

# **UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**

Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação

## **Desenvolvimento de método analítico para determinação de metais por técnicas de Espectrometria Atômica em amostras de glicerina**

**Caroline Dutra Clasen**

Pelotas, 2014.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação

**Desenvolvimento de método analítico para determinação  
de metais por técnicas de Espectrometria Atômica em  
amostras de glicerina**

Caroline Dutra Clasen

Pelotas, julho de 2014.

Caroline Dutra Clasen

Desenvolvimento de método analítico para determinação de metais por técnicas de Espectrometria Atômica em amostras de glicerina

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. (Área de concentração: Química Analítica).

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mariana Antunes Vieira  
Co-orientador: Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro

Pelotas, 2014.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

C583d Clasen, Caroline Dutra

Desenvolvimento de método analítico para determinação de metais por técnicas de espectrometria atômica em amostras de glicerina / Caroline Dutra Clasen ; Mariana Antunes Vieira, orientadora ; Anderson Schwingel Ribeiro, coorientador. — Pelotas, 2014.

79 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

1. Glicerina. 2. Métodos de solubilização. 3. Espectrometria atômica. 4. Metais. I. Vieira, Mariana Antunes, orient. II. Ribeiro, Anderson Schwingel, coorient. III. Título.

CDD : 540

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

A dissertação de mestrado intitulada “**Desenvolvimento de método analítico para determinação de metais por técnicas de Espectrometria Atômica em amostras de glicerina**” de autoria de Caroline Dutra Clasen foi julgada adequada para obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

**Banca examinadora:**

.....  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mariana Antunes Vieira (Orientadora)

.....  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daiane Dias (FURG)

.....  
Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi (UFPel)

*Dedico este trabalho aos presentes  
de Deus pra minha vida: meus pais  
José Cristovão e Adriana, meu  
esposo Tiago e meus irmãos  
Rodrigo e Felipe.*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, pois nada seria possível se Ele não estivesse em primeiro lugar cuidando de cada detalhe.

Ao meu pai pelo apoio incondicional, por ser um exemplo de vida, de dedicação e por sempre me guiar pelo caminho do bem.

À minha mãe que durante a sua vida foi um exemplo de fé e perseverança, me ensinando assim, que com Deus eu posso superar todas as dificuldades.

Ao meu amado esposo Tiago que sempre me apoiou, me deu força e me incentivou a continuar quando era necessário. E principalmente obrigada pelo seu amor e paciência vivendo intensamente a construção deste trabalho e alegrando cada dia da minha vida!

Aos meus irmãos Rodrigo e Felipe pelo companheirismo, amizade e carinho que sempre me proporcionaram.

Às minhas avós que me apoiaram muito durante todo o caminho que percorri até chegar aqui. Muito obrigada, sem vocês não seria possível!

Às minhas queridas amigas que a vida me presenteou e que torceram pela minha vitória: Daiane, Bruna, Amanda, Natália, Luiza, Mariana e Pâmela.

À minha orientadora Mariana Antunes Vieira pela orientação, pelos ensinamentos transmitidos, pela confiança, amizade e por ter acreditado no meu trabalho.

Ao meu co-orientador Anderson Schwingel Ribeiro primeiramente pelo convite para participar do grupo LabMeQui na Iniciação Científica, que foi uma das motivações para esta nova etapa, pelos ensinamentos e pelo espaço concedido para realização deste trabalho.

À minha colega e amiga Meibel por todos os ensinamentos desde a iniciação científica até hoje e principalmente pela amizade e companheirismo que foram fundamentais para que eu pudesse chegar até aqui.

À minha colega Ane que chegou e em pouco tempo se tornou uma amiga muito especial. Nossos estudos juntamente com muita conversa foram muito importantes nesta trajetória e com certeza nossa amizade foi uma das coisas mais valiosas que adquiri durante este tempo.

À minha colega Camila Oliz pela amizade, pelos momentos de alegria e descontração, que tornaram meus dias de trabalho mais leves e agradáveis.

Ao meu colega Marcelo pela amizade, companheirismo e pelas muitas caronas que me livraram do ônibus mega lotado do campus.

À minha colega Aline Medina pela amizade, pelas ajudas com a estatística e pelos ensinamentos transmitidos.

Aos colegas Richard, Ana Clara e Eliete pela amizade e pela parceria para os momentos de descontração.

À colega do laboratório Lasir Lara Montenegro pelas muitas risadas que tornaram esta jornada muito mais alegre.

À CAPES e CNPq pelo suporte financeiro e bolsas concedidas.

À L'OREAL BRASIL pelo suporte financeiro para execução deste projeto concedido através do Prêmio "Para Mulheres na Ciência 2011".

Às indústrias BS BIOS (Passo Fundo) e Bianchini SA (Canoas) pelo fornecimento das amostras de glicerina.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.  
Muito Obrigada!



*“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo  
o propósito debaixo do céu.*

*Há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de plantar,  
e tempo de arrancar o que se plantou.”*

*(Eclesiastes 3:1-2)*

## RESUMO

CLASEN, Caroline Dutra. **Desenvolvimento de método analítico para determinação de metais por técnicas de Espectrometria Atômica em amostras de glicerina** 2014. 79f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Dentre os coprodutos oriundos do processo de produção do biodiesel, a glicerina merece atenção especial, devido ao seu elevado volume que é produzido durante o processo. No entanto, esta glicerina pode apresentar impurezas orgânicas (ácidos graxos e álcool) e inorgânicas (metais que são oriundos dos catalisadores utilizados no processo de produção do biodiesel). Estas impurezas podem inviabilizar o uso da glicerina na indústria de cosméticos, farmacêutica e também na de alimentos. Visando aprimorar o monitoramento da qualidade da glicerina bruta oriunda da produção do biodiesel, através do emprego de um método simples, rápido e de baixo custo, neste trabalho foram desenvolvidos métodos analíticos para determinação de metais como Ca, Mg e K em amostras de glicerina bruta por técnicas de Espectrometria Atômica. O método proposto para determinação de Ca, Mg e K consistiu na solubilização de 1g de amostra, em água, até um volume final de 50 mL, foram desenvolvidos também dois métodos para comparação. Sendo uma solubilização de 0,5 g de amostra em uma solução contendo 34% de ácido fórmico e volume final de 10 mL, para determinação de Ca e Mg e uma solubilização de 0,5 g de amostra em etanol até um volume final de 10 mL, para determinação de K. Os resultados obtidos com a solubilização em água, foram concordantes com a solubilização com ácido fórmico para Ca e Mg e com a solubilização com etanol para K. Os limites de detecção alcançados para Ca, Mg e K pelo método usando a solubilização em água foram de 0,315; 0,059 e 0,157 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. As curvas de calibração foram preparadas de acordo com cada método proposto e apresentaram boa linearidade. Para avaliar a exatidão, ensaios de recuperação foram realizados com ambos os métodos usados e as recuperações variaram entre 90 a 115%, com valores de desvio-padrão relativo menores que 8%, indicando a boa exatidão e precisão das medidas. Quatro amostras de glicerina bruta de plantas de biodiesel do estado do RS foram analisadas após o tratamento com os diferentes

métodos de preparo de amostras e os resultados de concentração de Ca, Mg e K obtidos foram concordantes entre si. Desta forma, conclui-se que a solubilização em água se enquadra como um novo método de preparo de amostras simples e eficiente para determinação de metais em glicerina.

**Palavras-chave:** Glicerina. Métodos de solubilização. Espectrometria Atômica. Metais.

## ABSTRACT

CLASEN, Caroline Dutra. **Development of analytical method for the determination of metals by Atomic Spectrometry techniques in glycerin samples.** 2014. 79f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Among the by-products originating from the production of biodiesel, the glycerin deserves special attention due to their high volume that is produced during the process. However, this by-product may have organic impurities (alcohol and fatty acids) and inorganic (metals which are derived from the catalysts used in the production of biodiesel). These impurities can difficult the use of crude glycerin in cosmetic, pharmaceutical and also in food industry. In order to improve the quality monitoring from crude glycerin from biodiesel production, in this work were developed simple, rapid and low cost methods for determination of metals such as Ca, Mg and K in samples of crude glycerin using Atomic Spectrometry techniques. The proposed method for determination of Ca, Mg and K consisted of solubilization 1 g of sample in water for a volume final of 50 mL. Two methods for comparison have also been developed: solubilization of 0.5 g sample in a solution containing 34% formic acid for a volume final of 10 mL for determination of Ca and Mg and solubilization of 0.5 g of sample in ethanol for a volume final of 10 mL for the determination of K. The results obtained with the solubilization in water were in agreement with those obtained solubilization with formic acid for Ca and Mg and solubilization with ethanol for K. Therefore, it is concluded that the solubilization in water is a simple and viable method for glycerin sample preparation. The values of limits of detection for Ca, K, Mg using the solubilization in water were 0.315; 0.059 and 0.157 mg kg, respectively. Calibration curves were prepared according to each proposed method and showed good linearity. To evaluate the accuracy, recovery assays were performed with both the methods and the recoveries ranged from 90-115%, with values of relative standard deviation less than 8%, indicating good accuracy of the measure. Four crude glycerin samples obtained from biodiesel plants of RS were analyzed after treatment with the different methods of sample preparation and the obtained results of concentration of Ca, Mg and K were in agreement with the found values. Thus, it is possible to conclude that the solubility in water is a new,

simple and efficient method for sample preparation and determination of metals in glycerin.

**Keywords:** Glycerin. Methods of solubilization. Atomic Spectrometry. Metals.

## LISTA DE FIGURAS

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Figura 1</b>  | Modelo ilustrativo da reação geral de transesterificação.....  | 23 |
| <b>Figura 2</b>  | Etapas da reação de transesterificação.....  | 23 |
| <b>Figura 3</b>  | Processo de produção e separação do biodiesel e do coproduto glicerina.....  | 24 |
| <b>Figura 4</b>  | Estrutura química do glicerol.....   | 25 |
| <b>Figura 5</b>  | Principais setores industriais de utilização da glicerina.....   | 27 |
| <b>Figura 6</b>  | Imagem ilustrativa das tradicionais e novas aplicações da glicerina  | 29 |
| <b>Figura 7</b>  | Ilustração de uma sequência analítica.....   | 32 |
| <b>Figura 8</b>  | Diagrama de blocos de um espectrômetro de absorção atômica.....  | 34 |
| <b>Figura 9</b>  | Amostras de glicerina bruta após solubilização em água.....  | 40 |
| <b>Figura 10</b> | Glicerina bruta após solubilização em ácido fórmico.....   | 41 |
| <b>Figura 11</b> | Glicerina bruta após solubilização em etanol.....  | 42 |
| <b>Figura 12</b> | Fluxograma dos procedimentos desenvolvidos.....  | 43 |
| <b>Figura 13</b> | Sinal analítico de Ca, Mg e K em (—■—) Glicerina bruta <b>A</b> solubilizada em água contendo 0,75 mg L <sup>-1</sup> de Ca; 0,3 mg L <sup>-1</sup> de Mg e 0,6 mg L <sup>-1</sup> de K; em (—●—) Padrão aquoso contendo 0,75 mg L <sup>-1</sup> de Ca; 0,3 mg L <sup>-1</sup> de Mg e 0,6 mg L <sup>-1</sup> de K; em diferentes concentrações do tampão de ionização LaCl <sub>3</sub> ..... | 47 |

- Figura 14** Curvas de adição de Ca, Mg e K obtidas para as diferentes amostras de glicerina: **1** (●) , **2** (▲), **A** (▼), **B** (◆) e **D** (◀) após a solubilização em água e a curva obtida com calibração externa (■)... 50
- Figura 15** Efeito da estabilidade no sinal analítico de Ca, Mg e K; em (—■—) Glicerina bruta **A** solubilizada em água contendo 0,75 mg L<sup>-1</sup> de Ca; 0,3 mg L<sup>-1</sup> de Mg e 0,6mg L<sup>-1</sup> de K; em (—●—) Padrão aquoso contendo 0,75 mg L<sup>-1</sup> de Ca; 0,3 mg L<sup>-1</sup> de Mg e 0,6 mg L<sup>-1</sup> de K..... 52
- Figura 16** Efeito da concentração de ácido fórmico no sinal de absorvância de Ca e Mg (—■—) Glicerina bruta **A** contendo 0,75 mg L<sup>-1</sup> de Ca e 0,3 mg L<sup>-1</sup> de Mg e (—●—) Padrão aquoso contendo 0,75 mg L<sup>-1</sup> de Ca e 0,3 mg L<sup>-1</sup> de Mg..... 54
- Figura 17** Sinal analítico de Ca e Mg em (—■—) Glicerina bruta **A** solubilizada em ácido fórmico contendo 0,75 mg L<sup>-1</sup> de Ca e 0,3 mg L<sup>-1</sup> de Mg em (—●—) Padrão aquoso contendo 0,75 mg L<sup>-1</sup> de Ca e 0,3 mg L<sup>-1</sup> de Mg; em diferentes concentrações do tampão de ionização LaCl<sub>3</sub>. ..... 55
- Figura 18** Curvas de adição de Ca e Mg obtidas para as diferentes amostras de glicerina: **1** (●) , **2** (▲), **A** (▼), **B** (◆) e **D** (◀) após a solubilização em ácido fórmico e a curva obtida com calibração externa (■) ..... 57
- Figura 19** Efeito da estabilidade no sinal analítico de Ca e Mg em (—■—) Glicerina bruta **A** solubilizada em ácido fórmico contendo 0,75 mg L<sup>-1</sup> de Ca e 0,3 mg L<sup>-1</sup> de Mg em (—●—) Padrão aquoso contendo 0,75 mg L<sup>-1</sup> de Ca e 0,3 mg L<sup>-1</sup> de Mg..... 58
- Figura 20** Sinal analítico de K em (—■—) Glicerina bruta **A** solubilizada em etanol contendo 0,6 mg L<sup>-1</sup> de K em (—●—) Solução padrão contendo 0,6 mg L<sup>-1</sup> de K; em diferentes concentrações do tampão de ionização LaCl<sub>3</sub>..... 59

**Figura 21** Curvas de adição de K obtidas para as diferentes amostras de glicerina: **1** (●) , **2** (▲), **A** (▼), **B** (◆) e **D** (◀) após a solubilização em etanol e a curva obtida com calibração externa (■) ..... 61

**Figura 22** Efeito da estabilidade no sinal analítico de K em (—■—) Glicerina bruta **A** solubilizada em etanol contendo 0,6 mg L<sup>-1</sup> de K em (—●—) Solução padrão contendo 0,6 mg L<sup>-1</sup> de K. .... 62



## LISTA DE TABELAS

|                 |  |    |
|-----------------|--|----|
| <b>Tabela 1</b> | Propriedades físico-químicas do glicerol a 20 °C.....  | 26 |
| <b>Tabela 2</b> | Glicerina gerada na produção de biodiesel (B100), segundo grandes regiões e unidades da Federação – 2005-2012.....   | 28 |
| <b>Tabela 3</b> | Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de Ca, Mg e K.....   | 38 |
| <b>Tabela 4</b> | Valores das inclinações das curvas de adição em amostras de glicerina bruta e purificada, obtidas para Ca e Mg por F AAS e K por F AES utilizando o procedimento com solubilização em água e calibração externa..... | 49 |
| <b>Tabela 5</b> | Valores das inclinações das curvas de adição em amostras de glicerina bruta e purificadas, obtidas para Ca e Mg por FAAS utilizando o procedimento com solubilização em ácido fórmico e calibração externa.....      | 56 |
| <b>Tabela 6</b> | Valores das inclinações das curvas de adição em amostras de glicerina bruta e purificada, obtidas para K por FAES utilizando o procedimento com solubilização em etanol e calibração externa.....                    | 60 |
| <b>Tabela 7</b> | Parâmetros de mérito para as análises de amostras de glicerina por técnicas de espectrometria atômica.....   | 63 |
| <b>Tabela 8</b> | Concentrações medidas de Ca e Mg por F AAS e K por F AES ( $\text{mg L}^{-1} \pm \text{SD}$ , $n=3$ ) em amostras de glicerina bruta e purificada.....   | 65 |
| <b>Tabela 9</b> | Concentrações ( $\text{mg kg}^{-1} \pm \text{SD}$ ) de Ca, Mg e K obtidas em amostras de glicerina bruta ( $n=5$ ) utilizando os três métodos.....   | 66 |

