



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**Determinação de parâmetros de qualidade do biodiesel
utilizando espectrofotometria UV/Vis**

DANIEL ALFONSO SPUDEIT

Florianópolis
novembro/2009

Daniel Alfonso Spudeit

**Determinação de parâmetros de qualidade do biodiesel
utilizando espectrofotometria UV/Vis**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

Orientador: Gustavo Amadeu Micke

Florianópolis
02/2009

Daniel Alfonso Spudeit

Determinação de parâmetros de qualidade do biodiesel utilizando espectrofotometria UV/Vis

Profa. Dra. Inês Maria Costa Brighente
Coordenadora de Estágios do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Gustavo Amadeu Micke
Orientador

Prof. Ivan Gonçalves de Souza

Prof. Luiz Augusto dos Santos Madureira

Florianópolis
novembro/2009

Dedico o cumprimento de mais esta etapa da minha vida aos meus pais Vilmar e Maurizaura que sempre estiveram ao meu lado nos dias bons e ruins, que souberam perdoar meus defeitos e reconhecer minhas virtudes.

Agradecimentos:

- Aos meus Pais Vilmar e Maurizaura e aos meus irmãos Samuel e Willian por me amarem e me apoiarem em tudo.
- A minha família que me forneceu todo apoio para que permanecesse estudando mesmo quando achei que seria impossível.
- Aos amigos de longa data e aos que eu conquistei durante estes anos por todo o companheirismo, carinho, puxões de orelha e incentivo : Alex (latino), Deonildo, Graziela salvador, Geovanni, Jô, Leandro (leko), Robert (cenoura), Rafaella (tutu), Thiago Costa, e a todos do lab 306.
- Aos amigos do LABEC: Ana, Luciano, Melina, Michele, Marcel, Rafael por me ajudarem e me aturarem.
- A minha namorada, Thiele, por todo amor, carinho e muita paciência.
- Ao meu orientador, Professor Gustavo Micke, pela confiança, paciência e dedicação.

SUMÁRIO

RESUMO.....	III
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Espectrofotometria UV/Vis.....	2
1.1.1 <i>Instrumentação</i>	3
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	5
3 OBJETIVOS.....	11
3.1 Objetivo Geral.....	11
3.2 Objetivos Específicos.....	11
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
4.1 Equipamentos.....	12
4.2 Reagentes e Soluções.....	12
4.3 Preparo das amostras.....	12
4.3.1 <i>Extração da glicerina</i>	12
4.3.2 <i>Oxidação da glicerina e análise por espectroscopia UV/Vis</i>	13
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
5.1 Determinação da glicerina.....	14
5.2 Estudo da reação entre iodato e iodeto.....	14
5.2.1 <i>Estudo do efeito pH na reação</i>	14
5.2.2 <i>Estudo da concentração do iodeto</i>	16

5.3 Estudo da formação do complexo entre IO_4^- / Mo	17
5.3.1 <i>Especiação do molibdato</i>.....	17
5.3.2 <i>Estudo da influência do pH na formação do complexo</i>.....	18
5.3.3 <i>Determinação da estequiometria do complexo</i>.....	19
5.4 Aplicação do método na determinação de glicerina em biodiesel.....	20
5.4.1 <i>Figuras de mérito da metodologia</i>.....	20
5.4.2 <i>Efeito de matriz</i>.....	21
6 CONCLUSÕES.....	24
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

RESUMO

Ao longo do seu desenvolvimento humanidade criou uma dependência dos combustíveis derivados do petróleo como a gasolina e o diesel. Porém nos últimos anos assuntos como aquecimento global e esgotamento das fontes de petróleo fizeram com que a sociedade buscasse novas alternativas energéticas que fossem de fonte renovável e de queima limpa e entre essas novas alternativas está o biodiesel que é proveniente de fontes vegetais e animais tais como soja, dendê gordura bovina e etc. O biodiesel é produzido através de uma reação de transesterificação do óleo com um álcool, metanol ou etanol, dando como principal subproduto a glicerina. Quando presente em grandes quantidades no biodiesel a glicerina pode causar danos ao motor como entupimento de bombas de injeção e acúmulo no fundo do tanque de armazenamento e quando submetida a altas temperaturas sofre decomposição e libera acroleína, substância nociva ao meio ambiente. A glicerina na presença de periodato sofre uma clivagem oxidativa gerando como produtos formaldeído, ácido fórmico, iodato e água. Neste trabalho será apresentada uma metodologia para determinação de glicerina baseada na reação desta com o periodato, clivagem oxidativa. Por espectroscopia UV/VIS será medida a reação do iodato com o iodeto para gerar o triiodeto que será analisado no comprimento de onda de 350 nm. Para quantificação da amostras foi feita uma curva de calibração com uma faixa linear de $1,51 \times 10^{-6}$ a $9,05 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e com R² de 0,9988, com limites de quantificação e de detecção de 1,71 e 0,51 mg L⁻¹ respectivamente. Os dados obtidos foram comparados com os dados obtidos por eletroforese capilar.

Palavras-chave: Biodiesel, glicerina livre, espectrometria UV/VIS e eletroforese capilar.

1. Introdução

O primeiro motor movido a diesel foi criado em 1893 por Rudolph Diesel, em Augsburg, na Alemanha, e o combustível utilizado era de óleo de amendoim. Diesel acreditava que o combustível feito de biomassa, era uma alternativa viável aos motores a vapor.

Diesel, entre 1911 e 1912, afirmava: “O motor a diesel pode ser alimentado por óleos vegetais, e ajudará no desenvolvimento agrícola dos países que vierem a utilizá-lo. O uso de óleos vegetais como combustível pode parecer insignificante hoje em dia. Mas com o tempo irão se tornar tão importante quanto o petróleo e o carvão são atualmente”.

Ao longo do seu desenvolvimento a humanidade criou uma dependência do petróleo utilizando-o como fonte de energia. Porém fatores como poluição, preço e disponibilidade deste combustível fizeram com que a humanidade buscasse fontes de energia que fossem renováveis e menos nocivas ao ambiente, entre essas fontes está o biodiesel.

Biodiesel é o nome de um combustível alternativo de queima limpa composto de mono-alquilésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivado de óleos vegetais, tais como girassol, mamona, soja, babaçu e demais oleaginosas, ou de gorduras animais. Como propriedades físico-químicas os impedem de serem utilizados diretamente como combustíveis, o óleo passa por uma transformação química gerada por reações de esterificação, transesterificação ou craqueamento. Entre estas a transesterificação é a mais utilizada.

Na produção do biodiesel a transesterificação compreende a reação entre um triglicerídeo e um álcool, gerando um éster e um subproduto, a glicerina. O processo global de transesterificação de óleos vegetais e gorduras é uma seqüência de três reações reversíveis e consecutivas em que os monoglicerídeos e os diglicerídeos são os intermediários, nesta reação são necessários três moles de álcool para cada mol de triglicerídeo e o glicerol é formado como principal subproduto.

