UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

THIAGO NOGUEIRA

Eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato aplicada à avaliação da qualidade de biocombustíveis (biodiesel e etanol) e ao estudo sobre os processos de oxidação do biodiesel

Versão corrigida da Tese conforme Resolução CoPGr 5890

O original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
10/08/2011

THIAGO NOGUEIRA

Eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato aplicada à avaliação da qualidade de biocombustíveis (biodiesel e etanol) e ao estudo sobre os processos de oxidação do biodiesel

Tese apresentada ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências (Química)

Orientador: Prof. Dr. Claudimir Lucio do Lago

São Paulo
2011

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Nogueira, Thiago
N778e Eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato aplicada à avaliação da qualidade de biocombustíveis (biodiesel e etanol) e ao estudo sobre os processos de oxidação do biodiesel / Thiago Nogueira. -- São Paulo, 2011.
136p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Lago, Claudimir Lucio do

1. Eletroforese capilar : Química analítica 2. Combustível líquido : Armazenamento : Tecnologia I. T. II. Lago, Claudimir Lucio do, orientador.

543.0896 CDD

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

"Eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato aplicada à avaliação da qualidade de biocombustíveis (biodiesel e etanol) e ao estudo sobre os processos de oxidação do biodiesel"

THIAGO NOGUEIRA

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciências – Programa: Química.

Aprovado (a) por:

Prof. Dr. Claudimir Lucio do Lago
(Orientador e Presidente)

Prof. Dr. Lúcio Angnes
IQ - USP

Prof. Dr. Thiago Regis Longo Cesar da Paixão
IQ - USP

Prof. Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira
UFJF

Prof. Dr. Gustavão Amadeu Micke
UFSC

SÃO PAULO
09 de setembro de 2011

Aos meus pais Roberto e Vanda, por todo o carinho, apoio, confiança, amor incondicional e dedicação incondicional. Dedico esta tese a vocês que tem dedicado a vida à minha formação.

À minha esposa Daiana, por todo o amor, carinho e compreensão. Dedico esta tese, assim como tenho dedicado os melhores momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Claudimir pela orientação, ensinamentos, sugestões e confiança depositada.

Aos profs. Lúcio e Gutz pelas sugestões e ensinamentos

Aos profs. Rodrigo Munoz e Eduardo Richter pelas parcerias e amizade.

Aos amigos Eric Tavares (Pop) e Renata Saito pela amizade, revisão do texto, pelas inúmeras conversas de corredor, salinha, café e boteco.

Aos funcionários do laboratório Fernando, José Vinícius e Daniel Rossado por toda a ajuda e sempre se mostrarem solícitos.

À todos os tripulantes (antigos e atuais) da nave LAIA: Alexandre (Peixe), André Oliveira, André Cavichiolli, Carlos, Caracol, Daniela, Denis (Pimenta), Dosil, Fabiana (Fabis), Guilherme (Splinter), Guilherme Minoro, Heron, Iranaldo, Ivan (Avogadrinho), João (In memorian), Jhonny, Kelliton, Lucas Blanes, Luís (Sensation), Marcelo (Padre), Marcelo (Belezma), Márcio, Marcos, Mauro, Miyuki, Osmar, Pedro, Robson (Robinho), Socorro, Suely, Thiago (Rei), Wanderson, William e Zé Geraldo.

Agradeço pela disponibilização das amostras ao IPT, Granol, prof. Marcone Leal (UFJF), prof. Valmir Fascio Juliano (UFMG), profa. Maria Del Pilar Falla (UnB).

Aos amigos e funcionários da SPG, Cibele, Milton, Emiliano, Marcelo e Paulo por toda a atenção despedida durante todos esses anos.

À todos os funcionários, docentes e alunos do IQ que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

À todos os amigos, em especial à Vá, Rê (Pires), Rê (Fogaça), Tati (Japa) e Rô por todos esses anos de convivência, amizade, risos, lágrimas, etc.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

“É isso aí.”

Ana Carolina e Seu Jorge

RESUMO

Nogueira, T. Eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato aplicada à avaliação da qualidade de biocombustíveis (biodiesel e etanol) e ao estudo sobre os processos de oxidação do biodiesel. 2011. 136p. Tese – Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

No presente trabalho, métodos analíticos empregando a eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato CE – C^4D foram desenvolvidos para a determinação de diversas espécies no biodiesel e etanol combustível. A concentração das espécies inorgânicas (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, SO_4^{2-} e PO_4^{3-}) e glicerol no biodiesel são de interesse das agências reguladoras devido à capacidade dessas espécies em formar compostos indesejáveis no motor. A separação dos cátions foi realizada utilizando eletrólito de corrida (BGE) contendo 30 mmol L^{-1} de Ácido 2-N-morfolino-etanosulfônico (MES) / L-histidina, pH 6. A separação das espécies aniônicas foi realizada em BGE semelhante contendo 0,2 mmol L^{-1} brometo de cetiltrimetilamônio. Para a determinação do glicerol, que é uma espécie neutra, foi empregada uma etapa de oxidação utilizando periodato. Esta reação é específica para polióis e tem como um dos produtos o iodato. A quantidade de iodato produzida pela reação foi determinada por CE. A separação foi realizada em aproximadamente 1 min, utilizando BGE contendo 30 mmol L^{-1} de ácido acético, pH 3.

Este trabalho também apresenta estudos sobre a formação de ácidos orgânicos de baixo PM durante a etapa de auto-oxidação do biodiesel, uma vez que esta etapa acarreta no aumento da viscosidade e acidez, ocasionando a formação de gomas e sedimentos e, conseqüentemente, o entupimento de filtros de combustíveis. As amostras foram oxidadas utilizando equipamento para teste de oxidação acelerada (Método Rancimat) e CE – C^4D foi utilizada para a análise dos produtos iônicos formados. As principais espécies ácidas encontradas foram os ácidos acético e fórmico. Porém, outras espécies são formadas durante esta etapa, tais como os ácidos acrílico, glicólico, glioxílico, láctico e propiônico. Em particular, o ácido glicólico se mostrou uma espécie de grande importância prática, atuando como um marcador do estágio de oxidação do biodiesel, uma vez que este ácido somente é formado após o desencadeamento da auto-oxidação e, além do mais, esta espécie foi observada em amostras de biodiesel de diferentes origens (algodão, soja, palma e sebo bovido).

Adicionalmente, métodos para a determinação de Cl^-, SO_4^{2-}, formiato, acetato,

formaldeído e acetaldeído em etanol combustível são descritos. A separação foi realizada em BGE contendo 20 mmol L^{-1} de MES / L-histidina e 0,1 mmol L^{-1} hidróxido de cetiltrimetilamônio, pH 6. Para a separação dos aldeídos por CE, foi realizada a derivatização com bissulfito. O presente trabalho também apresenta um método alternativo para a determinação do teor de água e de álcool em amostras de etanol combustível. A estratégia descrita é baseada na formação de monoalquil carbonatos (MAC) produzidos pela reação de um álcool e o bicarbonato em meio aquoso.

Palavras-chave: ácido fórmico, auto-oxidação, biocombustíveis, compostos carbonílicos, contaminantes inorgânicos, teste Rancimat.

ABSTRACT

Nogueira, T. Capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection applied to evaluating the quality of biofuels (biodiesel and ethanol) and the study of the oxidation processes of biodiesel. 2011. 136p. PhD Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

In this work, methods employing capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection (CE – C^4D) are introduced for the determination of several species in biodiesel and ethanol fuel. The concentrations of inorganic species (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, SO_4^{2-}, and PO_4^{3-}) and glycerol are of interest for the regulatory authorities due to their ability to form undesirable compounds in the engines. The separation of the cations was done in BGE composed of 30 mmol L^{-1} of 2-N-morpholino-ethanesulfonic acid (MES)/L-histidine, pH 6. The separation of anionic species was carried out in similar BGE including cetyltrimethylammonium bromide (0.2 mmol L^{-1}). For glycerol, a neutral species, its oxidation with periodate was employed. This well-known reaction is specific to polyols and generates iodate. The amount of iodate produced by the reaction was determined by CE. The separation was carried out in ca. 1 min using BGE composed of 30 mmol L^{-1} of acetic acid, pH 3.

This work also presents studies on the formation of low molecular organic acids during the biodiesel autoxidation step. Since the implications of the biodiesel oxidation are the increased viscosity and acidity, causing formation of insoluble gums and sediments that induce the clogging of the fuel filters. The samples were oxidized using equipment for accelerated oxidation test (Rancimat Method) and CE-C^4D was used to analyze the ionic products. The main acid species were acetic and formic acids. However, acrylic, glyoxylic, glycolic, lactic, and propionic acids were also observed only after the oxidation step. Thus, these species are candidates for quality markers for biodiesel. In particular, glycolic acid seems to be a good marker, because it is produced only after auto-oxidation started. Moreover, it was found out in biodiesel of different origins (cotton, soy, palm, and animal fat).

In addition, alternative methods to determination of Cl^-, SO_4^{2-}, formate, acetate, formaldehyde and acetaldehyde in ethanol fuel are described. The separation was done in BGE composed of 20 mmol L^{-1} of MES / L-histidine, and 0.1 mmol L^{-1} cetyltrimethylammonium hydroxide, pH 6. For aldehydes, a neutral species, a

derivatization step with bisulfite was employed. The present work also shows an alternative method for analysis of alcohol and water percentage in fuel samples employing CE – C^4D in order to achieve the limits established by regulatory authorities. The strategy is based on the formation of monoalkyl carbonates (MAC) produced by the reaction of an alcohol and bicarbonate in aqueous medium.

Keywords: Formic acid, autoxidation, biofuel, carbonyl compounds, inorganic contaminant, Rancimat test.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Reação simplificada de formação do biodiesel a partir da transesterificação do óleo. *28*

Figura 2: Mecanismo geral da oxidação de um ácido graxo. Adaptado da referência [48]. . *34*

Figura 3: Formação dos hidroperóxidos a partir do ácido oléico. Adaptado da referência [48]. *35*

Figura 4: Formação dos compostos orgânicos de baixo PM a partir da reação recorrente dos hidroperóxidos. Adaptado da referência [49] *36*

Figura 5: Sistema montado para teste de estabilidade oxidativa *53*

Figura 6: Eletroferograma para a separação de cátions inorgânicos, utilizando BGE contendo 10 mmol L^{-1} *de HIBA / 20 mmol* L^{-1} *Histidina em 10 % de metanol (v/v), pH 6,0. Padrões contendo 100* μ*mol* L^{-1} *de cada íon metálico, exceto* Li^{+} *(200* μ*mol* L^{-1}*), utilizado como PI. Capilar de 70 cm (60 até o detector) e potencial de + 25 kV. Injeção de 30s e 10cm*H_2O*.* *59*

Figura 7: Eletroferograma para a separação de cátions inorgânicos, utilizando BGE contendo 30 mmol L^{-1} *de MES / 30 mmol* L^{-1} *de Histidina, pH 6,0. Padrões contendo 100* μ*mol* L^{-1} *de cada íon metálico, exceto* Li^{+} *(200* μ*mol* L^{-1}*, utilizado como PI). Capilar de 70 cm (60 até o detector) e potencial de + 25 kV. Injeção de 30s e 10cm*H_2O*.* *59*

Figura 8: Separação de cátions inorgânicos, utilizando BGE 30 mmol L^{-1} *MES / Histidina, pH 6,0. Padrões contendo 100* μ*mol* L^{-1} *de cada íon metálico, exceto* Li^{+} *(200* μ*mol* L^{-1}*, utilizado como PI). Capilar de 50 cm (40 até o detector) e potencial de + 28 kV. Injeção de 10s e 10cm*H_2O*.* *60*

Figura 9: Avaliação da eficiência de extração líquido-líquido sob agitação mecânica em função do tempo, utilizando como solução extratora água ou BGE diluído 10 vezes. *61*

Figura 10: Separação de cátions inorgânicos, utilizando BGE 30 mmol L^{-1} MES / Histidina, pH 6,0. a- Eletroferograma obtido da solução tampão diluída 10 vezes utilizada para extração (branco); b- padrões contendo 100 µmol L^{-1} de cada íon metálico, exceto Li^{+} (200 µmol L^{-1}, utilizado como PI); c- eletroferograma obtido para uma amostra de biodiesel após extração, foi utilizada massa de 880 mg da amostra e 200 mg da solução extratora; e d- amostra de biodiesel fortificada (100 µmol L^{-1} de cada íon metálico). Capilar de 50 cm (40 até o detector) e potencial de + 28 kV. Injeção de 10s e 10cmH_2O.....62

Figura 11: Eletroferograma obtido para a separação de ânions, utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} HIBA / 10 mmol L^{-1} Histidina, 0,1 mmol L^{-1} CTAH, pH 3,9. O item a- apresenta a separação obtida por simulação e o item b-, apresenta a separação obtida experimentalmente. Capilar de 70 cm (60 até o detector) e potencial de - 25 kV. 64

Figura 12: Eletroferograma obtido para a separação de ânions, utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} HIBA / 20 mmol L^{-1} Histidina, 0,1 mmol L^{-1} CTAH, pH 5,0. O item a- apresenta a separação obtida por simulação e o item b-, apresenta a separação obtida experimentalmente. Capilar de 70 cm (60 até o detector) e potencial de - 25 kV. 64

Figura 13: Eletroferograma obtido para a separação de ânions, utilizando BGE contendo 10 mmol L^{-1} HIBA / 20 mmol L^{-1} Histidina, 0,1 mmol L^{-1} CTAH, pH 6,0. O item a- apresenta a separação obtida por simulação e o item b-, mostra a separação obtida experimentalmente. Capilar de 70 cm (60 até o detector) e potencial de - 25 kV.....65

Figura 14: Eletroferograma da separação dos ânions de interesse, utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} MES / 20 mmol L^{-1} Histidina, 0,2 mmol L^{-1} CTAB, pH 6,0. O item a- apresenta a separação obtida por simulação e o item b-, mostra a separação obtida experimentalmente. 66

Figura 15: Eletroferograma da separação dos ânions de interesse utilizando como eletrólito de corrida 20 mmol L^{-1} MES / 20 mmol L^{-1} Histidina, 0,2 mmol L^{-1} CTAB, pH 6,0. Capilar de 75 µm d.i. e 70 cm de comprimento (60 até o detector) e potencial de - 25 kV. 67

Figura 16: Simulação da curva de mobilidade dos ânions de interesse no biodiesel em função do pH em meio aquoso. 68

Figura 17: Eletroferograma da separação dos ânions de interesse, utilizando como eletrólito de corrida 30 mmol L^{-1} de MES / 13 mmol L^{-1} de Histidina, 0,2 mmol L^{-1} de CTAB, pH 5,7. Capilar de 75 µm d.i. e 50 cm de comprimento (40 cm até o detector) e potencial de – 28 kV. Injeção de 10s e 10cmH_2O. 68

Figura 18: Avaliação da eficiência de extração líquido-líquido sob agitação mecânica em função do tempo, utilizando como solução extratora água ou solução contendo tampão de corrida diluído 10 vezes. 69

Figura 19: Eletroferograma da separação dos ânions de interesse, utilizando BGE contendo 30 mmol L^{-1} de MES / 13 mmol L^{-1} de Histidina, 0,2 mmol L^{-1} de CTAB, pH 5,7. a- Eletroferograma obtido para a solução utilizada para extração (branco); b- padrões contendo 50 µmol L^{-1} de cada ânion, c- eletroferograma obtido para uma amostra de biodiesel após extração com solução aquosa (200 µmol L^{-1} de cloroacetato de sódio), foi utilizada massa de 200 mg da amostra e 200 mg da solução extratora; e d- amostra de biodiesel fortificada. Capilar de 75 µm d.i. e 50 cm de comprimento (40 cm até o detector) e potencial de – 28 kV. Injeção de 10s e 10cmH_2O. 70

Figura 20: Mecanismo da reação de oxidação do glicerol utilizando ácido periódico para formação de formaldeído, ácido fórmico e ácido iódico. 71

Figura 21: I- Potenciais redox do ácido periódico e do brometo; II- a) solução 100 µmol L^{-1} de formiato, b) solução 1 mmol L^{-1} de periodato, c) solução contendo 100 µmol L^{-1} de

formiato e 1 mmol L^{-1} de periodato; as separações foram realizadas utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} MES/Histidina e 0,2 mmol L^{-1} de CTAB. Injeção de 10s e 10cmH_2O. 72

Figura 22: Simulação de curva de mobilidade das espécies de interesse em função do pH... 73

Figura 23: Avaliação da formação dos produtos da oxidação do glicerol com periodato em função do tempo. 73

Figura 24: Eletroferogramas da separação de uma solução de periodato (500 µmol L^{-1}): a- antes e b- depois da adição de uma solução padrão de glicerol (100 µmol L^{-1}); uma amostra de biodiesel c- antes e d- após a adição de uma solução de periodato (250 µmol L^{-1}), foi utilizada massa de 200 mg de amostra e 200 mg da solução extratora. BGE composto por 30 mmol L^{-1} ácido acético, pH 3.0. Potencial de separação -25 kV; capilar de 75 µm i.d. e 50 cm de comprimento total (10 cm até o detector). Injeção de 10s e 10cmH_2O. 74

Figura 25: Curvas analíticas dos padrões dos íons K^+, Ca^{2+}, Na^+, Mg^{2+}, sulfato, fosfato, acetato, formiato, propionato, iodato em concentrações variando de 10 - 600µmol L^{-1}. As injeções foram procedidas em quadruplicata. 77

Figura 26: a- Teste de estabilidade oxidativa de amostra de biodiesel de óleo de algodão; b- Separação dos produtos voláteis da oxidação coletados em água, utilizando tampão 20 mmol L^{-1} MES / Histidina, 0,2 mmol L^{-1} CTAB, pH 6,0; -25kV, capilar de 75µm e 70cm (60cm efetivo). 85

Figura 27: Estrutura química de alguns ácidos carboxílicos potencialmente presentes na etapa de auto-oxidação do biodiesel. 86

Figura 28: Curva de mobilidade de alguns ácidos de interesse. 87

Figura 29: Separação das espécies aniônicas formadas após o período de indução de uma amostra de biodiesel de algodão. a- Espécies voláteis coletadas na fase aquosa e b- extração líquido-líquido (1:1). BGE composto por 30 mmol L^{-1} MES / 13 mmol L^{-1} Histidina,

0,4 mmol L^{-1} CTAB, 10% MeOH, pH 5,7. Capilar de 70 cm de comprimento total (60 cm até o detector). Potencial de separação -25 kV. 88

Figura 30: a) Curva de condutividade em função do tempo de uma amostra de biodiesel de algodão (teste oxidação acelerada); b) Eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel, após extração líquido-líquido. Foi utilizado eletrólito de corrida contendo 30 mmol L^{-1} MES / Histidina, 0,2 mmol L^{-1} CTAB, pH 6. 89

Figura 31: Eletroferograma da separação dos padrões de ácidos orgânicos. Foi utilizado 20 mmol L^{-1} de ácido fórmico / LiOH, pH 4,0. Potencial de -25kV, capilar de 75um d.i. e 70cm (comprimento efetivo de 60cm)..... 90

Figura 32: a) Curva de condutividade em função do tempo de uma amostra de biodiesel de soja (teste oxidação acelerada), b) Eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel, antes e após a oxidação. Foi utilizado 20 mmol L^{-1} Ácido fórmico / Histidina, 0,4 mmol L^{-1} CTAB, pH 4,0. -25kV, capilar de 75µm,70cm (60cm efetivo). Foi empregada extração líquido-líquido. 92

Figura 33: a- Curva de condutividade em função do tempo de uma amostra de biodiesel de sebo bovino (teste oxidação acelerada); b- Eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel, antes e após a oxidação. Condições de separação idem Figura 32. 93

Figura 34: a- Curva de condutividade em função do tempo de uma amostra de biodiesel de Palma (teste oxidação acelerada); b- eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel, antes e após a oxidação. Condições de separação idem Figura 32. ... 94

Figura 35: a- Curva de condutividade em função do tempo de uma amostra de biodiesel de algodão (teste oxidação acelerada); b- eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel, antes e após a oxidação. Condições de separação idem Figura 32. 95

Figura 36: Eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel de algodão, estocadas em ambiente com oxigênio disponível em temperatura ambiente. Condições de separação idem Figura 32. ..... *96*

Figura 37: Mecanismo de decomposição de hidroperóxidos gerados a partir da auto-oxidação do ácido oléico, reproduzido da referência [49] *97*

Figura 38: Mecanismo proposto para formação do ácido glicólico pela oxidação de ácidos graxos. *98*

Figura 39: Separação de ânions inorgânicos e orgânicos de baixo PM presentes em amostras de álcool combustível, diluição (1:1). Eletroferogramas obtidos utilizando tampão 20 mmol L^{-1} MES / Histidina, 0,1 mmol L^{-1} CTAH, pH 6, -25kV, capilar de 75µm e 70cm (60cm efetivo), injeção 40s. *102*

Figura 40: Reação de formação do aduto iônico entre o bissulfito e um aldeído. *102*

Figura 41: Separação dos adutos formados da reação entre bissulfito e os aldeídos presentes no álcool combustível, diluição (1:1). Eletroferogramas obtidos utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} MES / Histidina, 0,1 mmol L^{-1} CTAH, pH 6, -25 kV, capilar de 75 µm e 70 cm (60 cm efetivo), injeção 40 s. *103*

Figura 42: Curvas analíticas dos padrões dos ânions em concentrações de 2 - 500 µmol L^{-1}. As injeções foram procedidas em quintuplicata. *105*

Figura 43: Reação química para formação do MAC a partir do bicarbonato e um álcool alquílico. *110*

Figura 44:a) Separação da solução de bicarbonato de sódio e perclorato (P.I.) diluídos em água; b) Separação da solução de bicarbonato de sódio e perclorato (P.I.) diluídos em etanol (50%), injeção procedida em seguida ao preparo; c) Mesma solução do item b após 32 minutos de reação. Os eletroferogramas foram obtidos utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1}

CHES / 10 mmol L^{-1} LiOH, 0,2 mmol L^{-1} CTAB, em 20% Etanol, pH 9,5, -25 kV, capilar de 75 µm e 70 cm (60 cm efetivo), injeção 30 s. 112

Figura 45: Valores de área do pico do bicarbonato e MEC em diferentes intervalos de tempo. 112

Figura 46: Separação dos MACs formados a partir do metanol, etanol e n-propanol, utilizando BGE contendo bicarbonato/carbonato, pH 9,5, DDAB como inversor de fluxo - 28 kV, capilar de 75 µm e 80 cm (11 cm efetivo), injeção 3 s e 3,5 psi. 113

Figura 47: I-Separação do MEC formado a partir da adição de bicarbonato de sódio diretamente no etanol, contendo 0 (A) e 16 % (B) de água, utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} de CHES / 10 mmol L^{-1} de LiOH, pH 9,5, +25 kV, capilar de 75 µm e 70 cm (60 cm efetivo), injeção 30 s, 10cmH_2O. O item II apresenta a curva construída correlacionando a área do MEC e o teor de água no etanol.....115

Figura 48: O item A- apresenta a curva construída correlacionando a área do MEC e o teor de água no etanol, utilizando padrões preparados pela adição direta de barras de gelo seco. O item B- apresenta a curva obtida utilizando os valores de área do pico do bicarbonato para os mesmos padrões. 116

Figura 49: O item A- apresenta a curva construída correlacionando a área do MEC e o teor de água no etanol, utilizando padrões preparados pela adição da solução de bicarbonato de morfolino. O item B- apresenta a curva obtida utilizando os valores de área relativa (Área do MEC/Área do Acetato (PI)) para os mesmos padrões. 117

Figura 50: Avaliação do efeito da composição da amostra na expulsão do CO_2. 119

Figura 51: Os itens A e B apresentam as curvas construídas utilizando os valores de área relativa do MEC ou HCO_3^- (acetato como PI) versus o teor de água no etanol, utilizando padrões preparados em solução contendo 50% da fase aquosa. Os itens C e D apresentam as curvas construídas utilizando os valores de área relativa do MEC ou HCO_3^- (sódio como PI)

versus o teor de água no etanol, utilizando padrões preparados em solução contendo 50 % da fase aquosa. *120*

Figura 52: Eletroferogramas da separação do MEC, Acetato e Bicarbonato em uma amostra de etanol combustível utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} de CHES / 10 mmol L^{-1} de LiOH, pH 9,5, -25 kV, capilar de 75 µm e 70 cm (60 cm efetivo), injeção 30 s. *121*

Figura 53: Eletroferogramas da separação do MEC, Butirato e Bicarbonato em uma amostra de etanol combustível utilizando 20 mmol L^{-1} de CHES / 10 mmol L^{-1} de LiOH, pH 9,5. ..... *123*

Figura 54: Valores de área relativa do pico do MEC em função do aumento do teor de água no etanol. *123*

Figura 55: Eletroferogramas da separação do MEC, Butirato e Bicarbonato em uma amostra de etanol combustível utilizando 20 mmol L^{-1} CHES / 10 mmol L^{-1} LiOH, 20% terc-butanol, pH 9,5. ..... *124*

Figura 56: Valores de área relativa do pico do MEC em função do aumento do teor de água no etanol. *125*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Figuras de mérito dos métodos propostos. *77*

*Tabela 2**:** Valores de Desvio Padrão Relativo da área e tempo de migração dos analitos*..... *79*

*Tabela 3**:** Valores de concentração obtidos em quatro diferentes amostras e teste de recuperação.* *81*

Tabela 4: Figuras de mérito do método proposto *105*

Tabela 5: Valores de recuperação em 3 amostras de álcool combustível em 2 diferentes níveis de concentração. *107*

Tabela 6: Valores de concentração em mg L^{-1} *dos ânions inorgânicos e orgânicos de baixo PM presentes em 3 diferentes amostras de álcool combustível.* *108*

Tabela 7: Avaliação da mínima quantidade de solução aquosa de $NaHCO_3$ *necessária para evitar precipitação.* *122*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2,4-DNPH	2,4-dinitrofenilhidrazina
AAS	*Atomic Absorption Spectrometry* (Espectroscopia de absorção atômica)
AES	*Atomic Emission Spectrometry* (Espectroscopia de emissão atômica)
AG	Ácido Graxo
ANP	Agência Nacional do Petróleo
BGE	*Background Electrolyte* (Eletrólito de corrida)
C^4D	*Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection* (Detecção condutométrica sem contato)
CE	*Capillary Electrophoresis* (Eletroforese Capilar)
CHES	Ácido N-ciclohexil-2-aminoetanosulfônico
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
CTAH	Hidróxido de cetiltrimetilamônio
CZE	*Capillary Zone Electrophoresis* (Eletroforese Capilar em Zona)
D.P.R.	Desvio Padrão Relativo
DDAB	Brometo de didodecildimetilamônio
EOF	*Electroosmotic Flow* (Fluxo Eletrosmótico)
FAAS	*Flame Atomic Absorption Spectrometry* (Espectroscopia de absorção atômica por chama)
GC	*Gas Chromatography* (Cromatografia gasosa)
HIBA	Ácido 2-hidroxi-isobutírico
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia líquida de alta eficiência)
ICPOES	*Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* (Emissão óptica com plasma indutivamente acoplado)
K_a	Constante de dissociação
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MAC	Monoalquilcarbonato
MEC	Monoetilcarbonato
MEKC	*Micellar Electrokinetic Chromatography* (Cromatografia eletrocinética micelar)

MES	Ácido 2-N-morfolino-etanosulfônico
PI	Padrão Interno
PInd	Período de indução
PM	Peso molecular
SNR	*Signal-to-noise Ratio* (Relação Sinal Ruído)
t_{mig}	Tempo de migração
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

SUMÁRIO

1 Introdução 27

1.1 O biodiesel 27

1.1.1 O Biodiesel e os parâmetros químicos 29

1.1.2 O Biodiesel e sua auto-oxidação 32

1.2 Etanol combustível 36

1.3 Eletroforese Capilar 38

1.4 Sistemas de detecção em CE 41

1.5 Aplicações da CE na análise dos biocombustíveis 42

2 Justificativa do projeto 46

3 Objetivos 48

3.1 Objetivos gerais 48

3.2 Objetivos específicos 48

4 Materiais e Métodos 50

4.1 Reagentes 50

4.2 Análises por CE 50

4.2.1 Determinação de contaminantes inorgânicos e orgânicos no biodiesel51

4.2.2 Estudos sobre a formação dos ácidos orgânicos de baixo peso molecular durante a auto-oxidação do biodiesel e determinação do estágio oxidativo da amostra 52

4.2.3 Determinação de contaminantes inorgânicos e orgânicos de baixo peso molecular no álcool combustível..... 53

4.2.4 Determinação do teor de etanol e água no álcool combustível explorando a estratégia de formação do aduto monoetilcarbonato (MEC) 55

5 Determinação de contaminantes inorgânicos e orgânicos no biodiesel 58

5.1 Determinação de Na^+, K^+, Ca^{2+} e Mg^{2+} no Biodiesel 58

5.1.1 Otimização das condições de separação..... 58

5.1.2 Otimização do processo de extração 61

5.2 Determinação de Sulfato, Fosfato, Formiato, Acetato e Propionato no Biodiesel 62

5.2.1 Otimização das condições de separação..... 62

5.2.2 Otimização do processo de extração 69

5.3 Determinação de glicerol no Biodiesel baseada na clivagem oxidativa 70

5.4 Validação dos métodos 74

5.4.1 Linearidade, Limites de detecção e quantificação..... 75

5.4.2 Precisão do método 78

5.4.3 Exatidão do método..... 79

5.5 Análise das amostras de biodiesel 80

5.6 Conclusões parciais..... 82

6 Estudos sobre a formação dos ácidos orgânicos de baixo PM durante a auto-oxidação do biodiesel e determinação do estágio oxidativo da amostra 84

6.1 Identificação dos principais ácidos orgânicos formados durante o teste de oxidação acelerada. 84

6.2 Otimização das condições de separação 87

6.3 Avaliação das espécies formadas no biodiesel de diferentes origens ... 91

6.4 Conclusões parciais 98

7 Determinação de contaminantes inorgânicos e orgânicos de baixo peso molecular no álcool combustível 101

7.1 Separação das espécies iônicas presentes no álcool combustível 101

7.2 Derivatização dos aldeídos utilizando bissulfito 102

7.3 Validação dos métodos 103

7.3.1 Linearidade, Limites de detecção e quantificação 103

Tabela 4: Figuras de mérito do método proposto 105

7.3.2 Precisão e exatidão do método 106

7.3.3 Análise das amostras de etanol combustível 107

7.4 Conclusões parciais 108

8 Determinação do teor de etanol e água no álcool combustível explorando a estratégia de formação do aduto monoetilcarbonato (MEC) 110

8.1 Formação e hidrólise dos monoalquilcarbonatos 110

8.2 Separação de alcoóis e determinação do teor de etanol por CE 113

8.3 Conclusões parciais 125

9 Conclusões e Perspectivas 128

10 Referências Bibliográficas 131

Capítulo 1. Introdução

1 Introdução

Grande parte da energia consumida no mundo é de origem petroquímica, assim como do carvão e de gases naturais. Estas fontes são finitas e no contexto atual serão consumidas em poucas dezenas de anos [1]. A grande demanda de energia no mundo industrializado, assim como no setor doméstico, e os problemas de poluição causados pelo uso de combustíveis fósseis tornam cada vez mais necessários o desenvolvimento de outras fontes de energia renováveis e de menor impacto ambiental [2], como por exemplo, os biocombustíveis.

O termo biocombustível é utilizado em referência a combustíveis líquidos, gasosos ou sólidos utilizados para geração de energia, obtidos total ou parcialmente de biomassa. Uma variedade de combustíveis pode ser produzida a partir de recursos de biomassa, incluindo combustíveis líquidos, como o etanol, metanol, biodiesel, diesel (processo Fischer-Tropsch) e combustíveis gasosos, tais como o hidrogênio e o metano [3]. Uma possível alternativa ao combustível fóssil é a utilização de combustíveis derivados de produtos renováveis, tais como o etanol combustível (ou bioetanol), derivado da cana de açúcar, milho, beterraba, dentre outros; e o biodiesel, o qual é derivado de óleos e/ou gorduras. Este combustível pode ser produzido a partir de oleaginosas – como a soja, mamona, dendê, girassol ou mesmo do óleo residual descartado após a fritura de alimentos – através de processos de transesterificação com o álcool etílico ou metílico.