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Tabela 10</b> | Concentração ( $\text{mg kg}^{-1} \pm \text{SD}$ ) de Mg obtida em amostras de glicerina bruta (n=5) utilizando a solubilização em água e solubilização em etanol..... | 77 |
|------------------|--|----|

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|       |   |
|-------|---|
| AAS   | Espectrometria de Absorção Atômica (do inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i> ).                      |
| ANP   | Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis   |
| CNP   | Conselho Nacional de Política Energética  |
| F AAS | Espectrometria de Absorção Atômica com Chama Chama (do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> ) |
| F AES | Espectrometria de Emissão Atômica com Chama Chama (do inglês <i>Flame Atomic Emission Spectrometry</i> )    |
| LD    | Limite de Detecção  |
| LQ    | Limite de Quantificação   |
| MAPA  | Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento  |
| PP    | Polipropileno   |
| RSD   | Desvio Padrão Relativo (do inglês <i>Relative Standard Deviation</i> )                                      |
| R     | Coeficiente de correlação linear  |
| SD    | Desvio Padrão (do inglês <i>Standart Deviation</i> )  |

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO.....   | 19 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....                                      | 22 |
| 2.1 Obtenção da glicerina.....                                    | 22 |
| 2.2 Produção do biodiesel e glicerina.....                        | 22 |
| 2.3 Características gerais.....                                   | 25 |
| 2.4 Propriedades físico-químicas.....                             | 25 |
| 2.5 Aplicações da glicerina.....                                  | 26 |
| 2.5.1 Novas utilidades para a glicerina.....                      | 28 |
| 2.6 Origem de metais na glicerina.....                            | 30 |
| 2.7 Determinação de metais em glicerina.....                      | 31 |
| 2.7.1 Preparo da amostra.....                                     | 31 |
| 2.7.2 Espectrometria de Absorção Atômica (AAS).....               | 33 |
| 2.7.2.1 Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS)..... | 34 |
| 2.7.2.2 Espectrometria de Emissão Atômica com Chama (F AES).....  | 35 |
| 2.7.2.3 Interferências.....                                       | 35 |
| 3 OBJETIVOS.....  | 37 |
| 3.1 Geral.....  | 37 |
| 3.2 Específicos.....  | 37 |
| 4 PARTE EXPERIMENTAL.....   | 38 |
| 4.1 Instrumentação.....   | 38 |
| 4.2 Materiais e Reagentes.....                                    | 38 |
| 4.3 Amostras.....   | 39 |
| 4.4 Preparo das amostras.....                                     | 39 |
| 4.4.1 Solubilização em água.....                                  | 39 |
| 4.4.2 Solubilização em ácido fórmico.....                         | 40 |

|  |    |
|--|----|
| 4.4.3 Solubilização em etanol.....                       | 41 |
| 4.5 Comparação entre métodos.....                        | 43 |
| 4.6 Limite de detecção e quantificação.....              | 44 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....                           | 46 |
| 5.1 Solubilização em água.....                           | 46 |
| 5.1.1 Efeito da concentração do tampão de ionização..... | 46 |
| 5.1.2 Influência da matriz.....                          | 48 |
| 5.1.3 Estabilidade dos analitos.....                     | 51 |
| 5.2 Solubilização em ácido fórmico.....                  | 53 |
| 5.2.1 Efeito da concentração de ácido fórmico.....       | 53 |
| 5.2.2 Efeito da concentração do tampão de ionização..... | 54 |
| 5.2.3 Influência da matriz.....                          | 55 |
| 5.2.4 Estabilidade dos analitos.....                     | 57 |
| 5.3 Solubilização em etanol.....                         | 58 |
| 5.3.1 Efeito da concentração do tampão de ionização..... | 58 |
| 5.3.2 Influência da matriz.....                          | 59 |
| 5.3.3 Estabilidade do analito.....                       | 61 |
| 5.4 Parâmetros de mérito.....                            | 62 |
| 5.5 Verificação da exatidão.....                         | 64 |
| 5.5.1 Ensaios de recuperação.....                        | 64 |
| 5.5.2 Aplicação analítica.....                           | 66 |
| 6 CONCLUSÕES.....  | 68 |
| 7 REFERÊNCIAS.....                                       | 69 |
| ANEXO A.....   | 77 |

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a principal forma de obtenção de energia se dá por meio da combustão de derivados do petróleo, carvão e gás natural. Com o esgotamento das fontes naturais de energia, especialmente a energia fóssil que não é renovável e que possui utilização bastante abrangente, desde os combustíveis automotivos, produtos químicos até o plástico, houve um grande interesse em desenvolver tecnologias que permitam utilizar fontes de energia renováveis e ecologicamente corretas.<sup>1</sup>

A utilização de biodiesel como combustível tem se destacado, visto que ele tem apresentado um potencial promissor no mundo inteiro como fonte de energia renovável.<sup>2</sup> Este biocombustível pode ser utilizado como substituto do óleo diesel convencional, porém possui características diferentes. Por ser biodegradável, não tóxico e apresentar baixa emissão de poluentes, recebe o título de “combustível ecológico”.<sup>3</sup>

Geralmente, o processo mais utilizado para a produção de biodiesel envolve a transesterificação de ácidos graxos presentes em óleos ou gorduras em meio alcoólico, originando ésteres e glicerina. Um catalisador é utilizado para aumentar a velocidade da reação e o seu rendimento.<sup>4, 5</sup> A estequiometria geralmente consiste em 3 mols de álcool para 1 mol de triglicerídeo, mas na prática um excesso de álcool é utilizado para aumentar o rendimento na formação de ésteres. Outros fatores responsáveis pelo rendimento são: temperatura de reação, tipo e concentração do catalisador.<sup>6</sup>

A Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, estabeleceu a obrigatoriedade da adição de um percentual mínimo de biodiesel ao óleo diesel comercializado no Brasil, iniciando com um percentual de 2% em volume a partir de 2008.<sup>7</sup> Em 2010, conforme a Resolução do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) nº 6 de 2009 o biodiesel passou a ser adicionado ao óleo diesel na proporção de 5%.<sup>8</sup> Devido a esta determinação, houve um aumento na produção de biodiesel e consequentemente, um aumento na oferta de glicerina, já que cerca de 10% do produto formado na reação de obtenção deste biocombustível é glicerina.<sup>2</sup> Os fornecedores de biodiesel já buscam um novo aumento neste valor de adição, que passará a 7%. Diante disso, é necessário que as indústrias tornem a glicerina bruta um produto que possa ser utilizado em outros setores industriais com o objetivo de

superar a oferta, que já é maior do que sua demanda, além de contribuir com a sustentabilidade.<sup>9</sup>

A glicerina pode ser utilizada em diversos setores industriais, e o seu uso na indústria de cosméticos, medicamentos e alimentos tem crescido nos últimos anos. No entanto, a sua utilização nesses setores industriais é condicionada ao seu grau de pureza, que deve estar usualmente acima de 95%. Além disso, a glicerina bruta é cotada com valores cerca de três vezes menor que a glicerina bidestilada e em média 500 vezes inferior à glicerina farmacêutica, as quais apresentam maior grau de pureza.<sup>10, 11</sup>

Devido a estes fatos, aplicações da glicerina com menor grau de pureza têm sido estudadas, de forma a agregar valor a esta matéria prima disponível em grande quantidade. Entre as várias aplicações que têm sido buscadas, está a produção de éteres de glicerina que ao serem adicionados ao óleo diesel podem melhorar a eficiência da combustão, assim como reduzir emissões de fuligem, gases poluentes, óxidos de carbono e compostos carbonílicos. Também é estimado, que assim como o etanol mostrou-se um excelente aditivo oxigenado para a gasolina e um excelente combustível, os éteres de glicerina possam não somente incorporar misturas com o óleo diesel, como também serem utilizados puros na forma de combustíveis de segunda geração.<sup>12</sup> A produção de biogás e etanol através de vias biotecnológicas também tem sido alvo de pesquisas, assim como o uso em ração animal devido ao seu alto valor energético.<sup>13</sup>

As principais impurezas presentes na glicerina bruta são incorporadas durante o processo de produção do biodiesel ou originadas dos catalisadores, álcool e ácidos graxos empregados. No entanto, a concentração e o tipo de impureza dependem da natureza da oleaginosa e do tipo de catálise empregada no preparo do biodiesel.<sup>14, 15</sup>

Os contaminantes inorgânicos são um dos principais fatores que podem influenciar em todo o processo produtivo do biodiesel, principalmente na qualidade do produto final e, conseqüentemente, do coproduto glicerina que absorve grande parte dessa contaminação.<sup>16</sup> Desta forma, a quantificação de elementos como os metais, que possam interferir na qualidade dos produtos que contém a glicerina, é de fundamental importância. Como no caso dos aditivos para combustíveis, a presença de metais causa influência no desempenho durante a combustão. Já em

rações animais quando em concentrações acima do estabelecido por órgãos regulamentadores os metais podem ser prejudiciais a saúde dos animais.

O desenvolvimento de métodos para a determinação de elementos em matrizes complexas, como a glicerina, é uma difícil tarefa, por apresentarem em sua composição uma mistura de compostos orgânicos e inorgânicos, que fazem com que seja necessária uma maior atenção na escolha do tratamento empregado na amostra em função das características da matriz e do analito, como também as condições de análise empregadas que incluem, principalmente, a técnica e instrumentação disponíveis no local de trabalho. Dependendo do preparo utilizado e da técnica escolhida podem ocorrer interferências que precisam ser corrigidas, isto porque um método analítico deve proporcionar sensibilidade e precisão adequadas para o controle de qualidade do produto e garantir resultados confiáveis.

Os métodos analíticos baseados na técnica de espectrometria de absorção atômica (AAS) têm sido desenvolvidos para a determinação de elementos metálicos. Sendo assim, a utilização de diferentes procedimentos de preparo de amostras, tais como diluições com diferentes solventes como água, ácido fórmico e etanol, podem ser boas alternativas principalmente para a análise inorgânica da glicerina.

Assim sendo, o presente trabalho tem como proposta desenvolver novos métodos analíticos para análise inorgânica da glicerina, que forneçam resultados precisos e exatos e facilitem o controle de qualidade do produto, utilizando espectrometria atômica.



## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Obtenção da glicerina**

A glicerina produzida no mundo, até 1949, era proveniente da saponificação de óleos ou gorduras utilizando lixívias alcalinas, sendo obtida como subproduto na indústria de sabões. No entanto, esse processo não tem sido mais utilizado a nível industrial devido à substituição do sabão por detergentes. Desta forma, a glicerina passou a ser obtida por via química ou fermentativa.<sup>17</sup> Uma forma é a partir da cloração de derivados do petróleo a altas temperaturas, mas devido à formação de produtos prejudiciais ao meio ambiente essa rota entrou em declínio.<sup>18</sup> A produção de glicerina por via fermentativa a partir de fontes renováveis vem aumentando devido às diferentes possibilidades de aplicação.<sup>17</sup> Outra via de obtenção é a hidrogenação da sacarose em presença de um catalisador em condições severas de temperatura e pressão.<sup>19</sup> Mas o processo de obtenção de maior destaque atualmente é a reação de transesterificação para a produção de biodiesel, onde também se obtêm uma fase mais densa que corresponde ao coproduto glicerina.<sup>20</sup>

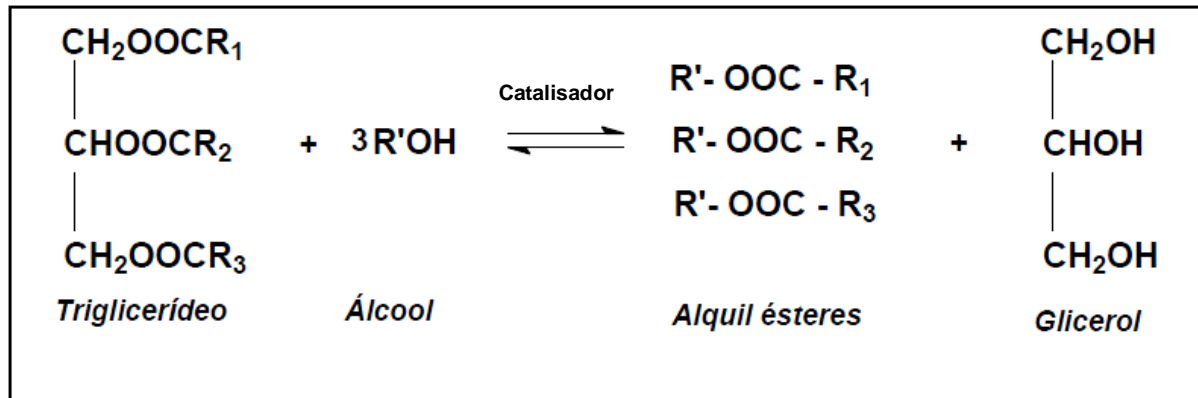
### **2.2 Produção do biodiesel e glicerina**

A utilização de fontes alternativas de energia é uma das prioridades atuais, que vem contribuir significativamente para contornar os graves problemas ocasionados pelo desenvolvimento tecnológico. A demanda por energia limpa originada de recursos renováveis como os biocombustíveis encontra-se em contínuo aumento devido a preocupação com a redução da poluição e a crise energética.<sup>21</sup>

A inclusão do biodiesel na matriz energética se deve, principalmente, a vantagens como os benefícios ao meio ambiente, proporcionado pela redução das emissões de poluentes e a reutilização do CO<sub>2</sub> no ciclo de produção da matéria prima, bem como a sua biodegradabilidade. O biodiesel é considerado uma fonte de energia limpa, não poluente e pode ser utilizado puro ou misturado com o diesel derivado do petróleo.<sup>22, 23</sup>

A transesterificação de triglicerídeos com álcool de cadeia curta como o metanol ou etanol, em presença de um catalisador é o processo mais utilizado para

a produção de biodiesel. Por meio dessa reação é possível a produção do biodiesel e da glicerina como demonstrado na (Fig. 1).

