método de quantificação proposto apresentou uma boa recuperação para concentrações de biodiesel em diesel próximas a determinada pelo governo (B2).

Tabela 6. Resultado da ANOVA.

ANOVA	ponto 1	ponto 2	ponto 3	ponto 4	ponto 5	ponto 6	Total
AN1							
Contagem	3	3	3	3	3	3	18
Soma	2,7333	5,2305	7,6173	10,0232	14,9063	24,928	65,4386
Média	0,9111	1,7435	2,5391	3,3411	4,9688	8,3093	3,6355
Variância	0,0750e-03	0,0520e-03	0,0570e-03	0,0007	0,0360e-03	0,0058	6,3384
AN2							
Contagem	3	3	3	3	3	3	18
Soma	2,6726	5,0049	7,3750	9,4805	14,0828	22,9163	61,5321
Média	0,8909	1,6683	2,4583	3,1602	4,6943	7,6388	3,4184
Variância	0,0001	0,0006	0,0190e-03	0,0001	0,0006	0,0017	5,2731
AN3							
Contagem	3	3	3	3	3	3	18
Soma	2,658	5,1375	7,5021	9,7653	14,2833	23,2369	62,5831
Média	0,8860	1,7125	2,5007	3,2551	4,7611	7,7456	3,4768
Variância	0,0001	0,0005	0,0004	0,0011	0,0002	0,0001	5,4178
Total							
Contagem	9	9	9	9	9	9	
Soma	8,0639	15,3729	22,4944	29,269	43,2724	71,0812	
Média	0,8960	1,7081	2,4994	3,2521	4,8080	7,8979	
Variância	0,0002	0,0014	0,0013	0,0066	0,0156	0,0993	

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Amostra	0,4541	2	0,2270	325,7180	8,8e-24	3,2594
Colunas	288,9580	5	57,7916	82913,3	5e-72	2,4772
Interações	0,5163	10	0,0516	74,0694	6e-21	2,1060
Dentro	0,0251	36	0,0007			
Total	289,9530	53				

4.2.7 Avaliação da Estocagem

A estocagem foi analisada a partir da amostra B1,9 com teor de biodiesel de 1,87 % utilizada no estudo da recuperação. Esta foi dividida em 3 frascos diferentes e submetida a condições diferentes de estocagem (Tabela 8). As três amostras resultantes foram analisadas em triplicata por CGAR-EM/MSI no 5º e 11º dia de estocagem. O resultado obtido a partir do estudo de recuperação desta amostra foi utilizado como o 1º dia de estocagem.

Tabela 7. Resultados da análise de exatidão por recuperação.

Mistura	$\langle A_1 \rangle$	B_{teor}	B_{exp}	Rend. (%)	Erro (%)
B0,7	1,3517	0,75	0,70	93,3	6,6
B0,7	1,3054	0,73	0,67	91,8	8,2
B0,7	1,3596	0,76	0,70	92,1	7,9
B1,9	3,2921	1,87	1,77	94,6	5,3
B1,9	3,3041	1,92	1,78	92,7	7,3
B1,9	3,2605	1,92	1,75	91,1	8,8
B4,3	6,5259	4,27	3,55	83,1	16,9
B4,3	6,4522	4,28	3,51	82,0	18,0
B4,3	6,4985	4,29	3,54	82,5	17,5

* A_1 : área LIN/área PI; $\langle A_1 \rangle$: média das áreas LIN/área PI; B_{teor} : concentração de biodiesel teórica da mistura; B_{exp} : concentração de biodiesel experimental da mistura; Rend.: rendimento.

Tabela 8. Estudo de estocagem.

Amostra	Frasco	Temperatura
E19a	incolor	abaixo de 0 °C
E19b	incolor	ambiente
E19c	âmbar	ambiente

O teor de biodiesel no estudo de estocagem foi calculado conforme descrito no estudo de recuperação. A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos na estocagem.

