

6º CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS



TÍTULO DO TRABALHO:

SEPARAÇÃO ANALÍTICA DOS PRINCIPAIS CONTAMINANTES DO BIODIESEL EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA COMBINADA À CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

AUTORES:

Débora França de Andrade^{1*} (PG), José Luiz Mazzei² (PQ), Luiz Antonio d'Avila¹(PQ)

*debora.franca.andrade@gmail.com

INSTITUIÇÃO:

¹Departamento de Processos Orgânicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro

²Departamento de Biofísica e Biometria, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Este Trabalho foi preparado para apresentação no 6º Congresso Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento em Petróleo e Gás- 6º PDPETRO, realizado pela Associação Brasileira de P&D em Petróleo e Gás-ABPG, no período de 09 a 13 de outubro de 2011, em Florianópolis-SC. Esse Trabalho foi selecionado pelo Comitê Científico do evento para apresentação, seguindo as informações contidas no documento submetido pelo(s) autor(es). O conteúdo do Trabalho, como apresentado, não foi revisado pela ABPG. Os organizadores não irão traduzir ou corrigir os textos recebidos. O material conforme, apresentado, não necessariamente reflete as opiniões da Associação Brasileira de P&D em Petróleo e Gás. O(s) autor(es) tem conhecimento e aprovação de que este Trabalho seja publicado nos Anais do 6ºPDPETRO.

SEPARAÇÃO ANALÍTICA DOS PRINCIPAIS CONTAMINANTES DO BIODIESEL EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA COMBINADA À CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Abstract

In the present study an analytical separation of the main contaminants (MAG, DAG and TAG) from biodiesel (B100) was developed through the solid phase extraction (SPE) combined with high performance liquid chromatography. Recovery and purity in each SPE fraction were evaluated. Methyl esters of the fatty acids, which are the main components in B100, elute selectively with *n*-hexane through an aminopropylsilane cartridge and an enriched fraction containing the classes of the main contaminants of biodiesel was successfully eluted with chloroform/methanol 2:1. This analytical method provides high sensitivity for chemical characterization of the B100.

Introdução

Uma baixa contaminação no biodiesel é imprescindível para seu uso como combustível, pois alguns contaminantes podem levar a problemas operacionais severos quando utilizados em motores de combustão, incluindo a formação de depósitos no motor e o entupimento do filtro^{1,2}. Tais contaminantes podem ser remanescentes da fonte oleaginosa, ou de gorduras não transesterificadas (triacilgliceróis, TAG). Outros contaminantes com tais propriedades são os intermediários da reação mono (MAG) e diacilgliceróis (DAG)³. Portanto, as especificações americana, européia e brasileira limitam a quantidade permitida destes contaminantes no biodiesel³. Neste contexto, o desenvolvimento de um método analítico capaz de separar os principais contaminantes (MAG, DAG e TAG) do biodiesel é de fundamental importância para o controle de qualidade, assim como para a aceitação do produto no mercado. A extração em fase sólida (EFS) não só permite a extração eficiente dos analitos, mas também possibilita sua concentração e/ou pré-purificação. O emprego da EFS na análise de diferentes classes lipídicas vem sendo descrito⁴⁻⁹. Entretanto, aplicação da EFS na separação da glicerina combinada (MAG, DAG e TAG) do biodiesel não tem sido aplicada ou desenvolvida. Sendo assim, o principal objetivo do presente estudo foi o desenvolvimento de um método analítico de separação dos principais contaminantes (MAG, DAG e TAG) do biodiesel (ésteres metílicos de ácidos graxos-E_sMAG) através da técnica de EFS combinada à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), visando à obtenção de frações enriquecidas em classes de constituintes e, conseqüentemente, ao aumento da sensibilidade da caracterização destes acilgliceróis por métodos analíticos.

Metodologia

A separação dos principais contaminantes do biodiesel por EFS foi realizada através de uma modificação de um método aplicado unicamente para separação de classes lipídicas⁴. De modo a avaliar a eficiência da separação das classes constituintes do biodiesel através do processo de EFS, fez-se necessária a obtenção de um material de referência que contenha quantidades significativas de todas as classes a serem separadas (E_sMAG, MAG, DAG e TAG). Sendo assim, este material de referência foi preparado através da mistura, na proporção de 60:40 (v/v), de produtos de transesterificação, previamente sintetizados (5 min de refluxo; razão óleo:metanol de 1:3) em nosso laboratório, a partir dos óleos de soja e canola. O método de EFS utilizou cartuchos contendo fase