1.1 O biodiesel

A utilização de óleos vegetais como combustível não é de fato uma idéia nova. Em 1898, Rudolf Diesel, apresentou um motor que utilizava óleo de amendoim. Apesar da utilização dos óleos vegetais não apresentar grande repercussão na época, uma vez que o petróleo apresentava custos mais atraentes, Diesel fez a seguinte afirmação: *"A utilização de*

óleos vegetais como combustível pode parecer insignificante hoje, mas no futuro se tornarão tão importantes quanto o petróleo e o carvão são atualmente" [4]. No entanto, a utilização *in natura* deste óleo não é recomendável, devido a sua alta viscosidade e necessidade de adaptação dos motores ciclo-diesel.

O termo biodiesel é geralmente utilizado para definir a mistura de ésteres alquílicos derivados de ácidos graxos (AG) provenientes de óleos vegetais ou gordura animal [5]. A produção deste é geralmente através da transesterificação dos triglicerídeos utilizando um álcool na presença de um catalisador, geralmente alcalino. Este processo é necessário para a redução da alta viscosidade dos triglicerídeos [2]. A Figura 1 apresenta a reação geral para a síntese do biodiesel utilizando a transesterificação em meio alcalino de óleos e gorduras.

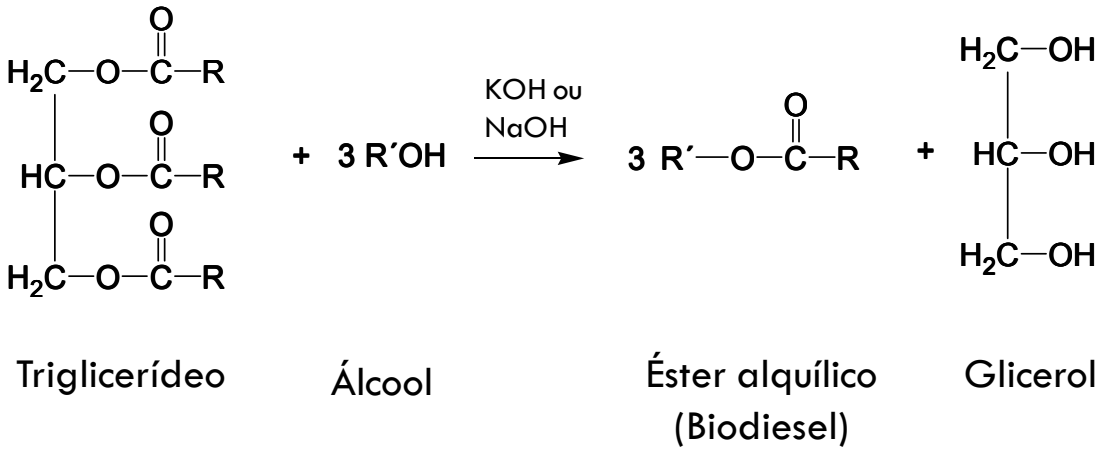


Figura 1: Reação simplificada de formação do biodiesel a partir da transesterificação do óleo.

A produção de biodiesel é uma área relativamente nova para os pesquisadores e, devido à relevância que vem ganhando a cada dia em virtude do aumento do preço do petróleo e das vantagens em relação ao meio ambiente, tem se tornado alvo de muitas pesquisas [6]. Durante os últimos anos, o consumo de petróleo em todo o mundo tem aumentado constantemente, resultando em melhores padrões de vida, aumento no setor de transportes, e aumento do uso de plásticos e outros petroquímicos [7]. No entanto, como já é

sabido, o petróleo é uma fonte finita de combustível que está rapidamente se tornando mais escasso e mais caro. No final de 2008, de acordo com o relatório anual da BP's annual Statistical Review of World Energy [7], o mundo possuía uma reserva de petróleo estimada em 1,7 x 10^{11} toneladas, e estimativa da relação reserva/produção de aproximadamente 42 anos.

Do ponto de vista ambiental, vários pesquisadores defendem o uso do biodiesel, seja puro (B100) ou sua mistura (BX). O uso do biodiesel de forma a reduzir os impactos ambientais causados pelas emissões do diesel tem sido amplamente investigado. Contudo, a maioria dos estudos tem investigado as emissões de monóxido de carbono, hidrocarbonetos, óxidos de nitrogênio (NOx) e material particulado. Muitos estudos têm demonstrado a redução de poluentes, com exceção do NOx [8, 9]. Na literatura, existem duas interpretações divergentes sobre as emissões de NOx da combustão do biodiesel. Alguns estudos relatam um aumento nas emissões de NOx [10, 11], enquanto outros tem demonstrado uma diminuição das emissões de NOx quando comparado ao diesel [12, 13]. O aumento nas emissões de NOx não é ainda compreendido, porém diversos parâmetros implicam nesse aumento das emissões, incluindo o tipo do combustível, qualidade, característica do aerossol formado, condições de operação e tecnologia do motor [14-16].

1.1.1 O Biodiesel e os parâmetros químicos

Atualmente, a química analítica tem desempenhado um papel de grande importância, principalmente no monitoramento da etapa de transesterificação para a produção do biodiesel. Dentro deste contexto, alguns autores abordaram as principais técnicas analíticas que têm se destacado na área do controle de qualidade e monitoramento do processo de produção do biodiesel [2, 17, 18].

Dentre as várias técnicas empregadas para a análise de misturas contendo mono, di-,

tri-glicerídeos, AG e glicerol, obtidos pela transesterificação de óleos vegetais, destacam-se as cromatográficas como – a cromatografia em camada delgada [19], – e a cromatografia gasosa (GC) para a determinação simultânea de glicerol, mono-, di-, e tri-glicerídeos. Em geral, os métodos baseados nesta técnica necessitam de etapas de derivatização como a metil-silanização dos grupos hidroxila livres desses compostos [20, 21]. No entanto, dentre as técnicas cromatográficas, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) destaca-se com a maior quantidade de métodos desenvolvidos, e quando comparada com GC, o menor consumo de tempo e reagentes na etapa de derivatização são as principais vantagens [22-25].

As técnicas espectroscópicas também têm encontrado grande aplicação no campo do monitoramento das reações de transesterificação, onde dentre as mais empregadas estão a espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio [26], infra-vermelho próximo [27-29] e Raman [30].

Além do monitoramento da reação de transesterificação durante a produção do biodiesel, aplicações da química analítica para análise do produto final desse combustível são fundamentais, de forma a assegurar a qualidade desse produto. Assim como no diesel, no biodiesel estão presentes alguns metais, os quais podem ser de origem natural ou mesmo originados por fontes externas durante o armazenamento, transporte ou ainda provenientes da etapa de transesterificação.

A Resolução n°07 de 2008 da Agência Nacional do Petróleo (RANP 07/08) [31], assim como órgãos internacionais (EN 14214, ASTM D 6751) estabelecem que a concentração máxima dos metais (sódio + potássio) e (cálcio + magnésio) não deve ultrapassar a concentração de 5 ppm (mg kg^{-1}).

A presença de sódio e potássio no biodiesel indica resíduos do catalisador utilizado durante a obtenção do biodiesel e que não foram removidos na sua totalidade no processo de purificação do biodiesel. Por outro lado, a presença de cálcio e magnésio no biocombustível

indica a contaminação durante a etapa de lavagem, devida à utilização de *água dura*. A ANP estabelece limites para a quantidade desses metais no biodiesel, uma vez que a presença deles no combustível ocasiona problemas mecânicos aos motores à combustão, comprometendo o funcionamento de pistões, bombas, injetores, turbo compressores, câmara de combustão, etc.

Outra preocupação da ANP se refere aos teores de enxofre e fósforo, uma vez que esses elementos podem estar presentes no biodiesel de forma natural, ou mesmo provenientes do tratamento com ácidos para neutralização do excesso de base no combustível ou durante a etapa de secagem (Na_2SO_4)[32].

A concentração dos metais no biodiesel é geralmente baixa e requer o uso de técnicas analíticas de alta sensibilidade. O desenvolvimento de estratégias de determinação de metais no biodiesel apresenta diversos desafios devido à elevada complexidade e elevado teor orgânico desta matriz. Atualmente, as determinações são realizadas empregando as técnicas espectroscópicas de absorção atômica (AAS) e emissão atômica (AES), assim como várias estratégias de pré-tratamento empregando a análise direta, diluição com solventes orgânicos, emulsões, extração e a digestão completa [33-40]. Adicionalmente, a emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICPOES) demonstra potencial para determinação do fósforo total no biodiesel. A determinação de enxofre total é realizada utilizando a espectroscopia de fluorescência no UV.

Edlund e colaboradores [41] relataram o uso de ICPOES na determinação simultânea de K, Na, Ca, Mg, Cl e P no biodiesel através da dissolução das amostras e dos padrões organometálicos em querosene. No entanto, esta estratégia apresentou algumas desvantagens, tais como a baixa estabilidade dos analitos dissolvidos em solventes orgânicos, a necessidade de padrões organometálicos para a calibração e o uso de solventes orgânicos perigosos, o que exige um maior rigor na manipulação das soluções. Para evitar o uso desses solventes, dos Santos e colaboradores [37] empregaram etanol como solvente para diluição do biodiesel e

soluções padrões. De forma a compensar as interferências durante o transporte das soluções, Ítrio foi utilizado como padrão interno (PI). Outros métodos baseados na formação de micro emulsão como forma de preparo das amostras são relatadas na literatura; em geral, para estas estratégias são empregadas as técnicas de FAAS [34, 39] e ICP [40]. Por outro lado, métodos eletroquímicos têm sido propostos na literatura como uma alternativa para a análise do biodiesel. Castilho e Stradiotto [42] relataram um método alternativo baseado na potenciometria. Neste trabalho, um eletrodo modificado com hexacianoferrato de níquel foi desenvolvido para a determinação de K^+ no biodiesel. A determinação de cobre com um pré-tratamento mínimo da amostra foi reportada, utilizando a cronopotenciometria de redissolução empregando eletrodo de ouro [43].

Embora, um rígido controle sobre as espécies contaminantes do biodiesel seja de extrema importância de forma a assegurar a qualidade deste combustível, outro grande problema que tem afetado a qualidade do biodiesel, assim como de outros compostos graxos, é o fato de sofrer auto-oxidação.

1.1.2 O Biodiesel e sua auto-oxidação

Um dos principais problemas inerentes ao biodiesel é o fato de sofrer oxidação quando exposto ao ar, o que afeta fortemente a qualidade do combustível. Desta forma, um parâmetro que especifica a estabilidade oxidativa foi incluído nas normas que regulamentam este biocombustível. A auto-oxidação do biodiesel está relacionada à presença das duplas ligações nas cadeias carbônicas do combustível, sendo que o número e a posição dessas ligações definem a velocidade com que esta auto-oxidação ocorre [44]. De maneira geral, as posições CH_2-alílicas, em relação às duplas ligações dos AGs, são as mais suscetíveis à oxidação. Portanto, as posições bis-alílicas nos AGs poliinsaturados são ainda mais suscetíveis à auto-oxidação que as posições alílicas. Por exemplo, o ácido linolênico por possuir duplas ligações

em Δ9, Δ12 e Δ15, gerando duas posições bis-alílicas em C-11 e C-14 é mais suscetível à auto-oxidação do que o ácido linoléico que possui duplas ligações em Δ9 e Δ12, gerando uma posição bis-alílica em C-11.

Dentre as implicações do processo de auto-oxidação do biodiesel, pode-se destacar o aumento da viscosidade e elevação da acidez, causando a formação de gomas insolúveis e sedimentos que provocam o entupimento dos filtros de combustível [45].

Segundo Farmer e colaboradores [46], a reação de auto-oxidação ocorre em cadeia e envolve três estágios: iniciação, propagação e finalização. A etapa de iniciação e propagação depende basicamente da facilidade com que os hidrogênios nas posições alílicas ou bis-alílicas podem ser removidos das cadeias dos AGs. A natureza exata da etapa de iniciação ainda não é completamente conhecida. O que se sabe é que a presença de hidroperóxidos originados devido às más condições de estocagem (*e.g.*, disponibilidade de ar) e/ou processamento (*e.g.*, aquecimento) do combustível, assim como a presença de traços de metais como o cobre, ferro e níquel [47], são os principais responsáveis pela iniciação destas reações. Na presença de ar, os radicais alquílicos formados na etapa de iniciação são convertidos a peróxi-radicais na etapa de propagação. A conversão destes peróxi-radicais a hidroperóxidos é a etapa determinante da velocidade da reação, a qual ocorre enquanto houver reagentes e com conseqüente formação de compostos estáveis na etapa de finalização. A Figura 2 ilustra o mecanismo geral de oxidação. Os produtos primários da auto-oxidação são hidroperóxidos alílicos, os quais podem polimerizar com outros radicais produzindo compostos de alto peso molecular (PM) e gomas. Adicionalmente, como produtos da reação de oxidação são gerados ácidos de baixo PM e aldeídos [45].

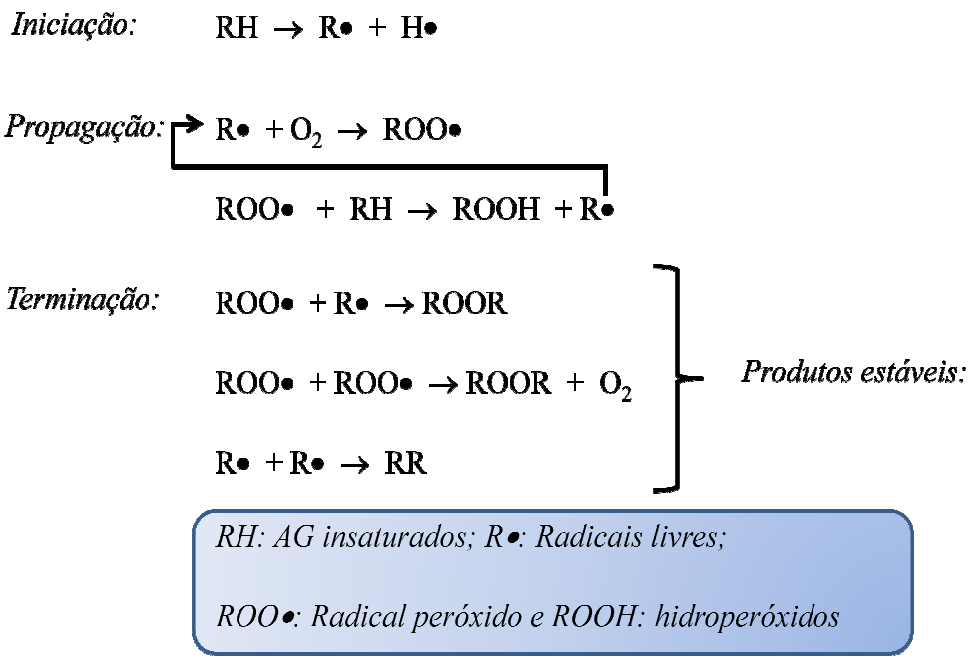


Figura 2: Mecanismo geral da oxidação de um ácido graxo. Adaptado da referência [48].

O mecanismo proposto por Loury [49] para a formação de produtos da auto-oxidação do oleato de metila é apresentado na Figura 3. A utilização deste éster é bastante empregada como modelo para os demais ésteres. Como pode ser observado, quatro diferentes possibilidades de formação de hidroperóxidos são obtidas inicialmente. Dentre as espécies de cadeia curta produzidas, os aldeídos são, certamente, os mais importantes. Desta forma, devido à quebra dos hidroperóxidos, os quais possuem os grupos nas posições 8-, 9-, 10- e 11-, são formados aldeídos de cadeia variando de 8 a 11 carbonos.

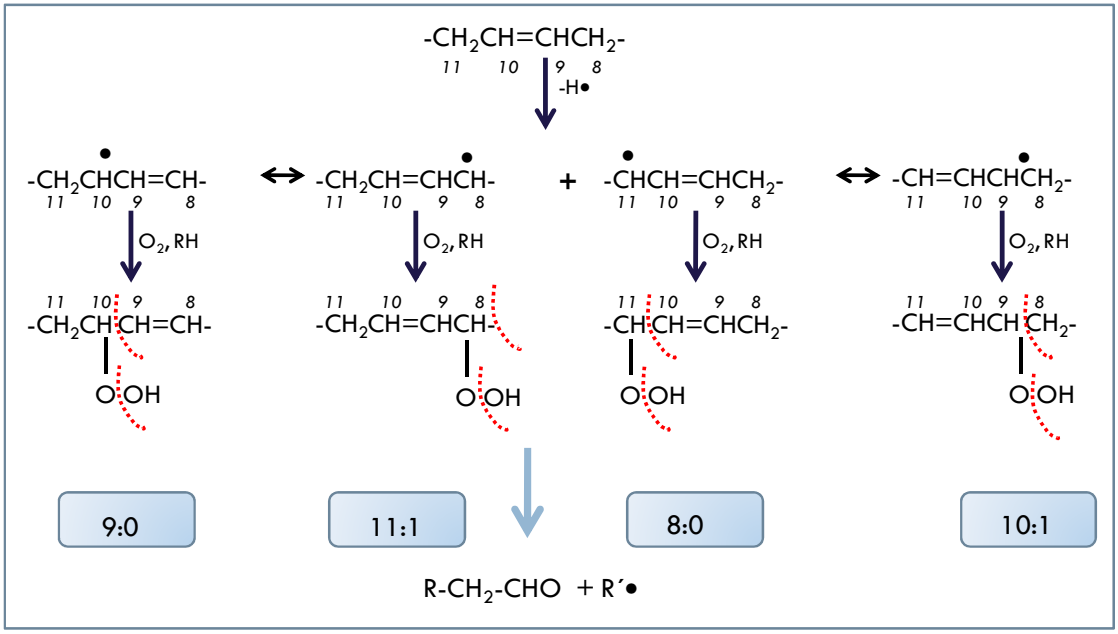


Figura 3: Formação de hidroperóxidos de cadeia variando de 8 a 11 carbonos, a partir do ácido oléico. Adaptado da referência [48].

A compreensão da formação dessa classe de compostos é importante, principalmente devido à grande reatividade dessas espécies e, por conseqüência, do desencadeamento das demais reações. Os aldeídos produzidos pela quebra dos hidroperóxidos irão, a partir da disponibilidade de oxigênio, gerar novos hidroperóxidos, os quais tendem a novamente quebrar, gerando um novo aldeído – de cadeia menor (n-1) – e uma molécula do ácido fórmico. A Figura 4 apresenta o mecanismo de reação recorrente de formação dos aldeídos e ácidos orgânicos de baixo PM. Como pode ser observado, o ácido fórmico é a espécie majoritária produzida nesta etapa.

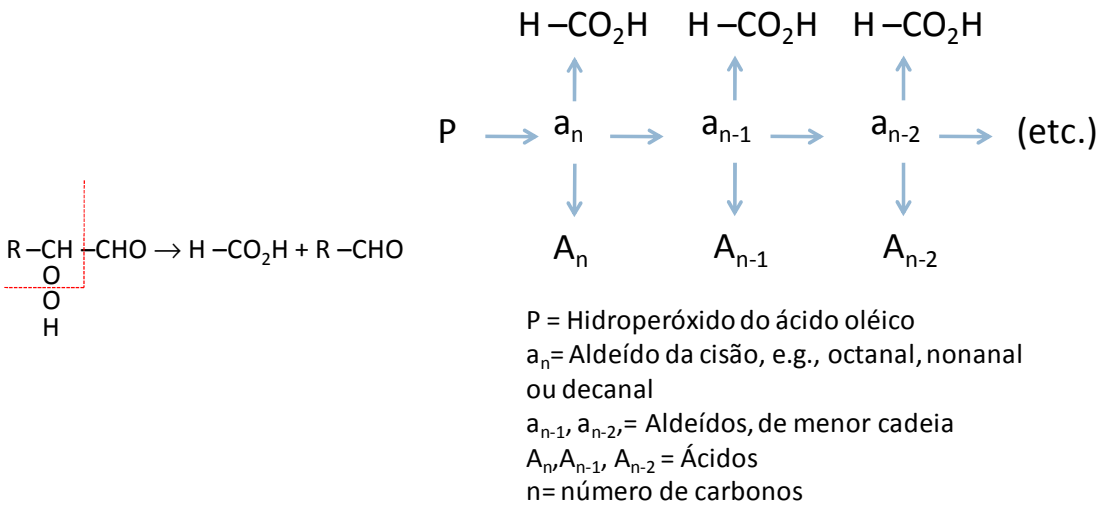


Figura 4: Formação dos compostos orgânicos de baixo PM a partir da reação recorrente dos hidroperóxidos. Adaptado da referência [49].

Dentro deste contexto, devido aos efeitos deletérios causados pela formação de subprodutos e suas implicações na qualidade do biodiesel e, conseqüentemente, no desempenho do motor, tem-se como norma técnica a determinação da estabilidade à oxidação. O método mais utilizado e aceito é baseado em ensaio acelerado – Método Rancimat, EN 14112, o qual consiste em expor a amostra a um fluxo de ar (10 L h^{-1}) a 110 °C. Esta metodologia foi adotada como padrão para determinação da estabilidade do biodiesel na Europa e no Brasil através da RANP 07/08. A formação dos produtos da oxidação, no caso ácidos orgânicos voláteis, é monitorada através de medidas de condutividade da fase aquosa coletora dos compostos voláteis. Um rápido aumento da taxa de oxidação é observado no ponto de indução (PInd), no qual se constata um rápido aumento do índice de peróxido, absorção de oxigênio e formação de compostos voláteis [50]. A especificação desta norma estabelece que a estabilidade à oxidação deva ter um valor mínimo de 6 horas.

1.2 Etanol combustível

O uso de combustíveis oxigenados, como metanol e etanol podem levar a uma

diminuição global de COx, NOx, SO_2 e as emissões de hidrocarbonetos [51]. Atualmente, é de reconhecida importância a utilização do etanol combustível na crescente frota de veículos de passeio. Considerando que o álcool combustível é produzido a partir da biomassa e o processo global de plantio, produção e uso resultam em um ciclo fechado para o elemento carbono, seu uso não contribui efetivamente para o aumento do carbono atmosférico [52]. O Brasil é hoje o segundo maior produtor deste biocombustível, perdendo apenas para os Estados Unidos. Sendo o mercado brasileiro um importante exportador desta *comoditie*.

O crescente uso do etanol no panorama brasileiro e mundial seja como combustível ou matéria prima para indústrias tem incentivado cada dia mais a padronização dos biocombustíveis de uma maneira geral. O rígido controle da qualidade do álcool vendido, o qual a produção ultrapassa a ordem de 18 bilhões de litros por safra [53], deve ser realizado por inúmeras destilarias espalhadas no país, fato que auxilia na padronização do produto final.

O órgão que regulamenta a qualidade deste combustível, a ANP, apenas normaliza sobre a presença dos contaminantes, cloreto, sulfato e sódio. Uma vez que estes ocasionam o desgaste, corrosão e entupimento de partes metálicas dos motores, assim como dos tanques de estocagem [54]. A ANP estabelece que as concentrações não devam ultrapassar 1, 4 e 2 mg kg^{-1} para o cloreto, sulfato e sódio, respectivamente, no álcool combustível hidratado. Os métodos padrões utilizados para avaliar esses parâmetros empregam a cromatografia iônica.

Por outro lado, é importante chamar a atenção para um parâmetro que, apesar de não pertencer às normas brasileiras, é de grande relevância, principalmente quando se refere ao monitoramento do etanol combustível de exportação. Uma vez que a exportação desse combustível entre continentes é realizada via transporte marítimo (navios cargueiros), o acondicionamento do etanol se dá em um reservatório rico em CO_2, de forma a evitar a combustão. A presença de CO_2 neste meio de etanol (~96%) favorece a formação de uma

espécie pouco conhecida, devido a grande instabilidade em meio aquoso – monoetilcarbonato (MEC).

Dentro deste contexto, o desenvolvimento de métodos alternativos de análise para os biocombustíveis mostra-se como um campo bastante promissor, em especial, para técnicas emergentes de análise, sobretudo com apelo de redução de custos, monitoramento remoto, ambientalmente correto, dentre outros.

Desta forma, o emprego da eletroforese capilar (*Capillary Electrophoresis* – CE) mostra-se como um campo bastante promissor para a avaliação da qualidade dos biocombustíveis. A CE tem despertado a atenção como uma nova e poderosa técnica para a análise de uma extensa gama de compostos, geralmente iônicos ou ionizáveis. Em CE, separações mais rápidas podem ser executadas com boa seletividade, alta eficiência, sensibilidade suficiente para a maioria das aplicações e baixo consumo de amostra e reagentes.

1.3 Eletroforese Capilar

A eletroforese, como uma técnica analítica, foi descrita pela primeira vez por Tiselius em 1937 [55], em que foi relatada a separação parcial de algumas proteínas em plasma sangüíneo. Por este trabalho pioneiro, Tiselius foi premiado em 1948 com um prêmio Nobel. Em 1967, Hjertén [56] demonstrou a possibilidade de conduzir separações eletroforéticas em tubos de vidro de 300 µm de diâmetro interno e 36 cm de comprimento, potencial de separação de 2,5 a 3,0 kV e detecção dos compostos na região do UV, nomeando esta técnica de eletroforese em zona livre. Embora outros pesquisadores tenham relatado a utilização da eletroforese em tubos de vidro e Teflon [57-59], esta técnica não se tornou popular até 1981 quando Jorgenson e Lukacs [60] publicaram um trabalho, no qual demonstraram o alto poder de resolução da eletroforese capilar em zona (CZE), com o uso de capilares de sílica fundida

de 75 µm de diâmetro interno.

Desde a introdução do primeiro equipamento comercial de CE, há cerca de 30 anos, aplicações da técnica têm se difundido. Atualmente, a CE é uma técnica analítica reconhecidamente versátil que é utilizada com sucesso para a separação de íons pequenos, moléculas neutras e até macromoléculas. O avanço da CE se deve, em parte, à sua simplicidade instrumental e aplicabilidade para a separação de uma extensa gama de compostos utilizando o mesmo instrumento e, na maioria dos casos, a mesma coluna de separação, sendo necessária somente a mudança na composição do eletrólito de corrida (*Background Electrolyte* – BGE).

Em CE, as separações são conduzidas em tubos com dimensões de 15 a 100 µm de diâmetro interno, e 50 a 100 cm de comprimento, preenchidos com um eletrólito, e submetidos à ação de um campo elétrico. A utilização do capilar oferece muitas vantagens sobre os outros meios utilizados para eletroforese (placas de gel, papel etc.) devido aos fatores geométricos, pois a relação entre a área superficial interna e volume apreciavelmente grande possibilita a dissipação eficiente do calor gerado pela passagem da corrente elétrica (aquecimento Joule) [61].

Dentre os vários materiais utilizados na fabricação de capilares, a sílica fundida (revestida externamente com poliimida) tem sido o material mais empregado, o que proporciona aos capilares dimensões precisas, alta constante dielétrica, baixa condutividade elétrica, alta condutividade térmica, resistência mecânica, maleabilidade, etc. No entanto, a utilização de capilares de sílica é também responsável por um importante fenômeno em CE, o fluxo eletrosmótico (EOF) [62]. A existência do fluxo se deve à dupla camada elétrica que se desenvolve na interface sílica/solução. Em pH acima de 3, ocorre a ionização dos grupos silanóis superficiais (Si-OH) que constituem a parede interna do capilar de sílica, conferindo à superfície interna um caráter negativo. Com isso, os cátions do BGE tendem a se aproximar

da parede e, sob um campo elétrico, são atraídos para o cátodo. Como estão solvatados, arrastam o solvente, proporcionando o "bombeamento" de solução no interior do capilar. Desta forma, a movimentação dos íons dentro do capilar passa a depender não somente da sua própria mobilidade, mas também da mobilidade do EOF. O tempo em que as espécies levam para passar pelo detector (velocidade aparente) representa a somatória vetorial das velocidades efetiva e da velocidade do EOF. Em condições normais (polaridade normal), o EOF ocorre do ânodo (pólo positivo) para o cátodo (pólo negativo). No entanto, quando desejado, o EOF pode ser reduzido, suprimido ou mesmo ter o sentido invertido. A inversão do EOF é, geralmente, realizada pela adição de um surfactante catiônico (i.e. CTAB, DDAB, CTAH, etc.) ao eletrólito de corrida. Uma vez que, esses tensoativos possuem uma carga positiva em uma extremidade e uma ou mais longas caudas hidrocarbônicas, este reveste a sílica carregada negativamente com as caudas dos surfactantes apontando para fora da supefície. Assim, uma segunda camada do tensoativo se orienta na direção oposta, formando uma bicamada, a qual adere fortemente à parede do capilar e inverte efetivamente a carga da parede de negativa para positiva. Sendo assim, os ânions do eletrólito de corrida criam um EOF do cátodo para o anodo quando um potencial é aplicado [91].

O modo mais comum desta técnica é a eletroforese capilar em zona (CZE) ou, eletroforese capilar em solução livre (FSCE). Basicamente, a separação ocorre devido à migração diferenciada das espécies onde, sob a ação de um campo elétrico, cada zona migra com velocidade característica da própria espécie. De uma maneira geral, esse modo é aplicado à separação de espécies iônicas ou facilmente ionizáveis. Por esta razão, Terabe e colaboradores [63] introduziram uma nova versão da CE, a cromatografia eletrocinética micelar (MEKC). Nesta modalidade, a separação é proporcionada pela associação diferenciada entre os diversos solutos neutros e uma fase micelar, em geral iônica.

Esta versatilidade é uma característica importante e muitas vezes requerida em

diversos campos da ciência e que não é encontrada em nenhuma outra técnica de separação. Adicionalmente, os resíduos gerados, geralmente um tampão aquoso ou, em alguns casos, com uma pequena quantidade de modificador orgânico, são da ordem de poucos mililitros e podem ser descartados sem gerar grande impacto ao meio ambiente.

1.4 Sistemas de detecção em CE

De maneira geral, são empregados os mesmos tipos de detecção utilizados em cromatografia líquida, os quais podem ser classificados em dois tipos: os universais e os específicos. Os detectores universais medem a diferença entre alguma propriedade do soluto em relação à solução. Assim, o sinal não depende das propriedades do soluto, mas da diferença entre as propriedades do soluto e da solução. No entanto, a detecção é somente possível quando a separação das espécies for completa. Os detectores de índice de refração, condutividade, entre outros que empregam métodos indiretos são classificados como universais. Os detectores específicos medem uma propriedade específica do soluto, que não são semelhantes em todas as espécies. A detecção é, portanto, limitada aos solutos que possuem a referida propriedade. Um sistema de detecção seletivo é particularmente interessante quando a separação total das espécies presentes na amostra não ocorre. Nesta classe estão incluídos os fotodetectores baseados na absorção de luz na região do UV/Vis, na fluorescência, ou no espalhamento Raman, os espectrômetros de massas, os detectores amperométricos e os radiométricos [62].

Dentre os modos de detecção universal, a detecção condutométrica sem contato (*Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection* – C^4D) tem-se destacado desde a primeira vez que foi proposta em 1998 [64, 65]. Atualmente existem comercializados no mercado dois modelos deste detector [66, 67], assim como projetos disponibilizando o esquema eletrônico e código fonte necessários para construção, como é o caso do open C^4D

[68].

A C^4D é proporcionada através do acoplamento de dois eletrodos, em forma de anel, em torno do revestimento externo de poliimida do capilar de sílica fundida. A resposta do detector é devida, essencialmente, às diferenças de condutividade entre o eletrólito e o analito, ou seja, a detecção é baseada na substituição do co-íon presente no eletrólito pelo analito. Nos casos em que o analito apresenta maior mobilidade que o co-íon do eletrólito ocorre um aumento da condutividade nessa região, o qual é registrado como um sinal positivo. Por outro lado, quando o co-íon apresenta maior mobilidade que o analito, o pico é registrado como um sinal negativo, portanto, quanto maior a diferença entre as mobilidades, maior a sensibilidade obtida.