De acordo com a lei brasileira 11, 097, o biodiesel deve ser introduzido na matriz energética, na proporção de 2% nos primeiros três anos após a publicação desta podendo sofrer um aumento gradativo conforme disponibilidade de produção., tendo como objetivo até o ano de 2012 que o percentual de biodiesel adicionado seja de 5%.

Com a introdução do biocombustível surgiu a necessidade da criação de normas que garantissem a qualidade do combustível, pois algumas substâncias quando presentes em grandes quantidades podem causar sérios danos ao motor e ao meio ambiente, como por exemplo, a glicerina que pode ocasionar o entupimento de bombas e injetores, corrosão dos tanques de armazenamento e quando submetidas a altas temperaturas pode liberar acroleína , substância nociva. A ANP, Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Bicomcombustíveis, estabeleceu como 0,02% e 0,25% as quantidades máximas de glicerina livre e total, respectivamente.

Na presença de periodato, um oxidante forte, a glicerina sofre uma reação de clivagem oxidativa formando como produto ácido fórmico, formaldeído, iodato e água. Este estudo tem como objetivo o desenvolvimento de uma metodologia para determinação de glicerina em amostras de biodiesel por espectrofotometria UV/VIS e eletroforese capilar, baseando-se na clivagem oxidativa da glicerina.

1.1. Espectrofotometria no UV-Vis

Espectroscopia é o estudo da interação entre matéria e radiação eletromagnética. A luz ultravioleta e a luz visível fornecem energia causando as transições eletrônicas, promoção de um elétron para um orbital de maior energia. Dependendo da energia necessária para a transição eletrônica, a molécula pode absorver na região do ultravioleta ou no visível [1]. A luz ultravioleta é a radiação eletromagnética com comprimento de onda entre 180 e 400 nm; a luz visível apresenta o comprimento de onda na região entre 400 e 780 nm.

A técnica é fundamentada na lei de Lambert-Beer, que propõe que em um determinado comprimento de onda, a absorvância depende da concentração de espécies absorventes no meio em que a luz atravessa (Eq. 1).

$$A=\epsilon bc \quad (1)$$

Onde A é a absorvância, ϵ é a absorvidade molar, b é o caminho ótico e C é a concentração da espécie absorvente.

Por apresentar boa robustez, custo relativamente baixo e grande número de aplicações, a espectrofotometria na região do ultravioleta e do visível vem sendo uma das técnicas analíticas mais empregadas [2].

1.1.1 Instrumentação

Os espectrofotômetros podem ser de feixe simples ou de feixe duplo onde um feixe de luz passa por um divisor de feixe o qual alternadamente direciona este para a amostra ou para a cela de referência várias vezes por segundo. Neste trabalho será utilizado o equipamento de feixe simples.

O espectrofotômetro de feixe simples (Fig. 1) primeiramente registra o espectro da referência e em seguida o da amostra. Este consiste basicamente de uma fonte luz (A), onde normalmente usa-se lâmpada de deutério e tungstênio, sendo a primeira para a região do UV e a segunda para a região do visível.

Outra parte de um espectrofotômetro é o monocromador (B). São destinados a selecionar faixas do espectro de emissão de luz [3]. Os monocromadores podem ser de prismas, como o da Figura 1, de grade ou de filtro. Após passar pelos monocromadores o feixe de luz incide na amostra que está em uma célula. As células normalmente são de quartzo ou vidro, porém a de vidro só pode ser utilizada para análises na região do visível, pois absorve na região do UV.

Por último, o detector (D). Os espectrofotômetros podem empregar um ou vários detectores. Os que empregam apenas um detector são chamados monocanais ou temporais e monitoram de forma sequencial as intensidades de radiação do espectro eletromagnético. Aqueles que empregam vários detectores são chamados multicanais ou espaciais, monitorando simultaneamente vários comprimentos de onda. Esses equipamentos também podem ser dispersivos, empregando, via de regra, uma rede de difração, e não-dispersivos, empregando, por exemplo, filtros ou diodos emissores de luz [4].

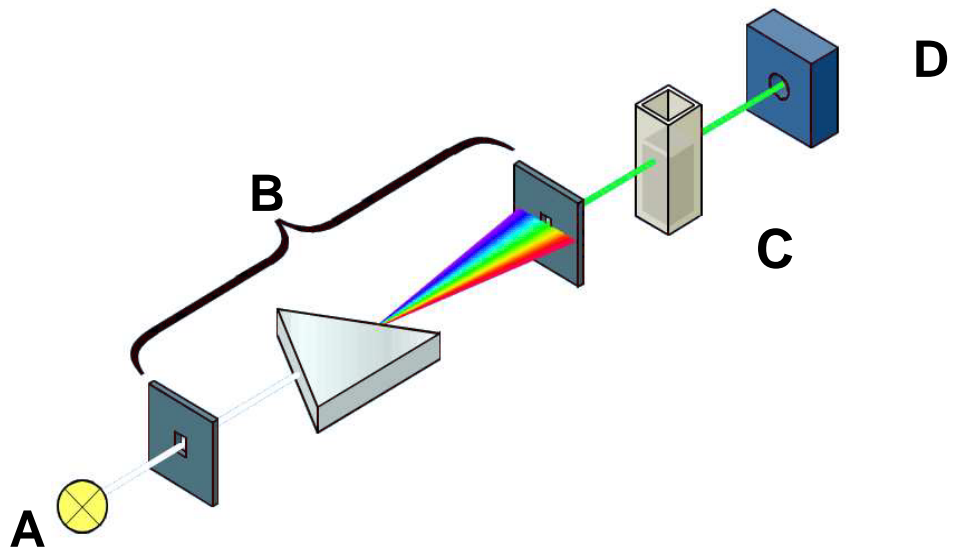


Figura 1. Representação esquemática de um espectrofotômetro de feixe simples e com monocromador de prisma.

2. Revisão da Literatura

A quantidade de glicerina livre e total presente em uma amostra de biodiesel B100, bicom bustível puro, podem ser determinados por diversas técnicas analíticas. A ANP recomenda dois métodos. O método ASTM (do inglês, “American Society for Testing and Materials”) D 6584, que utiliza cromatografia gasosa com detector FID (do inglês, “Flame Ionization Detection”), porém este método não se aplica ao combustível proveniente da mamona. Para a análise de biodiesel proveniente desta oleaginosa recomenda-se usar um método baseado na iodometria [5]. Na literatura são apresentados diferentes métodos para determinação de glicerina na sua forma livre e ligada em amostras de biodiesel, sempre buscando um método rápido e de baixo custo que apresente resultados satisfatórios no que se refere à precisão e exatidão.

O primeiro método descrito na literatura para determinação da quantidade de glicerina total em biodiesel baseia-se em um processo enzimático. O processo enzimático envolve extração em fase sólida, reação de saponificação, seguida pela análise enzimática da amostra. Este método, que foi desenvolvido para o biodiesel de colza, não faz distinção entre mono, di, e triglicerídeos, além de ser de grande complexidade e baixa reprodutibilidade em seus resultados. [6]

Bondioli e *col.* descrevem o método de cromatografia a gás com detector de ionização por chama (CG-FID) para a determinação de glicerol livre em biodiesel, o qual não é necessário derivatização da amostra. O método é válido para óleo de colza, óleo de girassol e biodiesel de soja e é adequado para quantidades de glicerina livre na amostra maiores que 0,02% [7].