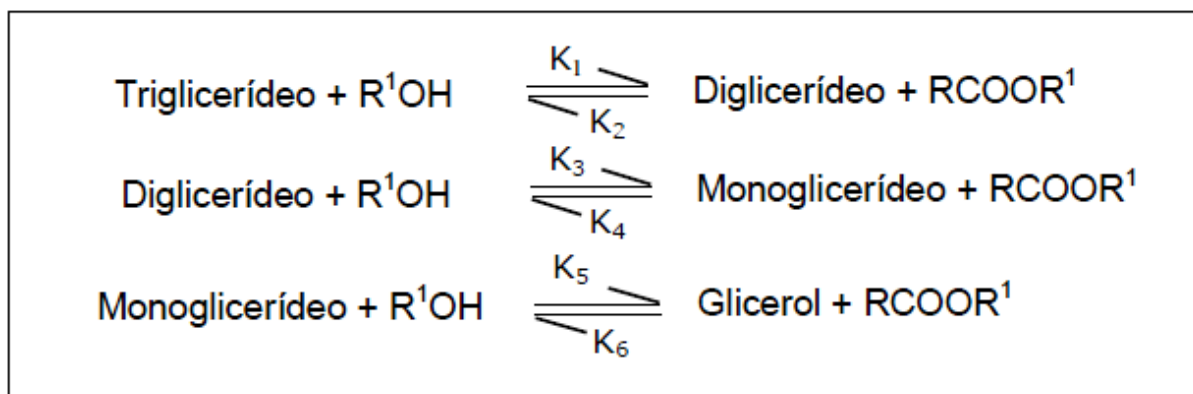


Onde: R1, R2 e R3 referem-se aos diferentes ácidos graxos.

**Figura 1-** Modelo ilustrativo da reação geral de transesterificação. <sup>24, 25, 26</sup>

A estequiometria da reação requer a razão molar álcool:triglicerídeo de 3:1

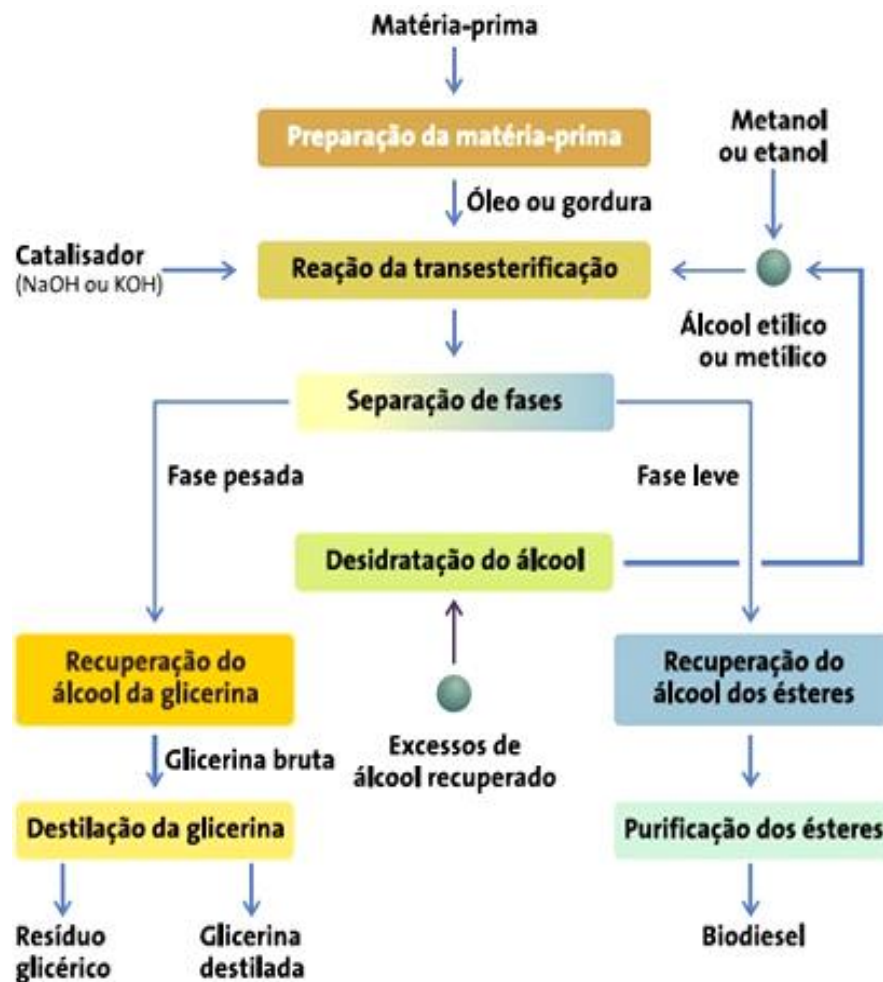
O processo de obtenção do biodiesel e da glicerina é conduzido por três reações consecutivas e reversíveis, onde os diglicerídeos e monoglicerídeos constituem os produtos intermediários como mostra a (Fig. 2). <sup>27, 28, 29</sup>



**Figura 2 –** Etapas da reação de transesterificação.

Após a reação de transesterificação, o resultado é a formação de uma massa reacional constituída por duas fases, que são separáveis por decantação ou centrifugação. A fase mais densa é composta de glicerina bruta, classificada assim, por estar impregnada dos excessos utilizados de álcool, de água, e de impurezas

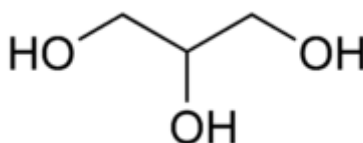
inerentes à matéria prima. A fase menos densa, o biodiesel, é constituída de uma mistura de ésteres metílicos ou etílicos, conforme a natureza do álcool e de impurezas. Na Fig. 3, estão expressas as etapas do processo de produção do biodiesel e da separação da glicerina.<sup>30</sup>



**Figura 3** - Processo de produção e separação do biodiesel e do coproduto glicerina.<sup>31</sup>

### 2.3 Características gerais

O glicerol ou (1,2,3 propanotriol), é um composto orgânico pertencente a função álcool. Trata-se de um poliálcool, com três hidroxilas de fórmula molecular  $C_3H_8O_3$ , como mostra a (Fig. 4).<sup>32</sup>



**Figura 4** – Estrutura química do glicerol.

O termo glicerol aplica-se somente ao composto puro e glicerina é utilizado para os produtos comerciais purificados, normalmente contendo acima de 95% de glicerol. São vários os tipos de glicerina disponíveis comercialmente, as quais podem apresentar diferentes concentrações de glicerol, e diferentes características, tais como odor, cor e impurezas. Alguns dos tipos de glicerina que podem ser obtidas são citados a seguir:

- Bruta: contém grande quantidade de catalisador e álcool utilizado na transesterificação, água, ácidos graxos e sabão;
- Loira: é utilizado para designar a glicerina bruta após sofrer um tratamento com ácido para neutralização do catalisador e remoção de ácidos graxos formados no processo. Possui cerca de 80% de glicerol e o restante é composto de sais, água e álcool;
- Grau farmacêutico: glicerina loira após ser bidestilada a vácuo, e clarificada com compostos absorventes. Sua pureza é superior a 99%.<sup>32,33, 34</sup>

### 2.4 Propriedades físico-químicas

A glicerina é uma substância não tóxica, incolor, viscosa, higroscópica (absorve umidade), oleosa, de sabor doce, solúvel em água e álcool, pouca

solubilidade em éter, acetato de etila e dioxano e insolúvel em hidrocarboneto. <sup>32,33,35</sup>

A Tab. 1 mostra algumas propriedades físico-químicas do glicerol puro.

**Tabela 1** - Propriedades físico-químicas do glicerol a 20 °C. <sup>36</sup>

| Fórmula química            | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> |
|----------------------------|--|
| Massa molecular            | 92,09382 g mol <sup>-1</sup>                 |
| Densidade                  | 1,261 g cm <sup>-3</sup>                     |
| Viscosidade                | 1,5 Pa s                                     |
| Ponto de fusão             | 18,2 °C                                      |
| Ponto de ebulição          | 290 °C                                       |
| Calorias                   | 4,32 kcal g <sup>-1</sup>                    |
| Ponto de fulgor            | 160 °C                                       |
| Tensão superficial         | 64,00 mN m <sup>-1</sup>                     |
| Coeficiente de temperatura | -0,0598 mN (mK) <sup>-1</sup>                |

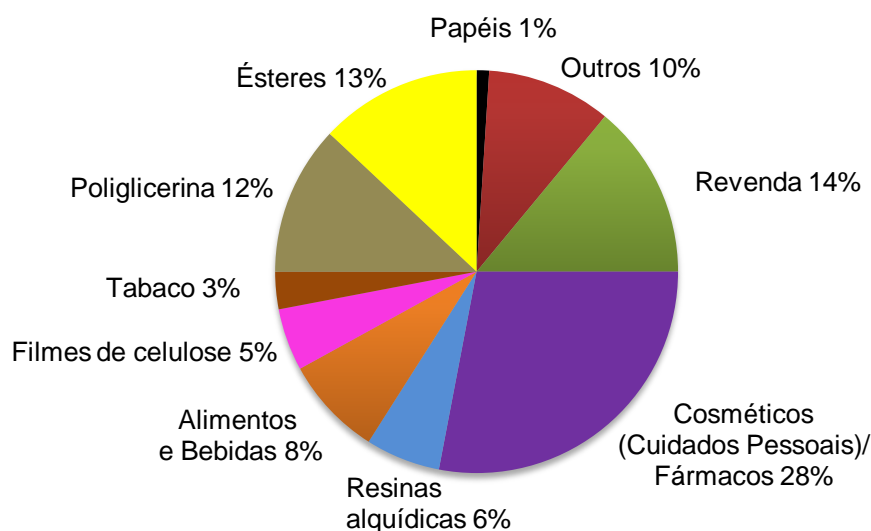
## 2.5 Aplicações da glicerina

A característica mais surpreendente do glicerol é o número e a variedade de processos não só industriais, mas também metabólicos no qual ele está envolvido. A aplicação de maior destaque é na indústria de fármacos e cosméticos, onde a glicerina é utilizada na: composição de cápsulas, supositórios, anestésicos, xaropes, antibióticos, antissépticos, como emoliente e umectante em cremes dentais, hidratantes para a pele, loções pós-barba, desodorantes, batons e maquiagens. <sup>36, 37</sup> Na indústria de alimentos, a glicerina é utilizada como aditivo alimentar em função de suas propriedades estabilizantes, sequestrantes, emulsificantes e umectantes. <sup>38</sup>

Além das aplicações citadas, a glicerina é utilizada na indústria têxtil para amaciar e aumentar a flexibilidade das fibras têxteis. É empregada no processamento de tabaco, na composição dos filtros de cigarro e como veículo de aromas. É utilizada também, como lubrificante de máquinas processadoras de alimentos e na fabricação de tintas e resinas. <sup>36</sup>

Outras aplicações importantes da glicerina estão relacionadas à área da saúde como: o uso no tratamento de dores gastrointestinais e constipações por

facilitar a absorção intestinal de água, nos diagnósticos de desordem do metabolismo de carboidratos e como indicador de doenças renais, já que os rins são capazes de reabsorverem o glicerol e a detecção de sua perda através de testes na urina, pode então indicar esse tipo de doença.<sup>39</sup> Na Fig. 5 está demonstrado uma distribuição percentual de aplicações mais usuais da glicerina.



**Figura 5** - Principais setores industriais de utilização da glicerina.<sup>34</sup>

Fonte: Adaptado de Mota 2009.

A produção de glicerina bruta tem apresentado uma produção com comportamento crescente ao longo dos anos, como é demonstrado na (Tab. 2).

**Tabela 2 – Glicerina gerada na produção de biodiesel (B100), segundo grandes regiões e unidades da Federação – 2005 - 2012**

| Grandes regiões e unidades da | Glicerina gerada na produção de biodiesel (B100) - (m <sup>3</sup> ) |              |               |                |                |                |                |                |
|-------------------------------|--|--------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                               | 2005   | 2006         | 2007          | 2008           | 2009           | 2010           | 2011           | 2012           |
| <b>Brasil</b>                 | <b>69</b>  | <b>9.460</b> | <b>36.740</b> | <b>124.415</b> | <b>171.829</b> | <b>256.884</b> | <b>273.353</b> | <b>274.683</b> |
| <b>Região Norte</b>           | <b>48</b>  | <b>484</b>   | <b>4.849</b>  | <b>5.194</b>   | <b>6.857</b>   | <b>15.236</b>  | <b>14.409</b>  | <b>10.753</b>  |
| Rondônia                      | -  | -            | 34            | 103            | 871            | 1.469          | 588            | 1.402          |
| Pará                          | 48   | 484          | 1.092         | 3.210          | 1.616          | 1.375          | -              | -              |
| Tocantins                     | -  | -            | 3.722         | 1.881          | 4.370          | 12.392         | 13.821         | 9.351          |
| <b>Região Nordeste</b>        | <b>14</b>  | <b>7.258</b> | <b>18.451</b> | <b>15.601</b>  | <b>16.894</b>  | <b>17.547</b>  | <b>16.275</b>  | <b>30.527</b>  |
| Maranhão                      | -  | -            | 2.121         | 5.206          | 3.132          | 2.091          | -              | -              |
| Piauí                         | 14   | 2.669        | 4.491         | 934            | 537            | -              | -              | -              |
| Ceará                         | -  | 11           | 5.594         | 1.118          | 5.167          | 6.262          | 3.749          | 5.774          |
| Bahia                         | -  | 4.578        | 6.246         | 8.343          | 8.058          | 9.194          | 12.526         | 24.753         |
| <b>Região Sudeste</b>         | <b>4</b>   | <b>1.057</b> | <b>4.297</b>  | <b>21.952</b>  | <b>35.068</b>  | <b>49.533</b>  | <b>41.862</b>  | <b>25.326</b>  |
| Minas Gerais                  | 4  | -            | 14            | 16,12          | 3.106          | 6.211          | 6.978          | 7.081          |
| Rio de Janeiro                | -  | -            | -             | -              | 1.325          | 4.219          | 1.358          | 2.002          |
| São Paulo                     | -  | 1.057        | 4.283         | 21.936         | 30.637         | 39.103         | 33.526         | 16.243         |
| <b>Região Sul</b>             | <b>2</b>   | <b>-</b>     | <b>3.085</b>  | <b>24.945</b>  | <b>44.278</b>  | <b>59.709</b>  | <b>83.368</b>  | <b>79.031</b>  |
| Paraná                        | 2  | -            | -             | 768            | 2.555          | 6.009          | 10.549         | 10.800         |
| Rio Grande do Sul             | -  | -            | 3.085         | 24.177         | 41.723         | 53.700         | 72.818         | 68.231         |
| <b>Região Centro-Oeste</b>    | <b>-</b>   | <b>661</b>   | <b>6.057</b>  | <b>56.724</b>  | <b>68.732</b>  | <b>114.859</b> | <b>117.440</b> | <b>129.045</b> |
| Mato Grosso do Sul            | -  | -            | -             | -              | 859            | 1.705          | 8.166          | 13.982         |
| Mato Grosso                   | -  | -            | 2.427         | 36.891         | 45.710         | 74.572         | 62.398         | 59.575         |
| Goiás                         | -  | 661          | 3.630         | 19.833         | 22.163         | 38.582         | 46.877         | 55.488         |

Fonte: ANP/SPD. Disponível em <http://www.anp.gov.br>.

No ano de 2013 a produção nacional de glicerina foi de aproximadamente 300.000 m<sup>3</sup>.<sup>40</sup> Os mercados tradicionais do glicerol possuem uma capacidade limitada de absorção, o que torna urgente a busca por novas aplicações para equilibrar a balança econômica desse produto frente a esta enorme produção anual.<sup>41</sup>

### 2.5.1 Novas utilidades para a glicerina

Na Fig. 6 podem ser observados alguns dos vários destinos que são dados hoje para a glicerina.



**Figura 6** – Imagem ilustrativa das tradicionais e novas aplicações da glicerina. <sup>42</sup>

Através das pesquisas têm sido descobertas diversas aplicações para a glicerina entre elas estão produção de combustíveis, aditivos, plástico, aplicação em alimentação animal entre outros.