sílica funcionalizada com grupamentos aminopropil (500 mg, 3 mL, Bond Elut) condicionados inicialmente com 2 x 2 mL de *n*-hexano, aos quais foram aplicados 200 ou 400 µL do material de referência, diluídos em *n*-hexano nas concentrações de 2, 3 e 5% (v/v). A fração 1 foi eluída com 8, 10 ou 12 mL de *n*-hexano e a fração 2 foi eluída com 4 mL de clorofórmio:metanol (2:1, v/v) a vazão constante de cerca de 1 mL/min. Esses ensaios de eluição foram executados em triplicata. As frações, e o mesmo volume da solução hexânica do material de referência, foram secas sob fluxo lento de nitrogênio e o resíduo foi ressuspense em 100 µL de *i*-propanol:*n*-hexano (5:4, v/v). Uma alíquota de 10 µL foi analisada, em triplicata, por CLAE, a partir do método de Holcapek *et al.*², em coluna de 250 x 4,6 mm, com fase Microsorb RP18 (5 µm) à temperatura ambiente, com vazão de 1 mL/min e gradiente binário com os solventes metanol e *i*-propanol:*n*-hexano 5:4, v/v. A detecção foi acompanhada a 205 nm e o sistema foi controlado pelo software Galaxie (Varian). Os resultados dos materiais de referência foram controles para a avaliação da recuperação dos componentes analisados. Os resultados de recuperação e composição foram comparados por análise de variância (ANOVA) fator único e duplo, com repetição, para avaliação da significância dos efeitos de carga.

Resultados e Discussão

Foram avaliados efeitos de carga, correspondente ao volume (200 e 400 µL) e à concentração da amostra (2, 3 e 5%), sobre o processo de EFS. Os resultados de recuperação e composição das frações obtidas encontram-se apresentados na tabela 1.

Os resultados de recuperação apresentados na tabela 1 mostram uma boa recuperação dos E_sMAG na primeira fração eluída da EFS e dos MAG, DAG e TAG na fração 2, mostrando portanto a eficiência do processo na separação dos principais contaminantes (MAG, DAG e TAG) do biodiesel (E_sMAG), mesmo que verifiquemos uma pequena quantidade de E_sMAG (< 10%) na segunda fração. Ao compararmos a composição de MAG, DAG e TAG da fração 2 (tabela 1), com a do material de referência, observamos um enriquecimento dos principais contaminantes do biodiesel em uma mesma fração.

Os efeitos dos dois fatores estudados (concentração e volume da amostra), isolada e combinadamente, sobre as variáveis dependentes (recuperação e composição das classes de componentes) não foram significativos ($P > 0,05$) durante o processo de EFS.

A eficiência na separação dos principais contaminantes (MAG, DAG e TAG) do biodiesel (E_sMAG) pode ser observada através das Figuras 1, 2, e 3, que apresentam os cromatogramas por CLAE, respectivamente, do material de referência (usado como amostra antes do processo de EFS), da fração eluída com *n*-hexano (fração 1) e da fração eluída com clorofórmio:metanol, 2:1 (fração 2).

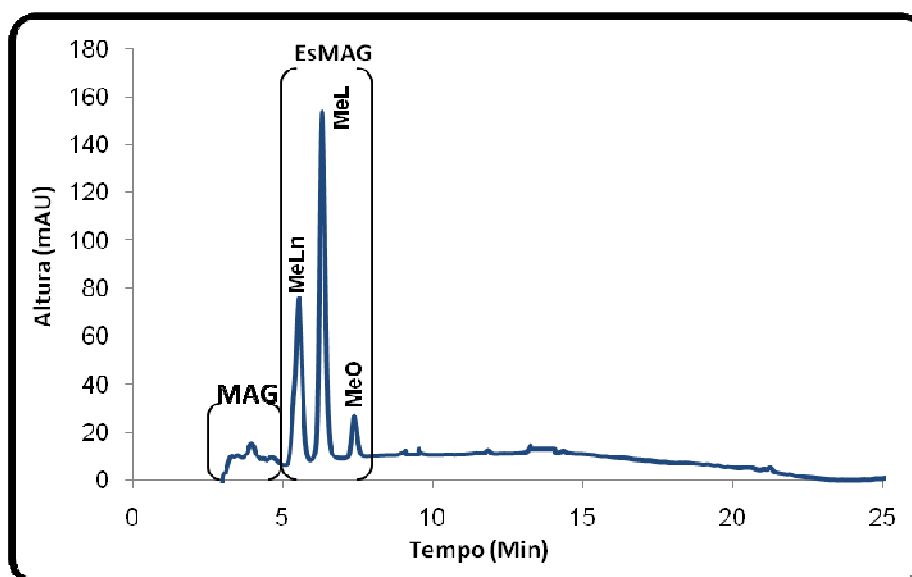


Figura 2. Cromatograma da fração 1, obtida na eluição com *n*-hexano.