Mitellbach e *col.* desenvolveram uma metodologia para determinação de glicerina livre em biodiesel e simultaneamente a determinação de metanol através da cromatografia a gás. O método consistiu na dissolução das amostras em dimetilformamida (DMF), subsequente silanização com bis-trimetilsilil trifluoroacetamida (BSTFA) e posterior separação utilizando uma coluna DB-5 (60 m x 0,25 mm) com detecção por FID ou MS (do inglês “mass spectrometry”).[8]

Lozano *e col.* apresentaram o primeiro método para determinação de glicerina em biodiesel utilizando HPLC (do inglês “high performance liquid chromatography”) [9]. O método foi desenvolvido para a determinação do teor de glicerol livre em ésteres derivados de óleo vegetal. Após a extração do glicerol foi possível sua determinação em pequenas amostras de biodiesel por HPLC combinado com um detector por pulso amperométrico, (HPLC-PAD). O método demonstrou simplicidade, rapidez e exatidão. Em outro estudo, Sala e Bondioli [10] avaliaram duas metodologias distintas para determinação de glicerina. Um dos métodos empregou uma titulação com periodato e o outro se baseou na quantificação por HPLC. A partir dos resultados, os autores concluíram que o método com periodato mostrou exatidão e precisão satisfatórias, que foram melhoradas com o uso de uma titulação potenciométrica. O segundo método apresentou maior rapidez e mais informações sobre o analito. Além disso, uma metodologia para determinação de glicerina por HPLC-RID (do inglês “refractive index detector”) foi descrita por Hájek *e col.* [11]. O método mostrou-se mais rápido que os métodos que utilizam GC e apresentou desempenho analítico similar.

Foglia *e col.* [12] descrevem uma comparação entre HTGC (do inglês, “high temperature gas chromatography”) e HPLC para determinação de glicerina ligada, em biodiesel de soja e colza. HTGC-MS e HPLC-ELSD, (do inglês “evaporative light scattering detector”), mostraram resultados semelhantes. Entretanto, considerando-se o lado operacional, o método que utilizou HPLC demonstrou maior simplicidade quando comparado ao HTGC, pelo fato de as amostras não necessitarem de derivatização prévia. Com isso, a metodologia utilizando HPLC apresentou um menor tempo de análise e pôde ser diretamente empregada em diversas fontes de biodiesel.

Catharino *e col.* desenvolveram uma metodologia utilizando MS, a qual empregou infusão direta e ionização por ESI (do inglês, “electrospray”) permitindo a determinação de resíduos de glicerol, mono, di, e triglicerídeos, além da determinação de álcool e o monitoramento da degradação e adulteração de amostras de biodiesel. Essa técnica demonstrou ser eficiente na determinação e

rápida para a quantificação de parâmetros de qualidade estabelecidos para o biodiesel.[13]

Um método espectrofotométrico baseado na quantificação da 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidina no comprimento de onda de 410 nm foi desenvolvido para determinação de glicerol [14]. Esse composto é obtido através da reação de Hantzsch do glicerol, a qual consiste em duas reações sucessivas: (i) oxidação da glicerina livre pelo periodato, formando formaldeído e (ii) a reação deste composto com acetilacetona na presença de acetato de amônio, resultando no produto de interesse. Segundo o autor, a metodologia demonstrou simplicidade, rapidez e reduzido custo. Louzeiro e *col.* avaliaram estatisticamente o método desenvolvido por Bondioli e *col.* [15]. De acordo com os autores a precisão do método ficou comprometida com as variações de temperatura do laboratório e do banho termostaticado, porém mostrou-se eficiente para a determinação de glicerina livre, e os limites de detecção alcançados estavam muito abaixo do teor estabelecido por lei.

Em trabalho recente Lorenzo e Stradiotto [16], apresentaram uma nova metodologia para determinação de glicerina livre em biodiesel. O método é baseado na eletrooxidação da glicerina em eletrodos de platina através da técnica de potenciometria cíclica. Um método rápido para extração da glicerina do biodiesel com água seguido da eliminação de interferentes orgânicos foi desenvolvido pelos autores. Com isso, esse novo método pôde ser aplicado em diversas amostras de biodiesel. De acordo com os autores, o método mostrou-se rápido e com ótima reprodutibilidade para a determinação de glicerol em várias amostras de biodiesel, sem a necessidade de recalibração.

Naviglio e *col.* descreveram em artigo uma metodologia para determinação de glicerina livre em óleos [17]. O glicerol livre foi oxidado seletivamente a ácido fórmico e a adição do periodato ocorreu no mesmo meio em que ocorreu a transesterificação sem qualquer interferência. O ácido fórmico gerado foi titulado potenciometricamente através de reação ácido-base. Com o método proposto foi possível a determinação específica e exata de glicerol livre em triglicerídeos e biodiesel.

Pinzi e *col.* propuseram uma abordagem automatizada com base na determinação de glicerol livre e ligado à produção de biodiesel. O método foi baseado na extração líquido-líquido de glicerina a partir do biodiesel para uma fase aquosa etanólica, onde foi oxidada a formaldeído e numa reação subsequente reagiu com acetilacetona. O produto da reação foi fotometricamente medido em 410 nm. Esse experimento consistiu em um coletor por injeção em fluxo para extração líquido-líquido sem separação de fases e mudanças interativas da direção de fluxo. O método proposto foi mais rápido e com custos mais reduzidos quando comparado aos métodos baseados em GC e HPLC e mostrou limites de detecção e quantificação de glicerina livre e total bem abaixo dos limites estabelecidos pela lei européia. [18]

Um método para análise simultânea dos produtos da reação de transesterificação de monoglicerídeos, diglicerídeos, triglicerídeos, glicerol e metil éster foi desenvolvido utilizando cromatografia de permeação em gel (GPC) acoplada a um detector de índice de refração [19]. O tetrahidrofurano foi utilizado como fase móvel. A preparação da amostra envolveu apenas diluição e neutralização. O método apresentou boa reprodutibilidade. Um método similar foi desenvolvido para avaliar a influência de diferentes fatores que pudessem afetar a transesterificação do óleo de colza com etanol anidro e etóxido de sódio como catalisador [20]. Por esse método foi realizada a quantificação de etil éster, mono, di, triglicerídeos e glicerol.

Gonçalves Filho e Micke [21] apresentaram um método para determinação de glicerina livre em biodiesel utilizando a eletroforese capilar (EC) como ferramenta analítica. Antes da análise a reação entre o glicerol e o periodato foi realizada, em menos de dois minutos, formando como produto de reação o iodato. A relação iodato/periodato foi monitorada por EC. Amostras de biodiesel comerciais produzidos a partir da gordura de frango, óleo de soja e mamona foram analisadas pela metodologia proposta. Todas as amostras apresentaram valores inferiores aos determinados pela ANP. De acordo com os autores, essa metodologia para extração e análise de glicerol em biodiesel mostrou-se rápida, simples e confiável.