No processo de produção de etanol, a glicerina é fermentada com a adição de várias bactérias, sendo a principal, a bactéria *Escherichia Coli* não patogênica. Esta bactéria é um dos poucos seres vivos capazes de produzir todos os componentes de que é feita, a partir de compostos básicos e fontes de energia suficientes. Ela é capaz de fermentar o glicerol quando mantida em condições adequadas (temperatura, pressão, pH ideal, e ausência ou não de oxigênio para a fermentação). <sup>43</sup>

A plastificação do amido é uma alternativa no caminho de produzir plásticos biodegradáveis e mais favoráveis ao ambiente contando para isso com o uso da glicerina loira, que apresentou melhores propriedades mecânicas como resistência à tração e alongamento do que a glicerina comercial. <sup>44</sup>

Outra alternativa para o uso da glicerina é a queima para produção de energia elétrica na própria fabricação do biocombustível, mas ainda mais interessante é a proposta para o aproveitamento desse coproduto para alimentar um digestor de metano durante a produção do biogás, gerando assim uma queima limpa e eficiente. <sup>45</sup> Já o processo de esterificação da glicerina produz compostos com menor viscosidade e polaridade, e consequentemente com maior volatilidade em comparação com a mesma pura. Isto faz com que os compostos formados tenham



inúmeras aplicações, principalmente como aditivos para gasolina e diesel misturado ao biodiesel.<sup>34, 46</sup>

Uma utilização recente que tem se destacado é a aplicação em rações animais. No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) autorizou no ano de 2010 o uso da glicerina bruta como insumo para alimentação animal, estipulando níveis mínimos e máximos de alguns componentes (mínimo de 80% de glicerol, máximo de 13% de umidade e máximo de 150 ppm de metanol). Também recomendou apresentar na embalagem, a quantidade de sódio presente devido a altas concentrações esperadas deste metal na glicerina bruta, proveniente da utilização de catalisadores básicos na produção do biodiesel.<sup>47</sup> A glicerina é um coproduto que possui alto valor energético, podendo contribuir favoravelmente em dietas para animais. Por seu sabor adocicado é aceita naturalmente e é facilmente miscível com outros elementos da ração (farelos, grãos moídos, etc.).<sup>48</sup>

## 2.6 Origem de metais na glicerina

Os metais esperados na glicerina são principalmente Na, K, Ca e Mg por serem estes elementos que são controlados no biodiesel pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), que estabeleceu como teor máximo permitido para soma das concentrações de (Na + K) ou (Ca + Mg) o valor de  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ . Isto porque estes elementos encontram-se presentes na cadeia produtiva do biodiesel, desta forma, é esperada a presença destes também no coproduto glicerina.<sup>49</sup>

Os metais alcalinos (Na e K) geralmente são provenientes do uso de catalisadores básicos. Já a concentração de elementos como os alcalino-terrosos (Ca e Mg) pode ser influenciada por uma série de fatores, que vão desde as características do solo onde foi cultivada a matéria prima, do processo de extração e purificação do óleo, do método de produção, até das condições de armazenamento.<sup>16</sup>

Thompson e He<sup>50</sup> realizaram a determinação da concentração de Ca, K, Mg, P, e Na em diferentes amostras de glicerina. Os resultados obtidos indicaram que a concentração destes macroelementos variaram entre 4 e  $163 \text{ mg kg}^{-1}$ . Com

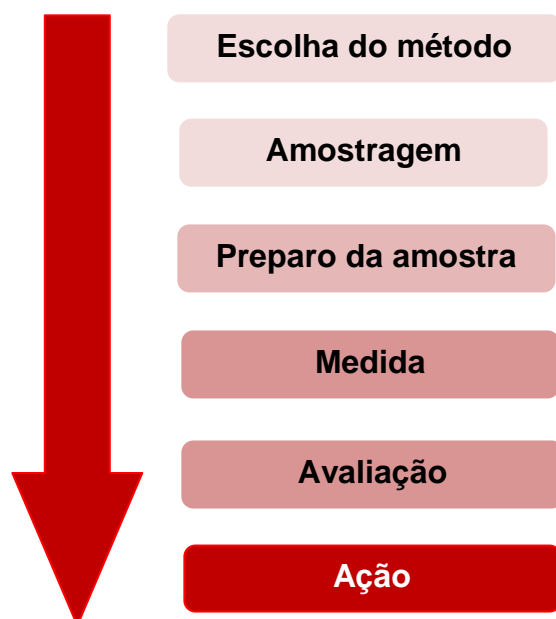
exceção do Na, que apresentou valores em torno de 1% m/m. Os autores mencionam que a concentração de Na é relacionada com o metiolato de sódio que foi o catalisador utilizado para a produção do biodiesel, o que demonstra que grande parte da contaminação proveniente do catalisador utilizado fica concentrada na fase da glicerina.<sup>50</sup>

Assim, a avaliação das quantidades de metais em glicerina representa o ponto de partida para o desenvolvimento de métodos visando melhorar as características desse produto.

## **2.7 Determinação de metais em glicerina**

### **2.7.1 Preparo da amostra**

A análise de amostras sem um pré-tratamento seria o ideal, para minimizar o tempo de análise, evitar perdas e erros, mas na realidade da maioria dos equipamentos isto não é possível, sendo necessário seguir uma sequência analítica, como a representada na Fig. 7, que inclui a etapa de preparo da amostra. No laboratório, a amostra deve ser submetida a um tratamento adequado, visando à posterior determinação dos analitos. Este tratamento pode variar desde um simples polimento da superfície das amostras, até a completa transformação das amostras sólidas em uma solução compatível com a técnica utilizada para análise. A maneira de preparar a amostra vai depender da sua natureza, do elemento a ser determinado e sua concentração, da precisão e exatidão desejadas e do instrumento que será utilizado para a realização das medidas. Somente na mais simples das situações, a amostra poderá ser analisada sem qualquer tipo de pré-tratamento.<sup>51, 52</sup>



**Figura 7** – Ilustração de uma sequência analítica.

Para realizar uma análise elementar, normalmente é necessário um procedimento para liberar os analitos da matriz orgânica e transformá-los em espécies inorgânicas simples. Frequentemente, mas não sempre, esse procedimento é conduzido em meio aquoso.<sup>53, 54</sup>

O grande desafio relacionado ao desenvolvimento de novos métodos consiste na dificuldade de garantir a exatidão dos mesmos. Até o presente momento, para amostras de glicerina, a exatidão vem sendo avaliada através de ensaios de recuperação e/ou comparação entre métodos, devido à indisponibilidade de um material de referência certificado deste tipo.

Chaves e colaboradores<sup>55</sup> propuseram um método de solubilização de amostras de glicerina bruta para a determinação de Na e K por espectrometria de emissão atômica com chama (F AES), usando uma solução aquosa contendo 30% v/v de 1-propanol. Antes dessa etapa, as amostras passaram por uma diluição com água deionizada e foi obtida uma solução límpida de onde foram retiradas as alíquotas para a solubilização na solução contendo 1-propanol. Este procedimento foi realizado devido à possível presença de altas concentrações dos metais. Para a avaliação da exatidão do método proposto, os resultados foram comparados com os

resultados obtidos para as amostras digeridas em forno microondas, após adição de ácido nítrico e peróxido de hidrogênio. Os limites de quantificação obtidos foram de  $0,02 \text{ mg g}^{-1}$  e  $0,08 \text{ mg g}^{-1}$  para o Na e o K, respectivamente, considerando uma alíquota de 500 mg de amostra diluída 1000 vezes, sendo estes adequados para a determinação de resíduos de catalisadores alcalinos em glicerina bruta. Os resultados obtidos apresentaram grande variação na concentração de Na e K para as diferentes amostras analisadas. Para o Na, a concentração variou de  $0,36 \pm 0,03 \text{ mg g}^{-1}$  até  $19,1 \pm 2,7 \text{ mg g}^{-1}$ , também foi observada variação para a concentração de K, desde amostras que ficaram abaixo do Limite de Quantificação (LQ) até  $92,4 \pm 7,2 \text{ mg g}^{-1}$ . A variação encontrada pode estar relacionada com o tipo de catalisador utilizado, NaOH ou KOH.<sup>55</sup>

## 2.7.2 Espectrometria de Absorção Atômica (AAS)

A Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) é hoje uma técnica largamente difundida e empregada para a determinação quantitativa de elementos (metais, semi-metais e alguns não metais) em uma ampla variedade de amostras, tais como, materiais biológicos (tecidos e fluídos), ambientais (águas, solos, sedimentos e plantas), geológicos, tecnológicos, alimentos, combustíveis e outras diversas matrizes complexas como a glicerina.

A técnica utiliza basicamente o princípio de que átomos livres (estado gasoso) gerados em um atomizador são capazes de absorver radiação de frequência específica que é emitida por uma fonte espectral; a quantificação obedece desta forma, os princípios das leis de Beer e Lambert, expressos na equação (1).<sup>56, 57</sup>

$$A = \log_{10} I_0/I_t = a b C \quad (\text{eq. 1})$$

Onde:

A = absorvância

$I_0$  = intensidade da radiação incidente emitida pela fonte de luz

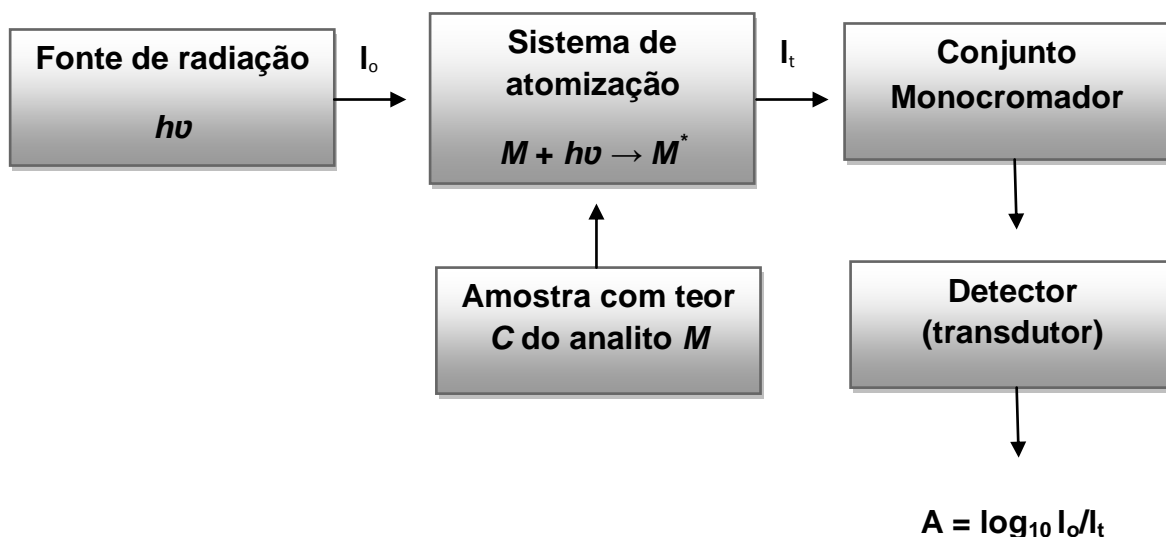
$I_t$  = intensidade da radiação transmitida (não absorvida)

a = coeficiente de absorção do meio ou absortividade

$b$  = espessura do volume de observação ou volume de absorção

$C$  = concentração de átomos no estado fundamental

Na Fig. 8 está expressa através de um diagrama de blocos, a configuração de um espectrômetro de absorção atômica.



**Figura 8-** Diagrama de blocos de um espectrômetro de absorção atômica. <sup>58</sup>

### 2.7.2.1 Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS)

A Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS) é uma técnica monoelementar na qual a chama é utilizada como fonte de atomização dos analitos na amostra. Faz uso de um nebulizador, que produz um aerossol constituído de microgotículas a partir da solução da amostra, que é introduzida na chama de ar/acetileno (~ 2250 °C) ou N<sub>2</sub>O/acetileno (~ 2850 °C) onde se evapora o solvente, e os sólidos remanescentes se separam em átomos. O efeito de matriz pode ocorrer nesta técnica, desta forma, possíveis interferências causadas pelas substâncias que compõem a matriz amostral podem gerar, basicamente, fenômenos de diminuição ou ampliação do sinal de resposta. Avaliando os erros e os efeitos dos componentes da matriz sobre o sinal analítico, a correção deste tipo de interferência pode ser realizada através da simulação de matriz.

A F AAS é uma técnica muito utilizada para a determinação de metais com concentrações em nível de ppm ( $\text{mg L}^{-1}$ ) devido à sua robustez, precisão, baixo custo de aquisição e manutenção do espectrômetro, além de proporcionar adequada seletividade com poucas interferências.<sup>58, 59</sup>

#### 2.7.2.2 Espectrometria de Emissão Atômica com Chama (F AES)

O processo no qual os átomos, excitados, perdem energia pela emissão de fótons com frequência característica é definido como emissão atômica. Os comprimentos de onda dos fótons emitidos são específicos para cada elemento e desta forma, podem ser utilizados para identificar os elementos presentes em uma amostra.

A quantificação de metais através da F AES é possível, pois a intensidade de emissão, em determinadas condições, é proporcional à quantidade do elemento na amostra. A emissão de outros elementos presentes na amostra e sinais de fundo podem eventualmente causar interferência espectral sobre o sinal do analito. Esta técnica apresenta boa sensibilidade, principalmente para a determinação de metais alcalinos. Preferencialmente, a determinação destes metais é realizada em chamas com temperaturas menores como a de ar/acetileno, para diminuir erros devido à competição entre a ionização e a excitação atômica. Interferências espectrais e não espectrais são possíveis, no entanto, estas podem ser minimizadas ou corrigidas.<sup>58,60</sup>

#### 2.7.2.3 Interferências

Uma interferência resulta de um efeito que faz com que o analito tenha comportamento diferente na amostra e nas soluções de calibração. As interferências são fatores limitantes dos seguintes parâmetros:

- **Exatidão:** erros sistemáticos causados pelo preparo inadequado de soluções analíticas são uns dos responsáveis pela inexatidão;

- **Precisão:** as interações com os interferentes podem afetar tanto a repetibilidade quanto a reprodutibilidade das medidas. Os efeitos podem depender da concentração das espécies químicas envolvidas e a porcentagem de interação varia com a razão entre as concentrações do elemento a ser determinado e a espécie química interferente;

- **Sensibilidade:** interações frequentemente são responsáveis pela diminuição da sensibilidade, como consequência torna-se difícil obter um limite de detecção adequado para a determinação de baixas concentrações, isto porque a precisão das medidas pode ser afetada. Em alguns casos as interações podem ser aproveitadas beneficiando a sensibilidade e o limite de detecção.

As interferências em absorção atômica podem ser divididas em:

- **Interferências espectrais:** resultam das sobreposições de raios ou de bandas de absorção ou de emissão.