Diversas aplicações têm sido relatadas na literatura empregando a CE-C^4D para a análise de diferentes matrizes de interesse em diversas áreas da ciência [69, 70].

1.5 Aplicações da CE na análise dos biocombustíveis

Na literatura, poucos trabalhos têm relatado o emprego da CE na análise dos biocombustíveis. De certa forma, justificável pela recente utilização dos mesmos. Recentemente, um método empregando a CE foi descrito para a determinação de espécies catiônicas no biodiesel. Neste trabalho foi utilizada a detecção indireta em 214 nm, uma vez que, essas espécies não apresentam uma boa absortividade no UV [71]. Outra aplicação da técnica foi descrita para determinação do glicerol no biodiesel. Uma vez que esta espécie é uma espécie neutra, uma reação com periodato foi empregada para determinação indireta do glicerol [72].

O emprego da CE na análise de íons inorgânicos em etanol combustível tem sido relatado empregando a detecção indireta no UV e C^4D [73-75]. Por outro lado, os principais contaminantes orgânicos no álcool também têm sido contemplados por métodos utilizando a

CE, em especial os compostos carbonílicos (acetaldeído e acetona) [74]. Apesar desta classe de compostos não apresentarem nenhum grupo ionizável e não apresentarem nenhum grupo cromóforo, algumas estratégias têm sido relatadas na literatura. As principais vantagens da técnica sobre os métodos empregando HPLC, em especial os métodos utilizando derivatização com 2,4-difenilhidrazina (DNPH), são: eliminação da etapa de purificação dos reagentes derivatizantes, redução do tempo de análise, redução e/ou eliminação de solventes orgânicos. Neste contexto, é importante destacar a potencialidade da CE para determinação dessa classe de compostos, haja vista que os métodos cromatográficos para separação dos compostos carbonílicos empregam, via de regra, acetonitrila, devido às características bastante apreciadas desse solvente pelos pesquisadores. No entanto, cabe ressaltar que a crise deflagrada em 2008 protagonizada por este solvente, deu início a uma busca incessante por novos métodos de análise dessa classe de compostos, uma vez que o custo do solvente passou de algumas centenas de dólares a alguns milhares de dólares [76]. Pereira e Colaboradores [77-79] relataram o emprego da CE no desenvolvimento de métodos alternativos para análise de aldeídos emitidos na combustão do álcool combustível em veículos de passeio, assim como outras amostras ambientais. Dentre as estratégias empregadas, destaca-se a formação de compostos derivados da hidrazina, seguida da separação por zona [77] ou em meio micelar [78, 79], assim como a formação de adutos aniônicos com bissulfito, possibilitando a separação de alguns aldeídos por CZE [79]. Nosso grupo de pesquisa também descreveu a aplicação da CE-C^4D na determinação de folmaldeído em amostras de ar empregando a formação do aduto entre o aldeído e o bissulfito – o hidroximetanossulfonato – um composto orgânico estável e fortemente ionizado. O método foi validado e comparado com HPLC, apresentando resultados bastante satisfatórios [80].

Dentro ainda deste contexto, o emprego da derivatização para formação de um aduto de caráter aniônico entre o bicarbonato e alcoóis alquílicos, seguida da separação por CE-C^4D

foi descrita recentemente pelo nosso grupo de pesquisa [81]. Neste trabalho, os esforços foram voltados para ilustração da técnica como uma importante ferramenta para aquisição de parâmetros físico-químicos desta classe de compostos. Estas espécies, diversas vezes negligenciadas em diferentes campos da química e, em especial, na química analítica, estão presentes em todo e qualquer meio contendo CO_2 e um álcool. Durante a tentativa de desenvolver um método de determinação bicarbonato em etanol combustível por CE-C^4D, nos deparamos com esta reação, a qual tem sido desde então, explorada pelo nosso grupo de pesquisa para, como já discutido, determinação de constantes de formação, hidrólise, avaliação em outros sistemas químicos (*e.g.* bebidas alcoólicas carbonatadas), assim como em sistemas biológicos para estudos sobre a participação do CO_2 no transporte intracelular.

Capítulo 2: Justificativa do projeto

2 Justificativa do projeto

O avanço nas pesquisas para geração de energia limpa a partir do aproveitamento da biomassa é um momento de grande oportunidade para países em desenvolvimento, como o Brasil, o qual possui experiência na área de conversão energética (lenha, carvão vegetal, etanol e recentemente, o biodiesel). Atualmente, o Brasil é um importante produtor e consumidor do etanol combustível. Assim como é o caso do biodiesel, o qual é adicionado ao diesel do petróleo na proporção de 4 %, o que representa uma redução da dependência do combustível fóssil de cerca de $1{,}5 \times 10^6$ m^3 / ano. Desta forma, para atender a grande demanda de consumo do biodiesel, assim como etanol combustível, os mesmos são produzidos em diferentes regiões do país, desde pequenas usinas até grandes produtores. A qualidade do biodiesel está fortemente ligada ao sucesso do programa, assim como foi para o etanol combustível, o qual já é uma realidade hoje. Atualmente, a Agência Nacional do Petróleo, através da Resolução n°07 de 2008 (RANP 07/08) regulamenta uma série de parâmetros físico-químicos do biodiesel, para as quais, as análises são realizadas utilizando diferentes instrumentos. Neste contexto, o desenvolvimento de métodos alternativos, especialmente os de baixo custo operacional e de implantação, é de grande importância de forma a auxiliar no estrito controle de qualidade desses biocombustíveis produzidos em diferentes usinas espalhadas pelo país.

Capítulo 3: Objetivos

3 Objetivos

3.1 Objetivos gerais

Demonstrar a potencialidade da eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato (CE-C^4D) na determinação de espécies de diferentes classes.

Desenvolver métodos alternativos utilizando a CE-C^4D para aplicação na análise do biodiesel e etanol combustível, atendendo a Resolução nº7/2008 (ANP) e outros órgãos reguladores.

3.2 Objetivos específicos

O presente trabalho tem como objetivos desenvolver métodos analíticos, utilizando a CE-C^4D, para a determinação de:

- Sódio, potássio, cálcio, magnésio, sulfato, fosfato, formiato, acetato, propionato e glicerol em biodiesel

- Ácidos orgânicos de baixo PM produzidos durante a auto-oxidação do biodiesel.

- Estágio de oxidação do biodiesel, baseado na formação dos ácidos orgânicos de baixo PM formados durante a etapa de auto-oxidação.

- Cloreto, Sulfato, Formiato, Acetato, Formaldeído e Acetaldeído em álcool combustível.

- Teor de etanol e água no etanol combustível.

Capítulo 4: Materiais e Métodos

4 Materiais e Métodos

4.1 Reagentes

Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico. Acetaldeído, ácido acético, ácido acrílico, ácido fórmico, ácido láctico, ácido N-ciclohexil-2-aminoetanosulfônico (CHES), ácido 2-N-morfolino-etanosulfônico (MES), ácido periódico, ácido propiônico, bissulfito de sódio, bicarbonato de sódio, brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), brometo de didodecildimetilamônio (DDAB), carbonato de sódio, cloreto de cálcio, cloreto de lítio, cloreto de magnésio, cloreto de potássio, cloreto de sódio, cloroacetato de sódio, formaldeído, hidróxido de lítio, hidróxido de sódio, iodato de sódio, metanol, resina de troca aniônica de base forte (III), tiocianato de sódio foram adquiridos da MERCK (Darmstadt, Alemanha). Ácido glicólico, ácido glioxílico, ácido 2-hidroxi-isobutírico (HIBA), glicerol e L-histidina foram adquiridos da Sigma (St Louis, EUA). Todos os tampões de corrida e soluções padrão foram preparados pela dissolução dos reagentes ou diluição de solução estoque em água deionizada (Barnstead, Dubuque, IA, USA).

4.2 Análises por CE

As análises foram realizadas em equipamentos de CE-C^4D construídos em nosso laboratório [64, 82, 83]. Os experimentos foram realizados com o detector operando em 600 kHz e 2,0 Vpp. A temperatura no interior do equipamento foi mantida em aproximadamente 25 °C. Foram utilizados capilares de sílica fundida (J&W Scientific, Folsom, CA, USA) de comprimento total, efetivo e diâmetro interno variados, os quais serão especificados para cada caso.

4.2.1 Determinação de contaminantes inorgânicos e orgânicos no biodiesel

Para a separação dos cátions presentes no biodiesel, foram utilizados dois BGEs contendo: (1) 10 mmol L^{-1} de HIBA / 20 mmol L^{-1} de Histidina em 10 % de metanol (v/v), pH 6,0 e (2) 30 mmol L^{-1} de MES / 30 mmol L^{-1} de Histidina, pH 6,0.

Para a separação dos ânions presentes foram exploradas separações variando o pH entre 3,9 e 6,0. Os BGE avaliados foram HIBA/Histidina e MES/Histidina, em concentrações necessárias para atingir os diferentes valores de pH. CTAB ou hidróxido de cetiltrimetilamônio (CTAH) foram utilizados para inversão do EOF.

A determinação indireta de glicerol foi realizada utilizando BGE contendo 30 mmol L^{-1} de ácido acético.

4.2.1.1 Amostras de biodiesel

As amostras de biodiesel foram adquiridas de diferentes locais e composição. As principais amostras avaliadas neste trabalho foram das oleaginosas: soja, mamona, palma, algodão e sebo bovino. Para a extração das espécies disponíveis no combustível, foram pesadas massas de amostra de biodiesel variando de 200 a 880 mg em micro tubos (vials) e adicionados 200 mg da solução aquosa. Os micro tubos foram então submetidos à agitação mecânica, empregando um agitador do tipo vortex (Quimis, Diadema, Brasil), centrifugadas (Force 7 Microcentrifuge, Denver Instrument, Arvada, EUA) durante 10 min a 10.000 rpm e a fase aquosa retirada com o auxilio de uma micro-pipeta.

4.2.1.2 Fortificação das amostras de biodiesel

As amostras foram fortificadas de forma a avaliar a exatidão do método através do teste de recuperação dos analitos. A fortificação com o glicerol e os ácidos sulfúrico, acético,

fórmico, propiônico e fosfórico foi realizada a partir da diluição desses reagentes em etanol, adição e homogeneização na matriz de biodiesel. Os cátions metálicos foram adicionados na forma de propionato do respectivo metal. As soluções desses sais foram preparadas a partir da solução dos respectivos carbonatos, aos quais foram adicionados solução de ácido propiônico até total solubilização do sal e término da expulsão do CO_2. Essas soluções também foram todas preparadas em etanol.

4.2.2 Estudos sobre a formação dos ácidos orgânicos de baixo peso molecular durante a auto-oxidação do biodiesel e determinação do estágio oxidativo da amostra

Para estudos dos produtos formados durante auto-oxidação do biodiesel foi montado um sistema similar ao teste Rancimat. A Figura 5 ilustra o sistema montado. Para controle da temperatura foi empregado uma manta de aquecimento ligada a um reostato para o ajuste da corrente e um banho de areia para estabilização da temperatura em 110 °C. A amostra é acondicionada em um frasco de vidro (tubo de ensaio), o qual é vedado utilizando uma tampa em Teflon® com dois orifícios (entrada e saída de ar). O borbulhamento de ar na amostra é promovido utilizando uma bomba de aquário, tubo de Teflon® e um restritor de fluxo para ajuste da vazão de ar em 10 L h^{-1}. Para a saída de ar e captação dos compostos voláteis, também foi utilizado tubo de Teflon® imerso em água deionizada (50 mL). Para acompanhamento do processo de oxidação, um condutivímetro foi empregado e interfaceado ao computador. Para determinação das espécies formadas, alíquotas foram retiradas da fase aquosa coletora dos gases gerados, assim como o biodiesel em diferentes intervalos de oxidação.

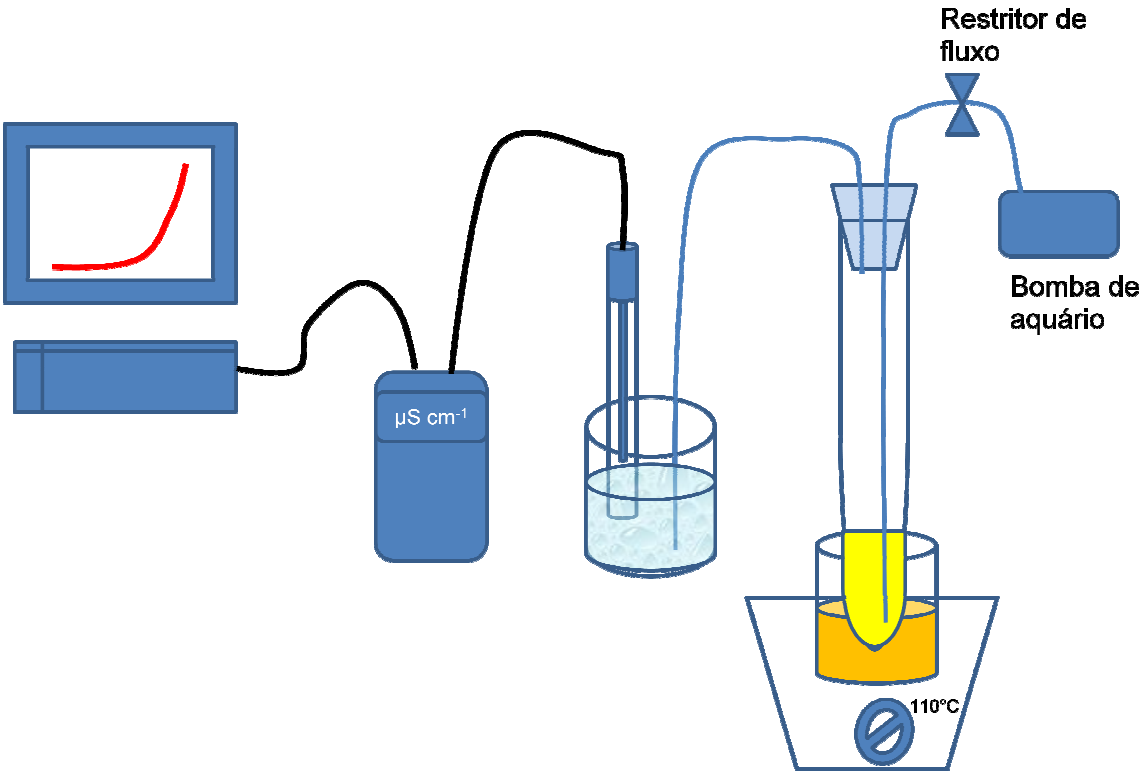


Figura 5: Sistema montado para teste de estabilidade oxidativa

A separação das espécies foi realizada utilizando BGE contendo MES/Histidina em concentrações necessárias para ajustar os valores de pH entre 5,5 e 6,0. Adicionalmente foi utilizado BGE contendo 20 mmol L^{-1} de ácido fórmico / 14 mmol L^{-1} de histidina, pH 4,0.

4.2.3 Determinação de contaminantes inorgânicos e orgânicos de baixo peso molecular no álcool combustível

As separações dos ânions foram realizadas em BGE contendo 30 mmol L^{-1} MES/Histidina, 0,2 mmol L^{-1} CTAH, pH 6,0. Foi utilizado capilar de 70 cm (60 cm até o detector, potencial de corrida -25 kV.

4.2.3.1 Amostras de etanol combustível

As amostras foram adquiridas diretamente dos postos de combustíveis. As amostras foram preparadas através da diluição do etanol combustível em água e em tampão diluído. A derivatização dos aldeídos (formaldeído e acetaldeído) foi procedida através da adição de solução de bissulfito de sódio suficiente para render a concentração inicial de 1,0 mmol L^{-1}. Após adição do derivatizante, as amostras foram agitadas vigorosamente (vortex) e mantidas para análise.

4.2.3.2 Preparo do CTAH

O CTAH foi preparado a partir da substituição dos íons brometo do CTAB utilizando resina de troca iônica de base forte. Foi utilizada uma seringa de 10 mL como suporte para a resina. A seringa foi vedada nas duas extremidades e conectada a um tubo de tygon conectado a uma bomba peristáltica. A resina foi previamente condicionada com solução 1,0 mol L^{-1} de NaOH durante 10 min, seguida de água desionizada durante 10 min. Foi então procedida a troca aniônica do íon brometo pelas hidroxilas da resina, passando pela coluna 10 mL de solução de CTAB 20 mmo L^{-1}. Após a passagem da solução de CTAB foi procedida a passagem de 80 mL de água desionizada, cerca de 10 vezes o volume da coluna (Vol_{col} = 8 mL) de forma a remover todo o CTAH de dentro da coluna. O procedimento foi realizado em fluxo.

4.2.4 Determinação do teor de etanol e água no álcool combustível explorando a estratégia de formação do aduto monoetilcarbonato (MEC)

As separações foram realizadas em BGE de diferentes composições. Foi utilizado BGE composto por 20 mmol L^{-1} de CHES / 10 mmol L^{-1} de hidróxido de lítio. O segundo BGE foi composto por 20 mmol L^{-1} de bicarbonato de sódio/carbonato de sódio. Em ambos os casos, a inversão do EOF foi realizada pela passagem de solução de DDAB pelo capilar por 30 min, de forma a promover a formação de uma camada semi-permanente na parede interna do capilar.

4.2.4.1 As amostras

As amostras foram preparadas seguindo os diferentes protocolos descritos a seguir:

Procedimento 1: Adição de bicarbonato de sódio diretamente na amostra de etanol. As amostras foram preparadas em frascos polipropileno de 5,0 mL, os quais foram preenchidos até o máximo de sua capacidade, de forma a evitar absorção e/ou perda de CO_2 para o meio. As amostras foram mantidas durante 2 h antes da análise.

Procedimento 2: Foram adicionadas barras de gelo seco diretamente na amostra de etanol e após completa sublimação do CO_2 as amostras foram mantidas *overnight*. A partir dessa solução foram preparados os padrões contendo teores de água variando de 0 – 32 %.

Procedimento 3: As amostras foram preparadas pela adição da solução de bicarbonato de morfolino. Para preparo deste sal foi preparada uma solução 0,1 mol L^{-1} de morfolino em 2-butanol (100 mL), a qual foi dividida duas frações de 50 mL. Em uma das soluções foram adicionas pedras de gelo seco (~10 g cada), adicionadas uma a uma. Em seguida as duas soluções foram novamente misturadas. Desta forma, devemos esperar que o

pH dessa solução se mantivesse próximo da faixa tamponante do morfolino (pH = 8,33), uma vez que as medidas de pH empregando eletrodo de vidro não forneçam valores próximos do real, devido ao solvente orgânico utilizado.

A solução preparada foi então adicionada às amostras de etanol (500 µL), foram adicionados volumes de água suficientes para render teores de 0 – 32 % (v/v) em etanol, volume total de 5 mL.

Procedimento 4: As amostras foram preparadas de forma a deixar o meio predominantemente aquoso (> 50 %). Foram preparadas soluções 20 mmol L^{-1} de bicarbonato de sódio em água, contendo os ânions acetato e/ou butirato, empregados com padrão interno.

Capítulo 5: Determinação de contaminantes inorgânicos e orgânicos no biodiesel.

5 Determinação de contaminantes inorgânicos e orgânicos no biodiesel

5.1 Determinação de Na^+, K^+, Ca^{2+} e Mg^{2+} no Biodiesel

5.1.1 Otimização das condições de separação

Para a separação dos cátions de interesse no Biodiesel, dois BGE diferentes foram avaliados. Como pode ser observado na Figura 6, a separação em linha de base desses íons, é conseguida utilizando como eletrólito de corrida 10 mmol L^{-1} de HIBA / 20 mmol L^{-1} de Histidina em 10 % de metanol (v/v), pH 6,0; capilar de 70 cm (60 cm até o detector) e potencial de + 25 kV. A utilização de agentes complexantes, como é o caso do HIBA, é freqüentemente empregada para se atingir uma boa resolução de pares adjacentes [84]. A utilização desses complexantes é especialmente importante quando a presença desses metais difere na concentração em pelo menos uma ordem de grandeza. Desta forma, a adição de modificadores orgânicos, e.g., metanol, tem um papel de grande importância, devido à redução do EOF, e mudança na solvatação das espécies, auxiliando na melhor resolução dos picos. O segundo BGE avaliado, composto por 30 mmol L^{-1} de MES / Histidina, é apresentado na Figura 7. Este sistema químico tem sido amplamente empregado em separações de íons pequenos por CE-C^4D, devido à baixa condutividade dessas espécies e a alta capacidade tamponante.

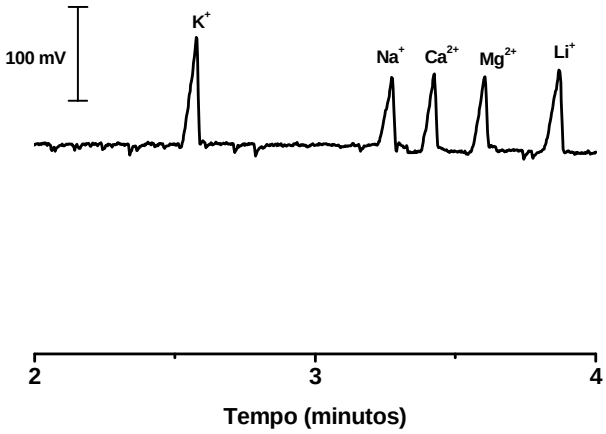


Figura 6: Eletroferograma para a separação de cátions inorgânicos, utilizando BGE contendo 10 mmol L^{-1} de HIBA / 20 mmol L^{-1} Histidina em 10 % de metanol (v/v), pH 6,0. Padrões contendo 100 µmol L^{-1} de cada íon metálico, exceto Li^+ (200 µmol L^{-1}), utilizado como PI. Capilar de 70 cm (60 até o detector) e potencial de + 25 kV. Injeção de 30s e 10cmH_2O.

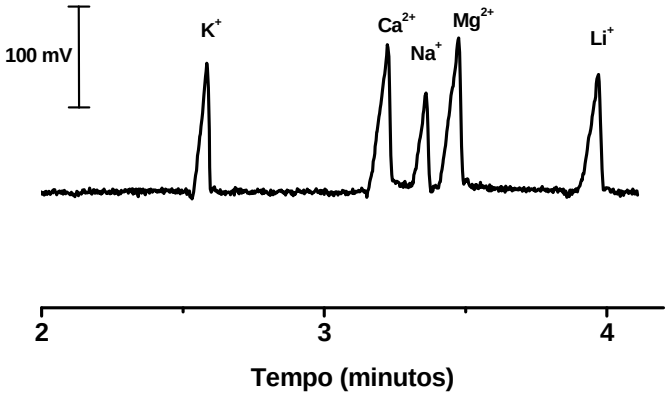


Figura 7: Eletroferograma para a separação de cátions inorgânicos, utilizando BGE contendo 30 mmol L^{-1} de MES / 30 mmol L^{-1} de Histidina, pH 6,0. Padrões contendo 100 µmol L^{-1} de cada íon metálico, exceto Li^+ (200 µmol L^{-1}, utilizado como PI). Capilar de 70 cm (60 até o detector) e potencial de + 25 kV. Injeção de 30s e 10cmH_2O.

Considerando que as concentrações desses metais no biodiesel são geralmente baixas e que o segundo sistema tampão possui uma maior capacidade tamponante – devido ao fato de ambos (MES e Histidina) tamponarem em pH 6,0 –, este foi o BGE escolhido. Desta forma, depois de atingida a separação em linha de base dos cátions de interesse no biodiesel nas condições descritas, análises mais rápidas foram alcançadas, pela substituição do capilar de 70 cm por um capilar de 50 cm (40 cm até o detector), e o potencial de corrida alterado para + 28 kV. Os eletroferogramas obtidos são apresentados na Figura 8.

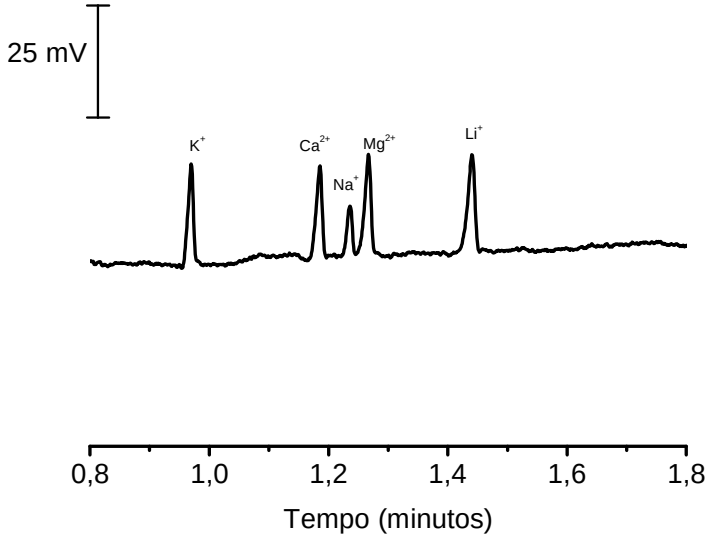


Figura 8: Separação de cátions inorgânicos, utilizando BGE 30 mmol L^{-1} MES / Histidina, pH 6,0. Padrões contendo 100 µmol L^{-1} de cada íon metálico, exceto Li^+ (200 µmol L^{-1}, utilizado como PI). Capilar de 50 cm (40 até o detector) e potencial de + 28 kV. Injeção de 10s e 10cmH_2O.

Uma vez otimizada a separação dos cátions de interesse no biodiesel, foi então avaliada a melhor condição de extração desses íons para a fase aquosa, haja vista a impossibilidade de injeção direta das amostras de Biodiesel sem nenhum pré-tratamento devido ao caráter hidrofóbico deste combustível.

5.1.2 Otimização do processo de extração

O processo de extração foi avaliado empregando agitação mecânica e duas soluções diferentes, água desionizada contendo 200 µmol L^{-1} de LiCl (como PI) e solução contendo BGE diluído 10 vezes, também contendo 200 µmol L^{-1} de LiCl. O gráfico da Figura 9 apresenta os valores das áreas relativas (área do analito /área do Li^+) dos cátions extraídos com as duas diferentes soluções, e em diferentes tempos de extração. As extrações foram procedidas em duplicata independentes e analisadas em triplicata (n = 6). Os resultados obtidos demonstram uma melhor eficiência de extração quando utilizado como solução extratora o próprio BGE (MES/Histidina). Isto se deve, provavelmente, à troca iônica do cátion inorgânico pelo cátion formado pela histidina, constituinte do BGE. Adicionalmente, o tempo de extração não apresentou influência significativa na extração.

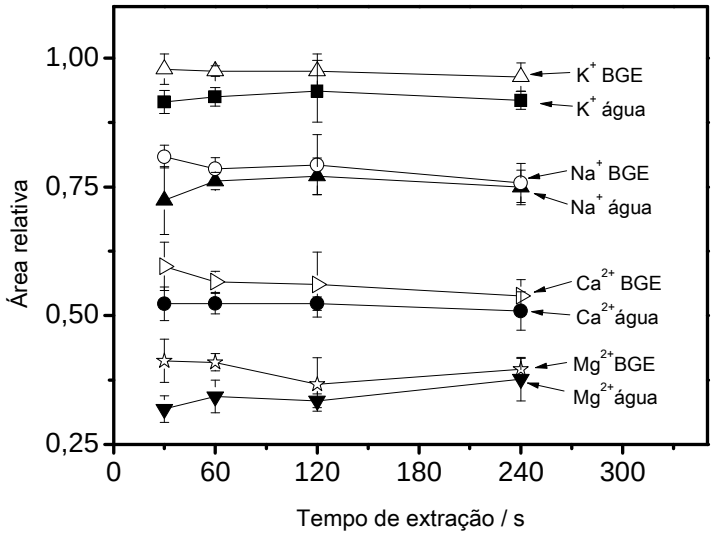


Figura 9: Avaliação da eficiência de extração líquido-líquido sob agitação mecânica em função do tempo, utilizando como solução extratora água ou BGE diluído 10 vezes.

A Figura 10 apresenta os eletroferogramas obtidos utilizando como tampão de corrida 30 mmol L^{-1} de MES/Histidina na separação dos metais presentes em uma das amostras de

biodiesel, os quais foram extraídos utilizando BGE diluído 10 vezes e 200 µmol L^{-1} de LiCl como PI.

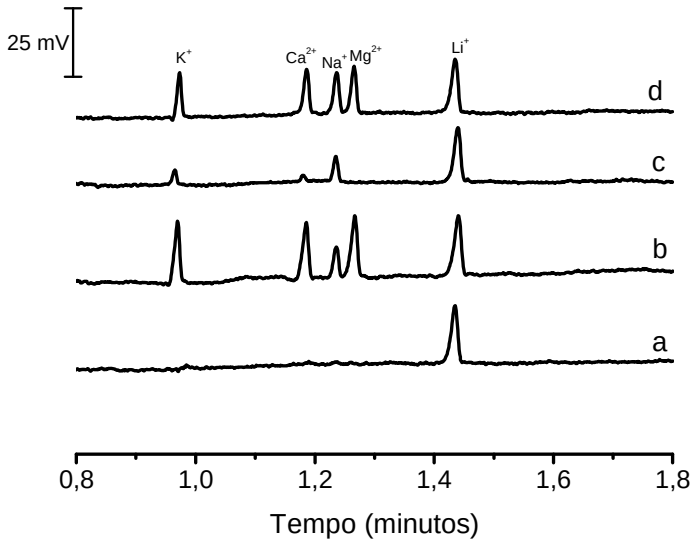


Figura 10: Separação de cátions inorgânicos, utilizando BGE 30 mmol L^{-1} MES / Histidina, pH 6,0. a- Eletroferograma obtido da solução tampão diluída 10 vezes utilizada para extração (branco); b- padrões contendo 100 µmol L^{-1} de cada íon metálico, exceto Li^+ (200 µmol L^{-1}, utilizado como PI); c- eletroferograma obtido para uma amostra de biodiesel após extração, foi utilizada massa de 880 mg da amostra e 200 mg da solução extratora; e d- amostra de biodiesel fortificada (100 µmol L^{-1} de cada íon metálico). Capilar de 50 cm (40 até o detector) e potencial de + 28 kV. Injeção de 10s e 10cmH_2O.

5.2 Determinação de Sulfato, Fosfato, Formiato, Acetato e Propionato no Biodiesel

5.2.1 Otimização das condições de separação

Para a separação dos ânions de interesse e identificação das espécies presentes no biodiesel, foram realizadas corridas exploratórias variando a composição do eletrólito de

corrida e o pH. Os resultados foram comparados com os dados obtidos por simulação, de forma a confirmar e/ou identificar algumas espécies nas amostras de biodiesel.

Os experimentos em CE foram realizados variando o pH entre 3,9 e 6,0. Foi utilizado como tampão de corrida HIBA/Histidina, em concentrações variando de 10 a 20 mmol L^{-1} de cada constituinte, para o ajuste do pH. Os eletroferogramas experimentais e simulados, utilizando programa Peakmaster 5.2 [85, 86], foram obtidos (Figura 11 – Figura 13). Para esta seqüência de experimentos foi utilizado CTAH como inversor do EOF. A vantagem da utilização deste, sobre o CTAB é a possibilidade da determinação de íons cloreto, uma vez que a utilização de CTAH não ocasiona a formação da vacância do brometo, a qual possui mesma mobilidade do cloreto.

Como pode ser observado (Figura 11 – Figura 13), a variação do pH não exerce influência sobre a separação dos ânions inorgânicos – com exceção do fosfato – uma vez que estes são provenientes de ácidos fortes e, nesta faixa de pH estão desprotonados. O aumento do pH de 3,9 para 5,0 proporcionou o aumento da mobilidade do formiato e conseqüentemente um aumento da sensibilidade. O mesmo comportamento é observado para os ânions acetato e propionato, que em pH $\geq$ 5,0, apresentaram sensibilidade para estes ânions, uma vez que os valores de pK_a desses ácidos são 4,75 e 4,87, respectivamente.