A reação de oxidação pelo periodato tem demonstrado grande importância no desenvolvimento de métodos de micro-análises para um grande número de espécies orgânicas e inorgânicas, podendo ser empregada em uma grande variedade de equipamentos cromatográficos, fotométricos, eletroquímicos com os mais diferentes instrumentos de detecção encontrados [22].

A reação de oxidação do iodeto a triiodeto pelo iodato, conhecida como reação de Dushman, é muito importante para a química analítica e teve um papel importante no desenvolvimento de reações como, por exemplo, a reação de oscilação de Bray-liebhaskey. Inúmeros trabalhos publicados buscam determinar uma lei da velocidade da reação e propõem um mecanismo para esta. O primeiro trabalho publicado sobre a reação entre iodato-iodeto foi em 1904 por Dushman [23]. Em seu trabalho, Dushman estabelece a primeira lei de velocidade para a reação como:

$$v = [\text{IO}_3^-][\text{H}^+]^2 \{k [\text{I}^-]^2 + k' [\text{I}^-][\text{I}_3^-]\} \quad (2)$$

onde $k = 1.3 \times 10^9 \text{ M}^{-4} \cdot \text{s}^{-1}$ e $k' = 9.2 \times 10^8 \text{ M}^{-4} \cdot \text{s}^{-1}$. O autor estabelece as ordens totais de reação como quatro, cinco e seis em concentrações de iodeto menores do que $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

Em seu trabalho Barton e Wright, investigaram a reação de Dushman por método anperométrico direto através da quantificação do triiodeto e o efeito catalítico dos íons fosfatos e carboxilatos. As análises foram realizadas a temperatura ambiente e a força iônica mantida constante com o uso de eletrólito [24].

Schimitz em seu trabalho apresenta um novo estudo sobre a cinética da reação de Dushman e propõe um mecanismo para a catálise desta reação. Segundo o autor, em meio não tamponado a lei de velocidade para o iodeto é de segunda ordem em concentrações médias e altas deste, porém em concentrações muito baixas torna-se de primeira ordem. Em meio tamponado a lei de velocidade para o iodeto torna-se menor devido ao efeito catalisador do tampão [25].

Nakashima e *col.* apresentaram em estudo uma forma para determinação simultânea de periodato e iodato utilizando eletroforese capilar com detector UV-vis,

através da reação de complexação entre periodato e molibdato em meio ácido. De acordo com os autores a formação do complexo ocorre rapidamente e de maneira seletiva, ou seja, não há formação do complexo entre o molibdato e o iodato. As amostras foram analisadas em 220 nm. [26]

3. Objetivos

3.1. Objetivos Gerais

Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de glicerina livre em amostras de biodiesel utilizando espectrofotometria UV/VIS. Avaliação comparativa da metodologia desenvolvida neste estudo com a obtida por eletroforese capilar.

3.2. Objetivos Específicos

- Validação da metodologia analítica proposta quanto aos parâmetros de exatidão, efeito de matriz e linearidade.

- Comparação entre a nova metodologia com a metodologia publicada recentemente utilizando a EC apresentada por Gonçalves Filho e Micke [21].

4. Materiais e Métodos

4.1. Equipamentos

As análises foram realizadas em um equipamento de espectrofotometria UV/Vis modelo 800 xi (FEMTO, São Paulo, Brasil) de feixe simples. Foram utilizadas cubetas de quartzo com o caminho ótico igual a 1 cm.

4.2. Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados são de grau analítico. Glicerina, iodato de potássio, ácido periódico, iodeto de potássio, clorofórmio foram adquiridos da Synth (São Paulo, Brasil). Molibdato de sódio foi adquirido da Merck (São Paulo, Brasil). Água desionizada (Mili-Q, Milipore, Bedford, MA, E.U.A.) foi utilizada para o preparo das soluções. Soluções padrão estoque de periodato de sódio, glicerina, iodeto de potássio e molibdato de sódio foram preparadas com água desionizada e armazenadas sob refrigeração (4 °C). As soluções padrão de trabalho foram preparadas diariamente a partir da diluição das soluções estoque com água.

4.3. Preparo das amostras.

4.3.1. Extração da glicerina.

Apoiando-se no fato de que a glicerina é mais solúvel em água do que no biodiesel e que esse apresenta inúmeras propriedades que dificultariam as análises, fez-se uma lavagem do biodiesel com água para que a glicerina livre presente fosse transferida para a fase aquosa.

As amostras foram preparadas pesando-se 40 mg de biodiesel para cada 1500 µL de água. As amostras foram colocadas sob agitação durante alguns minutos para garantir uma extração mais eficiente. Após a agitação adicionou-se 250 µL de clorofórmio, apenas para que ocorresse uma inversão de fases e com isso fosse facilitada a remoção da fase aquosa.

4.3.2. Oxidação da glicerina e análise por espectroscopia UV-Vis

Em um eppendorf de 2 mL adicionou-se 500 μL da fase aquosa, 500 μL de água e 1000 μL de periodato (IO_4^-), em excesso, para a oxidação da glicerina.

Para análise no espectrofotômetro as amostras foram preparadas da seguinte forma: primeiro adicionou-se 300 μL de molibdato, 1100 μL de água e 500 μL da amostra oxidada, aguardou-se um minuto para que a reação entre molibdato e o periodato, que estava em excesso em relação a glicerina, ocorresse. Em seguida adicionou-se 600 μL de iodeto e a leitura em 352 nm foi realizada. As concentrações dos reagentes estão resumidas na Tabela 1.

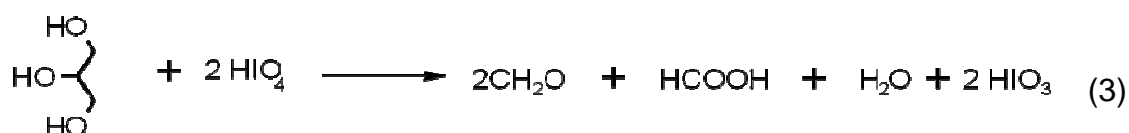
Tabela 1. Concentrações dos reagentes utilizados

Reagentes	[] inicial mol L ⁻¹	Volume adicionado(μL)
Periodato	$9,4 \times 10^{-4}$	1000
Molibdato	0,1	300
Tampão ácido fórmico/formiato	0,5/0,25	500
Iodeto	0,5	600
H ₂ O	*****	1100

5. Resultados e discussão

5.1. Determinação da glicerina.

Glicerina e periodato reagem rapidamente para gerar como produto formaldeído, ácido fórmico, água e iodato (Equação 3). Iodato reage com o iodeto para gerar o triiodeto, reação de Dushman, porém o periodato também reage com iodeto para também formar triiodeto então para que este não seja um interferente, buscou-se uma maneira de impedir esta reação, através da complexação do periodato com o molibdato, já que em meio ácido os dois reagem rapidamente para formar um complexo estável e o mesmo não ocorre entre o molibdato e o iodato. Baseando-se nessas reações desenvolveu-se uma metodologia para determinação da glicerina livre presente no biodiesel por espectrofotometria UV-Vis.