- **Interferências não espectrais:**

- Interferências físicas: são causadas por alterações nas propriedades físicas das soluções, produzindo uma variação na quantidade de solução que chega até a chama. Este é um efeito não específico, ou seja, independe do elemento a ser determinado;

- Interferências químicas: as interações pertencem a este grupo de interferências. Os efeitos ocorridos são específicos, originados pela composição química das amostras. Podem ser causados por reações físico-químicas que afetam a atomização. As interferências de ionização são classificadas como químicas, uma vez que este efeito não é unicamente térmico, mas influenciado também pela composição química da amostra.<sup>58, 61</sup>

O efeito de matriz é um exemplo de interferência não espectral que pode ocorrer em técnicas de espectrometria atômica, quando não há a decomposição da matriz durante a etapa de preparo da amostra, devido às diferenças de viscosidade entre a solução contendo a amostra e a solução de calibração. Barros e colaboradores,<sup>62</sup> realizaram um estudo para avaliar o efeito da matriz, após a diluição de amostras de biodiesel em etanol, foram avaliadas as taxas de aspiração de soluções alcoólicas com e sem a matriz. Os autores concluíram que havia esta interferência física, sendo necessária a calibração em presença da matriz, para garantir a exatidão e a precisão dos resultados.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

O objetivo geral deste trabalho é o desenvolvimento de métodos analíticos simples e de fácil aplicação em análises de rotina para o controle de qualidade de amostras de glicerina, para a determinação de Ca, Mg e K por técnicas de Espectrometria Atômica.

#### 3.2 Específicos

- Realizar a determinação de Ca, Mg, e K nas amostras de glicerina oriundas do processo de produção do biodiesel por técnicas de F AAS ou F AES, após solubilização em água (método proposto);
- Avaliar a solubilização das amostras em ácido fórmico para a determinação de Ca e Mg em amostras de glicerina por F AAS;
- Avaliar a solubilização das amostras em etanol para a determinação de K em amostras de glicerina por F AES;
- Avaliar a precisão, a estabilidade dos analitos e a presença de interferências nos três métodos avaliados;
- Avaliar a exatidão do método proposto (solubilização em água) através da comparação entre métodos utilizando o teste estatístico (teste *t* de *Student* pareado).



## 4 PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1 Instrumentação

Todas as medições foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica com chama da Perkin Elmer AAnalyst 200 (Shelton, CT, EUA), equipado com lâmpada de deutério para correção do sinal de fundo. Como fonte de radiação, foi utilizada lâmpada de catodo oco Perkin Elmer (Shelton, CT, EUA). Os parâmetros instrumentais utilizados seguiram as recomendações do fabricante e estão demonstrados na (Tab 3). No entanto, de modo a assegurar a exatidão das medidas, todos estes parâmetros foram checados a cada dia de trabalho. Dependendo do analito a ser determinado, o modo absorção ou emissão atômica foi utilizado, pois o espectrômetro permite operar nestes dois modos.

**Tabela 3** - Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para determinação de Ca, Mg e K.

| Parâmetro                                 | Ca    | Mg    | K     |
|---|-------|-------|-------|
| Comprimento de onda (nm)                  | 422,7 | 285,2 | 766,5 |
| Fenda espectral (nm)                      | 0,6   | 1,05  | 0,45  |
| Corrente da lâmpada (mA)                  | 6     | 10    | -     |
| Vazão de ar (L min <sup>-1</sup> )        | 10    | 10    | 10    |
| Vazão de acetileno (L min <sup>-1</sup> ) | 2,7   | 2,5   | 2,5   |

As amostras foram pesadas em uma balança analítica Ohaus Adventurer modelo AR 2140 com resolução de 0,1 mg e tara máxima de 210 g.

### 4.2 Materiais e Reagentes

Os reagentes utilizados em todos os experimentos foram de grau analítico. Água deionizada foi obtida através de um sistema de purificação Direct-Q 3 (Millipore Corporation, Bedford, USA) com resistividade de 18,3 MΩcm. Ácido fórmico 85% v/v (Vetec) que foi bidestilado em um destilador de quartzo MA-075

(Marconi, Piracicaba, SP, Brasil), álcool etílico absoluto 99,5% v/v (Synth) destilado em um sistema de destilação comum e tampão espectroscópico de cloreto de cério e lantânio, conhecido como solução de Schinkel (Fluka) ( $100 \text{ g L}^{-1}$  La e  $10 \text{ g L}^{-1}$  CsCl).

Para construção das curvas de calibração, foram preparadas soluções de Ca, Mg e K através de suas respectivas soluções padrão estoque contendo  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  (Fluka, Buchs, Alemanha) de cada analito, que foram diluídas com água deionizada. As soluções de calibração foram preparadas com os seus respectivos solventes água, ácido fórmico e etanol.

Todos os materiais utilizados como tubos de polipropileno (PP), materiais de vidro e ponteiros foram lavados primeiramente com água e detergente e posteriormente lavados com água deionizada. Após estarem secos foram imersos em uma solução 10% (v/v) de  $\text{HNO}_3$  por pelo menos 48h, para uma completa descontaminação.

### **4.3 Amostras**

As quatro amostras de glicerina bruta utilizadas no desenvolvimento de métodos para a determinação da concentração de Ca, Mg e K, foram disponibilizadas pelas indústrias produtoras de biodiesel Bianchini SA (Canoas) e BS BIOS (Passo Fundo) e classificadas como (A, B, C, e D). Também foram utilizadas gliceras comerciais com diferentes graus de pureza, 85% de pureza (Merck) e de grau farmacêutico 99,5% (Synth), classificadas como (1 e 2).

### **4.4 Preparo das amostras**

#### **4.4.1 Solubilização em água**

Para a solubilização em água, aproximadamente 1,0 g de amostra de glicerina foi pesada diretamente em tubos graduados de polipropileno de 50 mL e adicionado 0,10% (m/v) de  $\text{LaCl}_3$ , o volume final foi aferido com água deionizada.

Foram avaliadas diferentes proporções para a solubilização das amostras de glicerina em água e esta apresentou os melhores resultados com relação à repetibilidade das medidas. A solução resultante é demonstrada na (Fig. 9).



**Figura 9** - Amostras de glicerina bruta após solubilização em água.

Para a determinação de Ca, Mg e K nas amostras de glicerina bruta, as soluções de calibração foram preparadas da mesma forma com adição de padrões inorgânicos de Ca, Mg e K. A curva de calibração do K foi preparada utilizando a glicerina bruta a ser analisada devido ao efeito de matriz observado, que será discutido posteriormente. Antes de cada medida instrumental, a solução foi agitada manualmente para uma completa homogeneização.

Devido à indisponibilidade de material de referência certificado para glicerina a avaliação da exatidão foi realizada através da comparação dos resultados obtidos com a solubilização em água, com os obtidos pelos métodos de preparo de amostra detalhados a seguir.

#### **4.4.2 Solubilização em ácido fórmico**

Para a solubilização com ácido fórmico, pesaram-se aproximadamente 0,5 g de amostra de glicerina diretamente em tubos graduados de polipropileno de 14 mL, seguidos da adição de 4 mL de ácido fórmico e 0,50% (m/v) de  $\text{LaCl}_3$  para determinação de Ca e 0,25% (m/v) de  $\text{LaCl}_3$  para determinação de Mg. O volume

final foi completado para 10 mL com água deionizada. A solução resultante é demonstrada na (Fig. 10). Ao final, a concentração de ácido fórmico foi de 34% (v/v).



**Figura 10** - Glicerina bruta após solubilização em ácido fórmico.

As curvas de calibração para a determinação de Ca e Mg nas amostras de glicerina bruta usando este método, foram preparadas em meio de ácido fórmico com adição de padrões inorgânicos de Ca e Mg e aproximadamente 0,5 g de glicerina purificada de base, que foi utilizada para simular a viscosidade da matriz da amostra. Antes de cada medida instrumental, a solução foi agitada manualmente para uma completa homogeneização.

#### **4.4.3 Solubilização em etanol**

Para a solubilização com etanol, aproximadamente 0,5 g de amostra de glicerina foram pesadas diretamente em tubos graduados de polipropileno de 14 mL e adicionado 0,05 (m/v) de  $\text{LaCl}_3$ . O volume final foi completado para 10 mL com álcool etílico absoluto e a solução resultante obtida é apresentada na (Fig. 11).

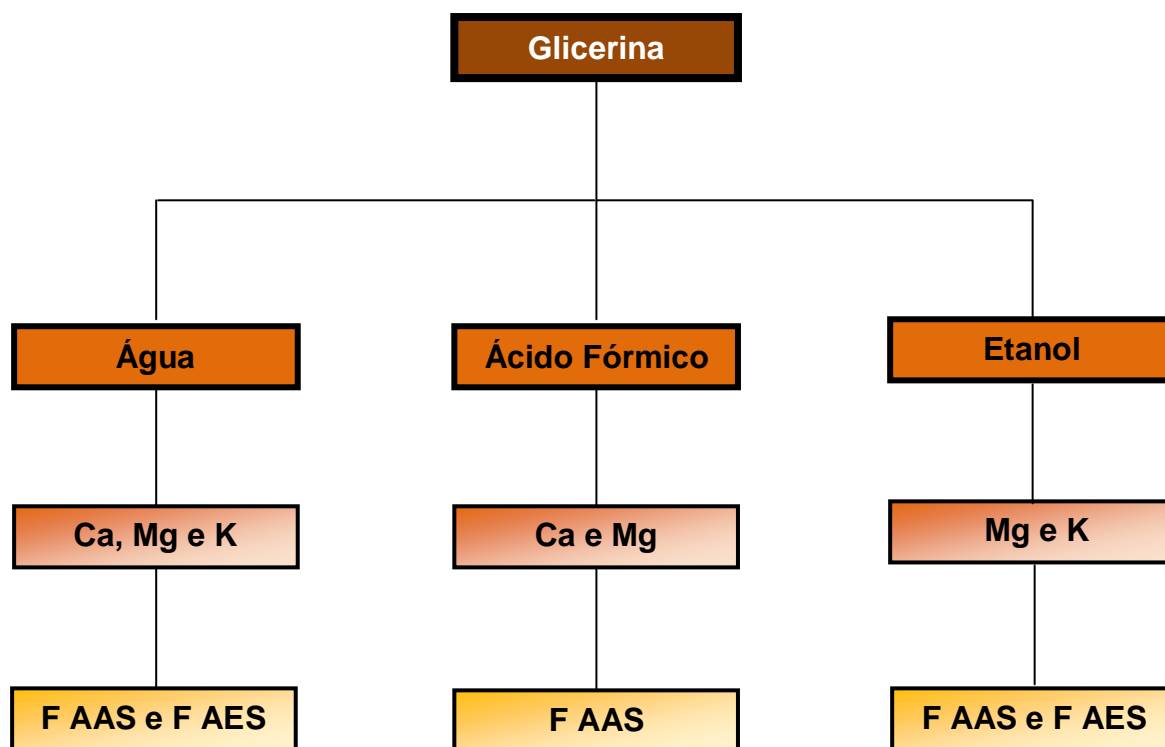


**Figura 11-** Glicerina bruta após solubilização em etanol.

As curvas de calibração para a determinação de K nas amostras de glicerina foram preparadas em meio de etanol e com a adição de padrão inorgânico de K em presença de aproximadamente 0,5 g de glicerina bruta devido ao efeito de matriz. Antes de cada medida instrumental, a solução foi agitada manualmente para uma completa homogeneização.

Foi possível também com este método, a determinação de Mg em amostras de glicerina, variando somente a concentração de  $\text{LaCl}_3$  que para este analito, foi igual a 0,15% (m/v). Optou-se neste trabalho por utilizar como método de comparação para o Mg a solubilização em ácido fórmico, mas fica evidenciado através dos resultados expressos no (Anexo A), a possibilidade da utilização da solubilização em etanol também, para a determinação de Mg em glicerina.

Na Fig. 12 é demonstrado através de um fluxograma os métodos desenvolvidos, quais os analitos que podem ser determinados com cada método e quais as técnicas utilizadas para a determinação de Ca, Mg e K em amostras de glicerina utilizando a solubilização em água, ácido fórmico e etanol.



**Figura 12** - Fluxograma dos procedimentos desenvolvidos.

#### 4.5 Comparação entre métodos

Para avaliação da exatidão, todos os resultados obtidos foram submetidos a um tratamento estatístico, realizado através da aplicação do teste *t* de *Student* pareado, que foi utilizado para verificar a diferença entre médias. Este foi aplicado de acordo com as seguintes equações:

$$\bar{x}_d = \sum_{i=1}^n \frac{(d_{i1} - d_{i2})}{n} \quad (\text{eq. 2})$$

$$s_d = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [(d_{i1} - d_{i2}) - \bar{x}_d]^2}{n-1}} \quad (\text{eq. 3})$$

$$t_{calculado} = \frac{\bar{x}_d \sqrt{n}}{S_d} \quad (\text{eq. 4})$$

Onde:

$\bar{X}_d$  = média das diferenças entre as respostas;

$d_{i1}$ ,  $d_{i2}$  = respostas do analito para a amostra com “solubilização em água” e “solubilização em (ácido fórmico ou etanol)”;

$S_d$  = desvio padrão das diferenças;

$n$  = número de pares.

A interpretação do teste ocorre da seguinte maneira:

$t_{calculado} < t_{tabelado}$  : Os resultados fornecidos pelos dois métodos são equivalentes.

$t_{calculado} > t_{tabelado}$  : Os resultados fornecidos pelos dois métodos, não são equivalentes.

Para realização dos cálculos estatísticos do teste, foi aplicada a ferramenta de análise de dados do Microsoft Office Excel 2010.

#### 4.6 Limite de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) corresponde à menor quantidade de um analito a qual pode ser detectada. Na prática, é determinado como a menor concentração do analito a qual pode ser diferenciada do ruído do sistema, com segurança.<sup>63</sup> Neste trabalho, os limites de detecção foram determinados a partir de alguns parâmetros obtidos pela curva de calibração: o desvio padrão (SD) de 10 leituras do branco

analítico e o coeficiente angular (a) da curva. O cálculo foi realizado através da equação 5:

$$LD = 3 \times SD_{\text{Branco}} / a \quad (\text{eq. 5})$$

O limite de quantificação (LQ) corresponde à menor quantidade de um analito a qual pode ser quantificada com nível aceitável de precisão e exatidão.<sup>63</sup> Foi calculado segundo a equação 6:

$$LQ = 10 \times SD_{\text{Branco}} / a \quad (\text{eq. 6})$$



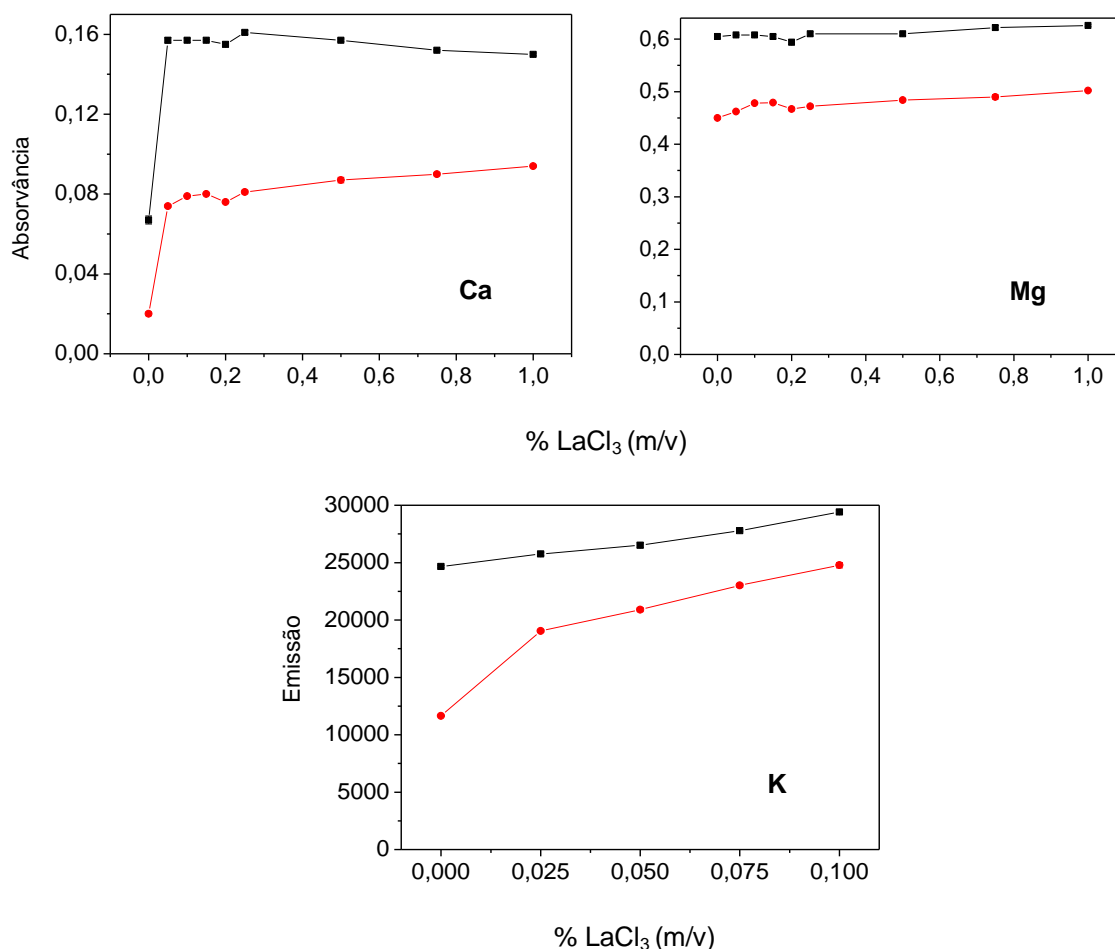
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Solubilização em água