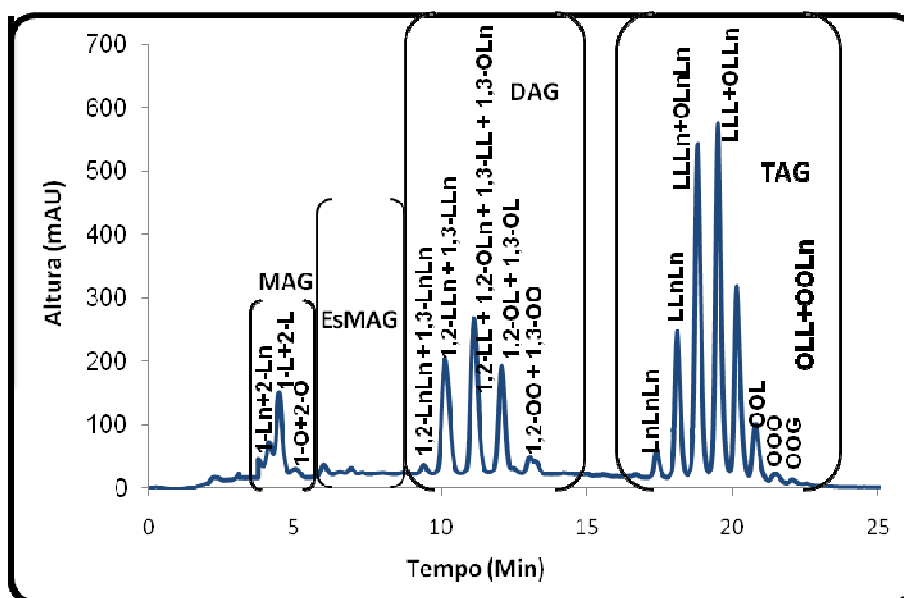


Figura 3. Cromatograma da fração 2, obtida na eluição com clorofórmio:metanol (2:1).

Podemos observar que a amostra, antes do processo de EFS (Figura 1), apresenta nitidamente quatro classes distintas de compostos (MAG, DAG, TAG e E_s MAG). No entanto, quando esta amostra foi submetida à EFS, onde foi eluída com *n*-hexano (Figura 2), ficou evidente a presença predominante de E_s MAG na fração 1, assim como pequenas quantidades de MAG, DAG e TAG (<1%), demonstrando assim a eficiência da EFS na retenção dos principais contaminantes do biodiesel. Já na fração 2 (Figura 3), fica evidente a presença de quantidades significativas de MAG, DAG e TAG, além de uma pequena quantidade de E_s MAG, que não foram completamente eluídos na fração 1.

Conclusões

O método de separação analítica dos principais contaminantes do biodiesel (E_s MAG), através da técnica de EFS combinada à CLAE, levou à obtenção de frações enriquecidas nas principais classes de impurezas (MAG, DAG e TAG). Observou-se uma boa recuperação dos E_s MAG na fração eluída com *n*-hexano e dos MAG, DAG e TAG na fração eluída com clorofórmio:metanol 2:1. A recuperação dos contaminantes alcançou mais de 90%. Dois fatores avaliados, concentração e volume da amostra, relativos à carga de amostra por cartucho, não foram estatisticamente significativos, tanto isolada quanto combinadamente, sobre a recuperação e a composição das classes de componentes. Este método tem potencial para ser aplicado na caracterização química dos principais contaminantes do biodiesel, uma vez que os concentra em uma mesma fração, aumentando assim a sensibilidade.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (processos 303946/2008-3 e 476959/2010-1) e ao Programa de Formação de Recursos Humanos da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e B combustíveis (ANP) pela concessão de bolsas e pelo apoio financeiro.

Referências Bibliográficas

- ¹PLANK, 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.
- ²HOLCAPEK, M.; JANDERA, P.; FISCHER J.; PROKES, B. **Analytical monitoring of the production of biodiesel by high-performance liquid chromatography with various detection methods**. Journal of Chromatography A, v.858, p.13-31, 1999.
- ³KNOTHE, G.; GERPEN, J.V.; KRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. Editora EDAGard Blücher; São Paulo, 1ª edição, 2006.
- ⁴KALUZYNY, M.A.; DUNCAN, L.A.; MERRITT, M.V.; EPPS, D.E. **Rapid separation of lipid classes in high yield and purity using bonded phase columns**. Journal of Lipid Research, v.26, p.135-140, 1985.
- ⁵PINKART, H.C.; DEVEREUX, R.; CHAPMAN, P.J. **Rapid separation of microbial lipids using solid phase extraction columns**. Journal of Microbiological Methods, v.34, p.9-15, 1998.
- ⁶BODENNEC, J.; KOUL, O; AGUADO, I.; BRICHON, G.; ZWINGELSTEIN, G.; PORTOUKALIAN, J. **A procedure for fractionation of sphingolipid classes by solid-phase extraction on aminopropyl cartridges**. Journal of Lipid Research, v.41, p.1524-1531, 2000.
- ⁷BURDGE, G.C.; WRIGHT, P.; JONES, A.E.; WOOTTON, S.A. **A method for separation of phosphatidylcholine, triacylglycerol, non-esterified fatty acids and cholesterol esters from plasma by solid-phase extraction**. British Journal of Nutrition, v.84, p.781-787, 2000.
- ⁸RUSSO, M.V.; DE LEONARDIS, A.; MACCIOLA, V. **Solid phase extraction-gas chromatographic method to determine free cholesterol in animal fats**. Journal of Food Composition and Analysis, v.18, p.617-624, 2005.
- ⁹PÉREZ-PALACIOS, T.; RUIZ, J.; ANTEQUERA, T. **Improvement of a solid phase extraction method for separation of animal muscle phospholipid classes**. Food Chemistry, v.102, p.875-879, 2007.