5.2. Estudo da reação entre iodato e iodeto.

Iodato e iodeto reagem rapidamente para formar o triiodeto, essa reação pode ser influenciada por diversos fatores, porém estudaremos apenas o efeito do pH e da concentração de iodeto.

5.2.1. Estudo do efeito do pH na reação

Como pode-se observar através da lei da velocidade de reação sugerida por Dushman em 1904 [19], a reação depende da concentração hidrogeniônica (Equação 4):

$$V = k[\text{IO}_3^-]^m [\text{I}^-]^n [\text{H}^+]^p \quad (4)$$

onde v é velocidade da reação, k é constante de velocidade e os expoentes m , n , p são as ordens parciais dos reagentes.

Para demonstrar a influência do pH na reação, um estudo foi realizado por espectrofotometria em um único comprimento de onda, 352 nm. Os pontos analisados foram preparados variando-se a concentração de iodato, a fim de simular sua formação pela reação de oxidação da glicerina (i), todos os pontos foram preparados em diferentes pHs e por fim adicionou-se uma quantidade fixa de iodeto. Após a adição do iodeto os pontos foram acompanhados em média por uma hora em intervalos de dez minutos. Com os dados obtidos foi possível obter retas com inclinações diferentes e plotando-se essas inclinações em função do tempo, (Figura 2), pode-se observar que a sensibilidade aumenta com a diminuição do pH do meio e que em pHs maiores a reação torna-se muito lenta a ponto de sua utilização não ser viável. Os dados obtidos confirmam o que Dushman sugeriu em seu artigo, que a reação entre iodato e iodeto é dependente do pH, quanto menor este for mais rapidamente a reação (Equação 5) ocorrerá.

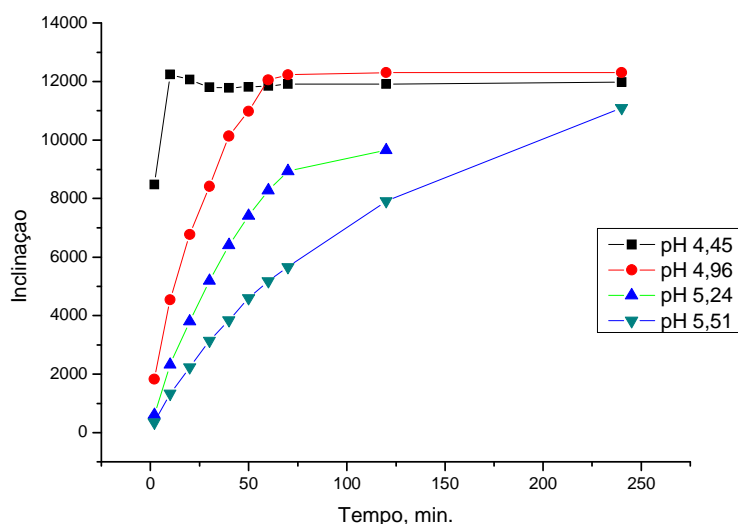
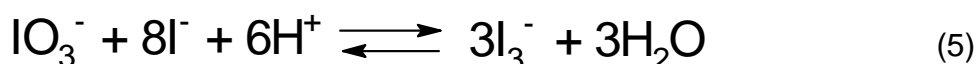
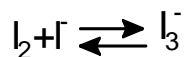


Figura 2. Influencia do pH na reação entre iodato e iodeto.

Quando o triiodeto é formado, por não ser estável, este entra em equilíbrio formando iodo e iodeto, Equação 6. Então para que ocorra um aumento da sua estabilidade o iodeto deve ser adicionado em excesso, pois o excesso deste

deslocaria o equilíbrio da reação, Equação 5, quase que totalmente para a direita favorecendo a formação do triiodeto.



(6)

5.2.2 Estudo da concentração do Iodeto.

Para a determinação da concentração de iodeto utilizada neste trabalho, um estudo simples e rápido foi realizado, seguindo o mesmo princípio dos estudos já realizados, manteve-se fixa as concentrações dos demais reagentes variando apenas a concentração do iodeto e acompanhando a formação do triiodeto em 352 nm. Levando em consideração a lei de Lambert-Beer, onde a absorvância é proporcional a concentração, observa-se através do gráfico da concentração *versus* absorvância, Figura 3, que concentrações de iodeto acima de 0,02 mol L⁻¹ já é suficiente para que o triiodeto formado seja estável, o que está de acordo com Schimitz [21] em que é utilizada uma relação de 16 vezes a concentração de iodato.

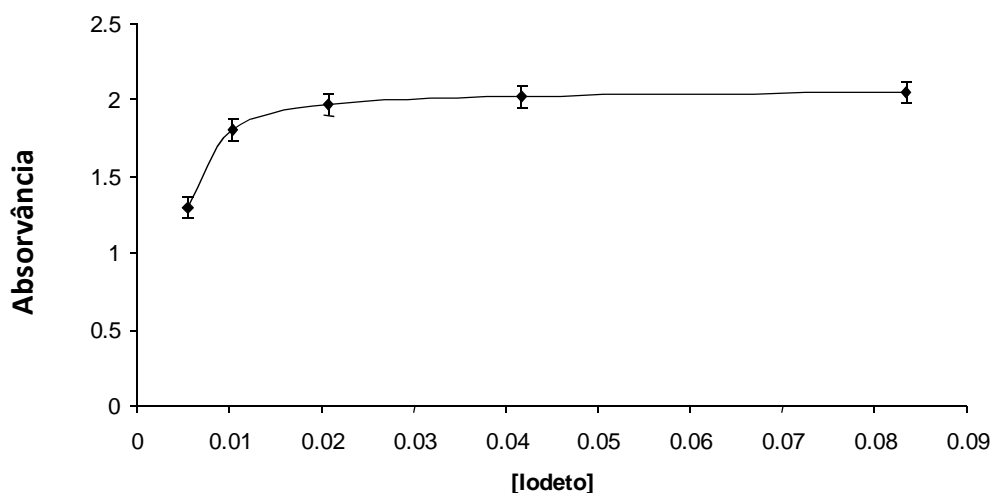


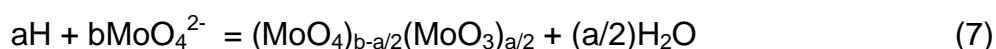
Figura 3. Variação da absorvância em função da concentração de iodeto.

5.3. Estudo da formação do complexo entre IO_4^- / Mo.

Para uma melhor compreensão da reação de complexação entre o periodato e o molibdato foram estudadas algumas características desta reação, tais como a especiação do molibdato no pH de trabalho, o pH ótimo de formação e estequiometria da reação .