É importante enfatizar que o programa de simulação é um recurso que muitas vezes os pesquisadores lançam mão, pois elimina em alguns casos a etapa de tentativa e erro. Entretanto, o programa não leva em consideração as interações químicas entre as espécies no interior do capilar [86]. Como pode ser observado nos eletroferogramas obtidos experimentalmente, ao contrário do previsto pelo simulador, a separação dos íons cloreto, nitrato e sulfato ocorrem em todas as condições.

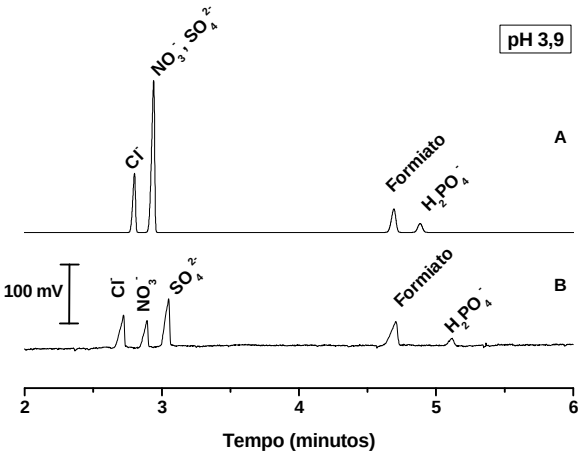


Figura 11: Eletroferograma obtido para a separação de ânions, utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} HIBA / 10 mmol L^{-1} Histidina, 0,1 mmol L^{-1} CTAH, pH 3,9. O item A- apresenta a separação obtida por simulação e o item B-, apresenta a separação obtida experimentalmente. Capilar de 70 cm (60 cm até o detector) e potencial de - 25 kV.

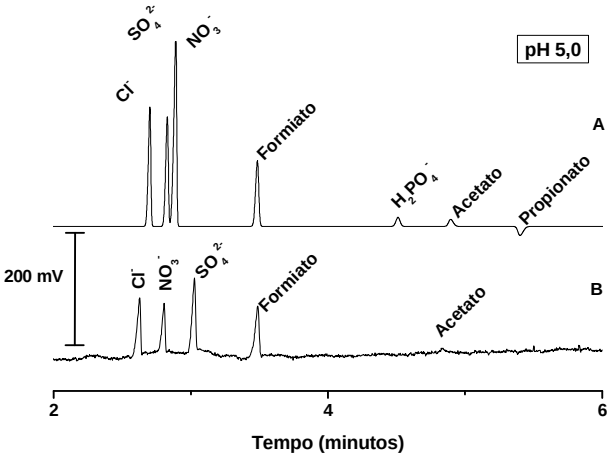


Figura 12: Eletroferograma obtido para a separação de ânions, utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} HIBA / 20 mmol L^{-1} Histidina, 0,1 mmol L^{-1} CTAH, pH 5,0. O item A- apresenta a separação obtida por simulação e o item B-, apresenta a separação obtida experimentalmente. Capilar de 70 cm (60 cm até o detector) e potencial de - 25 kV.

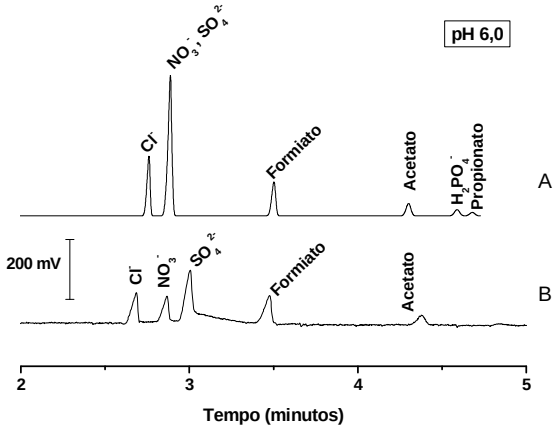


Figura 13: Eletroferograma obtido para a separação de ânions, utilizando BGE contendo 10 mmol L^{-1} HIBA / 20 mmol L^{-1} Histidina, 0,1 mmol L^{-1} CTAH, pH 6,0. O item A- apresenta a separação obtida por simulação e o item B-, apresenta a separação obtida experimentalmente. Capilar de 70 cm (60 cm até o detector) e potencial de - 25 kV.

Os principais ânions identificados nas amostras de biodiesel foram: sulfato, formiato, acetato e propionato.

Uma vez que o aumento na diferença de mobilidade entre o analito e o co-íon do eletrólito favorece um aumento no sinal analítico, o ânion HIBA (μ_{ef} = 33,5 x $10^{-5}cm^2 V^{-1} s^{-1}$) foi substituído pelo MES (μ_{ef} = 28 x $10^{-5}cm^2 V^{-1} s^{-1}$) proporcionando, desta forma, um aumento no fator de resposta. A Figura 14 apresenta os eletroferogramas obtidos utilizando 20 mmol L^{-1} de MES / 20 mmol L^{-1} Histidina e 0,2 mmol L^{-1} CTAB. Como pode ser observado, este tampão apresenta uma maior sensibilidade para os ânions orgânicos.

É importante destacar o fato de que a melhor condição de separação, em pH 6,0, não acontece devido simplesmente ao equilibro ácido-base dessas espécies. Como pode ser observado, neste pH os pares adjacentes dos picos dos ânions nitrato e sulfato, assim como do fosfato e propionato não se separam (Figura 14-a: eletroferograma simulado). No entanto, experimentalmente a separação em linha de base ocorre. Este fato se deve a interação seletiva dos ânions sulfato e fosfato com o CTAH, presente no eletrólito de corrida.

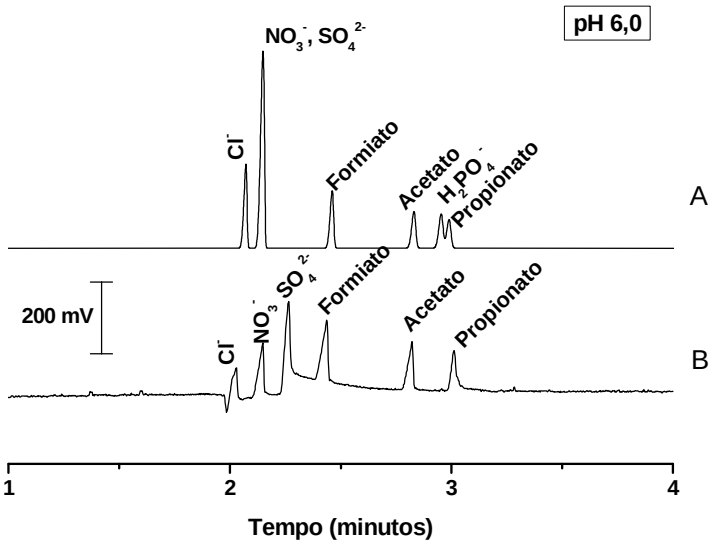


Figura 14: Eletroferograma da separação dos ânions de interesse, utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} MES / 20 mmol L^{-1} Histidina, 0,2 mmol L^{-1} CTAB, pH 6,0. O item A- apresenta a separação obtida por simulação e o item B-, apresenta a separação obtida experimentalmente.

A Figura 15 apresenta a separação dos padrões dos ânions de interesse no biodiesel. Como pode ser observado, em pH 6,0 os picos dos ânions propionato e fosfato se separam. No entanto, a ordem de migração é invertida, devido à interação do fosfato com as micelas contidas no BGE, que ocasiona um atraso em relação ao pico do propionato.

Contudo, a resolução entre esses dois picos é ainda baixa, prejudicando a separação quando utilizado um capilar de comprimento menor. Desta forma, outro valor de pH foi avaliado, de forma a favorecer uma melhor resolução entre os picos propionato e fosfato. A Figura 16 apresenta os valores de mobilidades simulados em função do pH dessas espécies de interesse. Como pode ser observado, em pH 5,7 é obtida a melhor resolução entre essa espécies.

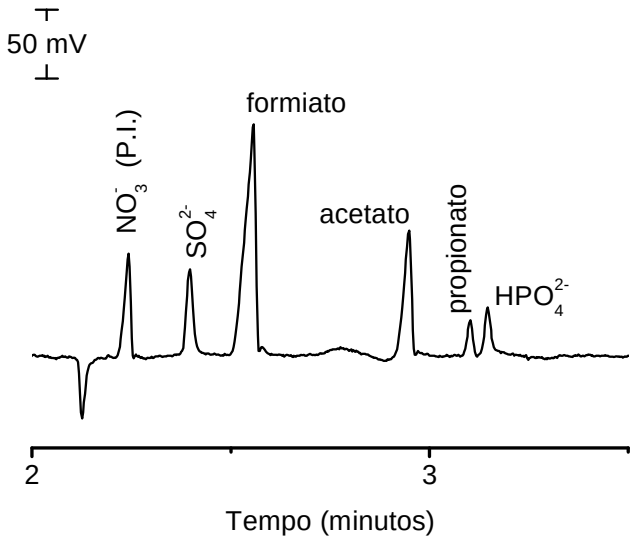


Figura 15: Eletroferograma da separação dos ânions de interesse utilizando como eletrólito de corrida 20 mmol L^{-1} MES / 20 mmol L^{-1} Histidina, 0,2 mmol L^{-1} CTAB, pH 6,0. Capilar de 75 µm d.i. e 70 cm de comprimento (60 cm até o detector) e potencial de - 25 kV.

Dentro deste contexto, de forma a promover análises mais rápidas, o capilar de 75 µm d.i. e 70 cm de comprimento (60 cm até o detector) foi substituído por um de 50 cm e o potencial de separação aumentado de - 25 kV para - 28 kV. A condição de separação utilizada foi BGE composto por 30 mmol L^{-1} de MES / 13 mmol L^{-1} de Histidina e 0,2 mmol L^{-1} de CTAB. A Figura 17 apresenta o eletroferograma obtido para a separação dos ânions de interesse utilizando a nova condição otimizada.

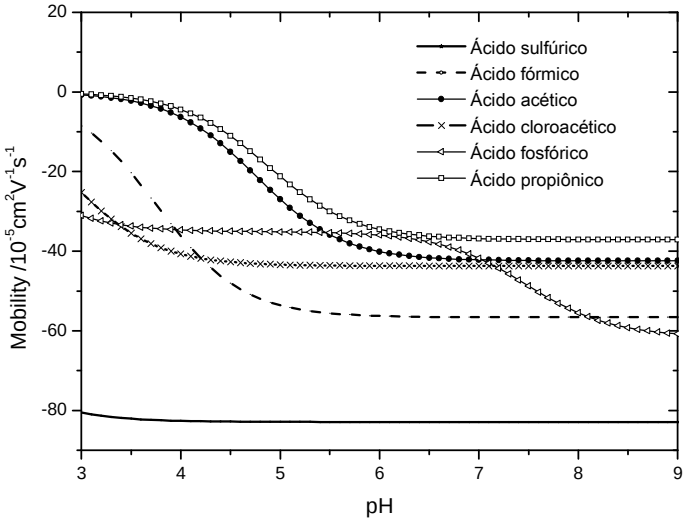


Figura 16: Simulação da curva de mobilidade dos ânions de interesse no biodiesel em função do pH em meio aquoso.

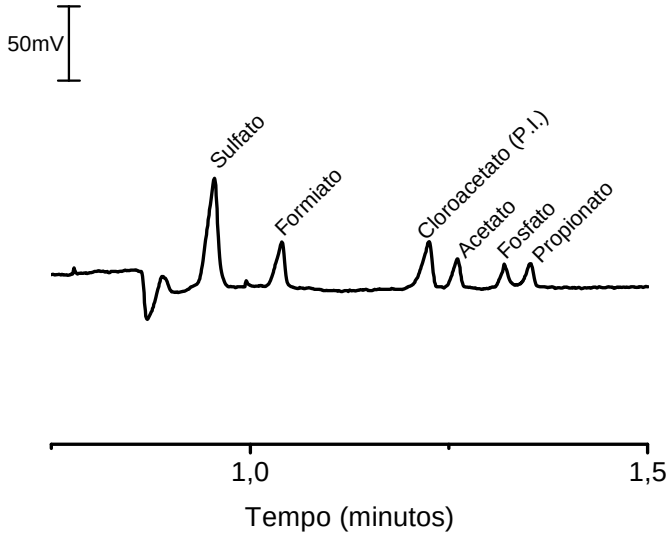


Figura 17: Eletroferograma da separação dos ânions de interesse, utilizando como eletrólito de corrida 30 mmol L^{-1} de MES / 13 mmol L^{-1} de Histidina, 0,2 mmol L^{-1} de CTAB, pH 5,7. Capilar de 75 µm d.i. e 50 cm de comprimento (40 cm até o detector) e potencial de – 28 kV. Injeção de 10s e 10cmH_2O.

5.2.2 Otimização do processo de extração

A eficiência de extração foi avaliada da mesma forma descrita na seção anterior, para os cátions inorgânicos. Foram utilizadas soluções contendo apenas água e BGE diluído 10 vezes, ambas as soluções contendo 200 µmol L^{-1} de cloroacetato de sódio, utilizado como padrão interno. A Figura 18 apresenta os valores de área relativa das espécies após a extração em diferentes intervalos de tempo. Como pode ser observado, a composição e o tempo não apresentaram influência significativa na eficiência de extração. Desta forma, o tempo de extração utilizado foi de 30 s e a solução extratora contendo apenas o PI. A Figura 19 apresenta a separação dos ânions de interesse e de uma das amostras de biodiesel.

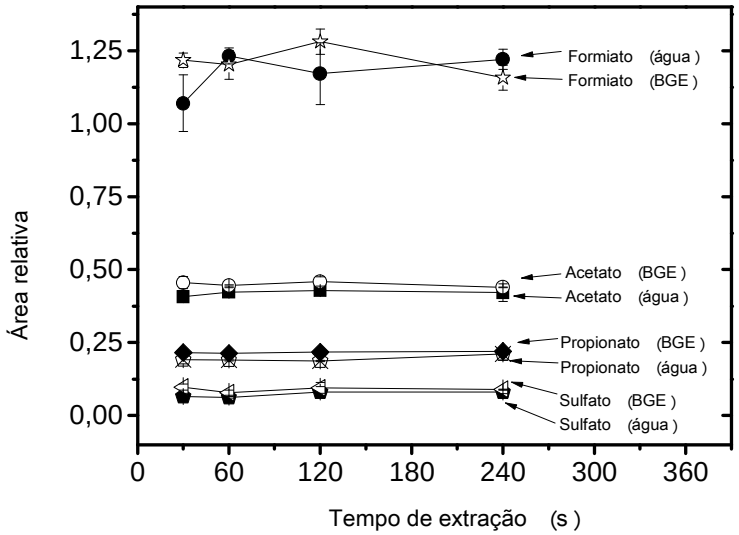


Figura 18: Avaliação da eficiência de extração líquido-líquido sob agitação mecânica em função do tempo, utilizando como solução extratora água ou solução contendo tampão de corrida diluído 10 vezes.

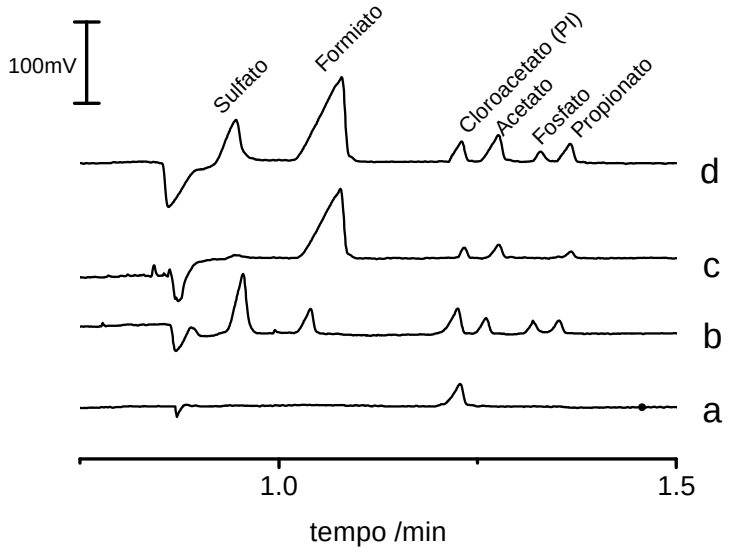
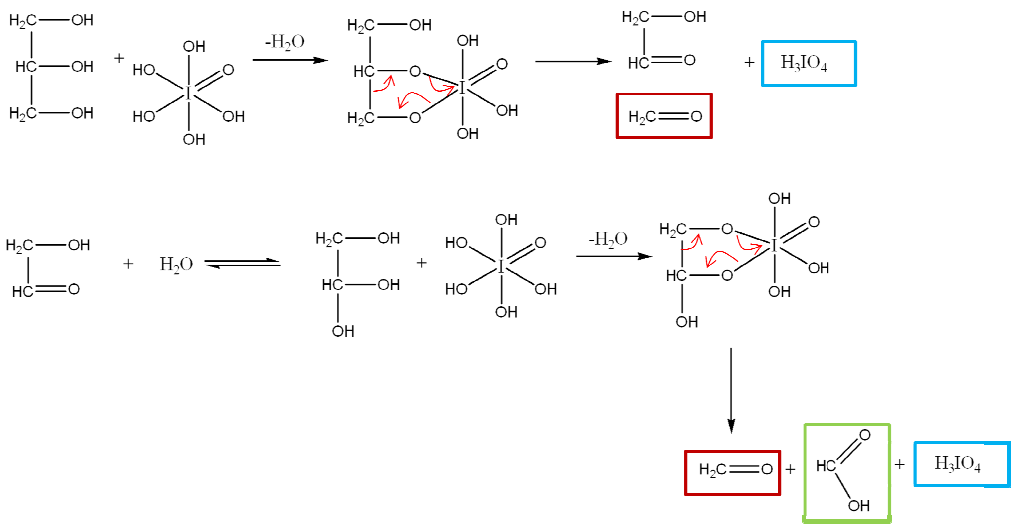


Figura 19: Eletroferograma da separação dos ânions de interesse, utilizando BGE contendo 30 mmol L^{-1} de MES / 13 mmol L^{-1} de Histidina, 0,2 mmol L^{-1} de CTAB, pH 5,7. a- Eletroferograma obtido para a solução utilizada para extração (branco); b- padrões contendo 50 µmol L^{-1} de cada ânion, c- eletroferograma obtido para uma amostra de biodiesel após extração com solução aquosa (200 µmol L^{-1} de cloroacetato de sódio), foi utilizada massa de 200 mg da amostra e 200 mg da solução extratora; e d- amostra de biodiesel fortificada. Capilar de 75 µm d.i. e 50 cm de comprimento (40 cm até o detector) e potencial de – 28 kV. Injeção de 10s e 10cmH_2O.

5.3 Determinação de glicerol no Biodiesel baseada na clivagem oxidativa

Uma vez que o glicerol é uma espécie neutra em uma ampla faixa de pH, normalmente utilizada em CE, a clivagem oxidativa do glicerol com o periodato com formação de espécies aniônicas foi empregado. Esta estratégia foi descrita previamente por Goncalves e Micke [72]. A proposta é baseada na formação de espécies iônicas, tais como as apresentadas na Figura 20:



ou simplificadamente: $C_3H_8O_3 + 2HIO_4 \rightarrow 2CH_2O + HCOOH + H_2O + 2HIO_3$

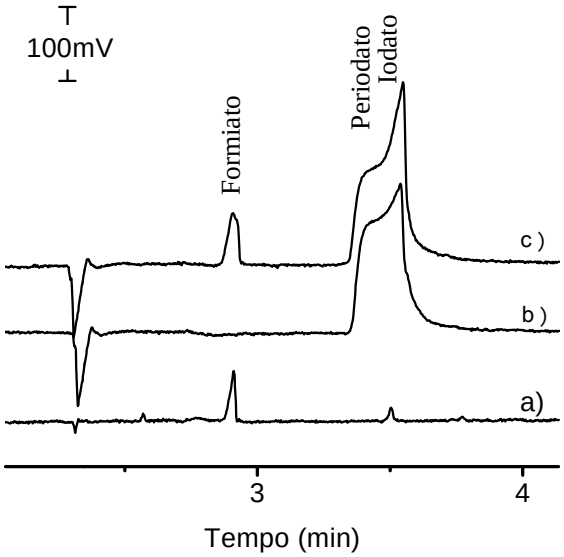
Figura 20: Mecanismo da reação de oxidação do glicerol utilizando ácido periódico para formação de formaldeído, ácido fórmico e ácido iódico.

Desta forma, é possível realizar a determinação indireta do glicerol, baseada na formação das espécies – formaldeído, ácido fórmico ou iódico. Embora neste trabalho tenha sido reportado um método para determinação do formiato, o sistema químico contendo histidina e o brometo (CTAB) não é apropriado para a análise, uma vez que estas espécies causam interferência no método [72, 87]. A Figura 21-I apresenta os valores dos potenciais de redução do ácido periódico e oxidação do brometo, na Figura 21-II é apresentado o efeito da adição do ácido periódico à solução. Como pode ser observado, após a adição, a vacância referente ao brometo, em cerca de 2,25 min, tem seu tamanho significativamente aumentado. Isso se deve, muito provavelmente, a oxidação do brometo a bromo. Portanto, um novo eletrólito de corrida foi otimizado para atingir a separação dos produtos da reação de oxidação entre o glicerol e o periodato.

$$H_5IO_6 + H^+ + 2e^- \leftrightarrow IO_3^- + 3\,H_2O \quad + 1{,}601\ V$$

$$2\,Br^- \leftrightarrow Br_{2(aq)} + 2e^- \quad - 1{,}087\ V$$

I)



II)

Figura 21: I- Potenciais redox do ácido periódico e do brometo; II- a) solução 100 µmol L^{-1} de formiato, b) solução 1 mmol L^{-1} de periodato, c) solução contendo 100 µmol L^{-1} de formiato e 1 mmol L^{-1} de periodato; as separações foram realizadas utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} MES/Histidina e 0,2 mmol L^{-1} de CTAB. Injeção de 10s e 10cmH_2O.

A Figura 22 apresenta a simulação da curva de mobilidade dos ânions de interesse em diferentes valores de pH. Como pode ser observado, na região de baixos valores de pH (2,5 < pH < 3,5), a separação pode ser facilmente atingida. De maneira a manter um sistema químico simplificado, foi utilizado BGE contendo 30 mmol L^{-1} de ácido acético, pH 3,0. A escolha deste eletrólito tem como vantagem adicional o *clean-up on-line* das corridas, uma vez que nesta região de pH a maioria dos ácidos orgânicos estão na forma protonada. Adicionalmente, neste pH, a mobilidade do EOF é significativamente baixa, dispensando o uso do inversor de EOF.

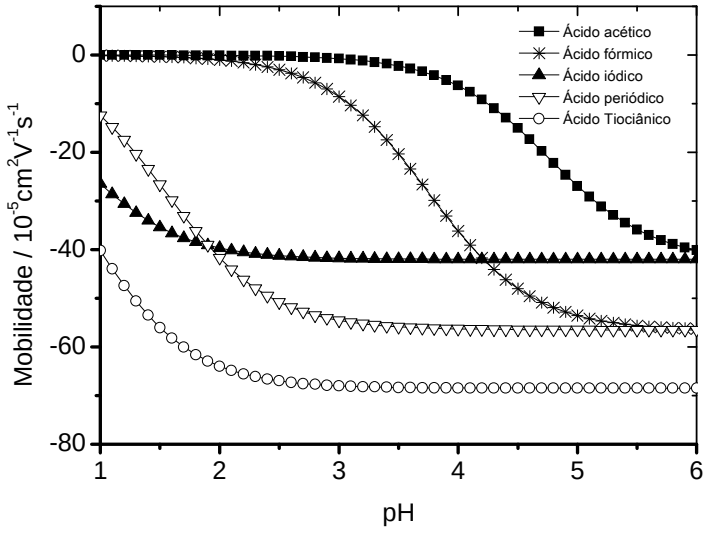


Figura 22: Simulação de curva de mobilidade das espécies de interesse em função do pH.

A Figura 23 apresenta os valores de área do periodato consumido e do iodato formado durante a reação, quando adicionada a solução contendo glicerol. Como pode ser observado, a reação ocorre rapidamente (<5minutos).

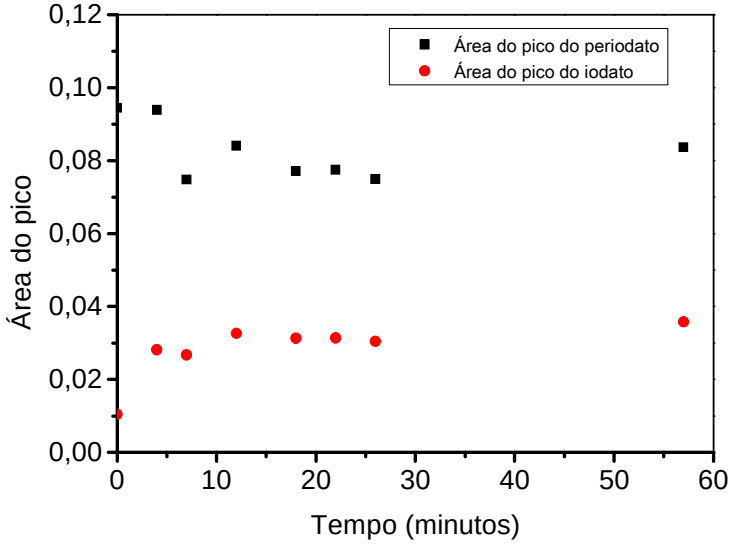


Figura 23: Avaliação da formação dos produtos da oxidação do glicerol com periodato em função do tempo.

A Figura 24 apresenta os eletroferogramas obtidos para a separação de periodato e iodato produzido pela oxidação de uma solução contendo glicerol (100 µmol L^{-1}) e uma amostra de biodiesel, após extração com solução aquosa contendo 100 µmol L^{-1} de tiocianato de sódio (PI). Como pode ser observado na Figura 24-c, antes da adição do periodato, somente o pico do PI é observado, comprovando a seletividade do método.

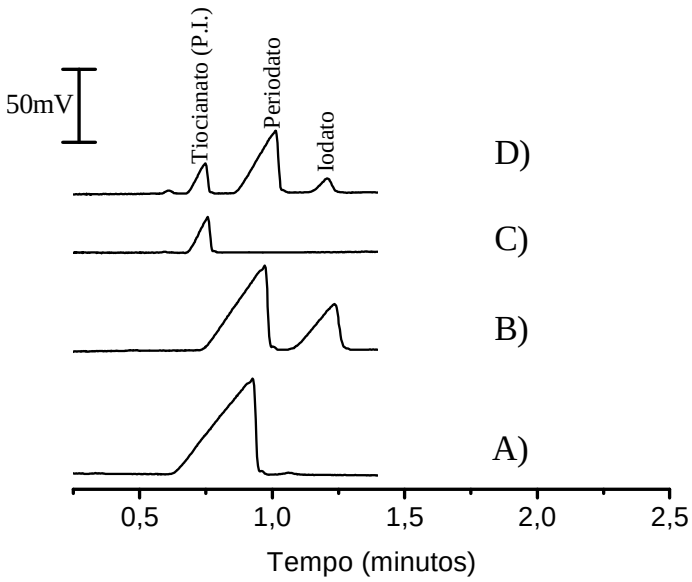


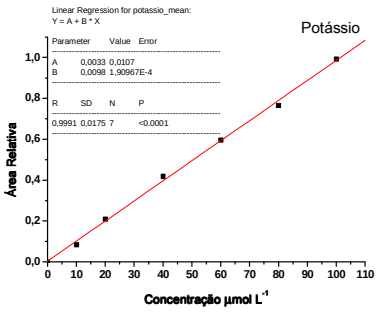
Figura 24: Eletroferogramas da separação de uma solução de periodato (500 µmol L^{-1}): A- antes e B- depois da adição de uma solução padrão de glicerol (100 µmol L^{-1}); uma amostra de biodiesel C- antes e D- após a adição de uma solução de periodato (250 µmol L^{-1}), foi utilizada massa de 200 mg de amostra e 200 mg da solução extratora. BGE composto por 30 mmol L^{-1} ácido acético, pH 3,0. Potencial de separação -25 kV; capilar de 75 µm i.d. e 50 cm de comprimento total (10 cm até o detector). Injeção de 10s e 10cmH_2O.

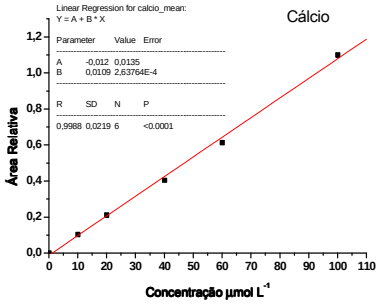
5.4 Validação dos métodos

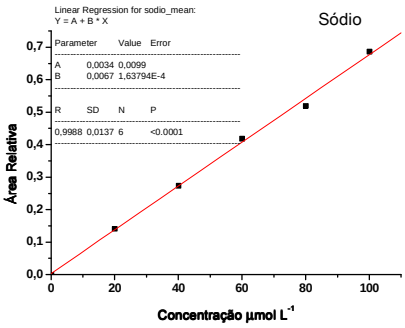
Os métodos desenvolvidos empregando a CE foram validados em termos da linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão.

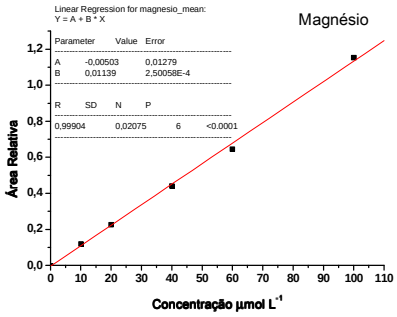
5.4.1 Linearidade, Limites de detecção e quantificação

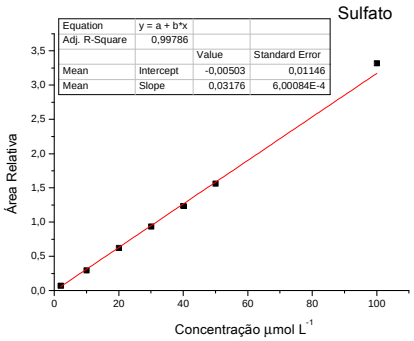
Foram realizadas injeções em quadruplicata de seis soluções contendo a mistura de cada classe de compostos, em valores crescentes de concentração. As curvas de calibração foram construídas, correlacionando a área relativa de cada uma das espécies (área do pico da espécie / área do pico do padrão interno) *versus* a concentração, e são apresentadas na Figura 25. Os coeficientes das regressões lineares apresentam valores maiores que 0,9990. Os limites de detecção e quantificação foram calculados considerando a relação sinal / ruído como 3,3x e 10x, respectivamente. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 1. Todos os valores do limite de quantificação obtidos encontram-se suficientemente baixos para atender a legislação vigente: (Na+K) e (Ca+Mg), 5 mg kg^{-1}; P e S, 10 e 50 mg kg^{-1} respectivamente; e glicerol, 200 mg kg^{-1} [31].