#### 5.1.1 Efeito da concentração do tampão de ionização

Uma interferência de ionização ocorre quando a temperatura da chama é muito alta para a determinação do analito de interesse e, por isso, tem energia suficiente para levá-lo além do seu estado atômico neutro e produzir uma fração significativa de íons, acarretando na diminuição da absorção da radiação, fazendo com que o número de átomos no estado fundamental seja menor, o que resulta em uma diminuição no sinal de analítico.<sup>64</sup> Este tipo de interferência frequentemente é minimizado através da adição de um elemento facilmente ionizável, tal como o cério, lítio e o lantânio, utilizados como supressores de ionização.

Neste trabalho, para determinação de Ca e Mg por F AAS e K por F AES utilizando a chama do tipo ar-acetileno, foi realizado um estudo de otimização da concentração necessária do supressor de ionização. Para isso, utilizou-se uma solução tampão de  $\text{LaCl}_3$ /  $\text{CsCl}$  (comumente usada quando se pretende determinar elementos que são facilmente ionizados na chama), a fim de proporcionar uma minimização das possíveis interferências, a amostra **A** utilizada no estudo foi fortificada com uma concentração referente a um ponto intermediário da curva de calibração de cada analito. Os resultados estão apresentados na Fig. 13 e as concentrações na solução estão expressas de acordo com a concentração de  $\text{LaCl}_3$  na solução tampão.



**Figura 13** - Sinal analítico de Ca, Mg e K em (—■—) Glicerina bruta **A** solubilizada em água contendo  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca;  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Mg e  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$  de K; em (—●—) Padrão aquoso contendo  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca;  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Mg e  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$  de K; em diferentes concentrações do tampão de ionização  $\text{LaCl}_3$ .

Para o Ca pode-se observar que a presença do tampão de ionização apresentou maior influência no sinal de absorvância, indicando possivelmente a interferência de ionização. Foi observado, que a partir de  $0,10\%$  (m/v) de  $\text{LaCl}_3$  o sinal de absorvância para amostra e padrão não apresentaram grandes variações, não justificando assim o uso de concentrações maiores de tampão. Já para o Mg em ambos os meios, não foi observada influência significativa no sinal de absorvância, na presença do tampão. Sendo assim, a concentração escolhida para a determinação de Ca e Mg foi de  $0,10\%$  (m/v) de  $\text{LaCl}_3$ .

Para o K, a faixa de variação de concentração do tampão de ionização não foi a mesma respeitando a indicação do fabricante do equipamento utilizado. A

concentração que apresentou o maior sinal de emissão também foi igual a 0,10% (m/v) de  $\text{LaCl}_3$ . Desta forma, foi possível utilizar a mesma concentração do tampão de ionização para determinação dos três analitos.

### 5.1.2 Influência da matriz

A presença de três grupos hidroxila na estrutura do glicerol é responsável pela sua solubilidade em água e sua natureza higroscópica. É uma molécula altamente flexível que forma ligações de hidrogênio.<sup>36</sup>

Em técnicas de espectrometria atômica, as interferências de transporte podem ser observadas após ocorrer à solubilização da amostra dependendo do solvente empregado, o qual pode provocar variações na viscosidade ou tensão superficial das soluções, influenciando diretamente na eficiência de seu transporte para a chama e, portanto, na quantidade de analito na chama. Uma das formas de correção deste tipo de interferência é através da simulação da matriz.

As amostras de glicerina utilizadas neste trabalho apresentavam diferentes viscosidades. Desta forma, foi realizado um estudo para avaliar se estas diferenças poderiam influenciar nos resultados analíticos. A avaliação foi realizada por meio da observação dos valores obtidos para as inclinações das curvas de adição do analito em diferentes amostras de glicerina bruta (amostras A, B e D) e de glicerinas purificadas (amostras 1 e 2). As curvas de adição foram preparadas com padrões aquosos inorgânicos de Ca, Mg e K que foram adicionados nas amostras de glicerina, sendo que as concentrações utilizadas foram as mesmas da curva de calibração correspondente a cada elemento. Na Tab. 4 estão apresentados os valores das inclinações obtidas.

**Tabela 4** – Valores das inclinações das curvas de adição em amostras de glicerina bruta e purificada, obtidas para Ca e Mg por F AAS e K por F AES utilizando o procedimento com solubilização em água e calibração externa.

| Glicerina          | Inclinação (L mg <sup>-1</sup> ) |                 |                |
|--------------------|----------------------------------|-----------------|----------------|
|                    | Ca <sup>a</sup>                  | Mg <sup>a</sup> | K <sup>b</sup> |
| 1                  | 0,1555                           | 1,3429          | 15674,5        |
| 2                  | 0,1453                           | 1,3522          | 15436,1        |
| A                  | 0,1467                           | 1,2724          | 14397,9        |
| B                  | 0,1297                           | 1,3014          | 11360,5        |
| D                  | 0,1372                           | 1,2945          | 14071,7        |
| Calibração Externa | 0,1430                           | 1,2889          | 15077,5        |

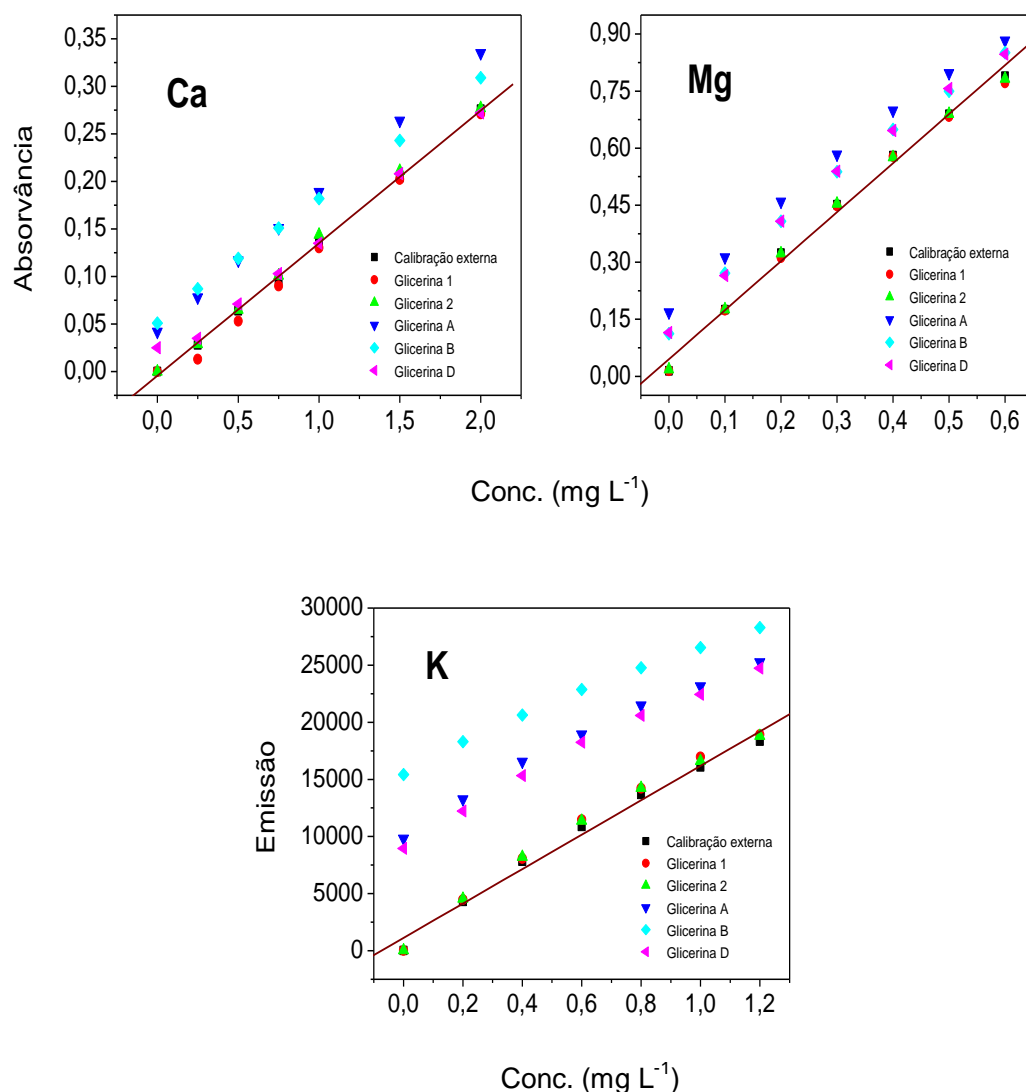
a = curvas obtidas pelo sinal de absorvância; b = curvas obtidas pelo sinal de emissão;

1 e 2 = amostras de glicerina purificada; A, B e D = amostras de glicerina bruta.

Os resultados apresentados na Tab. 4 demonstram que a diferença entre as inclinações obtidas em diferentes curvas para Ca e Mg é pequena, mas não se pode afirmar que não existe diferença significativa, pois não foram aplicados testes estatísticos devido a não haver disponível quantidade suficiente de glicerina bruta para a realização de replicatas da curva de adição. Desta forma, optou-se em utilizar a calibração externa pois esta apresentou o valor de inclinação mais próximo aos da glicerina bruta, quando comparada as inclinações obtidas nas curvas utilizando glicerina purificada.

Para o K, foi necessária a utilização de calibração em presença da glicerina bruta, porque o efeito de matriz ficou evidente no método de comparação a solubilização em etanol, onde foram observadas grandes variações nos valores de inclinação obtidos para as diferentes amostras e a curva de calibração externa, quando realizada a verificação do efeito de matriz, que será descrita posteriormente. Sendo assim, para garantir a exatidão entre os resultados obtidos pelos métodos optou-se por esta calibração para a solubilização em água também.

As inclinações obtidas também podem ser avaliadas através da Fig. 14 onde estão demonstradas as curvas obtidas com as diferentes amostras de glicerina e calibração externa.



**Figura 14** – Curvas de adição de Ca, Mg e K obtidas para as diferentes amostras de glicerina: 1 (●) , 2 (▲), A (▼), B (◆) e D (◀) após a solubilização em água e a curva obtida com calibração externa (■) .

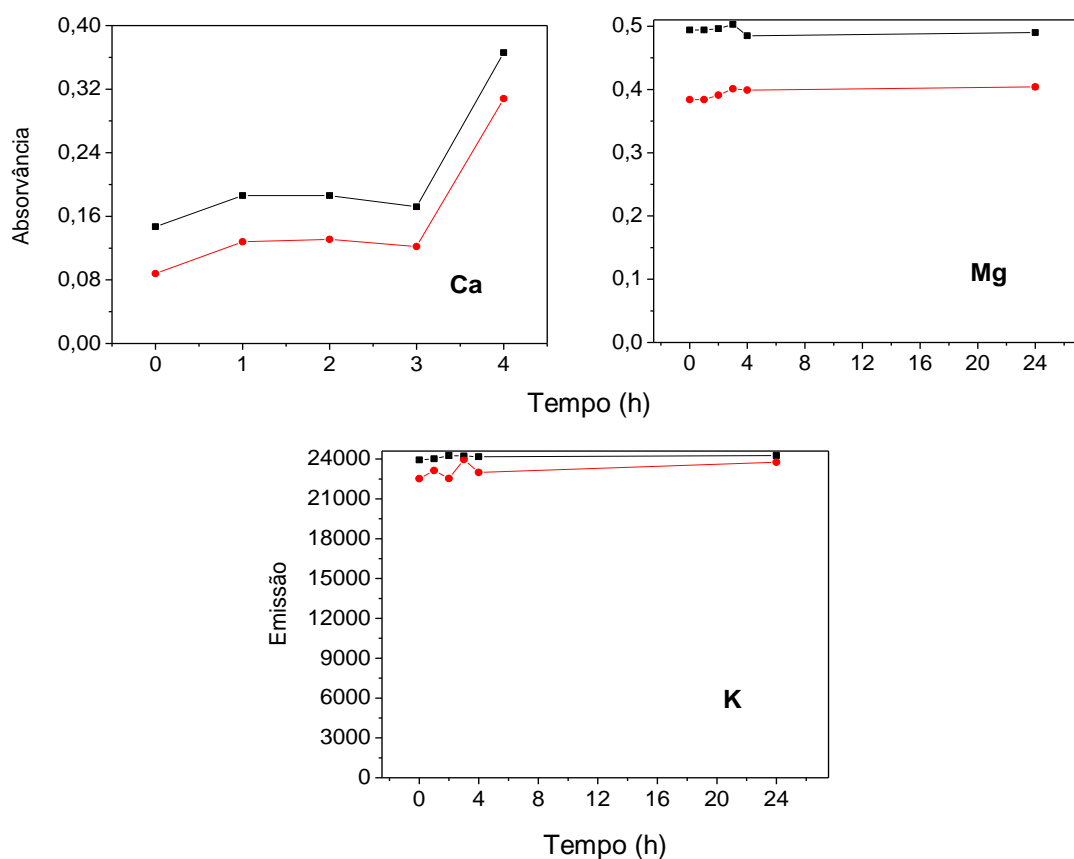
Através da comparação das inclinações das curvas obtidas é possível concluir que para Ca e Mg não há grande influência da matriz, após a solubilização em água, possibilitando assim o uso da calibração externa, como demonstrado anteriormente

pelos valores de inclinação obtidos com cada curva. E para o K é observada uma maior influência da matriz, desta forma, pode-se concluir que a escolha pela calibração em presença da matriz para este analito é a mais adequada.