5.3.1. Especiação do molibdato

Inúmeros estudos foram realizados com o intuito de compreender a complexa química do molibdato como, por exemplo, quando uma solução básica de molibdato é acidificada, os íons de molibdato se condensam nas mais diferentes formas para formar diferentes espécies do isopolimolibdato. O processo de condensação pode ser considerado uma rápida agregação das espécies protonadas. Prasad e col. [27] sugerem que o processo de condensação para os poliânions, pode ser representado pela Equação 7 a seguir :



Baseando-se no trabalho de Prasad e col. [27] realizou-se uma titulação potenciométrica do molibdato com ácido clorídrico a fim de se determinar a espécie predominante em pH menor que 4. Através da análise do gráfico apresentado na Figura 4 , onde se tem o pH em função do volume de HCl adicionado. A partir deste estudo observou-se um ponto de equivalência em 3 mL. Com isso foi possível encontrar o número de mols de H^+ necessários para neutralizar todo o molibdato. Como o número de mols utilizados do molibdato de sódio é conhecido, foi possível baseando-se na Equação 7, sugerir que o isopolimolibdato predominante em pH abaixo de 4 é um octomêro de fórmula molecular $[\text{Mo}_8\text{O}_{26}]^{4-}$. Para este caso os valores de a e b são de 12 e 8, respectivamente.

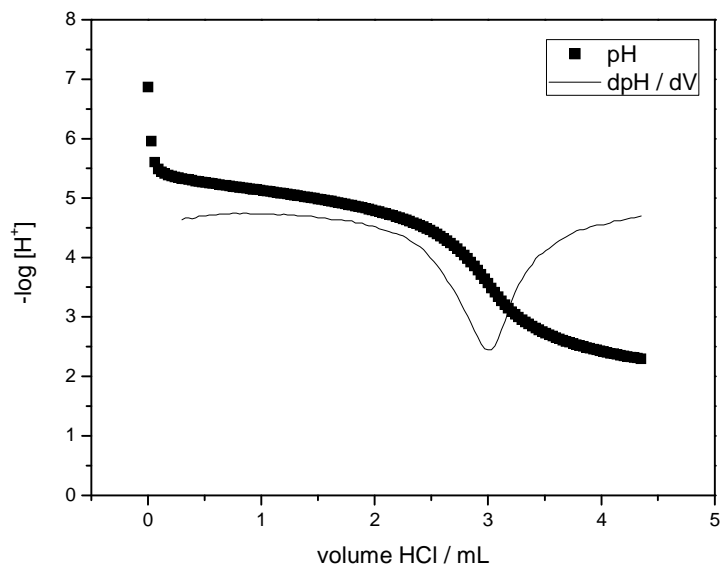


Figura 4. Titulação potenciométrica do MoO_4^{2-} com HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

5.3.2. Estudo da influencia do pH na formação do complexo.

Para a escolha do pH no qual a reação ocorre de maneira mais eficiente, realizou-se um estudo em que se manteve fixa as concentrações dos reagentes e, variou-se apenas o pH. As leituras foram realizadas em 280 nm, região na qual o complexo absorve sem interferência do molibdato ou periodato. Os resultados são mostrados na Figura 5.

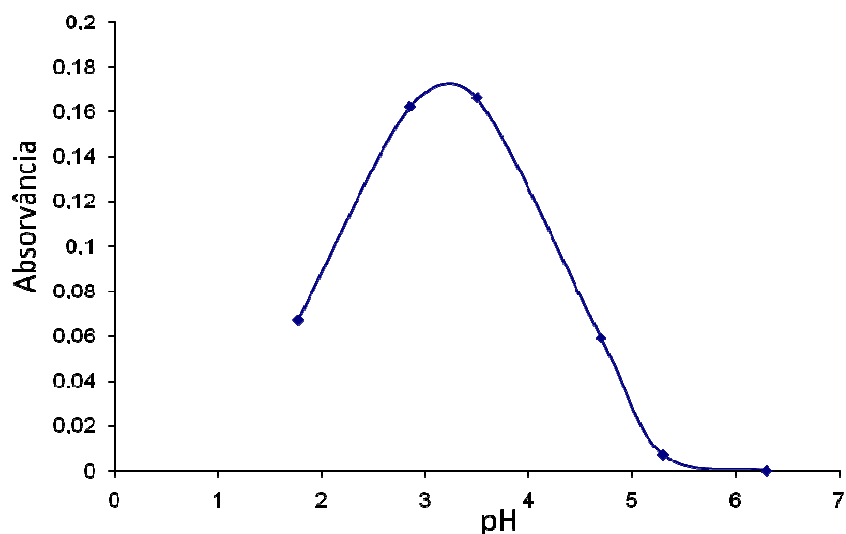


Figura 5: Estudo da formação do complexo em função do pH

Através dos dados obtidos, estabeleceu-se que a faixa ótima de pH para formação do complexo encontra-se entre 2,8 e 3,5. Portanto, o pH de trabalho escolhido foi 3,5.

5.3.3. Determinação da estequiometria do complexo.

Para a determinação da razão entre IO_4^-/Mo foi utilizado o método das variações contínuas (Gráfico de Job), sendo que são utilizadas as mesmas concentrações de periodato e molibdato variando-se apenas o volume destes, de tal maneira que o volume final e o número de mols total mantenham-se constantes. As amostras foram medidas no comprimento de onda adequado. Através da construção de um gráfico da absorvância *versus* fração volumétrica de um dos reagentes, foi possível obter a estequiometria do complexo, e através da comparação das curvaturas das linhas experimentais com as linhas retas teóricas é possível a obtenção da constante de formação.

As soluções de molibdato e periodato foram preparadas na concentração de $0,001 \text{ mol L}^{-1}$, os pontos da curvas foram preparados em tampão formiato/ácido fórmico, pH 3,5, e medidas em 280 nm. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 6.

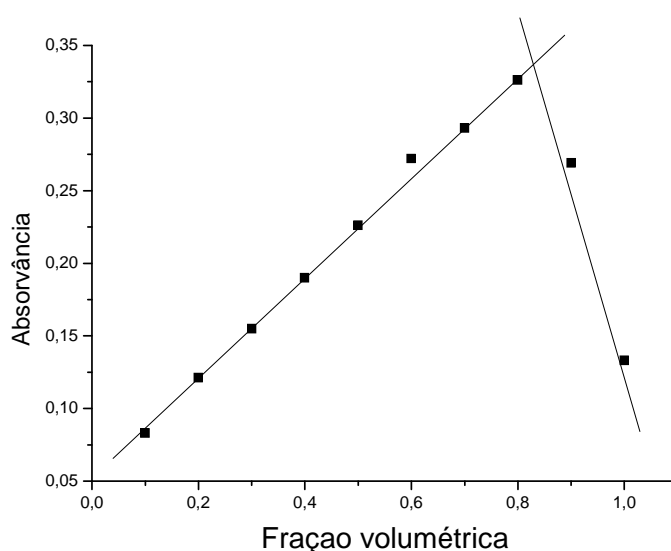
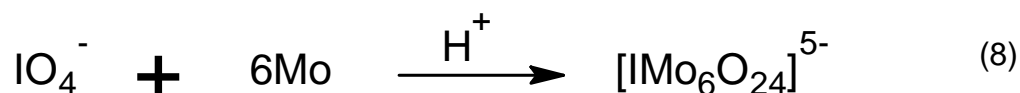


Figura 6. Gráfico de Job para determinação da estequiometria e da constante de formação do complexo periodato/molibdato.