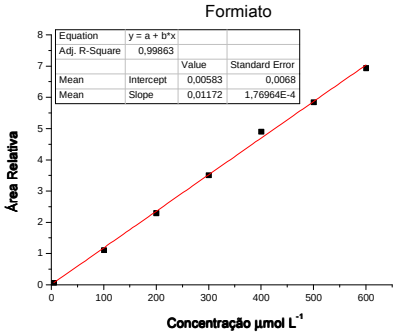

Linear Regression for potassio_mean:
Y = A + B * X
Parameter Value Error
A 0,0033 0,0107
B 0,0098 1,90967E-4
R SD N P
0,9991 0,0175 7 <0,0001
Potássio
Área Relativa
Concentração µmol L-1

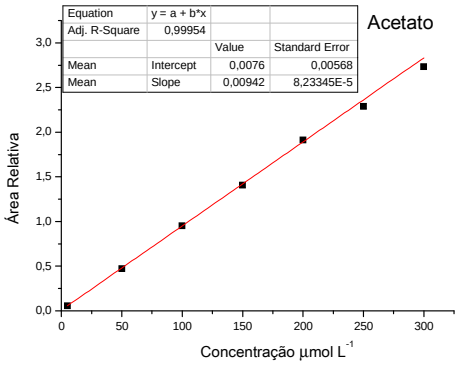

Linear Regression for calcio_mean:
Y = A + B * X
Parameter Value Error
A -0,012 0,0135
B 0,0109 2,63764E-4
R SD N P
0,9988 0,0219 6 <0.0001
Cálcio
Área Relativa
Concentração µmol L-1

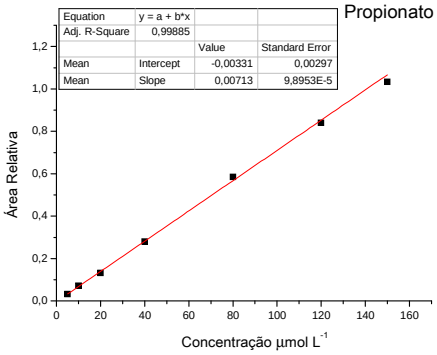

Linear Regression for sodio_mean:
Y = A + B * X
Parameter Value Error
A 0,0034 0,0099
B 0,0067 1,63794E-4
R SD N P
0,9988 0,0137 6 <0.0001
Sódio
Área Relativa
Concentração µmol L-1

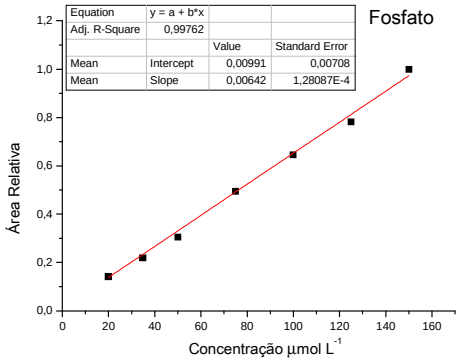

Linear Regression for magnesio_mean:
Y = A + B * X
Parameter Value Error
A -0,00503 0,01279
B 0,01139 2,50058E-4
R SD N P
0,99904 0,02075 6 <0.0001
Magnésio
Área Relativa
Concentração µmol L-1


Equation y = a + b*x
Adj. R-Square 0,99786
Value Standard Error
Mean Intercept -0,00503 0,01146
Mean Slope 0,03176 6,00084E-4
Sulfato
Área Relativa
Concentração µmol L-1


Equation y = a + b*x
Adj. R-Square 0,99863
Value Standard Error
Mean Intercept 0,00583 0,0068
Mean Slope 0,01172 1,76964E-4
Formiato
Área Relativa
Concentração µmol L-1


Equation y = a + b*x
Adj. R-Square 0,99954
Value Standard Error
Mean Intercept 0,0076 0,00568
Mean Slope 0,00942 8,23345E-5
Acetato
Área Relativa
Concentração µmol L-1


Equation y = a + b*x
Adj. R-Square 0,99885
Value Standard Error
Mean Intercept -0,00331 0,00297
Mean Slope 0,00713 9,8953E-5
Propionato
Área Relativa
Concentração µmol L-1



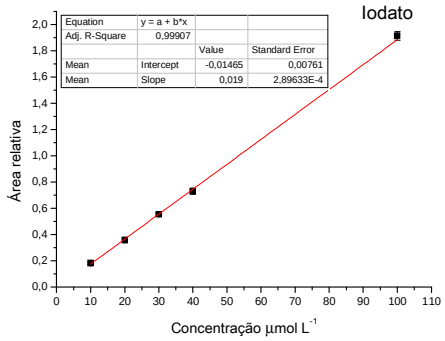


Figura 25: Curvas analíticas dos padrões dos íons potássio, cálcio, sódio, magnésio, sulfato, fosfato, acetato, formiato, propionato, iodato em concentrações variando de 10 - 600µmol L^{-1}. As injeções foram procedidas em quadruplicata.

Tabela 1: Figuras de mérito dos métodos propostos.

Analito	Faixa de concentração mg L^{-1}	R	LD mg L^{-1}	LQ mg L^{-1}	LQ mg kg^{-1}
K^+	0,4 – 4,0	0,9991	0,12	0,40	0,10[a]
Na^+	0,4 – 4,0	0,9988	0,14	0,46	0,12[a]
Ca^{2+}	0,4 – 4,0	0,9988	0,12	0,40	0,10[a]
Mg^{2+}	0,2 – 2,0	0,9990	0,07	0,23	0,06[a]
Sulfato	0,2 – 10	0,9979	0,06	0,20	0,20[b]
Fosfato	2,0 – 14	0,9976	0,60	2,0	2,0[b]
Formiato	0,2 – 27	0,9986	0,06	0,2	0,2[b]
Acetato	0,3 – 17	0,9995	0,09	0,3	0,3[b]
Propionato	0,3 – 11	0,9988	0,09	0,3	0,3[b]
Glicerol	0,4 – 4,0	0,9991	0,12	0,4	0,4[b]

[a]LQ do método, calculado empregando 880 mg de amostra e 200mg de solução extratora (pré-concentração de 4,4x),

[b]LQ do método, calculado empregando 200 mg de amostra e 200mg de solução extratora (1:1).

5.4.2 Precisão do método

A precisão do método foi avaliada pela injeção de cinco soluções padrões e de uma das amostras, medidas em um mesmo dia. A repetibilidade da área relativa e tempo de migração, expressos como desvio padrão relativo (DPR), foram melhores que 3,4% e 0,9%, respectivamente. A diferença na precisão entre os valores obtidos para as soluções padrão e as amostras foi avaliada aplicando o teste – F. O teste é baseado na comparação entre as variâncias das medidas (s^2_A/s^2_B) e realizado através da comparação entre o $F_{calculado}$ e o $F_{crítico}$. Se $F_{calculado} \geq F_{crítico}$, a hipótese nula não pode ser aceita. Os valores de $F_{calculado}$ indicaram não haver diferenças significativas na repetibilidade dos valores de área relativa e tempo de migração. Os resultados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2**:** Valores de Desvio Padrão Relativo da área e tempo de migração dos analitos

Analito	D.P.R. área relativa (padrões)	D.P.R. dos t_{mig} (padrões)	D.P.R. área relativa (amostra)	D.P.R. t_{mig} (amostra)	$F_{calculado}$ Área relativa	$F_{calculado}$ t_{mig}
K^+	2,06	0,50	2,47	0,24	2,54	4,65
Na^+	1,18	0,49	1,55	0,22	1,73	5,26
Ca^{2+}	1,18	0,41	3,17	0,22	1,17	3,60
Mg^{2+}	1,87	0,53	2,93	0,23	1,89	5,36
Sulfato	1,70	0,67	2,50	0,34	1,45	1,94
Fosfato	2,10	0,85	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Formiato	1,90	0,77	2,10	0,36	4,42	2,11
Acetato	2,80	0,86	1,80	0,39	1,68	2,17
Propionato	1,80	0,89	2,70	0,44	2,05	2,01
Glicerol	3,44	0,38	3,19	0,10	2,64	6,3

n = 5.

$F = s^2_A/s^2_B$, $F_{crítico} = 6.39$

5.4.3 Exatidão do método

A exatidão do método foi calculada através da porcentagem de recuperação de quantidades conhecidas das espécies adicionadas ao biodiesel. Os valores de recuperação obtidos variaram de 89 a 107% para os níveis de concentração utilizados. Esses resultados indicam uma boa exatidão do método proposto, em concordância com o protocolo de validação da AOAC International, o qual estabelece que os valores de recuperação devam estar entre 80 – 110% [88]. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

5.5 Análise das amostras de biodiesel

Os valores de concentração em quatro diferentes amostras são apresentados na Tabela 3. Para todas as amostras, as concentrações de K^+, Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} e glicerol foram abaixo do valor estabelecido pela RANP 07/08, ASTM D 6751 e EN 14214. Adicionalmente, os teores de sulfato e fosfato se encontram em concordância com o estabelecido pelas mesmas normas para o teor de enxofre e fósforo total.

Dentre os ácidos orgânicos, o ácido fórmico se mostrou a espécie majoritária. Embora a concentração desses ânions orgânicos não seja contemplada pela legislação, esta classe de compostos pode fornecer uma série de informações relevantes sobre o grau de oxidação do biodiesel, uma vez que estas espécies são formadas durante a auto-oxidação de compostos graxos [46, 49].

Tabela 3**:** Valores de concentração obtidos em quatro diferentes amostras e teste de recuperação.

					Teste de recuperação	
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Concentração adicionada (mg L^{-1})	Recuperado %
K^+	0,46 (0,02)	0,48 (0,06)	nd	0,61 (0,06)	1,95	102 (2)
Na^+	nd	nd	0,97 (0,05)	nd	1,15	107 (4)
Ca^{2+}	0,12 (0,01)	nd	nd	0,23 (0,02)	2,00	101 (4)
Mg^{2+}	nd	nd	nd	0,28 (0,03)	1,20	95 (2)
Sulfato	1,15 (0,02)	nd	nd	nd	4,80	94 (3)
Fosfato	nd	nd	nd	nd	4,80	104 (2)
Formiato	33,6 (0,7)	36,6 (0,6)	41,0 (1,3)	40,0 (1,3)	22,2	103 (6)
Acetato	6,7 (0,1)	12,5 (0,2)	8,9 (0,1)	16,3 (0,5)	2,95	105(3)
Propionato	5,3 (0,3)	9,7 (0,2)	4,7 (0,1)	8,8 (0,3)	3,65	89 (5)
Glicerol	11,9 (0,2)	11,8 (0,1)	105 (4)	116 (2)	100	102 (7)

Desvio padrão entre parêntesis, N = 6.

5.6 Conclusões parciais

Os métodos propostos, baseados na extração líquido-líquido em amostras de biodiesel, mostram-se uma boa estratégia para a análise de espécies de interesse nesse biocombustível. Adicionalmente, a estratégia se mostrou bastante simples, relativamente rápida (<10min) e também apresentou uma boa reprodutibilidade.

O emprego da CE para a determinação de contaminantes no biodiesel apresentou vantagens, as quais são características da própria técnica, tais como pequeno volume de resíduo gerado e baixa relação custo/análise. Adicionalmente, a rapidez das separações dos ânions é bastante atraente, quando comparada à técnica mais empregada para esta finalidade – cromatografia de íons. Além do mais, a CE apresentou sensibilidade (aliada a pré-concentração) para a determinação de espécies como os metais, na ordem de 10 vezes abaixo do máximo permitido.

Capítulo 6: Estudos sobre a formação dos ácidos orgânicos de baixo PM durante a auto-oxidação do biodiesel e determinação do estágio oxidativo da amostra

6 Estudos sobre a formação dos ácidos orgânicos de baixo PM durante a auto-oxidação do biodiesel e determinação do estágio oxidativo da amostra

6.1 Identificação dos principais ácidos orgânicos formados durante o teste de oxidação acelerada.

A Figura 26-a apresenta o gráfico com os valores de condutividade em função do tempo de uma amostra de biodiesel de óleo de algodão. Como pode ser observada, durante os primeiros minutos (até aprox. 50min), a condutividade da solução apresentou pouca variação. Porém, rapidamente é observado um aumento acentuado da condutividade. Este ponto, o qual é obtido através da intersecção das duas retas (exemplificado na Figura 26-a), é nomeado de ponto de indução ou período de indução (PInd). De forma prática, o PInd é o tempo que uma amostra resiste ao teste de auto-oxidação e que, no caso específico desta amostra, foi de 1h. A Figura 26-b apresenta os eletroferogramas obtidos para a separação dos produtos coletados em água, na qual se encontra imerso o eletrodo do condutivímetro. Como podem ser observados, os principais produtos iônicos gerados durante a auto-oxidação, detectados por CE, são os ácidos fórmico, acético, propiônico e um ainda não identificado.

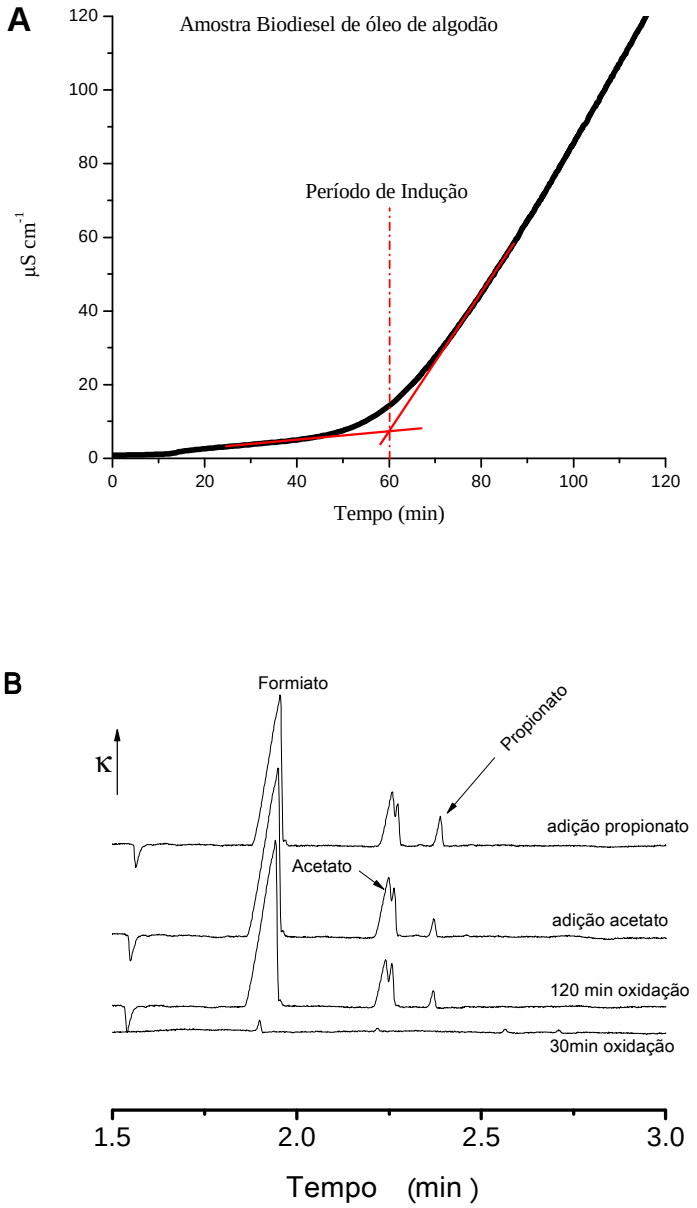


Figura 26: a- Teste de estabilidade oxidativa de amostra de biodiesel de óleo de algodão; b- Separação dos produtos voláteis da oxidação coletados em água, utilizando tampão 20 mmol L^{-1} MES / Histidina, 0,2 mmol L^{-1} CTAB, pH 6,0; -25kV, capilar de 75µm e 70cm (60cm efetivo).

Como já era esperado, a espécie majoritária encontrada na solução e principal contribuinte para a condutividade da solução é o ácido fórmico. No entanto, como pode ser observado (Figura 26-b), antes do PInd, apenas o formiato foi observado em solução e somente após o desencadeamento da auto-oxidação são geradas as demais espécies. Neste

contexto, a identificação das principais espécies formadas torna-se de grande importância, uma vez que a possibilidade de detectar espécies produzidas em diferentes estágios da auto-oxidação resultaria no que podemos nomear de *marcador do estágio de auto-oxidação*.

Uma vez que a espécie não identificada possui mobilidade próxima à do acetato, e baseado em informações de mobilidade e valores de pKa de alguns ácidos carboxílicos, algumas sugestões foram propostas. A Figura 27 apresenta as estruturas de algumas delas.

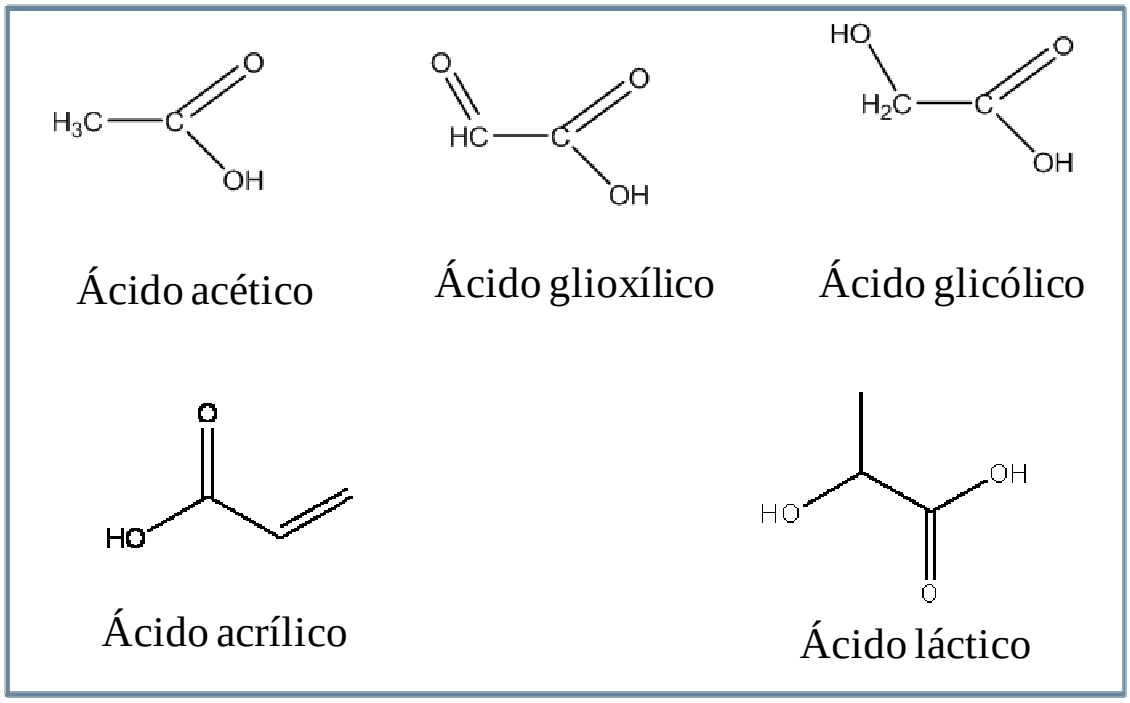


Figura 27: Estrutura química de alguns ácidos carboxílicos potencialmente presentes na etapa de auto-oxidação do biodiesel.

Uma vez que a análise da água coletora se mostra uma matriz mais atraente, devido a sua menor complexidade, os primeiros testes foram realizados utilizando esta matriz. De forma promover a separação dessas espécies, foi avaliado uma melhor condição de separação. A Figura 28 apresenta a curva de mobilidade para essas espécies de interesse. Como pode ser observado, em pH 5,7, ocorre a separação da maioria dessas espécies. Foi utilizado BGE composto por 30 mmol L^{-1} MES / 13 mmol L^{-1} Histidina, 0,4 mmol L^{-1} CTAB, 10% MeOH, pH 5,7.

6.2 Otimização das condições de separação

A Figura 29 apresenta a separação das espécies presentes na água, assim como das espécies após extração líquido-líquido, ambos coletados no mesmo intervalo de tempo e depois do PInd. Como pode ser observada, a presença de algumas espécies na água de coleta não implica, obrigatoriamente, na sua presença no biodiesel. Desta forma, a avaliação das espécies no biodiesel se mostrou mais representativa. As espécies identificadas após extração foram os ânions formiato, acetato, propionato, glicolato e glioxilato.

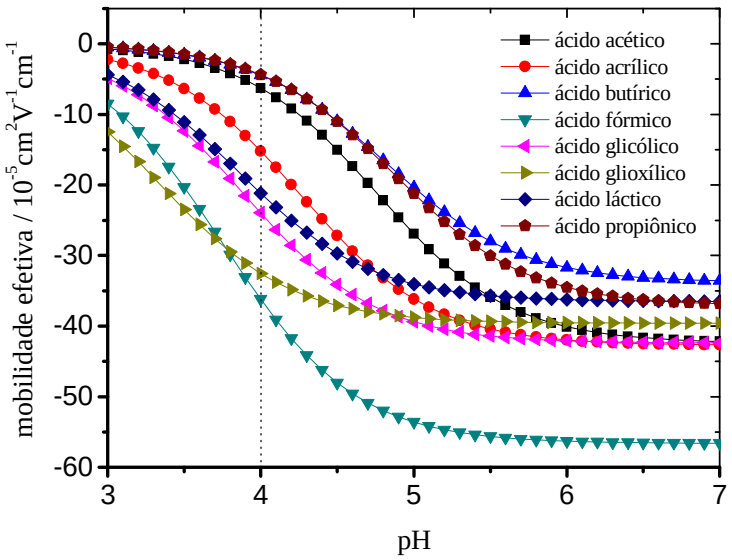


Figura 28: Curva de mobilidade de alguns ácidos de interesse.

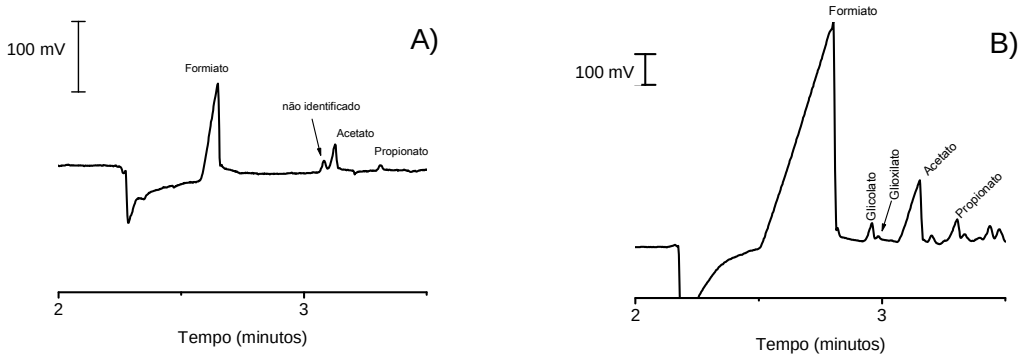


Figura 29: Separação das espécies aniônicas formadas após o período de indução de uma amostra de biodiesel de algodão. A- Espécies voláteis coletadas na fase aquosa e B- extração líquido-líquido (1:1). BGE composto por 30 mmol L^{-1} MES / 13 mmol L^{-1} Histidina, 0,4 mmol L^{-1} CTAB, 10% MeOH, pH 5,7. Capilar de 70 cm de comprimento total (60 cm até o detector). Potencial de separação -25 kV.

A Figura 30-a apresenta a curva obtida para o teste de oxidação acelerada de uma amostra de biodiesel de algodão. Durante o teste, alíquotas do biodiesel foram coletadas e, após extração, analisadas por CE. A Figura 30-b apresenta os eletroferogramas obtidos nos seguintes tempos: 0, 20, 50 e 90 minutos. Como observado, inicialmente estão presentes as espécies acetato, formiato e propionato. Após 20 minutos, observou-se uma diminuição das concentrações destas espécies, fato este devido, provavelmente, à volatilização desses ácidos, uma vez que o teste é realizado a 110ºC. No entanto, no tempo de 50 minutos, quando é observado o franco processo de auto-oxidação e se tem um aumento substancial da condutividade, é observada a formação de grande quantidade dos ácidos acético e fórmico. Adicionalmente, tem-se a formação do ácido glicólico, o qual é gerado somente após a oxidação.

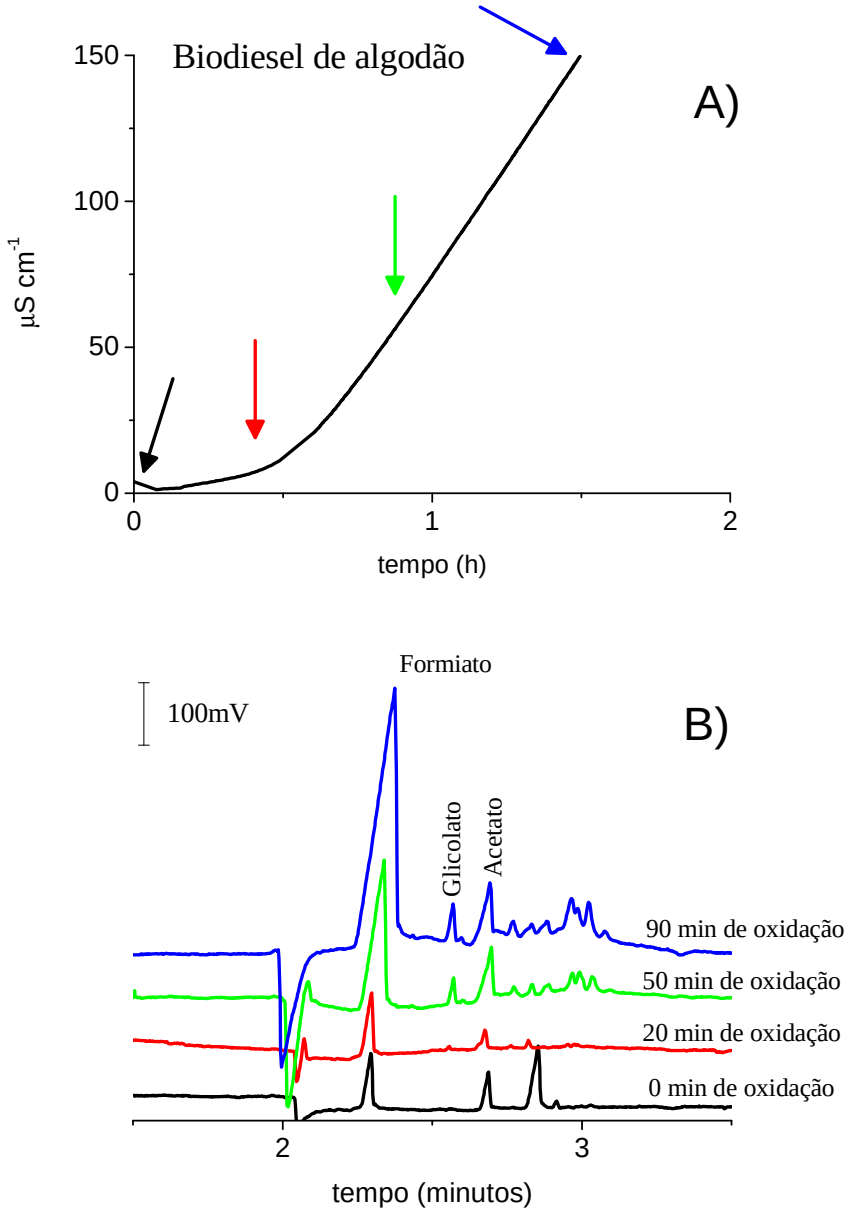


Figura 30: A) Curva de condutividade em função do tempo de uma amostra de biodiesel de algodão (teste oxidação acelerada); B) Eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel, após extração líquido-líquido. Foi utilizado eletrólito de corrida contendo 30 mmol L^{-1} MES / Histidina, 0,2 mmol L^{-1} CTAB, pH 6.

Uma nova condição de separação foi utilizada para promover a separação dessas espécies. Uma vez que duas das espécies de interesse (ácidos glioxílico e glicólico) não apresentam boa resolução em linha de base em pH 5,7, um novo BGE foi avaliado. Como pode ser observado na Figura 28, a melhor solução compromisso é alcançada em pH 4,0, pois

embora nesse pH os ácidos propiônico e butírico não se resolvam, o nosso foco está voltado para as demais espécies, em especial o ácido glicólico. A Figura 31 apresenta um eletroferograma da separação dos ânions glioxilato, glicolato, lactato, acrilato, acetato e propionato. Todas as espécies apresentam uma boa resolução em linha de base. Como eletrólito de corrida foi utilizado tampão 20 mmol L^{-1} de ácido fórmico, ajustado o pH com LiOH, pH 4,0. Embora o ácido fórmico esteja presente na amostra, neste momento a sua determinação não é desejável, pois, como já discutido anteriormente o objetivo é a detecção de espécies formadas somente durante e/ou após a etapa de auto-oxidação. Neste contexto, a escolha do ácido fórmico ocorreu de forma natural, uma vez que possui capacidade tamponante nesta faixa de pH e, adicionalmente, por se tratar de um ácido bastante volátil e muito utilizado em CE acoplada a espectrometria de massas, o que facilitaria caso tivesse sido possível realizar as análises pela técnica.

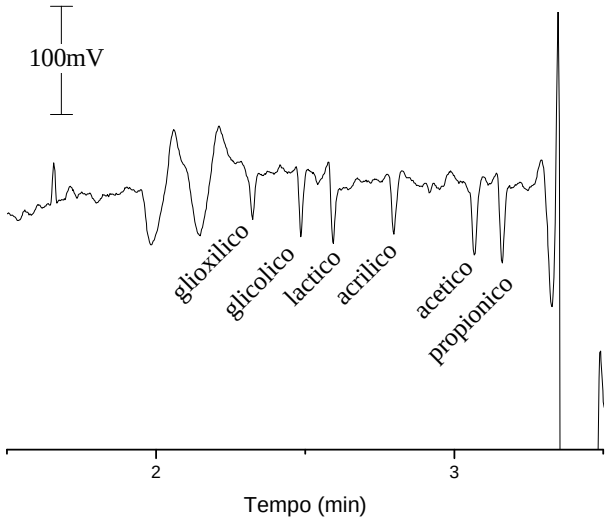


Figura 31: Eletroferograma da separação dos padrões de ácidos orgânicos. Foi utilizado 20 mmol L^{-1} de ácido fórmico / LiOH, pH 4,0. Potencial de -25kV, capilar de 75µm d.i. e 70 cm (comprimento efetivo de 60cm).

6.3 Avaliação das espécies formadas no biodiesel de diferentes origens

A condição de separação descrita foi aplicada na análise das amostras de biodiesel antes e após a oxidação, porém o cátion do BGE (Li^+) foi substituído pela histidina, favorecendo a redução do ruído da linha de base. A Figura 32-a apresenta a curva de período de indução de uma amostra de biodiesel de soja, a Figura 32-b apresenta os eletroferogramas obtidos da separação desses ânions presentes no biodiesel após extração líquido-líquido, antes e após a oxidação. Como pode ser observado, após a oxidação o ácido glicólico é formado, assim como outras espécies com menor mobilidade com tempos de migração superiores a 3,5 minutos.

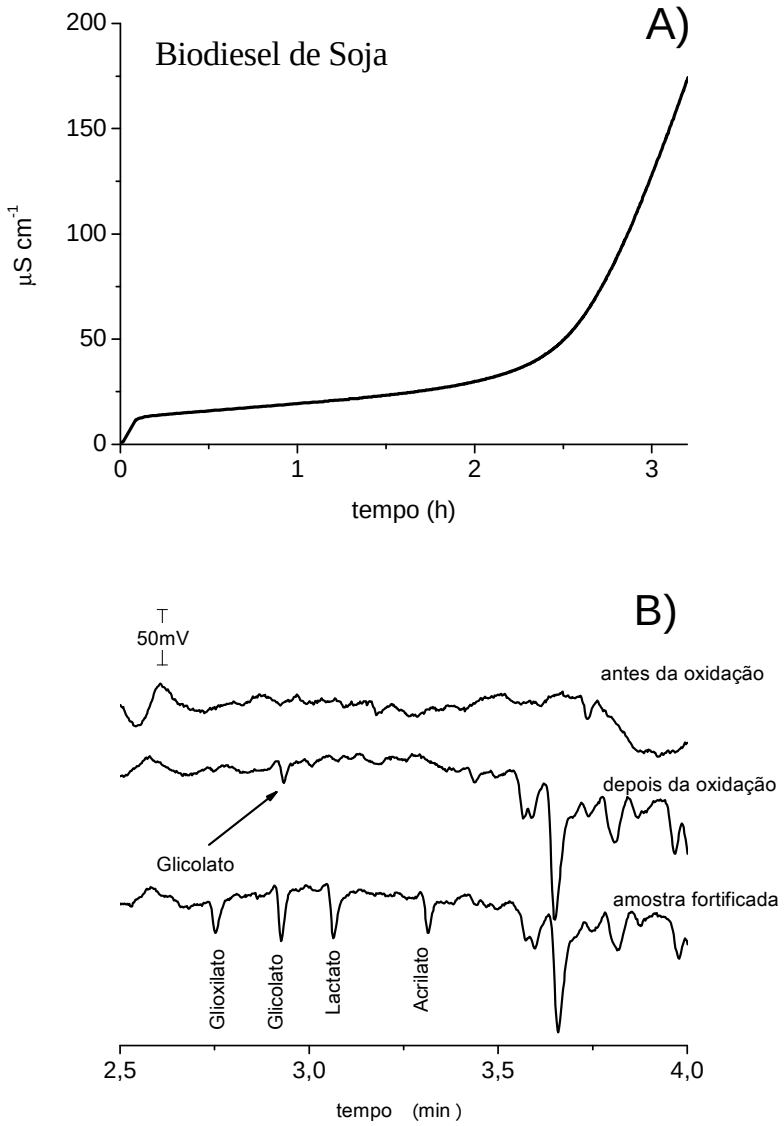


Figura 32: A) Curva de condutividade em função do tempo de uma amostra de biodiesel de soja (teste oxidação acelerada), B) Eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel, antes e após a oxidação. Foi utilizado 20 mmol L^{-1} Ácido fórmico / Histidina, 0,4 mmol L^{-1} CTAB, pH 4,0. -25kV, capilar de 75µm,70cm (60cm efetivo). Foi empregada extração líquido-líquido.