### 5.1.3 Estabilidade dos analitos

A avaliação da estabilidade dos analitos em um procedimento de preparo da amostra é uma etapa muito importante, para posterior aplicação do método em análise de rotina. Para este estudo, as amostras solubilizadas em água foram enriquecidas com  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca;  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Mg e  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$  de K. Para fins de comparação, também foram monitoradas as intensidades dos sinais analíticos para soluções aquosas com adição das mesmas concentrações feitas nas amostras. A estabilidade dos analitos (Ca, Mg e K) foi avaliada durante um período de 4h, com intervalos de medida de aproximadamente 1h e para os metais que se mantiveram estáveis durante este período, também foi realizada uma leitura após 24h.

Na Fig. 15 estão os resultados obtidos para avaliação da estabilidade dos analitos Ca, Mg e K na glicerina bruta **A** solubilizada em água ao longo do tempo.



**Figura 15** – Efeito da estabilidade no sinal analítico de Ca, Mg e K; em (—■—) Glicerina bruta **A** solubilizada em água contendo  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca;  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Mg e  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$  de K; em (—●—) Padrão aquoso contendo  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca;  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Mg e  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$  de K.

Conforme os resultados demonstrados na Fig. 15, pode-se concluir que a solubilização direta da glicerina em água proporcionou uma boa estabilidade para os analitos Mg e K que permaneceram estáveis durante 24h, sendo assim, suas determinações devem ser feitas dentro deste intervalo de tempo avaliado, já o Ca deve ser analisado respeitando um período máximo de 3h após o seu preparo. Os resultados obtidos para os três elementos foram satisfatórios e demonstram a possibilidade da aplicação do método em análise de rotina.

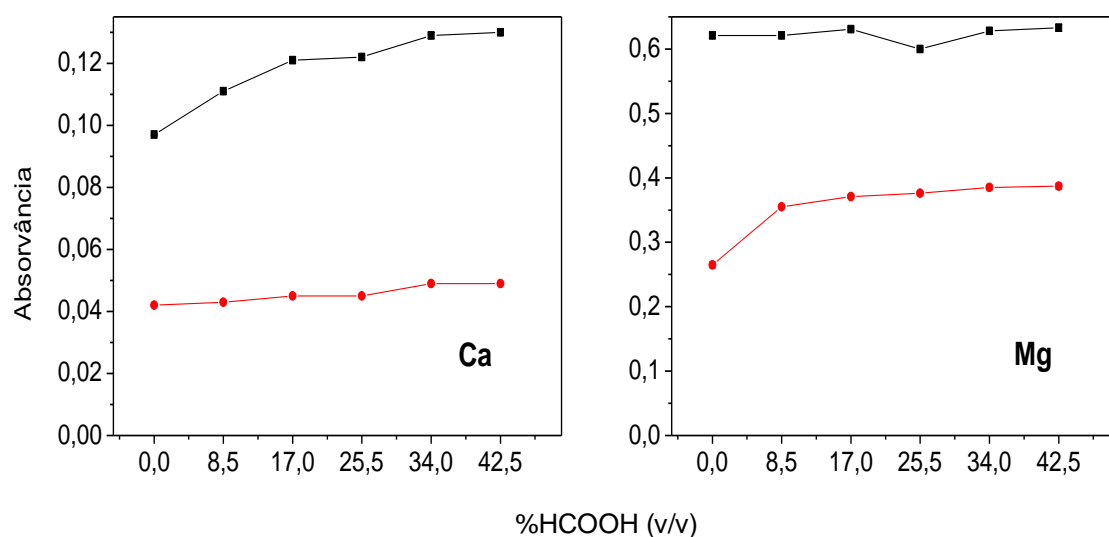
## 5.2 Solubilização em ácido fórmico

### 5.2.1 Efeito da concentração de ácido fórmico

Solventes orgânicos puros ou misturados a água são frequentemente utilizados em espectrometria atômica para separar interferentes, concentrar o analito ou aumentar o sinal. Sendo assim, optou-se por avaliar o efeito do ácido fórmico para solubilizar as amostras de glicerina bruta e purificada.<sup>65</sup> O ácido fórmico, também conhecido como ácido metanóico, cuja fórmula é  $\text{HCOOH}$  é incolor, tem ponto de ebulição de  $101^{\circ}\text{C}$  e se solubiliza em qualquer proporção em água. É um ácido orgânico que vem sendo muito utilizado em química analítica para a solubilização de amostras biológicas.<sup>66</sup>

Para avaliar qual a melhor concentração de ácido fórmico a ser utilizada, foi realizado um estudo de otimização, onde se obteve o volume ideal e a correspondente concentração de ácido fórmico na solução, os resultados estão apresentados na (Fig. 16). Foram observados os sinais de absorvância de Ca e Mg obtidos por F AAS na amostra de glicerina bruta **A** enriquecida e também os obtidos com o padrão aquoso.



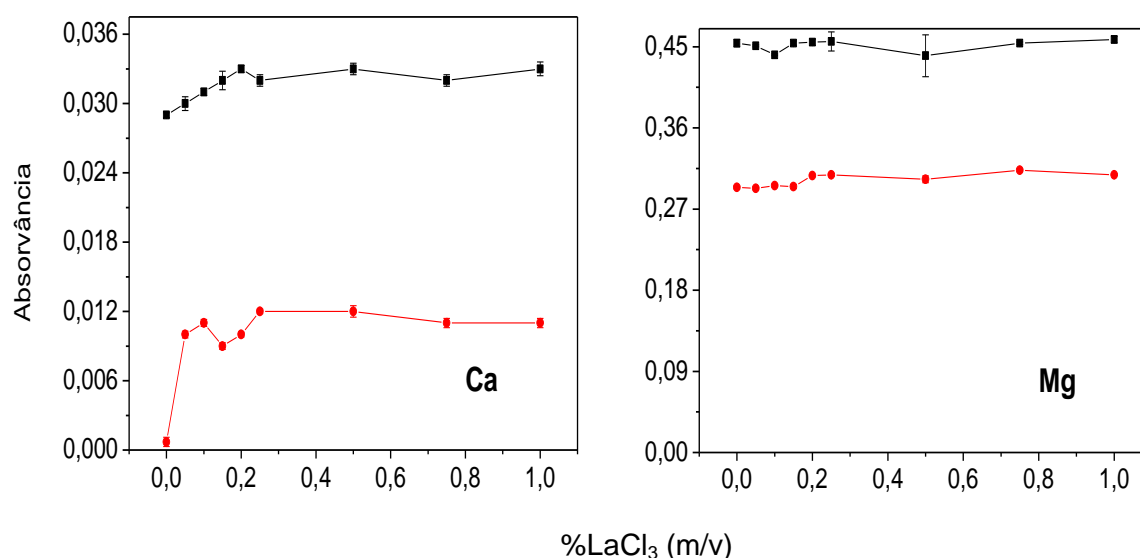


**Figura 16** - Efeito da concentração de ácido fórmico no sinal de absorvância de Ca e Mg (—■—) Glicerina bruta **A** contendo  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca e  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Mg e (—●—) Padrão aquoso contendo  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca e  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Mg.

De acordo com os resultados apresentados, pode-se observar que para o Ca, a medida que a concentração de ácido fórmico foi aumentado na solução contendo a amostra, um considerável aumento no sinal analítico ocorreu. Com 34% de ácido o sinal tornou-se estável. Para o Mg foi observado que com 17% obteve-se o sinal máximo de absorvância. De modo a utilizar a mesma concentração de ácido fórmico para a determinação dos dois analitos e sem ocasionar perda na sensibilidade, optou-se em usar no preparo da amostra o volume de 4 mL que corresponde a concentração de 34% (v/v) de ácido fórmico.

### 5.2.2 Efeito da concentração do tampão de ionização

Para determinação de Ca e Mg por F AAS usando a chama do tipo ar-acetileno, após solubilização em ácido fórmico, também foi realizada a otimização da concentração necessária de solução tampão de  $\text{LaCl}_3/\text{CsCl}$ . A Fig. 17 apresenta a influência do tampão de ionização no sinal de absorvância, sendo que as concentrações na solução estão expressas de acordo com a concentração de  $\text{LaCl}_3$  na solução tampão.



**Figura 17** - Sinal analítico de Ca e Mg em (—■—) Glicerina bruta A solubilizada em ácido fórmico contendo  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca e  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Mg em (—●—) Padrão aquoso contendo  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca e  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Mg; em diferentes concentrações do tampão de ionização  $\text{LaCl}_3$ .

Através dos resultados apresentados na Fig. 17, pode-se observar que os analitos Ca e Mg apresentaram comportamento semelhante aos resultados obtidos com a solubilização em água. A maior influência foi observada no sinal analítico do Ca, a partir de 0,50% (m/v) de  $\text{LaCl}_3$  obteve-se um sinal de absorvância praticamente estável na amostra, sendo assim, esta a concentração escolhida para a sua determinação. No entanto, para o Mg, a presença do tampão apresentou menor influência no sinal de absorvância. A concentração de 0,25% (m/v) de  $\text{LaCl}_3$  foi escolhida para o preparo utilizando ácido fórmico na determinação de Mg em glicerina por F AAS.

### 5.2.3 Influência da matriz

A influência da matriz no preparo utilizando a solubilização em ácido fórmico, foi avaliada por meio da observação dos valores obtidos para as inclinações das curvas de adição do analito em diferentes amostras com diferentes viscosidades, amostras de glicerina bruta (amostras A, B e D) e de glicerina purificada (amostras 1

e 2). As curvas de adição foram preparadas pela adição de volumes adequados de padrões aquosos inorgânicos de Ca e Mg nas amostras de glicerina e os resultados obtidos estão apresentados na (Tab. 5).

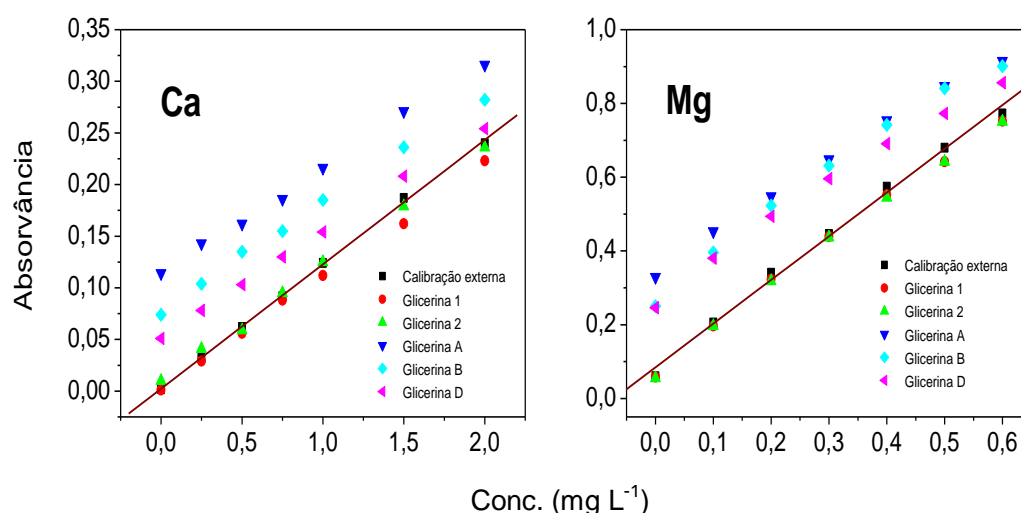
**Tabela 5** – Valores das inclinações das curvas de adição em amostras de glicerina bruta e purificadas, obtidas para Ca e Mg por FAAS utilizando o procedimento com solubilização em ácido fórmico e calibração externa.

| Glicerina          | Inclinação (L mg <sup>-1</sup> ) |        |
|--------------------|----------------------------------|--------|
|                    | Ca                               | Mg     |
| 1                  | 0,1098                           | 1,1441 |
| 2                  | 0,1126                           | 1,1440 |
| A                  | 0,1016                           | 1,0269 |
| B                  | 0,1069                           | 1,1769 |
| D                  | 0,1032                           | 1,0771 |
| Calibração Externa | 0,1206                           | 1,1832 |

1 e 2 = amostras de glicerina purificada; A, B e D = amostras de glicerina bruta.

Os resultados apresentados demonstram que a diferença entre as inclinações obtidas em diferentes curvas é pequena, mas conforme descrito anteriormente no item 5.1.2, não foram aplicados testes estatísticos para avaliar a influência da matriz. Desta forma, optou-se em utilizar a calibração em meio de glicerina purificada (1), pois esta apresentou o valor de inclinação mais próximo ao da glicerina bruta principalmente para o Ca.

As curvas obtidas com as diferentes amostras de glicerina e com calibração externa estão demonstradas na (Fig 18).

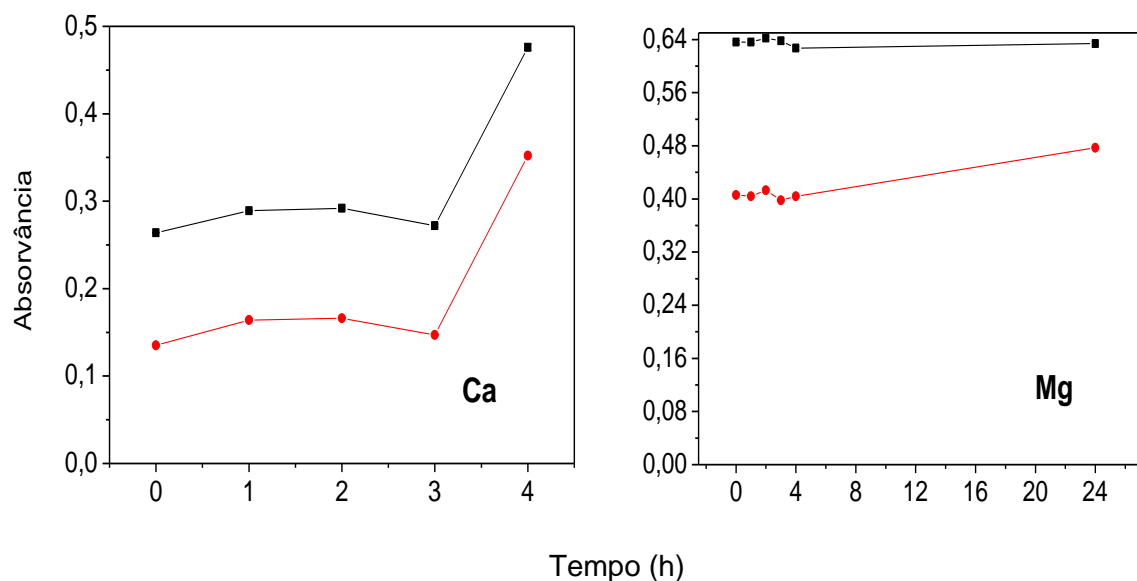


**Figura 18** – Curvas de adição de Ca e Mg obtidas para as diferentes amostras de glicerina: 1 (●) , 2 (▲), A (▼), B (◆) e D (◄) após a solubilização em ácido fórmico e a curva obtida com calibração externa (■) .

Através das curvas obtidas é possível concluir que para Ca e Mg as inclinações obtidas foram semelhantes entre as diferentes amostras, após a solubilização em ácido fórmico, possibilitando assim o uso da glicerina purificada (1), para um ajuste de viscosidade na calibração, sendo este, um resultado concordante com os demonstrados anteriormente pelos valores de inclinação obtidos com cada curva.