Tabela 9. Resultado do estudo de estocagem.

Amostra	$\langle A_1 \rangle$	B_{teor}	B_{exp}	% de degradação
B19-1	3,2921	1,87	1,78	
1º dia				
E19a	3,1299	1,87	1,68	5,1
5º dia				
E19a	3,1075	1,87	1,67	5,6
11º dia				
E19b	3,1710	1,87	1,70	3,9
5º dia				
E19b	2,5002	1,87	1,33	24,9
11º dia				
E19c	3,1488	1,87	1,69	4,5
5º dia				
E19c	3,0580	1,87	1,64	7,3
11º dia				

A degradação na amostra E19a foi pequena durante os 11 dias de estudo, indicando que a baixa temperatura favorece a sua conservação. A amostra E19c, protegida da luz, porém a temperatura ambiente apresentou maior porcentagem de degradação após o 11º dia quando comparada a E19a. Pode-se concluir que temperaturas mais elevadas favorecem o processo de degradação até o 11º dia de estocagem. A amostra E19b apresentou porcentagem de degradação bem superior às duas anteriores após o 11º dia de estocagem. Este resultado sugere que a exposição à luz associada a temperatura ambiente contribuem para degradação mais rápida do biocombustível. Neste caso até o 5º dia de estocagem a amostra não apresenta uma porcentagem grande de

degradação, porém no 11º de estocagem a degradação foi elevada já não mais garantindo a qualidade do biocombustível.

5. CONCLUSÃO

Uma metodologia para a quantificação de misturas biodiesel:diesel por CGAR-EM/MSI foi desenvolvida e validada. A metodologia desenvolvida é aplicada para biodiesel oriundo de óleos ricos em ácido linoleico. Como perspectiva, a metodologia será ampliada para biodiesel produzido a partir de outros óleos vegetais de interesse nacional.

Os critérios de desempenho avaliados foram linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão. A faixa de concentração estudada foi de 250 a 2500 mg.L⁻¹ de linoleato de metila. O método se mostrou viável uma vez que o teor de biodiesel nas misturas biodiesel:diesel a serem analisadas mantém-se acima do limite de quantificação determinado. Além disto, o método de quantificação proposto apresentou uma boa recuperação, visto que para uma mistura de biodiesel:diesel B1,9, o erro relativo foi inferior a 9 %. No estudo de repetitividade, o desvio padrão relativo manteve-se inferior a 2 % em toda a faixa de trabalho para os analistas AN2 e AN3 e, no caso do analista AN1, este valor foi inferior a 1 %, indicando uma boa precisão dos resultados. O estudo da precisão intermediária mostrou a necessidade de se trabalhar com analistas que tenham o mesmo nível de treinamento para a realização das análises. No estudo de condições de acondicionamento a amostra mantida a temperatura ambiente e exposta à luz foi a que obteve a maior formação de produtos de degradação. No entanto, todas as amostras podem ficar armazenadas até 5 dias sem perda na qualidade do biocombustível.

6. AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Formação de Recursos Humanos da ANP.

7. REFERÊNCIAS

- ALISKE, M. A.; ZAGONEL, G. F.; COSTA, B. J.; VEIGA, W.; SAUL, C. K. Measurement of biodiesel concentration in a diesel oil mixture. **Fuel**. v. 86, p.1461-1464, 2007.
- BARKER, J. **Mass Spectrometry**. 2nd edition. John Wiley & Sons, 1999.509p.
- FERNANDES, D. R. **Estudo da determinação eletroquímica de enxofre elementar em amostras de nafta**. setembro. 2004. 167p. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica). Orientador: Jussara Lopes de Miranda e Eliane D' Elia Departamento de Química Inorgânica, Instituto de Química, Rio de Janeiro, 2004.
- FOGLIA, T. A.; JONES, K. C.; PHILLIPS J. G. Determination of biodiesel and triacylglycerols in diesel fuel by LC. **Chromatographia**. v.62, p.115-119, 2005.
- GELBARD, G.; BRÉS, O.; VARGAS, R. M.; VIELFAURE, F.; SCHUCHARDT, U. F. ¹H nuclear magnetic resonance determination of the yield of the transesterification of rapeseed oil with methanol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v. 15, n. 10, p.1239-1241, 1995.
- GOERING, C. E.; SCHWAB, A. W.; DAUGHERTY, M. J.; PRYDE, E. H.; HEAKIN, A. J. Fuel properties of eleven oils. **Transactions ASAE**.v.25, n.6, p.1472-1477, 1483, 1982.
- KNOTHE, G. Determining the blend level of mixtures of biodiesel with conventional diesel fuel by fiber-optic near-infrared spectroscopy and ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v.78, n.10, p.1025-1028, 2001.
- OLIVEIRA, J. S.; MONTALVÃO, R.; DAHER, L.; SUAREZ, P. A. Z.; RUBIM, J. C. Determination of methyl ester contents in biodiesel blends by FTIR-ATR and FTNIR spectroscopies. **Talanta**. v.69, n.5, p.1278-1284, 2006.
- PIMENTEL, M. F.; RIBEIRO, G. M. G. S.; CRUZ, R. S.; STRAGEVITCH, L.; PACHECO FILHO, J. G. A.; TEIXEIRA, L. S. G. Determination of biodiesel content when blended with mineral diesel fuel using infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Microchemical Journal**. v.82, p.201-206, 2006.
- REZENDE, M. J. C.; PERRUSO, C. R.; AZEVEDO, D. A.; PINTO, A. C. Characterization of lubricity improver additive in diesel by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal Chromatography**. v.1063, n.1-2 p.211-215, 2005.
- 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.

QUANTIFICATION OF BIODIESEL:DIESEL BLENDS: DEVELOPMENT, VALIDATION AND APPLICATION OF A NEW METHODOLOGY USING GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

In the last years, the use of biodiesel as fuel has presented a promising alternative in the world. It is less aggressive to the environment, with the qualitative and quantitative reduction of the levels of environmental pollution. Besides, it is a strategic source of renewable energy in substitution to diesel. In the Brazilian scenery, its use can also reduce the dependence of importation of this fuel.

The Brazilian Law n. 11.097, published in January 13, 2005, implements the obligatory minimum addition of 2 % of biodiesel to diesel. In this context, the National Agency of Petroleum, Natural Gas and Biofuels, that it is the regulatory institute, shows the necessity of evaluating the quality of this blend. The development of methodologies for analysis of biodiesel:diesel blends is a strategic tool for the quality control of the fuel that will be available in the fuel stations.

The aim of this work was the development and validation of a methodology of analysis of biodiesel:diesel blends using Gas Chromatography- Mass Spectrometry in the Selective Ion Monitoring mode. The concentration range studied was from 0.5 to 5 % of biodiesel. The detection and quantification limits obtained by the analysis were 0.004 % and 0.01 % of biodiesel, respectively. The method was shown viable once the biodiesel content in the biodiesel:diesel blends can be quantified below the value authorized by the Government. Besides, the quantification method presented a good recovery. For a mixture of 1.9 % of biodiesel in diesel, the relative error was lower than 9 %. The study of repeatability was accomplished by 3 analysts. The relative standard deviation was lower than 2 % in all the concentration range for the analysts AN2 and AN3 and, for the analyst AN1, this value was lower than 1 %, indicating a good precision of the results. The study of intermediate precision showed the necessity of analysts with the same training level for the execution of the analyses.

Besides the quality control of the fuel, this methodology can be applied for studies of blend stability and studies of appropriate storage conditions. A preliminary evaluation of storage conditions showed that after the 11st day, the sample exposed to the light and maintained at room temperature had the largest formation of degradation products.

biodiesel, diesel, chromatography

Os autores são os únicos responsáveis pelo conteúdo deste artigo.