A Figura 33-a apresenta os resultados obtidos para amostras de biodiesel produzidas com sebo bovino. Como pode ser observado, este biodiesel apresenta um apreciável tempo de indução (>6h). Por outro lado, pode se observar que após a oxidação é também gerado o ácido glicólico, Figura 33-b.

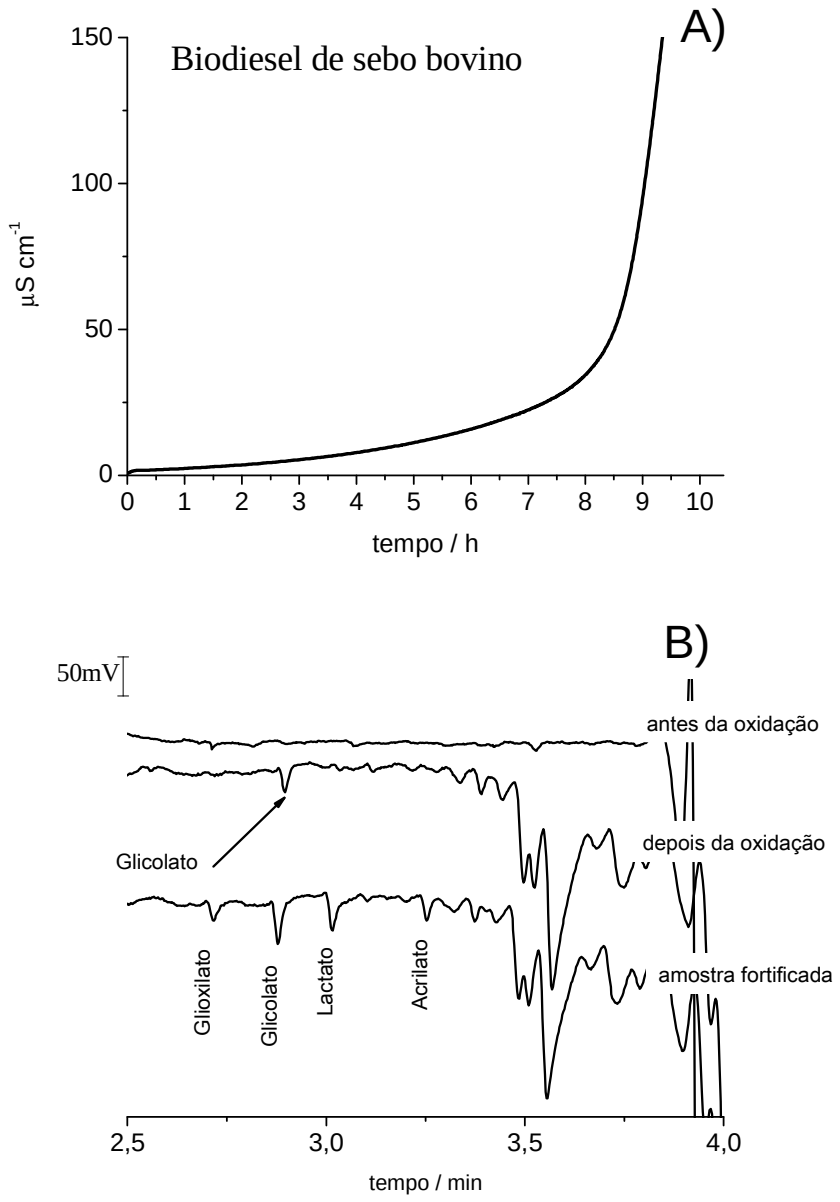


Figura 33: A- Curva de condutividade em função do tempo de uma amostra de biodiesel de sebo bovino (teste oxidação acelerada); B- Eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel, antes e após a oxidação. Condições de separação idem Figura 32.

A Figura 34 apresenta os resultados obtidos para a oxidação de uma amostra de biodiesel de palma. Como pode ser observado, esse biodiesel apresentou um valor elevado de período de indução (>6h) (Figura 34-a). Os eletroferogramas apresentados na Figura 34-b, indicam a presença dos ácidos glicólico, glioxílico, láctico e acrílico, após a oxidação.

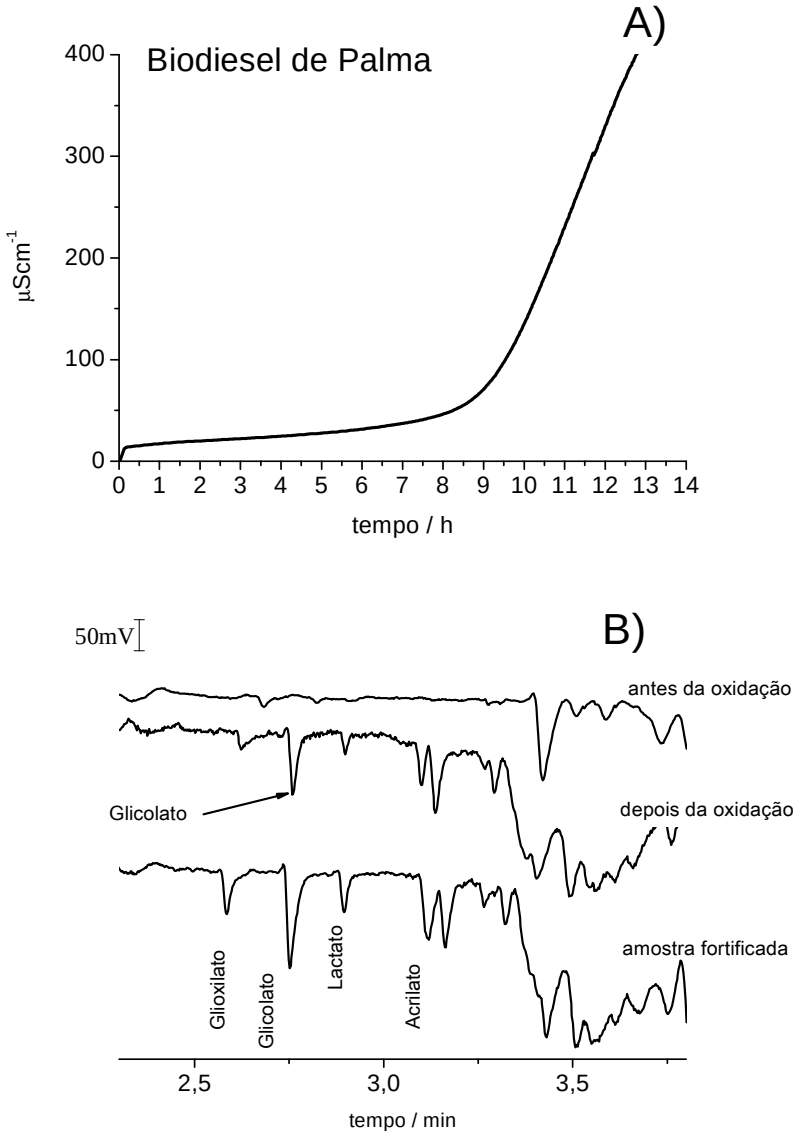


Figura 34: A- Curva de condutividade em função do tempo de uma amostra de biodiesel de Palma (teste oxidação acelerada); B- eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel, antes e após a oxidação. Condições de separação idem Figura 32.

A Figura 35-a apresenta a curva do período de indução de uma amostra de biodiesel de algodão. Esta amostra apresentou um período de indução bastante baixo (<1h). A Figura 35-b apresenta os eletroferogramas obtidos, e como pode ser observado, após a oxidação, também foi detectada a presença do ácido glicólico, assim como glioxílico e láctico (em menores concentrações).

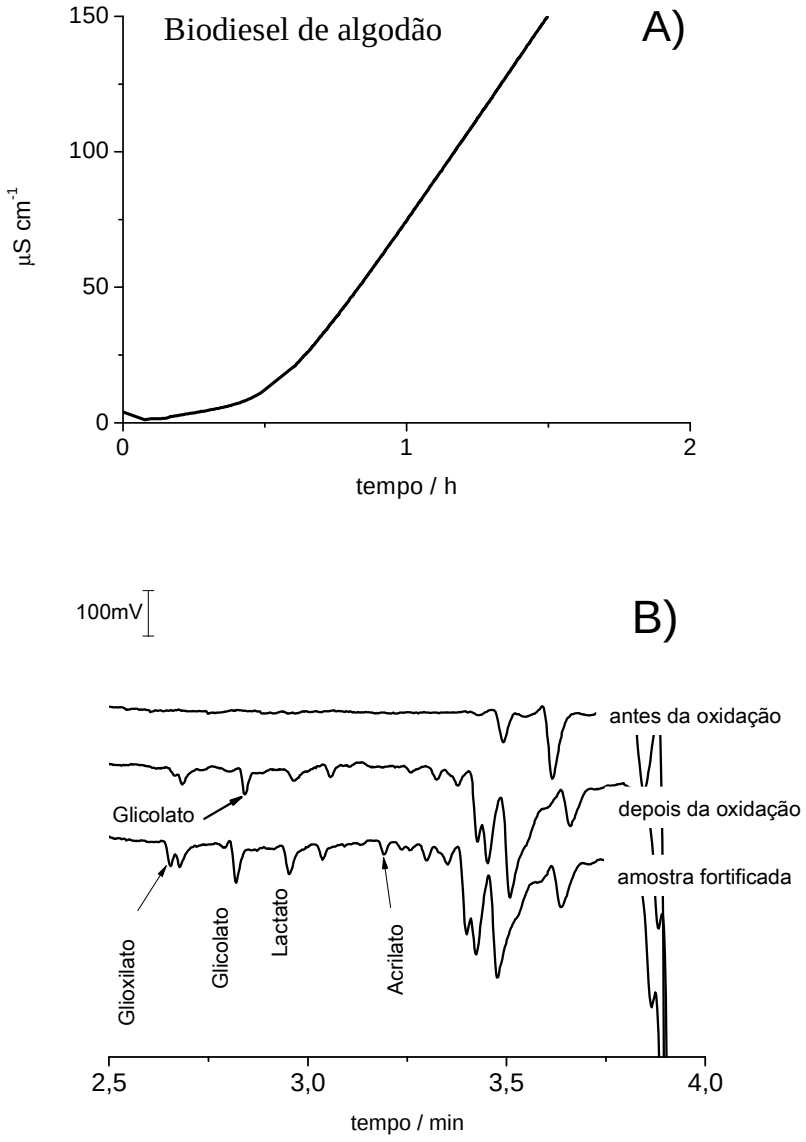


Figura 35: A- Curva de condutividade em função do tempo de uma amostra de biodiesel de algodão (teste oxidação acelerada); B- eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel, antes e após a oxidação. Condições de separação idem Figura 32.

Sendo assim, baseado nos resultados obtidos, pode-se afirmar que a presença do ácido glicólico é um indicador sobre o estado de oxidação do biodiesel, uma vez que ele é gerado somente após o estágio mais crítico da etapa de auto-oxidação. Adicionalmente, ele se mostrou como produto de oxidação de 4 amostras de biodiesel de diferentes origens.

Por outro lado, considerando o fato de que os testes foram feitos sob elevada temperatura, pode se questionar sobre a formação desta espécie em temperatura ambiente. A Figura 36 apresenta os eletroferogramas obtidos de uma amostra de biodiesel de algodão, a qual foi armazenada em ambiente com grande disponibilidade de oxigênio, durante 30 dias. Como pode ser observado, mesmo sob estas condições brandas de armazenamento, a presença do ácido glicólico foi detectada, assim como outras espécies.

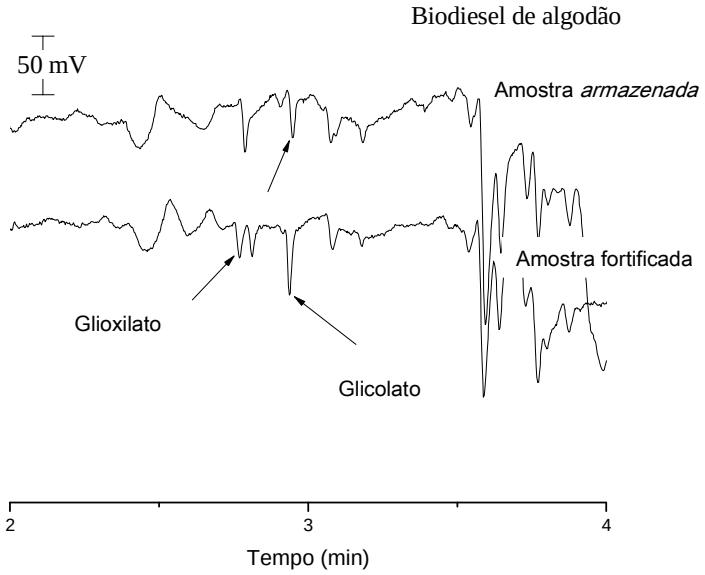


Figura 36: Eletroferogramas de separação de espécies presentes na amostra de biodiesel de algodão, estocadas em ambiente com oxigênio disponível em temperatura ambiente. Condições de separação idem Figura 32.

Os mecanismos de formação do ácido fórmico dentre outros ácidos carboxílicos, encontram-se bem estabelecidos na literatura [48, 49, 89] e já foram discutidos no capítulo 1.

No entanto, não existem informações sobre a formação do ácido glicólico como produto da oxidação de ácidos graxos na literatura.

Sendo assim, sugerimos aqui uma possível via de formação deste ácido. A Figura 37 ilustra os principais produtos da decomposição de hidroperóxidos inicialmente gerados no processo de oxidação. Como pode ser observado, é gerada uma série de radicais e sua recombinação com outros radicais, assim como outras espécies darão origem a uma série de novos compostos. Desta forma, um mecanismo plausível para a formação do ácido glicólico se daria por um ataque radicalar. A Figura 38 apresenta um possível mecanismo de formação do ácido glicólico.

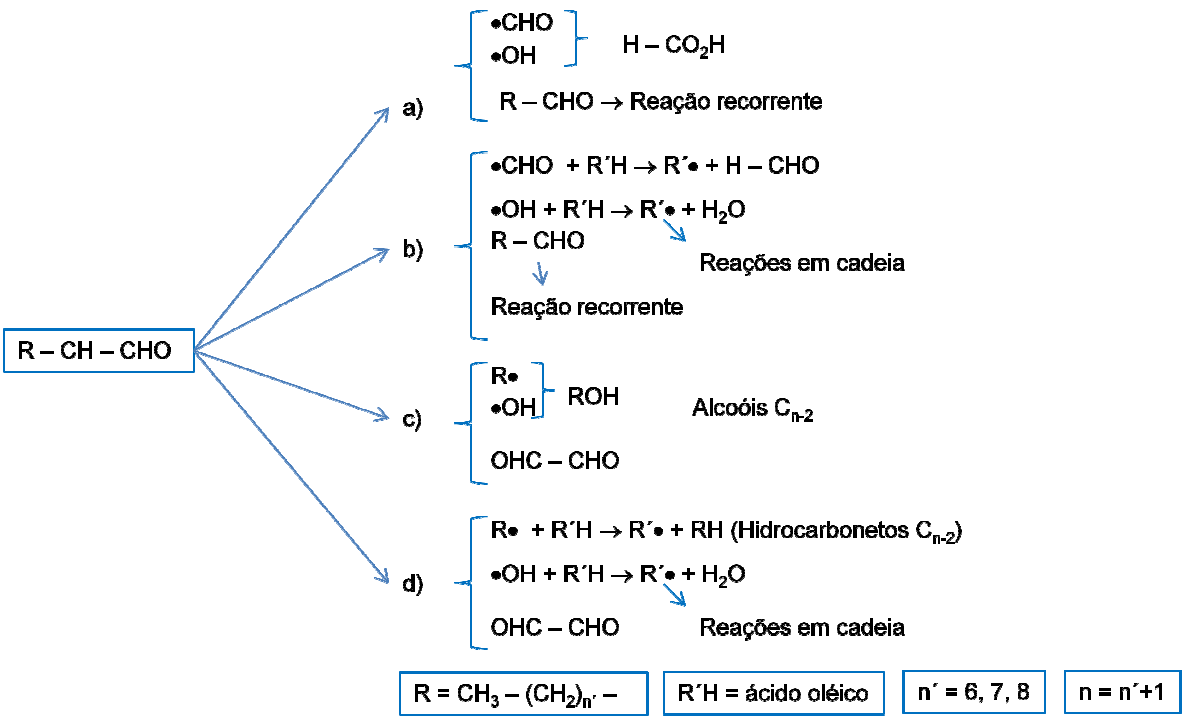
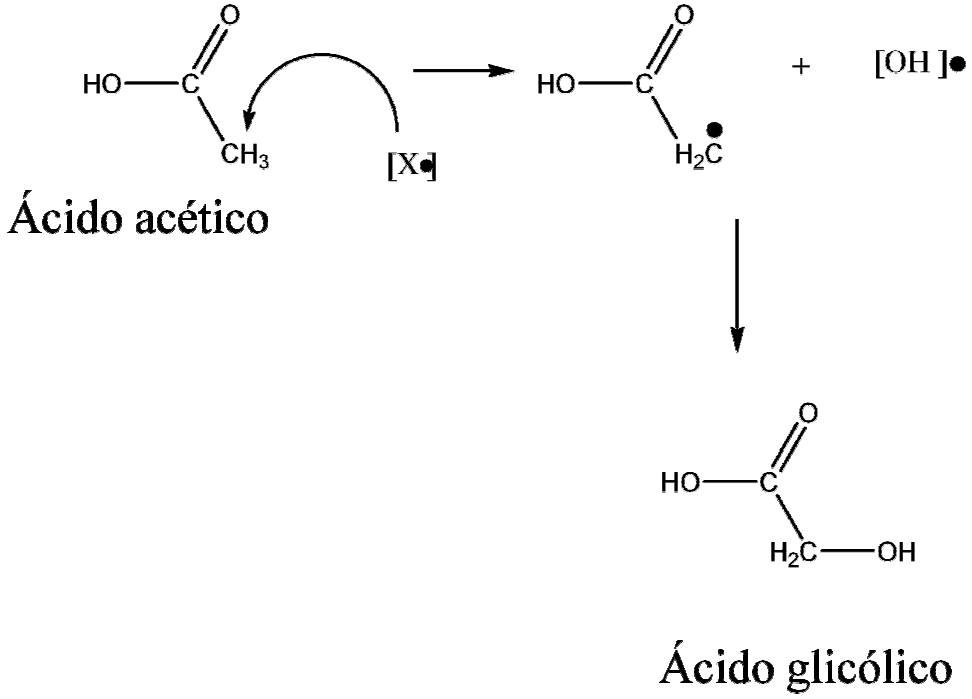


Figura 37: Mecanismo de decomposição de hidroperóxidos gerados a partir da auto-oxidação do ácido oléico, reproduzido da referência [49].



[X•] = R•, •OH, H•, etc.

Figura 38: Mecanismo proposto para formação do ácido glicólico pela oxidação de ácidos graxos.

Sendo assim, se assumirmos que esta via de formação é verdadeira, podemos dizer que a formação desta espécie poderá auxiliar na avaliação da qualidade do biodiesel, uma vez que esta espécie é gerada somente após o desencadeamento do processo de oxidação, e que a formação independe da temperatura utilizada no teste.

6.4 Conclusões parciais

Baseado nos resultados obtidos, pode-se afirmar que a presença do ácido glicólico é um indicador sobre o estado de oxidação do biodiesel, uma vez que ele é gerado somente após o estágio mais crítico da etapa de oxidação. Adicionalmente ele se mostrou como produto de oxidação de 4 amostras de biodiesel de diferentes origens (soja, algodão, palma e sebo-

bovino).

O emprego da CE para avaliação do estágio de oxidação do biodiesel mostra-se como uma alternativa de *screening* rápido do biocombustível. O método baseado na determinação do ácido glicólico tem grande potencial de aplicação prática, uma vez que poderia ser utilizado como ferramenta para rejeitar determinado lote, devido ao seu avançado grau de oxidação.

Capítulo 7: Determinação de contaminantes inorgânicos e orgânicos de baixo peso molecular no álcool combustível

7 Determinação de contaminantes inorgânicos e orgânicos de baixo peso molecular no álcool combustível

7.1 Separação das espécies iônicas presentes no álcool combustível

Esta parte do trabalho teve como intuito encontrar uma condição de preparo de amostras que preservasse o conteúdo orgânico do etanol combustível e que possibilitasse a determinação dos principais contaminantes inorgânicos e orgânicos de baixo PM. A simples diluição das amostras em água se mostrou eficiente (2-10 vezes). A separação dessas espécies no álcool combustível foi feita empregando BGE contendo 20 mmol L^{-1} MES/Histidina e 0,1 mmol L^{-1} hidróxido de cetiltrimetilamônio (CTAH) para inversão do EOF, pH 6,0. O modo de preparo do inversor está descrito na seção experimental.

A Figura 39 apresenta os eletroferogramas obtidos para a separação das espécies aniônicas presentes em três diferentes amostras desse biocombustível.

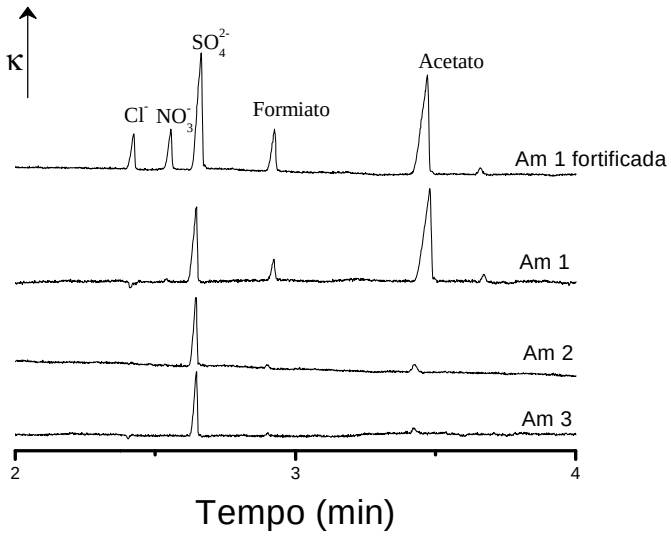


Figura 39: Separação de ânions inorgânicos e orgânicos de baixo PM presentes em amostras de álcool combustível, diluição (1:1). Eletroferogramas obtidos utilizando tampão 20 mmol L^{-1} MES / Histidina, 0,1 mmol L^{-1} CTAH, pH 6, -25kV, capilar de 75µm e 70cm (60cm efetivo), injeção 40s e 10 cmH_2O.

7.2 Derivatização dos aldeídos utilizando bissulfito

Para a separação dos aldeídos nas amostras de etanol combustível, foi empregada a derivatização com bissulfito de sódio (Figura 40), adicionado à amostra de maneira a atingir a concentração final de 1 mmol L^{-1}. A Figura 41 apresenta os eletroferogramas da separação dos aldeídos em uma das amostras.

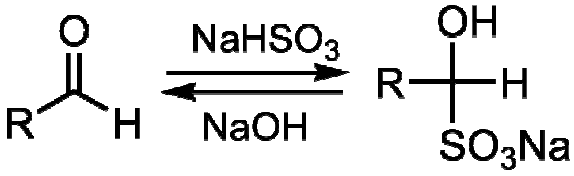


Figura 40: Reação de formação do aduto iônico entre o bissulfito e um aldeído.

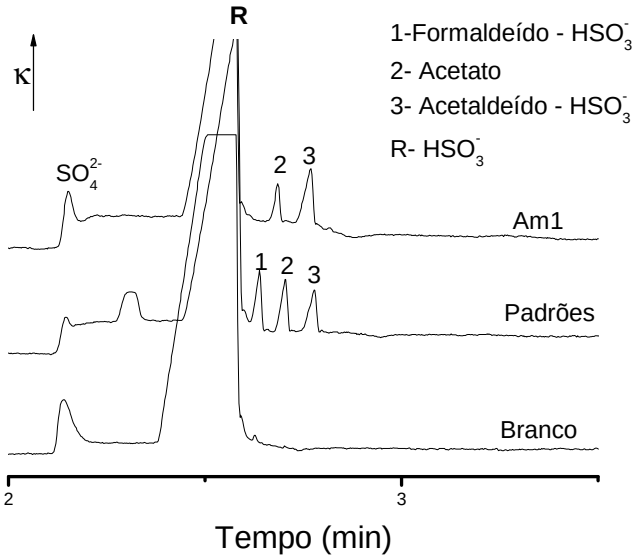


Figura 41: Separação dos adutos formados da reação entre bissulfito e os aldeídos presentes no álcool combustível, diluição (1:1). Eletroferogramas obtidos utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} MES / Histidina, 0,1 mmol L^{-1} CTAH, pH 6, -25 kV, capilar de 75 µm e 70 cm (60 cm efetivo), injeção 40 s.

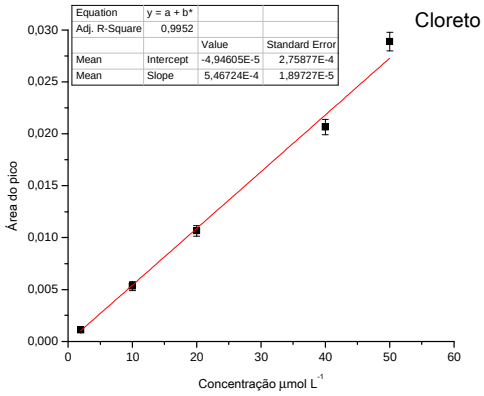
7.3 Validação dos métodos

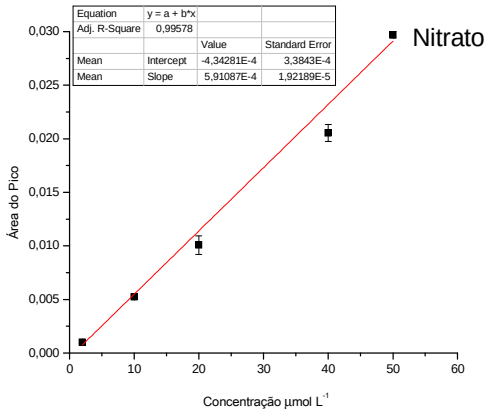
Os métodos desenvolvidos empregando a CE foram validados em termos da linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão.

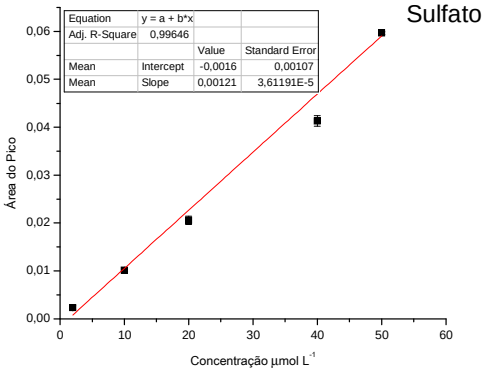
7.3.1 Linearidade, Limites de detecção e quantificação

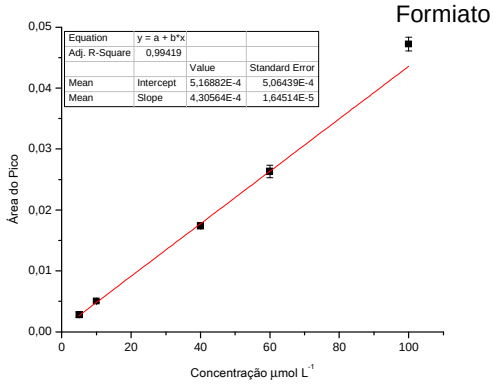
A Figura 42 apresenta as curvas analíticas obtidas para os padrões dos ânions cloreto, nitrato, sulfato, formiato, acetato, formaldeído e acetaldeído. Todas as curvas analíticas apresentaram bons coeficientes de correlação, R = 0,99, ou melhor. Foram realizadas injeções em quintuplicata de cinco soluções contendo a mistura de cada classe de compostos, em valores crescentes de concentração. As curvas de calibração foram construídas

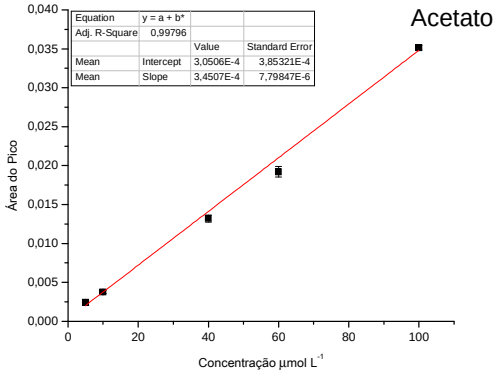
correlacionando a área de cada uma das espécies *versus* a concentração. Os limites de detecção e quantificação foram calculados considerando a relação sinal/ruído como 3,3x e 10x. A Tabela 4 apresenta a figura de mérito contendo os valores dos principais parâmetros avaliados para o método proposto, faixa linear, R calculado, LDs e LQs.

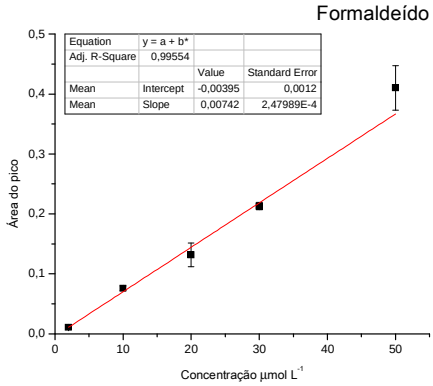












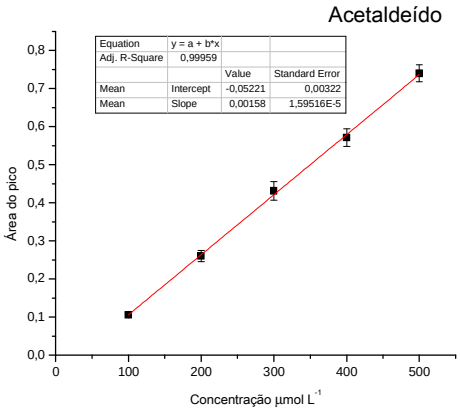


Figura 42: Curvas analíticas dos padrões dos ânions em concentrações de 2 - 500 µmol L^{-1}. As injeções foram procedidas em quintuplicata.

.

Tabela 4: Figuras de mérito do método proposto

Analito	Faixa concentração mg L^{-1}	R	LD^{Ψ} mg L^{-1}	LQ^{Ψ} mg L^{-1}	$LQ^{¥}_{método}$ mg kg^{-1}	Precisão$^{\zeta}$
Cloreto	0,07 – 1,70	0,9954	0,02	0,07	0,14	3,9
Nitrato	0,12 – 3,10	0,9965	0,04	0,12	0,25	2,5
Sulfato	0,19 – 4,80	0,9992	0,06	0,19	0,38	2,4
Formiato	0,23 – 4,5	0,9975	0,07	0,23	0,45	0,7
Acetato	0,30 – 5,9	0,9997	0,09	0,30	0,60	1,3
Formaldeído	0,06 – 1,50	0,9955	0,02	0,06	0,12	2,3
Acetaldeído	4,4 – 22,0	0,9995	1,33	4,4	8,8	2,2

$^{\Psi}$Valores calculados considerando (3,3xS/R e 10xS/R), respectivamente; $^{¥}$LQ do método, considerando diluição 1:1; $^{\zeta}$Valores dos C.V. (%) das áreas dos picos.