Através do gráfico das absorvâncias medidas *versus* a fração volumétrica do molibdato, foi possível observar que o complexo formado possui uma alta estabilidade, e que molibdato e periodato reagem na proporção de 6:1, concordando então com a Equação 8:



5.4. Aplicação do método na determinação de glicerina livre em biodiesel

As amostras foram monitoradas através da determinação da concentração do triiodeto, este apresenta duas bandas na região do UV relativas a transferência de carga, uma em 288 nm e outra em 352 nm como mostra o espectro apresentado na Figura 7. O comprimento de onda de 352 nm foi utilizado para a determinação, pois nenhum dos reagentes utilizados apresentou bandas próximas desta região, evitando interferências.

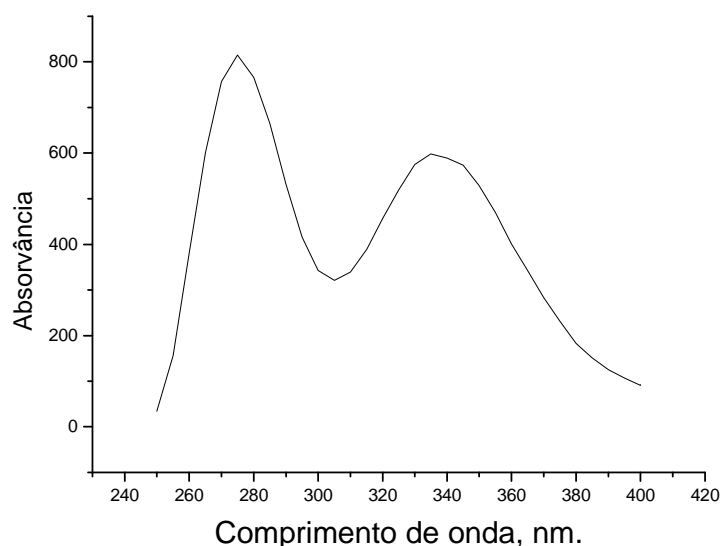


Figura 7. Espectro de absorvância do complexo triiodeto ($\epsilon = 2533 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) na concentração de $21 \mu\text{mol L}^{-1}$. Cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm.

5.4.1. Figuras de mérito da metodologia

Para a quantificação das amostras foi realizada uma curva de calibração com a concentração do periodato fixa e com concentrações crescentes de glicerina

obtendo-se uma resposta linear na faixa de $1,51 \times 10^{-6}$ a $9,05 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e com um R² de 0,9988. A Figura 8 apresenta a curva de calibração obtida com a metodologia otimizada.

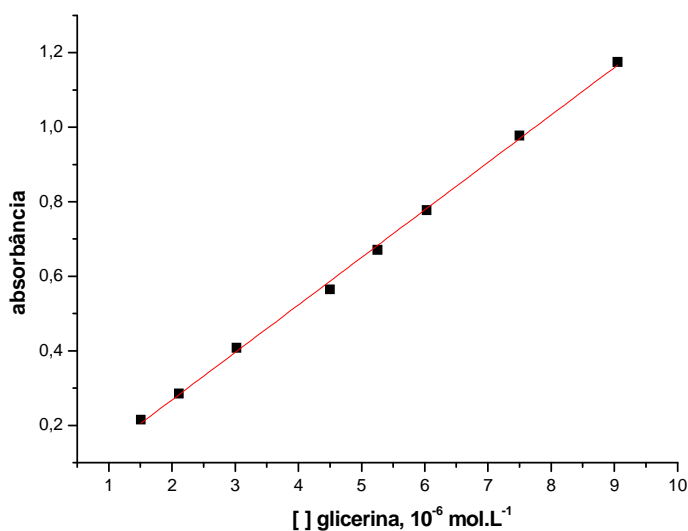


Figura 8: Curva de calibração para a metodologia proposta.

5.4.2. Efeito de matriz

Para verificar o efeito da matriz da amostra, foram construídas uma curva de adição de padrão e uma curva de calibração externa. A Figura 9 apresenta as curvas obtidas.

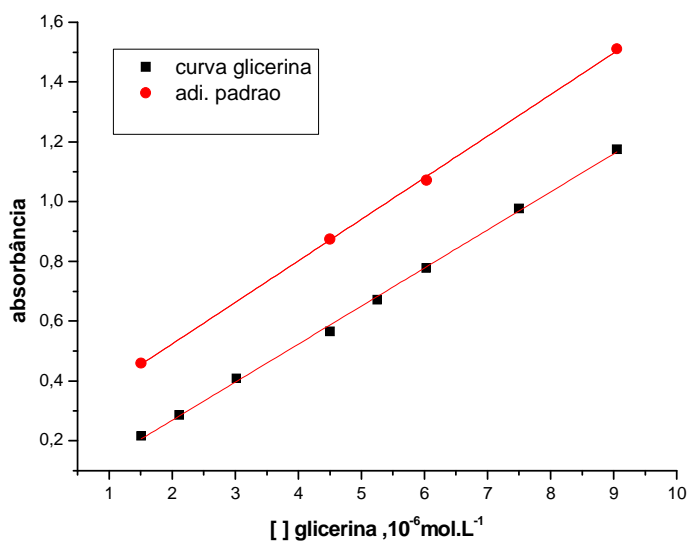


Figura 9: curvas de adição de padrão e calibração externa para avaliação do efeito de matriz.

É possível observar a partir dos resultados obtidos que a curva de adição de padrão apresenta inclinação semelhante à curva de calibração externa, o que demonstra que o método não apresenta efeito de matriz significativo.

Com o objetivo de demonstrar a validade do método desenvolvido alguns fatores foram avaliados tais como linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, interferência de matriz e exatidão. A linearidade é demonstrada pelo coeficiente de determinação (R^2) de 0,9988 (Tabela 2) que pela sua proximidade da unidade demonstra que o modelo linear explica as variações de y. Outro valor que demonstra a significância da regressão é o valor F de 4960,95 (Tabela 2) já que quanto maior for o valor deste mais significativa é a regressão.

Tabela 2. Figuras de mérito do método.

Linearidade –inclinação	0,127
Desvio padrão da inclinação	0,00181
Linearidade – interceptção	0,0136
Desvio padrão da Interceptção	0,00987
Linearidade- coeficiente de determinação	0,9988
F	4960
LOQ (mg L-1)	0,0713
LOD (mg L-1)	0,0213

O método apresentou um limite de detecção de 0,0213 mg L⁻¹ e limite de quantificação de 0,0713 mg L⁻¹. Os limites de detecção e de quantificação foram determinados através das equações 9 e 10 respectivamente.

$$LD = 3,33 \frac{s}{S} \quad (9)$$

$$LQ = 10 \frac{s}{S} \quad (10)$$

Onde s é a estimativa do desvio padrão da reta de calibração e S é o coeficiente angular da reta.