7.3.2 Precisão e exatidão do método

A precisão do método foi avaliada pela injeção consecutiva de cinco soluções padrões (réplicas idênticas), medidas em um mesmo dia. A repetibilidade das áreas, expressa como desvio padrão relativo, foram melhores que 3,9%. A Tabela 4 apresenta os valores do DPR obtidos.

A exatidão do método foi calculada através da porcentagem de recuperação de quantidades conhecidas das espécies adicionadas ao biodiesel. Os valores de recuperação obtidos variaram de 93 – 110 % para a maioria das espécies. Esses resultados indicam uma boa exatidão do método proposto e são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Valores de recuperação em 3 amostras de álcool combustível em 2 diferentes níveis de concentração.

	Adicionado (mg L^{-1})	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Cloreto	1	95(±11)	102(±6)	107(±4)
	2	110(±4)	108 (±4)	105(±6)
Nitrato	3	102(±11)	107(±5)	113(±11)
	6	108(±2)	104(±9)	106(±12)
Sulfato	4	99(±2)	107(±7)	110(±4)
	8	106(±5)	105(±3)	101(±4)
Formiato	2	94(±4)	109(±2)	117(±10)
	4	104(±5)	119(±14)	109(±5)
Acetato	3	98(±7)	102(±1)	96(±4)
	6	105(±15)	113(±9)	106(±2)
Formaldeído	1	108(±4)	96(±3)	93(±4)
Acetaldeído	8	101(±4)	107(±5)	105(±8)

7.3.3 Análise das amostras de etanol combustível

A determinação foi procedida em três diferentes amostras de álcool combustível. Todas as amostras foram preparadas em quintuplicata independentes. Os valores de concentração, expressos em mg L^{-1}, são apresentados na Tabela 6. Como pode ser observado, todas as amostras apresentaram concentrações de cloreto e sulfato abaixo do limite máximo permitido pela ANP, 1 e 4 mg L^{-1}, respectivamente. Em contra partida, altos níveis de

acetaldeído foram encontrados. No entanto, a ANP não regulamenta esses contaminantes.

Tabela 6: Valores de concentração em mg L^{-1} dos ânions inorgânicos e orgânicos de baixo PM presentes em 3 diferentes amostras de álcool combustível.

Amostra	Cl^-	NO_3^-	SO_4^{2-}	Formiato	Acetato	Formaldeído	Acetaldeído
1	<LQ	<LQ	2,59 ±0,09	0,54 ±0,04	10,1 ±0,3	<LQ	115 ±5
2	<LQ	<LQ	2,30 ±0,09	<LQ	<LQ	<LQ	105 ±9
3	<LQ	<LQ	1,92 ±0,09	<LQ	<LQ	<LQ	72 ±6

Desvio padrão expressos entre parêntesis, n=5.

7.4 Conclusões parciais

O método proposto apresenta como principal vantagem o emprego de apenas uma condição para a separação desde os ácidos inorgânicos, orgânicos de baixo PM e aldeídos, o que se mostra bastante atraente para o monitoramento dos principais contaminantes orgânicos e inorgânicos no álcool. Uma vez que este biocombustível é produzido em diversas usinas espalhadas pelo país, o emprego da CE acarretaria na substituição de diferentes técnicas por apenas uma.

Capítulo 8: Determinação do teor de etanol e água no álcool combustível explorando a estratégia de formação do aduto monoetilcarbonato (MEC)

8 Determinação do teor de etanol e água no álcool combustível explorando a estratégia de formação do aduto monoetilcarbonato (MEC)

8.1 Formação e hidrólise dos monoalquilcarbonatos

A Figura 43 apresenta a reação química entre o bicarbonato e o álcool alquílico gerando como produto o monoalquilcarbonato (MAC) e água. Sabendo que o caminho inverso, a hidrólise do MAC, irá gerar, novamente, o álcool e o bicarbonato, é possível determinar o teor destas espécies por CE, em especial etanol e água.

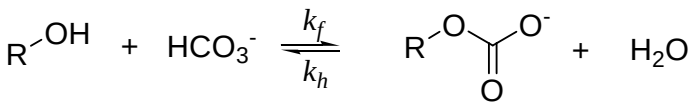


Figura 43: Reação química para formação do MAC a partir do bicarbonato e um álcool alquílico.

Desta forma, sabendo os valores das constantes de formação e/ou hidrólise, e a concentração dos reagentes adicionados e/ou o produto iônico formado, é possível, de maneira indireta chegar ao valor da concentração do álcool ou da água. Uma vez que, em meio aquoso o MAC hidrolisa formando R-OH e HCO_3^-, a determinação da concentração do bicarbonato pode nos fornecer informações sobre a quantidade de água e, adicionalmente, informações sobre a quantidade do álcool.

A Figura 44 apresenta a separação de uma solução 150 µmol L^{-1} de bicarbonato de sódio diluída em água (Figura 44-a) e diluída em etanol Figura 44-b e Figura 44-c, utilizando perclorato como PI. Como pode ser observada, a reação não ocorre de forma instantânea. Inicialmente, ou seja, logo após a adição de HCO_3^- em etanol (Figura 44-b) são observados, predominantemente, os picos do PI e do HCO_3^-. Após 30 minutos pode ser observado o pico correspondente ao MEC (Figura 44-c). A Figura 45 apresenta os valores de área do pico formado (MEC) após a adição da solução de bicarbonato em etanol em diferentes intervalos de tempo (0min – 40min). Como pode ser observado, com o aumento do tempo de reação, tem-se o aumento da área do pico do MEC e a redução da área do pico de bicarbonato. Ou seja, a reação não ocorre de forma instantânea e se dá pelo consumo de bicarbonato (redução do tamanho de pico) e etanol (espécie neutra).

O uso da estratégia de derivatização é bastante promissor, uma vez que a separação de alcoóis se mostra um desafio para CE empregando diferentes sistemas de detecção. Dentro deste contexto, a estratégia foi avaliada para determinação do teor de etanol no álcool combustível.

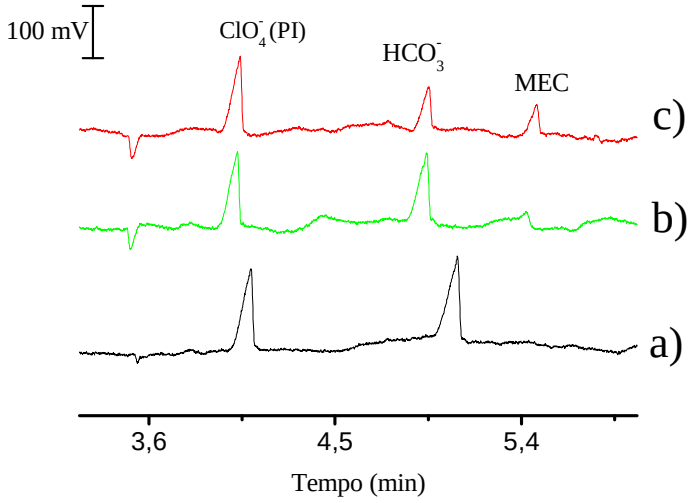


Figura 44:a) Separação da solução de bicarbonato de sódio e perclorato (P.I.) diluídos em água; b) Separação da solução de bicarbonato de sódio e perclorato (P.I.) diluídos em etanol (50%), injeção procedida em seguida ao preparo; c) Mesma solução do item b após 32 minutos de reação. Os eletroferogramas foram obtidos utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} CHES / 10 mmol L^{-1} LiOH, 0,2 mmol L^{-1} CTAB, em 20% Etanol, pH 9,5, -25 kV, capilar de 75 µm e 70 cm (60 cm efetivo), injeção 30 s.

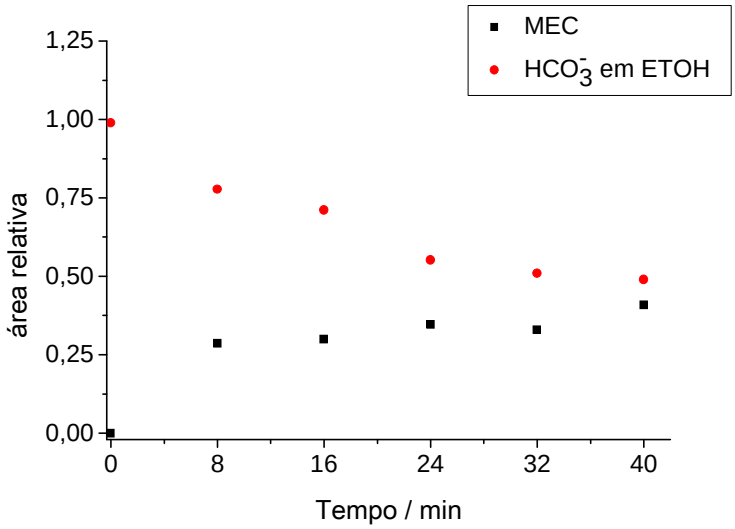


Figura 45: Valores de área do pico do bicarbonato e MEC em diferentes intervalos de tempo.

8.2 Separação de alcoóis e determinação do teor de etanol por CE

Uma vez que as principais formas de se adulterar o etanol combustível é a adição de outros alcoóis e água, a potencialidade de aplicação da CE como uma ferramenta analítica será descrita.

A Figura 46 apresenta a separação de três dos MACs formados a partir dos alcoóis: metanol, etanol e n-propanol. A separação dessas espécies é realizada utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} de bicarbonato de sódio/carbonato de sódio, pH 9,5. A inversão do EOF foi realizada pela modificação semi-permanente da superfície interna do capilar, utilizando solução 20 mmolL^{-1} de DDAB durante 30 minutos seguido do condicionamento com BGE. Como esperado, os picos são registrados como sinais negativos, devido à formação de espécies de maior volume, quando comparado ao HCO_3^- e, conseqüentemente, de menor mobilidade.

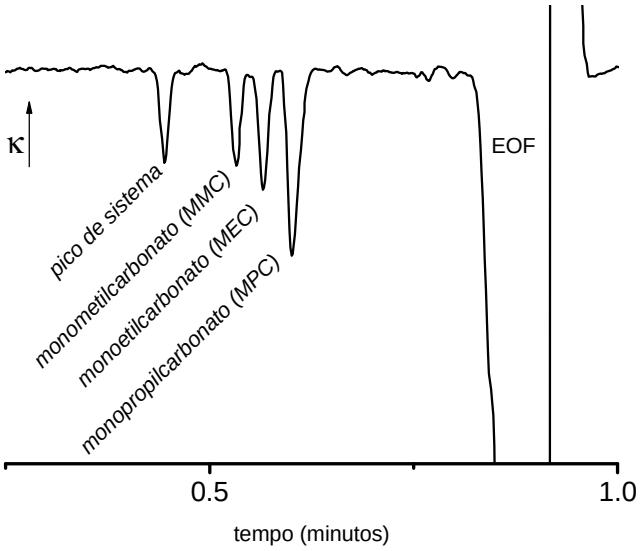


Figura 46: Separação dos MACs formados a partir do metanol, etanol e n-propanol, utilizando BGE contendo bicarbonato/carbonato, pH 9,5, DDAB como inversor de fluxo - 28 kV, capilar de 75 µm e 80 cm (11 cm efetivo), injeção 3 s e 3,5 psi.

Uma vez que o BGE contendo bicarbonato/carbonato não se mostra apropriado para a determinação do teor de água presente no etanol, devido à impossibilidade de detecção do bicarbonato na amostra, um novo BGE contendo CHES/Li foi utilizado para esta seqüência de experimentos.

A Figura 47-I apresenta a separação do MEC formado quando adicionado bicarbonato sólido a uma amostra contendo 0 e 16 % de água. As separações foram realizadas em BGE contendo 20 mmol L^{-1} de CHES / 10 mmol L^{-1} de LiOH, pH 9,5. As separações foram conduzidas em contra-fluxo, dispensando o uso do inversor de fluxo. A Figura 47-II apresenta os resultados obtidos para a tentativa de construção de uma curva de calibração em função do teor de água no etanol, utilizando os valores de área do MEC e área relativa (Área MEC/Área Na^+), respectivamente. Nesse caso, Na^+ foi empregado como PI. Como pode ser observado, com a adição de água, ocorre o aumento da área do MEC, fato que não era esperado, uma vez que a adição de água deveria favorecer a hidrólise do MEC e, conseqüentemente, reduzir a sua concentração. No entanto, a adição de água, provavelmente, proporciona o aumento na disponibilidade de bicarbonato na solução, devido à solubilização e, por conseqüência, aumento na quantidade de MEC formado. Desta forma, outra estratégia foi avaliada.

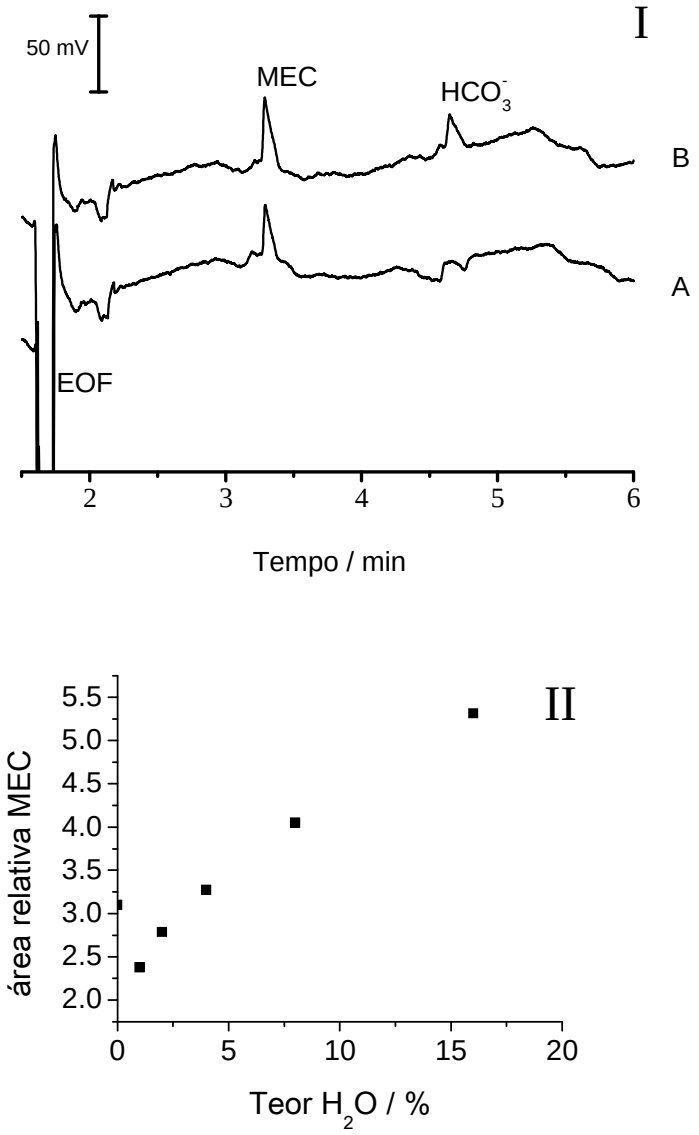


Figura 47: I-Separação do MEC formado a partir da adição de bicarbonato de sódio diretamente no etanol, contendo 0 (A) e 16 % (B) de água, utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} de CHES / 10 mmol L^{-1} de LiOH, pH 9,5, +25 kV, capilar de 75 µm e 70 cm (60 cm efetivo), injeção 30 s, 10cmH_2O. O item II apresenta a curva construída correlacionando a área do MEC e o teor de água no etanol.

A Figura 48 apresenta resultados obtidos da tentativa de construção de uma curva de calibração utilizando gelo seco como fonte de bicarbonato. A estratégia não apresentou

resultados satisfatórios, pois a diminuição do sinal do MEC (Figura 48-a) se deve, provavelmente, à redução da quantidade de bicarbonato nos padrões. A Figura 48-b apresenta essa redução na área do pico do HCO_3^-, o qual se deve, provavelmente, à perda na forma de gás carbônico. De forma a evitar essa perda, foram preparadas soluções contendo um cátion orgânico na solução (morfolino), na tentativa de fixar o bicarbonato em solução. A solução de bicarbonato de morfolino foi preparada utilizando como solvente 2-butanol.

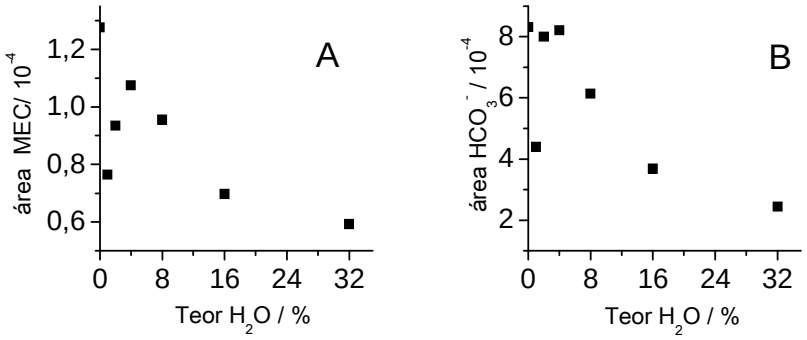


Figura 48: O item A- apresenta a curva construída correlacionando a área do MEC e o teor de água no etanol, utilizando padrões preparados pela adição direta de barras de gelo seco. O item B- apresenta a curva obtida utilizando os valores de área do pico do bicarbonato para os mesmos padrões.

A solução de bicarbonato de morfolino foi utilizada para derivatização do etanol em padrões contendo diferentes teores de água, para construção da curva de calibração. A Figura 49 apresenta as curvas de calibração variando o teor de água de 0 a 32 % versus a área de MEC formado (com e sem a correção utilizando o acetato como PI). O mesmo comportamento crescente com a adição de água foi observado, o qual não é o esperado, pois com o aumento da quantidade de água na solução, deveria ocorrer a hidrólise do MEC e conseqüente redução no valor da área do pico.

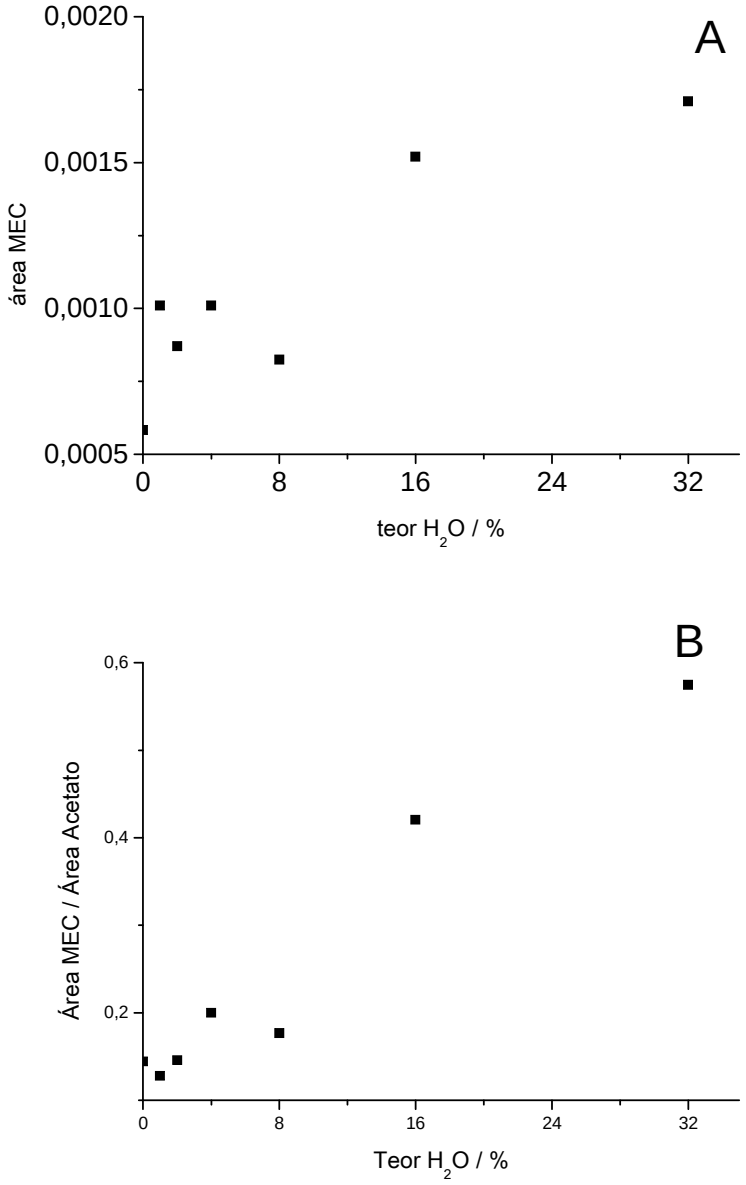


Figura 49: O item A- apresenta a curva construída correlacionando a área do MEC e o teor de água no etanol, utilizando padrões preparados pela adição da solução de bicarbonato de morfolino. O item B- apresenta a curva obtida utilizando os valores de área relativa (Área do MEC/Área do Acetato (PI)) para os mesmos padrões.

Uma vez que todas as estratégias empregadas até o momento, ocasionaram em resultados contraditórios ao esperado, foi avaliada a possibilidade de o meio reacional (predominantemente não-aquoso) estar favorecendo a expulsão do CO_2. Para este

experimento, foram preparadas duas soluções semelhantes na composição, porém alterando a ordem de adição dos reagentes. Sendo o bicarbonato adicionado a uma fase aquosa e posteriormente adicionado o etanol (solução 1), e o bicarbonato adicionado a uma fase não aquosa (Etanol) e posteriormente adicionado água (solução 2). As amostras foram analisadas após uma hora do preparo e os valores de área do MEC foram tomados como referência. Após isso, foram adicionados o mesmo volume de cada uma das soluções contendo apenas água (na solução 1) e apenas etanol (solução 2). As amostras foram analisadas novamente após uma hora, e os resultados são apresentados na Figura 50. Como pode ser observado, a solução 1 apresenta um sinal maior do MEC do que a solução 2. O fato do sinal do MEC ser menor quando se adiciona o bicarbonato em meio etanólico sugere que este meio expulse o CO_2 da solução, fazendo com que o sinal do MEC seja menor. Portanto, provavelmente devido à maior acidez do etanol, quando comparado à água, ocorre maior protonação do HCO_3^- e conseqüente a formação do CO_2. Com isso, o fato da concentração de HCO_3^- não ser constante faz com que o pico do MEC também não seja constante.

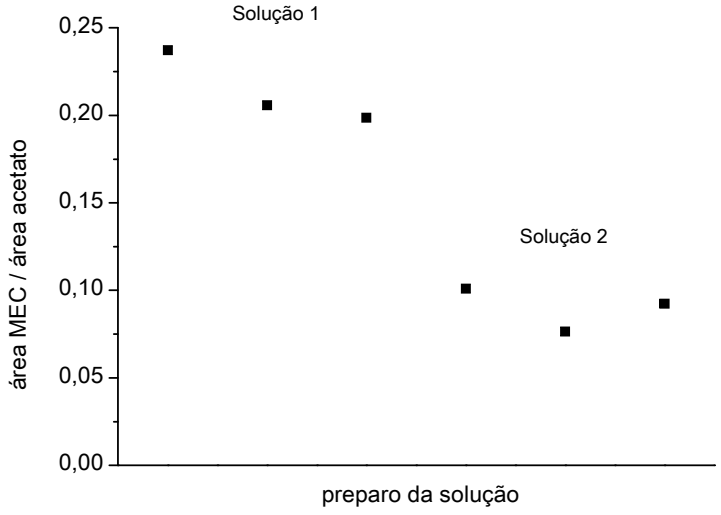


Figura 50: Avaliação do efeito da composição da amostra na expulsão do CO_2.

Sendo assim, foi avaliada a possibilidade de se utilizar o meio da amostra predominantemente aquoso, utilizando o próprio HCO_3^- para deixar o meio rico nessa espécie (pH~8).

As amostras foram preparadas de forma que todos os padrões contivessem 50% do volume em solução aquosa. As amostras foram preparadas pela mistura na proporção 1:1 da amostra (percentual de água 0 – 40%) e solução 10 mmol L^{-1} de $NaHCO_3$, 250 µmol L^{-1} de acetato de sódio. A Figura 51 apresenta os resultados obtidos para a variação da concentração de MEC no etanol quando variado a percentagem de água. Os gráficos apresentam uma tendência conforme esperado, a redução do sinal do MEC em função do aumento do teor de água. Os resultados utilizando o acetato como padrão interno mostraram-se, ligeiramente melhores, isso se deve à proximidade dos valores de mobilidade entre o acetato, o MEC e o bicarbonato. Portanto, o pico do acetato irá sofrer com os efeitos da variação do EOF de maneira semelhante à dessas espécies se comparado com o pico do sódio.

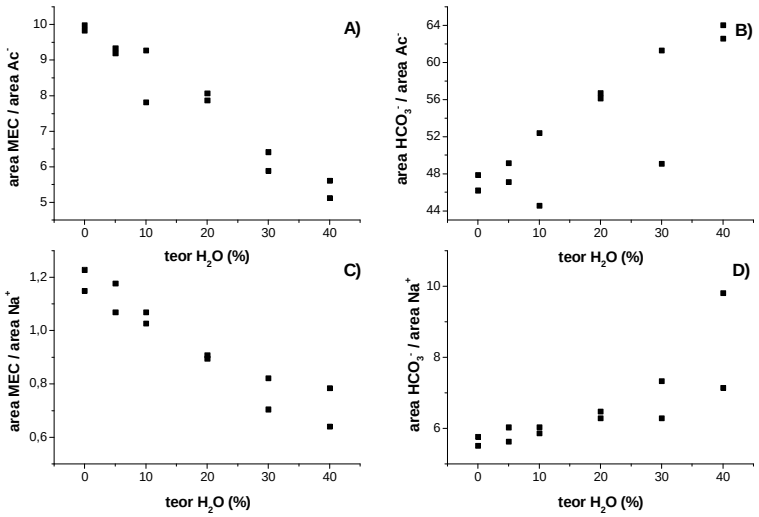


Figura 51: Os itens A e B apresentam as curvas construídas utilizando os valores de área relativa do MEC ou HCO_3^- (acetato como PI) versus o teor de água no etanol, utilizando padrões preparados em solução contendo 50% da fase aquosa. Os itens C e D apresentam as curvas construídas utilizando os valores de área relativa do MEC ou HCO_3^- (sódio como PI) versus o teor de água no etanol, utilizando padrões preparados em solução contendo 50 % da fase aquosa.

A Figura 52 apresenta os eletroferogramas da separação do MEC em uma amostra de etanol combustível. A curva obtida foi utilizada para estimar o teor de água em uma amostra real de etanol combustível, o valor encontrado foi de 17 % aproximadamente. Contudo, este valor é bastante discrepante da faixa praticada para este biocombustível, 92,6 – 93,8 %. O erro se deve as incertezas nas medidas, principalmente nos pontos entre 0 e 10% de água.

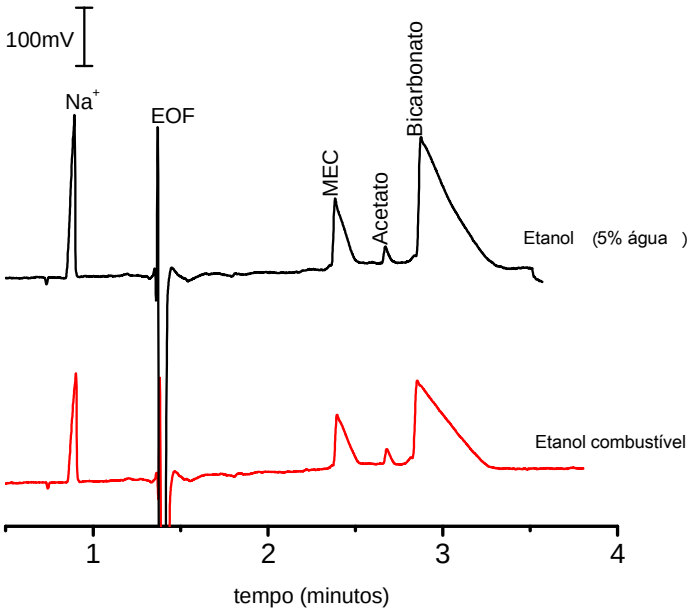


Figura 52: Eletroferogramas da separação do MEC, Acetato e Bicarbonato em uma amostra de etanol combustível utilizando BGE contendo 20 mmol L^{-1} de CHES / 10 mmol L^{-1} de LiOH, pH 9,5, -25 kV, capilar de 75 µm e 70 cm (60 cm efetivo), injeção 30 s.

De forma a tentar diminuir o erro na região de interesse foram avaliadas diferentes condições de preparo dos padrões, variando as proporções da solução aquosa, etanólica, concentração de bicarbonato, assim como o P.I. A Tabela 7 apresenta as condições de preparo de amostra testadas variando a concentração de $NaHCO_3$ e a percentagem da solução aquosa adicionada ao etanol, assim como o resultado, principalmente no que se refere a homogeneização das soluções.

Tabela 7: Avaliação da mínima quantidade de solução aquosa de $NaHCO_3$ necessária para evitar precipitação.

Percentagem adicionada no etanol	Precipitado	Concentração $NaHCO_3$ estoque
5%	Sim	200 mmol L^{-1}
10%	Sim	100 mmol L^{-1}
15%	Sim	66,6 mmol L^{-1}
20%	Não	50 mmol L^{-1}

Uma vez que a quantidade mínima de solução aquosa de forma a solubilizar todo o bicarbonato na mistura é de 20%, esta condição foi avaliada. A Figura 53 apresenta o eletroferograma de separação de um dos padrões preparados pela adição de 20% da solução aquosa, resultando em concentrações de 10 mmol L^{-1} de $NaHCO_3^-$ e 500 µmol L^{-1} de butirato de sódio (utilizado como PI). A Figura 54 apresenta a curva obtida utilizando esta condição.

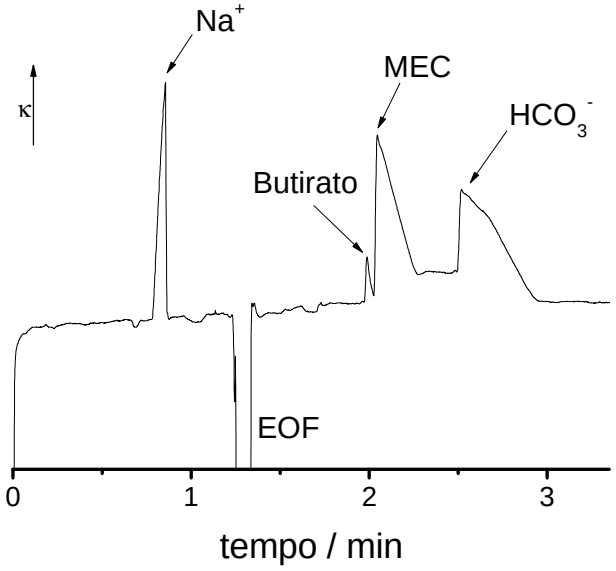


Figura 53: Eletroferogramas da separação do MEC, Butirato e Bicarbonato em uma amostra de etanol combustível utilizando 20 mmol L^{-1} de CHES / 10 mmol L^{-1} de LiOH, pH 9,5.

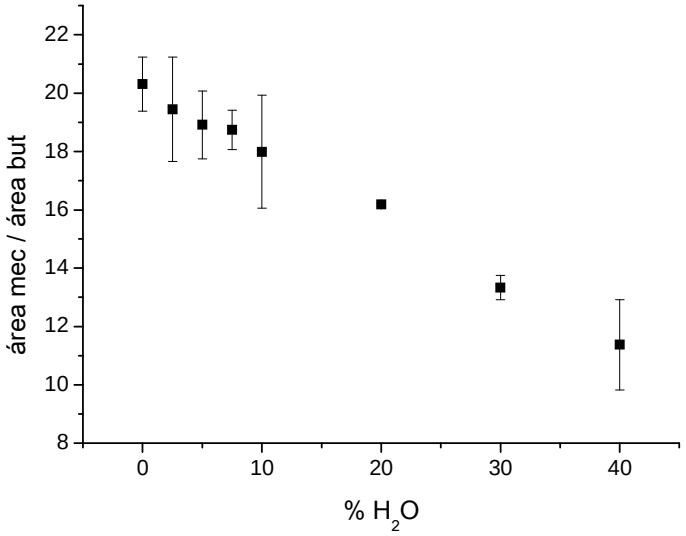


Figura 54: Valores de área relativa do pico do MEC em função do aumento do teor de água no etanol.