Para avaliação da exatidão do método foram analisadas cinco amostras de diferentes fontes de biodiesel e os dados obtidos comparados com os dados obtidos por eletroforese capilar. Analisando os dados da Tabela 3 podemos concluir que o método desenvolvido apresenta uma boa exatidão quando comparado com os dados obtidos por eletroforese capilar .

Tabela 3: Dados da quantificação da amostra.

Amostra	%UV-Vis	% EC
Óleo de soja	0,0043	0
Biodiesel de soja	0,026	0,02
Biodiesel de soja B	0,014	0,017
FRITURA A	0,033	0,027
FRITURA B	0,015	0,016

6 Conclusões

Comparando-se os dados obtidos por espectrofotometria UV/Vis com os obtidos por eletroforese capilar, podemos concluir que o método proposto é eficiente para quantificação de glicerina livre em amostras de biodiesel. E analisando os valores obtidos pode-se dizer que todas as amostras analisadas se encontram dentro dos valores estipulados pela ANP.

7. Referências Bibliográficas

1. BRUICE, Paula Y. Organic chemistry. 4th ed. California: Prentice Hall,. 1228 p, c2004.
2. LOBINSKI, R.; MARCZENKO, Z.; Recent Advances in Ultraviolet-Visible Spectrophotometry. Recent Advances in Ultraviolet-Visible Spectrophotometry **Crit. Rev. Anal. Chem.** 23, 55,1992.
3. Fonte de luz, detectores e monocromadores. Disponível em: <<http://www.ifi.unicamp.br/~accosta/roteiros/9/nota%2009.htm>>. Acesso em 06 Jun.2009
4. RAIMUNDO, I.M. PASQUINI, C. Espectrofotometria Multicanal e Arranjos de Fotodiodos. **Química Nova**, v. 20, p.83-88,1997.
5. Agência Nacional de Petróleo, Resolução **ANP nº 42**, (24 de novembro de 2004), retificada DOU (19 de abril de 2005) – ANEXO B.
6. BAILER, J., HUEBER, K., Determination of saponifiable glycerol in biodiesel. **Fraenius J. Anal Chem.**, Heidelberg, v. 340, n. 3, p. 186. mar 1991.
7. BONDIOLI, P., MARIANI C., LANZANI A., and FEDELI E., Vegetable Oil Derivatives as Diesel Fuel Substitutes. Analytical Aspects. Note 2: Determination of Free Glycerol, **Riv. Ital. Sostanze Grasse** 69:7–9 ,1992.
8. MITTELBAACH, M., ROTH G., and BERGMANN A., Simultaneous Gas Chromatographic Determination of Methanol and Free Glycerol in Biodiesel, — **Ibid.d.** 42:431–434 ,1996.
9. LOZANO, P., CHIRAT N., GRAILLE J., and PIOCH D., Measurement of Free Glycerol in Biofuels, **Fresenius J. Anal. Chem.** 354:319–322, 1996.
10. SALA, M., BONDIOLI, P. Caratterizzazione analitica del glicerolo. Considerazioni sperimentali **Riv. Ital. Sostanze Grasse** 75, 305,1998.
11. HÁJEK, M, SKOPAL, F., MACHEK J. Determination of free glycerol in biodiesel. **Eur. J.Lipid. Sci. Technol.**108,666–9, 2006.
12. FOGLIA TA, JONES KC, PHILIPS JG, MITTELBAACH M. Comparison of chromatographic methods for the determination of bound glycerol in biodiesel. **Chromatographia** 60, 305-311,2004.

13. CATHARINO R.R. e col. Biodiesel Typification and Quality Control by Direct Infusion Electrospray Ionization Mass Spectrometry Fingerprinting. **Energy Fuels**. 21, 3698, 2007.
14. BONDIOLI, P. & BELLA, L. D. An alternative spectrophotometric method for the determination of free glycerol in biodiesel. **Eur. J. Sc. Technol.**, v. 107, p. 153-157, 2005.
15. LOUZEIRO, H. C. ; SILVA, F.C MOUZINHO, A. M. C. ; NASCIMENTO, A. A. ; SOUZA, A. G. ; CONCEIÇÃO, M. M. Determinação do Teor de Glicerina Livre em Biodiesel por Espectrofotometria do UV-Visível. In: 1º Congresso da rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 2006. **Artigos técnico-científicos**, v. 1. p. 286-290, 2006.
16. LOURENÇO, L.M. STRADIOTTO, N.R. Determination of free glycerol in biodiesel at a platinum oxide surface using potential cycling technique. **Talanta** 79, 92–96, 2009.
17. NAVIGLIO, D. ROMANO, R. PIZZOLONGO, F. SANTINNI, A. DE VITO, A. et al. Rapid determination of esterified glycerol and glycerides in triglyceride fats and oils by means of periodate method after transesterification. **Food Chemistry**. v102, p399–405, 2007.
18. PINZI, S. CAPOTE, F.P. JIMÉNEZ, R.J. DORADO, M.P. CASTRO, M.D.L. Flow injection analysis-based methodology for automatic on-line monitoring and quality control for biodiesel production. **Bioresource Technology**. v100, p421–427, 2009.
19. DARNOKO D, CHERYAN M, PERKINS EG. Analysis of vegetable oil transesterification products by gel permeation chromatography. **J Liq Chrom Rel Technol**; v23(15), p2327-35, 2000.
20. FILLIERES, R. MLAYAH B.B, Delmas M. Ethanolysis of rapeseed oil: quantitation of ethyl esters, mono-, di-, and triglycerides and glycerol by high performance size-exclusion chromatography. **J Am Oil Chem Soc**; v72(4), p 427-32. 1995
21. GONÇALVES FILHO, L.C., MICKE, G.A., **J. Chromatogr. A** 1154 (2007) 477.
22. VLESSIDIS, A.G., EVMIRIDS, N.P., Periodate oxidation and its contribution to instrumental methods of micro-analysis—A review, **Analytica Chimica Acta** 652 (2009) 85–127.
23. DUSHMAN, S., The rate of the reaction between iodic and hidriodic acids. **J. Phys. Chem.**, 1904, 8, 453.
24. BARTON, A. F. M., e WRIGHT, G. A., Kinetics of the Iodate-Iodide Reaction : Catalysis by Carboxylate and Phosphate Ions, **J. Chem. Soc. (A)**, 2096-2103, 1968.
25. SCHIMITZ, G., Kinetics and mechanism of the iodate/iodide reaction and other

related reactions, **Phys. Chem. Chem. Phys.**, 1999, 1, 1909-1914.

26. NAKASHIMA, Y., SHEN, H., KUSYAMA, K., Simultaneous Determination of Periodate and Iodate by Capillary Electrophoresis, **Analytical Science**, v15, p 725-728.1999.

27. PRASAD, S. LEITE, V.D., SANTANA, R.A.C. e BRITO, J.B.Eletrometric Ivenstigations on formation of lanthanum molybdates as a function of pH.**J.Braz.Chem.Soc.**, Vol.15 No. 2,246-252,2004.