Contudo, os erros associados às medidas encontram-se ainda superiores aos aceitáveis. Na tentativa de melhorar a precisão dos resultados, principalmente na região entre 0 – 10%

água foi adicionado 20% terc-butanol ao BGE, de forma a melhorar a compatibilização da composição da amostra e do eletrólito. Adicionalmente, a temperatura de operação do equipamento foi mantida em 25 C. A Figura 55 apresenta o eletroferograma de separação obtida utilizando este BGE. As amostras foram preparadas pela diluição 1:1 de amostra e solução de $NaHCO_3$. A Figura 56 apresenta a curva de calibração obtida. Como pode ser observado, na região de interesse o método não apresenta boa precisão.

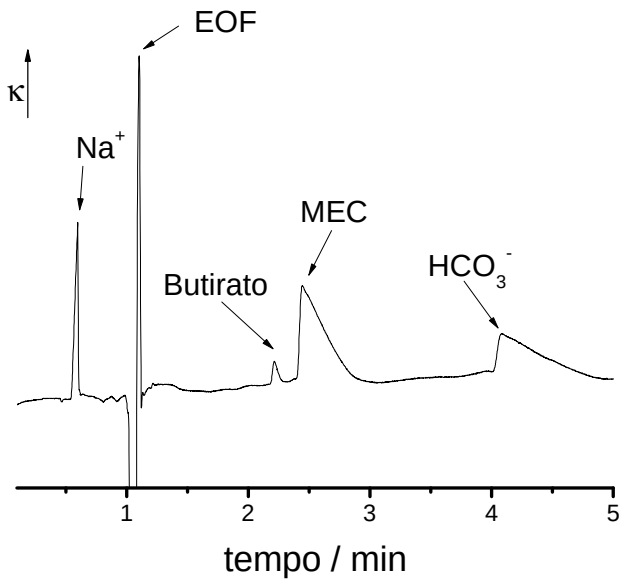


Figura 55: Eletroferogramas da separação do MEC, Butirato e Bicarbonato em uma amostra de etanol combustível utilizando 20 mmol L^{-1} CHES / 10 mmol L^{-1} LiOH, 20% terc-butanol, pH 9,5.

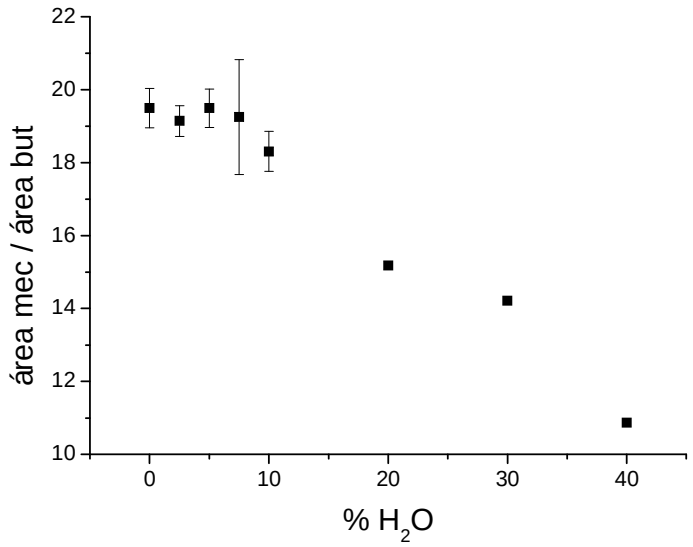


Figura 56: Valores de área relativa do pico do MEC em função do aumento do teor de água no etanol.

8.3 Conclusões parciais

A possibilidade de determinação de alcoóis, em especial os alifáticos, por CE é sem dúvidas, bastante instigante e empolgante. Embora seja relatada a separação de solutos neutros utilizando micelas iônicas, principalmente em MEKC [90], a interação de alcoóis de cadeia pequena com essas micelas não é, de fato, favorecida. Adicionalmente, a ausência de grupos cromóforos nesta classe de compostos, inviabiliza também o emprego do sistema de detecção ótica no UV-Vis, amplamente utilizado nesta técnica.

Contudo, o desenvolvimento de um método para determinação do teor de etanol no álcool combustível empregando a CE-C^4D mostra-se bastante interessante, uma vez que, devido à sua portabilidade e robustez, permitiria não somente análises nas destilarias, mas principalmente em postos de abastecimento, o que seria de certa forma, bastante apropriado devido à possibilidade da determinação de diferentes classes de compostos empregando a

mesma técnica.

O emprego da estratégia de derivatização de alcoóis utilizando o bicarbonato ainda não apresentou resultados satisfatórios. A forma de preparo das amostras, quantidade da solução aquosa e concentração de bicarbonato ainda é o ponto crítico do método, acarretando em uma baixa robustez, a qual é necessária para um método analítico. Porém, acreditamos que este primeiro estudo sirva de base para o desenvolvimento de métodos mais precisos.

Capítulo 9: Conclusões e Perspectivas

9 Conclusões e Perspectivas

O presente trabalho, o qual inicialmente previa o desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de contaminantes, em especial os iônicos ou facilmente ionizáveis no biodiesel empregando a eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato, teve seus objetivos alcançados e, de certa forma, ampliados no decorrer do desenvolvimento do projeto. Uma vez que na literatura existe muito pouca informação sobre os processos de auto-oxidação e as espécies formadas durante o armazenamento do biodiesel, o presente trabalho teve desdobramentos, que em alguns casos ultrapassam as fronteiras da química analítica.

Os contaminantes inorgânicos pertencentes aos grupos 1 e 2 da tabela periódica, são, sem dúvidas, a classe de compostos com a maior quantidade de métodos desenvolvidos, validados e relatados na literatura, sendo que, como já discutido anteriormente, as técnicas espectroscopias ocupam posições de maior quantidade de métodos propostos. No entanto, os métodos apresentados neste trabalho (Capítulo 5) mostram-se eficazes como uma alternativa aos métodos já empregados e/ou descritos na literatura. Haja vista que, as análises são realizadas de forma rápida, o preparo das amostras despende pouco tempo (< 10min) – o qual pode ser realizado simultaneamente para várias amostras. Adicionalmente, os métodos apresentaram limites de quantificação suficientemente baixos para atender as legislações vigentes.

Esperamos que o presente trabalho tenha contribuído também para o enriquecimento de informações sobre as espécies formadas durante a auto-oxidação do biodiesel, uma vez que estas informações podem contribuir para o desenvolvimento de novos métodos ou estratégias de avaliação da qualidade do biodiesel e estimativa do tempo necessário para auto-oxidação desse biocombustível, empregando, em especial, os ácidos orgânicos de baixo PM. Tomando

por base a boa correlação entre a presença do ácido glicólico e o estado de degradação do biodiesel, parece-nos particularmente atraente a utilização da eletroforese capilar para o monitoramento desta espécie, pois o composto não é volátil, o que limita a utilização da cromatografia gasosa, e ao mesmo tempo pertence ao grupo das espécies facilmente ionizáveis, o que diminui a complexidade da amostra quando comparada com aquela a ser considerada por um método de HPLC.

Nos capítulos 7 e 8 são apresentados o emprego da CE-C^4D para a avaliação da qualidade do etanol combustível. O emprego da técnica para a determinação dos componentes iônicos do etanol mostra-se bastante promissor, haja vista que, como demonstrado, a simples diluição proporcionou resultados bastante satisfatórios. Adicionalmente, o emprego da técnica para a determinação dos aldeídos empregando a derivatização com bissulfito, mostra-se bastante atraente, uma vez que são evitadas grandes manipulações das amostras, utilização de reagentes contendo hidrazina, assim como solventes orgânicos, em especial a acetonitrila, constituinte da fase móvel para a maioria dos métodos empregando HPLC.

Adicionalmente, é importante destacar o emprego da técnica para a determinação do teor de etanol baseada na formação de um aduto aniônico com o bicarbonato, uma vez que, devido às características dos alcoóis de cadeias pequenas, a escolha da CE não se mostra, obviamente, uma escolha natural. No entanto, acreditamos que nenhuma outra técnica poderia fornecer informações sobre o teor alcoólico, teor de água e os principais contaminantes inorgânicos e orgânicos, tais como, sódio, cloreto, sulfato, bicarbonato, acetato, acetaldeído, dentre outros. Portanto, embora a estratégia para determinação do etanol não tenha apresentado resultados completamente satisfatórios, o presente trabalho espera ter contribuído para que novas estratégias possam ser desenvolvidas para a separação de alcoóis.

Capítulo 10: Referências Bibliográficas

10 Referências Bibliográficas

[1] Srivastava, A., Prasad, R., *Renewable & Sustainable Energy Reviews* 2000, *4*, 111-133.

[2] Meher, L. C., Sagar, D. V., Naik, S. N., *Renewable & Sustainable Energy Reviews* 2006, *10*, 248-268.

[3] Demirbas, A., *Energy Conversion and Management* 2008, *49*, 2106-2116.

[4] Shay, E. G., *Biomass & Bioenergy* 1993, *4*, 227-242.

[5] Pimentel, M. F., Ribeiro, G. M. G. S., da Cruz, R. S., Stragevitch, L., *et al.*, *Microchemical Journal* 2006, *82*, 201-206.

[6] Marchetti, J. M., Miguel, V. U., Errazu, A. F., *Renewable & Sustainable Energy Reviews* 2007, *11*, 1300-1311.

[7] Balat, M., Balat, H., *Applied Energy* 2010, *87*, 1815-1835.

[8] Cardone, M., Prati, M. V., Rocco, V., Seggiani, M., *et al.*, *Environmental Science & Technology* 2002, *36*, 4656-4662.

[9] Knothe, G., Sharp, C. A., Ryan, T. W., *Energy & Fuels* 2006, *20*, 403-408.

[10] Szybist, J. P., Song, J. H., Alam, M., Boehman, A. L., *Fuel Processing Technology* 2007, *88*, 679-691.

[11] Canakci, M., *Bioresource Technology* 2007, *98*, 1167-1175.

[12] Dorado, M. P., Ballesteros, E., Arnal, J. M., Gomez, J., Lopez, F. J., *Fuel* 2003, *82*, 1311-1315.

[13] Szybist, J. P., Boehman, A. L., Taylor, J. D., McCormick, R. L., *Fuel Processing Technology* 2005, *86*, 1109-1126.

[14] McCormick, R. L., Graboski, M. S., Alleman, T. L., Herring, A. M., *Environmental Science & Technology* 2001, *35*, 1742-1747.

[15] Ban-Weiss, G. A., Chen, J. Y., Buchholz, B. A., Dibble, R. W., *Fuel Processing Technology* 2007, *88*, 659-667.

[16] Fernando, S., Hall, C., Jha, S., *Energy & Fuels* 2006, *20*, 376-382.

[17] Monteiro, M. R., Ambrozin, A. R. P., Liao, L. M., Ferreira, A. G., *Talanta* 2008, *77*, 593-605.

[18] Lobo, I. P., Ferreira, S. L. C., da Cruz, R. S., *Quimica Nova* 2009, *32*, 1596-1608.

[19] Freedman, B., Pryde, E. H., Kwolek, W. F., *Journal of the American Oil Chemists Society* 1984, *61*, 1215-1220.

[20] Plank, C., Lorbeer, E., *Journal of Chromatography A* 1995, *697*, 461-468.

[21] Knothe, G., *Transactions of the Asae* 2001, *44*, 193-200.

[22] Hajek, M., Skopal, F., Machek, J., *European Journal of Lipid Science and Technology* 2006, *108*, 666-669.

[23] Holcapek, M., Jandera, P., Fischer, J., Prokes, B., *Journal of Chromatography A* 1999, *858*, 13-31.

[24] Noureddini, H., Zhu, D., *Journal of the American Oil Chemists Society* 1997, *74*, 1457-1463.

[25] Trathnigg, B., Mittelbach, M., *Journal of Liquid Chromatography* 1990, *13*, 95-105.

[26] Gelbard, G., Bres, O., Vargas, R. M., Vielfaure, F., Schuchardt, U. F., *Journal of the American Oil Chemists Society* 1995, *72*, 1239-1241.

[27] Oliveira, J. S., Montalvao, R., Daher, L., Suarez, P. A. Z., Rubim, J. C., *Talanta* 2006, *69*, 1278-1284.

[28] Knothe, G., *Journal of the American Oil Chemists Society* 2000, *77*, 489-493.

[29] Knothe, G., *Journal of the American Oil Chemists Society* 1999, *76*, 795-800.

[30] Macedo, C. C. S., Abreu, F. R., Tavares, A. P., Alves, M. B., *et al.*, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2006, *17*, 1291-1296.

[31] *ANP - Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução no. 7 de 19 de março de (2008). Regulamento Técnico, no. 207/2008. Brasília: Diário Oficial da União.*

[32] Nogueira, T., do Lago, C. L., *Microchemical Journal* 2011, doi:10.1016/j.microc.2011.1005.1014, no prelo.

[33] de Souza, R. M., Leocadio, L. G., da Silveira, C. L. P., *Analytical Letters* 2008, *41*, 1615-1622.

[34] de Jesus, A., Silva, M. M., Vale, M. G. R., *Talanta* 2008, *74*, 1378-1384.

[35] Chaves, E. S., Saint'Pierre, T. D., dos Santos, E. J., Tormen, L., *et al.*, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2008, *19*, 856-861.

[36] Woods, G. D., Fryer, F. I., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2007, *389*, 753-761.

[37] dos Santos, E. J., Herrmann, A. B., Chaves, E. S., Vechiatto, W. W. D., *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2007, *22*, 1300-1303.

[38] Korn, M. D. A., dos Santos, D. S. S., Welz, B., Vale, M. G. R., *et al.*, *Talanta* 2007, *73*, 1-11.

[39] Lyra, F. H., Carneiro, M. T. W. D., Brandao, G. P., Pessoa, H. M., de Castro, E. V., *Microchemical Journal* 2010, *96*, 180-185.

[40] Amais, R. S., Garcia, E. E., Monteiro, M. R., Nogueira, A. R. A., Nobrega, J. A., *Microchemical Journal* 2010, *96*, 146-150.

[41] Edlund, M., Visser, H., Heitland, P., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2002, *17*, 232-235.

[42] Castilho, M. D., Stradiotto, N. R., *Talanta* 2008, *74*, 1630-1634.

[43] Almeida, E. S., Monteiro, M. A. N. A., Montes, R. H., Mosquetta, R., *et al.*, *Electroanalysis* 2010, *22*, 1846-1850.

[44] Freedman, B., Bagby, M. O., *Journal of the American Oil Chemists Society* 1989, *66*,

1601-1605.

[45] Monyem, A., Van Gerpen, J. H., *Biomass & Bioenergy* 2001, *20*, 317-325.

[46] Farmer, E. H., Bloomfield, G. F., Sundralingam, A., Sutton, D. A., *Transactions of the Faraday Society* 1942, *38*, 0348-0355.

[47] Vioque, A., Gutierre.R, Albi, M. A., Nosti, N., *Journal of the American Oil Chemists Society* 1965, *42*, 344-&.

[48] Gunstone, F. D., *Fatty acid and Lipid Chemistry*, 1996.

[49] Loury, M., *Lipids* 1972, *7*, 671-&.

[50] Deman, J. M., Deman, L., *Journal of the American Oil Chemists Society* 1984, *61*, 534-536.

[51] Bishop, G. A., Stedman, D. H., *Environmental Science & Technology* 1990, *24*, 843-847.

[52] Rosillo-Calle, F., Cortez, L. A. B., *Biomass & Bioenergy* 1998, *14*, 115-124.

[53] http://www.anp.gov.br/doc/conheca/Anuario%20Estatistico%202007.pdf, acessado em Fevereiro de 2008

[54] Moreira, J. C., Gushikem, Y., *Analytica Chimica Acta* 1985, *176*, 263-267.

[55] Tiselius, A., *Nova Acta Regiae Sociates Scientiarum Upsaliensis*, Tese de Doutorado, Suécia 1930.

[56] Hjérten, S., *Chromatographic reviews* 1967, *9*, 122-219.

[57] Mikkers, F. E. P., Everaerts, F. M., Verheggen, T. P. E. M., *Journal of Chromatography* 1979, *169*, 11-20.

[58] Neuhoff, V., Schill, W. B., Sternbac.H, *Biochemical Journal* 1970, *117*, 623-627.

[59] Virtanen, R., *Acta Polytechnica Scandinavica-Chemical Technology Series* 1974, 1-67.

[60] Jorgenson, J. W., Lukacs, K. D., *Analytical Chemistry* 1981, *53*, 1298-1302.

[61] Tavares, M. F. M., *Quimica Nova* 1997, *20*, 493-511.

[62] Tavares, M. F. M., *Quimica Nova* 1996, *19*, 173-181.

[63] Terabe, S., Otsuka, K., Ichikawa, K., Tsuchiya, A., Ando, T., *Analytical Chemistry* 1984, *56*, 111-113.

[64] da Silva, J. A. F., do Lago, C. L., *Analytical Chemistry* 1998, *70*, 4339-4343.

[65] Zemann, A. J., Schnell, E., Volgger, D., Bonn, G. K., *Analytical Chemistry* 1998, *70*, 563-567.

[66] http://www.edaq.com/C4D_intro.php, acessado em 25/02/2011.

[67] http://www.istech.at/product.htm, acessado em 25/02/2011.

[68] http://sites.google.com/site/openc4d/, acessado em 25/02/2011.

[69] Kuban, P., Hauser, P. C., *Electrophoresis* 2009, *30*, 176-188.

[70] Kuban, P., Hauser, P. C., *Analytica Chimica Acta* 2008, *607*, 15-29.

[71] Piovezan, M., Costa, A. C. O., Jager, A. V., de Oliveira, M. A. L., Micke, G. A., *Analytica Chimica Acta* 2010, *673*, 200-205.

[72] Goncalves, L. C., Micke, G. A., *Journal of Chromatography A* 2007, *1154*, 477-480.

[73] Pereira, E. A., Stevanato, A., Cardoso, A. A., Tavares, M. F. M., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2004, *380*, 178-182.

[74] Pereira, E. A., Tavares, M. F. M., Stevanato, A., Cardoso, A. A., *Quimica Nova* 2006, *29*, 66-71.

[75] Munoz, R. A. A., Richter, E. M., de Jesus, D. P., do Lago, C. L., Angnes, L., *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2004, *15*, 523-526.

[76] Desai, A. M., Andreae, M., Mullen, D. G., Holl, M. M. B., Baker Jr, J. R., *Analytical Methods* 2011, *3*, 56-58.

[77] Pereira, E. A., Rezende, M. O. O., Tavares, M. F. M., *Journal of Separation Science* 2004, *27*, 28-32.

[78] Pereira, E. A., Cardoso, A. A., Tavares, M. F. M., *Electrophoresis* 2003, *24*, 700-706.

[79] Pereira, E. A., Tavares, M. F. M., Cardoso, A. A., *Journal of Aoac International* 1999,

82, 1562-1570.

[80] Rocha, F. R., Coelho, L. H. G., Lopes, M. L. A., Carvalho, L. R. F., *et al.*, *Talanta* 2008, *76*, 271-275.

[81] Vidal, D. T. R., Nogueira, T., Saito, R. M., do Lago, C. L., *Electrophoresis* 2011, *32*, 850-856.

[82] da Silva, J. A. F., Guzman, N., do Lago, C. L., *Journal of Chromatography A* 2002, *942*, 249-258.

[83] do Lago, C. L., Saito, R. M., Brito-Neto, J. G. A., Lopes, F. S., *et al.*, *Analytical Methods* 2010, *2*, 164-170.

[84] Kuban, P., Kuban, P., Kuban, V., *Electrophoresis* 2002, *23*, 3725-3734.

[85] Gas, B., Coufal, P., Jaros, M., Muzikar, J., Jelinek, I., *Journal of Chromatography A* 2001, *905*, 269-279.

[86] Jaros, M., Vcelakova, K., Zuskova, I., Gas, B., *Electrophoresis* 2002, *23*, 2667-2677.

[87] Clamp, J. R., Hough, L., *Biochemical Journal* 1965, *94*, 17-&.

[88] AOAC, *Peer-Verified Methods Program Manual on Policies and Procedures*, Arlington 1993.

[89] Deman, J. M., Tie, F., Deman, L., *Journal of the American Oil Chemists Society* 1987, *64*, 993-996.

[90] da Silva, J. A. F., do Lago, C. L., *Electrophoresis* 2000, *21*, 1405-1408.

[91] Harris, D., *Análise química quantitativa*, LTC, Rio de Janeiro, 2011.

Súmula Curricular

i. DADOS PESSOAIS

Nome: Thiago Nogueira

Nascido em 06/10/1980 na cidade de Andradina-SP.

ii. EDUCAÇÃO

2006 - Atual Doutorado em Química (Química Analítica), Eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato aplicada à avaliação da qualidade de biocombustíveis (biodiesel e etanol) e ao estudo sobre os processos de oxidação do biodiesel, USP, São Paulo, Brasil.

2004 – 2006 Mestrado em Química (Química Analítica), Determinação de cafeína e identificação de adulterações no café empregando a eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato, USP, São Paulo, Brasil.

1999 – 2003 Graduação em Química. Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, Brasil.

1996 – 1998 Ensino Médio Colégio Stella Maris – Sistema ANGLO de Ensino, Andradina, Brasil

iii. OCUPAÇÃO

2011 – Atual: Professor substituto, Universidade Federal de São Carlos. Carga horária 20h. Disciplinas ministradas: Introdução à Química Ambiental, Química Geral 1, Química Geral 2 e Laboratório de transformações químicas.

2006 – 2010 Bolsista de Doutorado, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

2004 – 2006 Bolsista de Mestrado, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

2010 - 2010 Estágio supervisionado em docência no programa de aperfeiçoamento em

ensino. Disciplina QFL-238 - Química Analítica Instrumental. Curso: Farmácia e Bioquímica. Supervisor: Prof. Dr. Ivano. G. R. Gutz. Supervisão de aulas prática e aplicação de colóquios sobre Espectrofotometria UV-Vis.

2009 - 2009 Monitor do II Curso de Inverno - Tópicos modernos em Análise Instrumental. Responsável pelo experimento de eletroforese capilar, com carga horária de 15 horas.

2009 - 2009 Estágio supervisionado em docência no programa de aperfeiçoamento em ensino. Disciplina QFL-2242 - Química Analítica Instrumental. Curso: Química. Supervisor: Prof. Dr. Fábio R.P. Rocha. Supervisão de aulas prática e aplicação de colóquios sobre Fotometria de chama e Eletroforese Capilar.

2007 - 2007 Estágio supervisionado em docência no programa de aperfeiçoamento em ensino. Disciplina QFL-0605 - Química Geral. Curso: Física Supervisor: Prof. Dr. Dalva L.A. Faria. Supervisão de aulas prática e acompanhamento dos alunos em aulas teóricas.

2007 - 2007 Estágio supervisionado em docência no programa de aperfeiçoamento em ensino. Disciplina QFL-238 - Química Analítica Instrumental. Curso: Farmácia e Bioqímica. Supervisor: Prof. Dr. Ivano. G. R. Gutz. Supervisão de aulas prática e aplicação de colóquios sobre Fotometria de chama.

2005 - 2005 Estágio supervisionado em docência no programa de aperfeiçoamento em ensino. Disciplina QFL-238 - Química Analítica Instrumental. Curso: Farmácia e Bioqímica) Supervisor: Prof. Dr. Ivano. G. R. Gutz. Supervisão de aulas prática e aplicação de colóquios sobre eletroforese capilar.

iv. ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS

1. Lopes, F.S., Nogueira, T., do Lago, C.L., Gutz, I.G.R. Capillary Electrophoresis Assisted Flow System for In Situ Analysis of Products of Heterogeneous Electrocatalytic and Catalytic Processes: Application to the Oxidation of Glycerol. Electroanalysis, 2011, aceito.

2. Nogueira, T., do Lago, C.L. Determination of Ca, K, Mg, Na, sulfate, phosphate, formate, acetate, propionate and glycerol in biodiesel by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. Microchemical Journal. 2011. No prelo, doi:10.1016/j.microc.2011.05.014.

3. Vidal, D.T.R., Nogueira, T., Saito, R.M., do Lago, C.L., Investigating the Formation and the Properties of Monoalkyl Carbonates in Aqueous Medium Using Capillary Electrophoresis with Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection. Electrophoresis, v32, 850 – 856, 2011.

4. Nogueira, T., do Lago, C.L., Detection of adulterations in processed coffee with cereals and coffee husks using capillary zone electrophoresis. Journal of Separation Science, v32, p.3507, 2009.

5. Nogueira, T., do Lago, C.L., Determination of caffeine in coffee products by dynamic complexation with 3,4-dimethoxycinnamate and separation by capillary zone electrophoresis. Electrophoresis. , v.28, p.3570, 2007.

v. CAPÍTULOS DE LIVROS PUBLICADOS

1. Nogueira, T., do Lago, C.L. Determination of caffeine by capillary electrophoresis through the anionic complex with 3,4 dimethoxycinnamate. In Caffeine: Chemistry, Analysis, Function and Effects, Editor: Victor Preedy, RCS Publishing, 2011, em editoração.

2. do Lago, C.L., Nogueira, T., Saito, R.M., Blanes, L. Determination of Mono- Di- and Oligosaccharides by Capillary Electrophoresis with Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection. In. Capillary Electrophoresis of Carbohydrates: Methods and Protocols, Editor: Nicola Volpi, Humana Press, 2011, em editoração.

vi. TRABALHOS PUBLICADOS EM ANAIS DE EVENTOS (COMPLETO)

1. Nogueira, T., do Lago, C.L., Gurgel, C., da Silva, G.V., Hidalgo, P., Estudo dos compostos

formados pela degradação do biodiesel usando a técnica eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato (C^4D). In: 3° CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 2009, Brasília - DF.

vii. TRABALHOS PUBLICADOS EM ANAIS DE EVENTOS (RESUMO)

1. Porto, S.K.S.S. ; Nogueira, T. ; BLANES, L. ; Sabino, B.D. ; do Lago, C.L. ; Angnes, L. Análise de comprimidos de Ecstasy apreendidos no Rio de Janeiro utilizando Eletroforese Capilar com detecção C^4D.. In: 34 Reunião Anual da SBQ, 2011, Florianópolis - SC.

2. Nogueira, T., do Lago, C.L. Determination of Ca, K, Mg, Na, sulfate, phosphate, formate, acetate, propionate and glycerol in biodiesel by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection In: Pittcon, Conference & Expo, 2010, Orlando, FL.

3. Saito, R.M., Nogueira, T., Vidal, D.T.R., do Lago, C.L., Determination of ethanol percentage in alcohol fuel by monitoring of monoethyl carbonate using capillary zone electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection In: 16th LACE - Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology, 2010, Florianópolis.

4. Nogueira, T., dos Santos, T.G., do Lago, C.L., Determinação de contaminantes inorgânicos e orgânicos de baixo PM em álcool combustível por Eletroforese Capilar In: 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - SBQ, 2009, Fortaleza - CE.

5. Nogueira, T., Lopes, M.L.A., Carvalho, L.R.F., do Lago, C.L., Estudos sobre as emissões de compostos carbonílicos durante a oxidação do Biodiesel In: 15° Encontro

Nacional de Química Analítica, 2009, Salvador – Bahia.

6. Vidal, D.T.R., Nogueira, T., Saito, R.M., do Lago, C.L., Separação de álcoois por eletroforese capilar em zona (CZE) pela formação de monoalquilcarbonato In: 15° Encontro Nacional de Química Analítica, 2009, Salvador – Bahia.

7. Hidalgo, P., Nogueira, T., do Lago, C.L., Shui, W., Studies on Oxidative Degradation of Biodiesel and identification of byproducts using Capillary Electrophoresis Technique In: World Congress on Oils and Fats & 28th ISF Congress, 2009, Sydney – Australia.

8. Nogueira, T., MUNOZ, R. A. A., do Lago, C.L., Angnes, L., Determinação de Cobre em amostras de Biodiesel empregando extração ultra-sônica e análise por redissolução potenciométrica In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - SBQ, 2008, Águas de Lindóia.

9. de Oliveira, F.C.M., Nogueira, T., Martins, J.V., Fonseca, D.S., do Lago, C.L., Angnes, L., Determinação de Metais Pesados em Biodiesel utilizando eletrodo de Au com eletrodeposição de filme de Bi In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - SBQ, 2008, Águas de Lindóia.

10. Nogueira, T., BLANES, L., do Lago, C.L., Determinação de espécies iônicas em biodiesel empregando eletroforese capilar In: 14° Encontro de Química Analítica - ENQA, 2007, João Pessoa - PB.

11. Nogueira, T., do Lago, C.L., Identificação de adulterações no café empregando a eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato In: 14° Encontro de Química Analítica - ENQA, 2007, João Pessoa - PB.

12. Nogueira, T., Saito, R.M., do Lago, C.L., Determinação de cafeína em café solúvel por eletroforese capilar em solução livre In: 13° Encontro Nacional de Química

Analítica, 2005, Niterói- RJ.

13. Nogueira, T., do Lago, C.L., Determination of caffeine in coffee products by formation of anionic complex with 3,4-dimethoxycinnamate and separation by capillary zone electrophoresis In: 11° Simpósio Latinoamericano LACE, 2005, Guarujá-SP.

14. Mali, S., Mazoni, J.N.O., Nogueira, T., Grossmann, M.V.E., Potencial de aplicação comercial de filmes biodegradáveis de amido de cará In: XIX CBCTA - Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004, Recife - PE.

15. Mazoni, J.N.O., Mali, S., Nogueira, T., Grossmann, M.V.E., Propriedades mecãnicas de filmes biodegradáveis de amido de cará In: XII Encontro Anual de Iniciação Científica, 2003, Foz do Iguaçu.

16. Nogueira, T., Mazoni, J.N.O., Mali, S., Grossmann, M.V.E., Propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis de amido de cará e de batata In: VIII Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2003, Curitiba - PR - Brasil.

viii. APRESENTAÇÃO DE TRABALHO/CONFERÊNCIA

1. Nogueira, T. Aplicação da eletroforese capilar no estudo da formação e propriedades de monoalquilcarbonatos e seus desdobramentos em química analítica, 2010. (Conferência ou palestra,Apresentação de Trabalho). Águas de Lindóia; Evento: II Workshop – INCT-Bio.

2. Hidalgo, P., Nogueira, T., DANTAS, P., Siqueira, E.B., AQUILES, J., Shui, W., Reutilização de subprodutos de óleo de soja utilizado em frituras para aplicação como biocombustível, 2010. (Congresso,Apresentação de Trabalho). São Paulo; Evento: VII Congresso Brasileiro de Planejamento Energético.

3. Nogueira, T., Combustíveis e Biocombustíveis: Aplicação de Técnicas Analíticas para Determinação da Pureza, 2009. (Conferência ou palestra,Apresentação de Trabalho).

Diadema - SP; Evento: I Semana Científica e Cultural da UNIFESP Diadema.

4. Nogueira, T., Lopes, M.L.A., Carvalho, L.R.F., do Lago, C.L., Estudos sobre as emissões de compostos carbonílicos durante a oxidação do Biodiesel, 2009. (Congresso,Apresentação de Trabalho). Cidade: Salvador – Bahia; Evento: 15° Encontro Nacional de Química Analítica.

ix. *OUTRAS INFORMAÇÕES*

Prêmio de melhor trabalho apresentado na seção de Políticas Públicas em Energia no *VII Congresso de Planejamento Energético*, trabalho intitulado *Reutilização de subprodutos de óleo de soja utilizado em frituras para aplicação como biocombustível*. Autores: Hidalgo, P., Nogueira, T., DANTAS, P., Siqueira, E.B., AQUILES, J., Shui, W., 2010.