#### 5.2.4 Estabilidade dos analitos

Para avaliar a estabilidade dos analitos após a solubilização em ácido fórmico, as soluções foram enriquecidas com 0,75 mg L<sup>-1</sup> de Ca e 0,3 mg L<sup>-1</sup> de Mg, e foram monitoradas as intensidades dos sinais analíticos. A estabilidade dos analitos (Ca e Mg) foi avaliada durante um período de 4h, com intervalos de medida de aproximadamente 1h e para o Mg que se manteve estável durante este período, também foi realizada uma leitura após 24h. A Fig. 19 demonstra os resultados obtidos para avaliação da estabilidade dos analitos Ca e Mg na glicerina bruta A solubilizada em ácido fórmico ao longo do tempo.



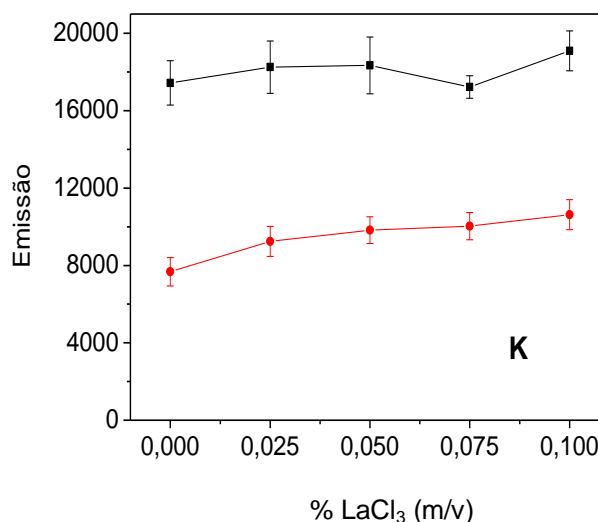
**Figura 19** – Efeito da estabilidade no sinal analítico de Ca e Mg em (—■—) Glicerina bruta **A** solubilizada em ácido fórmico contendo  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca e  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Mg em (—●—) Padrão aquoso contendo  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca e  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de Mg.

Através dos resultados obtidos, pode-se concluir que a solubilização com ácido fórmico apresentou comportamento semelhante à solubilização direta da glicerina em água, já que o Mg permaneceu estável na solução contendo a amostra durante todo o intervalo avaliado e o Ca durante um período de 3h.

### 5.3 Solubilização em etanol

#### 5.3.1 Efeito da concentração do tampão de ionização

Para determinação de K por F AES usando a chama do tipo ar-acetileno, após a solubilização das amostras em etanol, foi realizada a otimização da concentração necessária de solução tampão de  $\text{LaCl}_3/\text{CsCl}$ . A Fig. 20 apresenta a influência do tampão de ionização no sinal de emissão, sendo que as concentrações na solução estão expressas de acordo com a concentração de  $\text{LaCl}_3$  na solução tampão.



**Figura 20** - Sinal analítico de K em (—■—) Glicerina bruta **A** solubilizada em etanol contendo  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$  de K em (—●—) Solução padrão contendo  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$  de K; em diferentes concentrações do tampão de ionização  $\text{LaCl}_3$ .

A presença do tampão de ionização não apresentou influência significativa no sinal de emissão de K. A concentração de 0,05% (m/v) de  $\text{LaCl}_3$  foi escolhida para o preparo utilizando etanol na determinação de K em glicerina por F AES.

### 5.3.2 Influência da matriz

Álcoois de cadeia curta têm sido utilizados com sucesso no preparo de amostras, para posterior determinação de metais. Algumas vantagens de utilizar o etanol como diluente é a sua solubilidade em água, a qual permite o uso de padrões aquosos para calibração e a facilidade de purificação deste solvente, reduzindo consideravelmente os riscos de contaminação da amostra.<sup>67, 68</sup>

As propriedades físicas do solvente, como viscosidade, tensão superficial e volatilidade, apresentam maior influência no processo de nebulização pneumática. Geralmente, o tamanho médio da gotícula produzida no aerossol diminui com a redução da tensão superficial e viscosidade, e também com o aumento da volatilidade do solvente.<sup>65</sup> Desta forma, é conveniente avaliar o efeito que o etanol pode provocar durante as análises, já que o mesmo foi utilizado para solubilização

das amostras neste método. Para este estudo, foram observados os valores obtidos para as inclinações a partir de curvas de adição do analito em diferentes amostras de glicerina bruta (amostras A, B e D) e de glicerina purificada (amostras 1 e 2), que possuem diferentes viscosidades. As curvas de adição foram preparadas pela adição de volumes adequados de padrão aquoso inorgânico de K nas amostras de glicerina. Na Tab. 6, estão demonstrados os resultados obtidos.

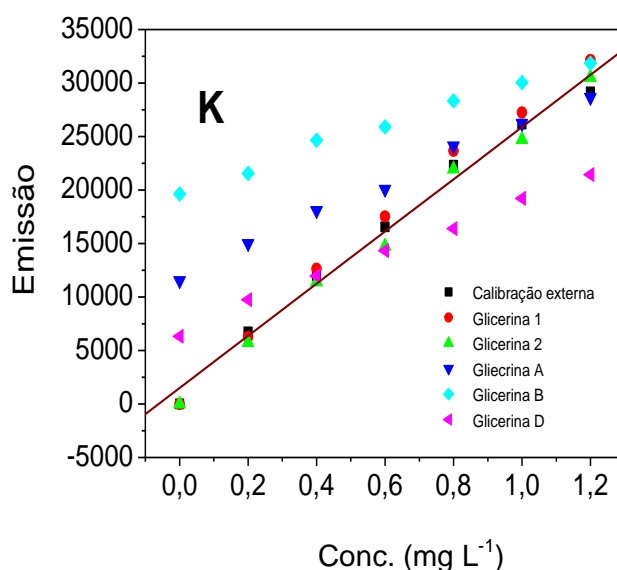
**Tabela 6** – Valores das inclinações das curvas de adição em amostras de glicerina bruta e purificada, obtidas para K por FAES utilizando o procedimento com solubilização em etanol.

| Inclinação ( $L\ mg^{-1}$ ) |         |
|-----------------------------|---------|
| Glicerina                   | K       |
| 1                           | 28054,3 |
| 2                           | 27846,9 |
| A                           | 13701,0 |
| B                           | 9836,4  |
| D                           | 16752,0 |
| Calibração Externa          | 27992,2 |

1 e 2 = amostras de glicerina purificada; A, B e D = amostras de glicerina bruta.

De acordo com os valores de inclinação apresentados na Tab. 6, foi possível observar que os mesmos diferem entre si, evidenciando desta forma o efeito de matriz em relação às diferentes amostras e a curva de calibração externa. Isto confirma que a curva de calibração externa preparada com padrões aquosos não pode ser utilizada para analisar as amostras, como também as preparadas com glicerina purificada, sendo necessário neste caso, a calibração em meio da própria amostra que está sendo analisada.

As inclinações também podem ser avaliadas através das curvas obtidas com as diferentes amostras de glicerina e calibração externa, demonstradas na (Fig. 21).



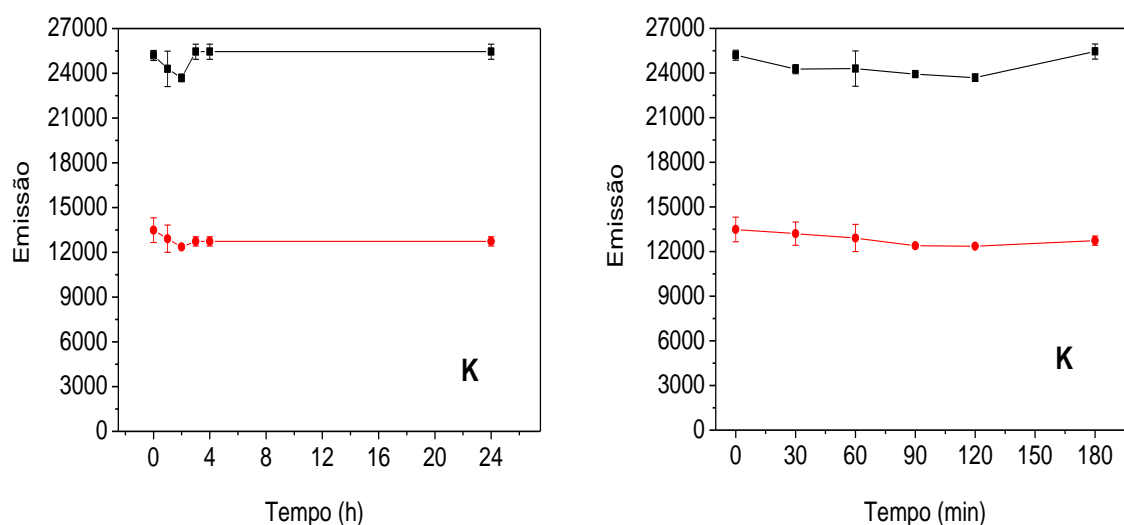
**Figura 21** – Curvas de adição de K obtidas para as diferentes amostras de glicerina: 1 (●) , 2 (▲), A (▼), B (◆) e D (◀) após a solubilização em etanol e a curva obtida com calibração externa (■) .

Através da comparação das inclinações das curvas obtidas com diferentes amostras e calibração externa, após a solubilização em etanol, é possível concluir que há o efeito de matriz na determinação de K, sendo obrigatório neste caso, o uso de calibração em presença da matriz. Desta forma, pode-se concluir também que os resultados obtidos pela observação dos valores de inclinação foram concordantes.

### 5.3.3 Estabilidade do analito

A estabilidade do K em etanol foi avaliada através da intensidade do sinal analítico de soluções enriquecidas com 0,6 mg L<sup>-1</sup> de K e também na presença da amostra. A avaliação da estabilidade foi realizada durante um período de 4h, com intervalos de medida de aproximadamente 1h. Como o analito se manteve estável neste período, também foi realizada uma leitura do sinal após 24h de preparo. Os resultados obtidos neste estudo são apresentados na (Fig. 22).





**Figura 22** – Efeito da estabilidade no sinal analítico de K em (—■—) Glicerina bruta **A** solubilizada em etanol contendo  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$  de K em (—●—) Solução padrão contendo  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$  de K.

Os resultados obtidos demonstram um comportamento aparentemente estável durante o período de 24h, mas como as leituras com intervalos de 1h durante 3h apresentaram algumas oscilações, para o K em etanol também são apresentados os resultados com leituras de 30min durante o período de 3h, o que demonstrou que não houve grande variação neste intervalo de leituras. Desta forma, pode-se concluir que o K permaneceu estável em solução durante o período avaliado de 24h.

#### 5.4 Parâmetros de mérito

Na Tab. 7 estão os parâmetros de mérito obtidos para as análises de glicerina bruta por F AAS (Ca e Mg) e F AES (K), usando os três métodos: solubilização em água (método proposto), solubilização em ácido fórmico e em etanol (métodos para comparação dos resultados). As curvas de calibração utilizadas para obtenção destes parâmetros foram preparadas de acordo com os resultados obtidos na avaliação de influência da matriz para cada procedimento.

**Tabela 7** – Parâmetros de mérito para as análises de amostras de glicerina por técnicas de espectrometria atômica.

| <b>Água</b>          |                                     |       |                                       |  |   |                             |
|----------------------|-------------------------------------|-------|---------------------------------------|--|---|-----------------------------|
| Analito              | Inclinação<br>(L mg <sup>-1</sup> ) | R     | Faixa linear<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | LD <sup>a</sup><br>(mg L <sup>-1</sup> ) | LD <sup>b</sup><br>(mg kg <sup>-1</sup> ) | LQ<br>(mg L <sup>-1</sup> ) |
| Ca                   | 0,1512                              | 0,998 | 0,25 – 2,0                            | 0,006                                    | 0,315                                     | 0,021                       |
| Mg                   | 1,3049                              | 0,996 | 0,1 – 0,6                             | 0,001                                    | 0,059                                     | 0,004                       |
| K                    | 11452,6                             | 0,995 | 0,2 – 1,2                             | 0,003                                    | 0,157                                     | 0,010                       |
| <b>Ácido Fórmico</b> |                                     |       |                                       |  |   |                             |
| Analito              | Inclinação<br>(L mg <sup>-1</sup> ) | R     | Faixa linear<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | LD <sup>a</sup><br>(mg L <sup>-1</sup> ) | LD <sup>b</sup><br>(mg kg <sup>-1</sup> ) | LQ<br>(mg L <sup>-1</sup> ) |
| Ca                   | 0,1399                              | 0,999 | 0,25 – 2,0                            | 0,066                                    | 1,329                                     | 0,221                       |
| Mg                   | 1,2244                              | 0,996 | 0,1 – 0,6                             | 0,006                                    | 0,122                                     | 0,020                       |
| <b>Etanol</b>        |                                     |       |                                       |  |   |                             |
| Analito              | Inclinação<br>(L mg <sup>-1</sup> ) | R     | Faixa linear<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | LD <sup>a</sup><br>(mg L <sup>-1</sup> ) | LD <sup>b</sup><br>(mg kg <sup>-1</sup> ) | LQ<br>(mg L <sup>-1</sup> ) |
| K                    | 12904,9                             | 0,997 | 0,2 – 1,2                             | 0,004                                    | 0,214                                     | 0,014                       |

R: Coeficiente de correlação linear; LD<sup>a</sup>: Limite de Detecção instrumental; LD<sup>b</sup>: Limite de Detecção do método; LQ: Limite de Quantificação.

Todas as curvas de calibração foram preparadas com seis pontos. A faixa de trabalho utilizada para todos os analitos mostrou-se adequada para os procedimentos propostos, já que o limite superior para cada analito não ultrapassou o indicado pelo fabricante para a técnica, e os limites inferiores estão todos acima dos limites de quantificação obtidos. Os métodos apresentaram também uma faixa linear de trabalho, demonstrada através de uma boa correlação linear ( $R > 0,99$ ).

Os limites de detecção e quantificação obtidos pelos métodos mostraram-se adequados para quantificação de metais em glicerina bruta. Na solubilização em água os limites de quantificação obtidos foram inferiores aos obtidos pelos métodos de comparação (solubilização em ácido fórmico e em etanol), para os três analitos, demonstrando assim a possibilidade de determinação de concentrações mais baixas com este método.

A sensibilidade do método proposto (solubilização em água) foi similar a obtida pelo método de comparação para os três analitos (Ca, Mg e K), isto pode ser observado através das inclinações obtidas com cada método.

## **5.5 Verificação da exatidão**

### **5.5.1 Ensaios de recuperação**

Como já mencionado anteriormente, devido à indisponibilidade de material de referência certificado para glicerina, além de comparar os resultados obtidos entre os métodos, optou-se em utilizar o ensaio de recuperação para avaliar a exatidão dos métodos analíticos desenvolvidos. Para isso, adições de analito, em três níveis de concentração, foram realizadas em quatro amostras: uma glicerina purificada (1), e três amostras de glicerina bruta (A, C e D). Os valores adicionados e as concentrações medidas estão expressos na (Tab. 8).

**Tabela 8** - Concentrações medidas de Ca e Mg por F AAS e K por F AES ( $\text{mg L}^{-1} \pm \text{SD}$ ,  $n=3$ ) em amostras de glicerina bruta e purificada.

| Adições ( $\text{mg L}^{-1}$ ) |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Ca                             |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| Água                           |                 |                 |                 | Ácido fórmico   |                 |                 |
| Glicerina                      | 0,25            | 0,75            | 1,50            | 0,25            | 0,75            | 1,50            |
| 1                              | $0,28 \pm 0,01$ | $0,81 \pm 0,01$ | $1,54 \pm 0,01$ | $0,25 \pm 0,02$ | $0,78 \pm 0,01$ | $1,48 \pm 0,02$ |
| A                              | $0,25 \pm 0,01$ | $0,77 \pm 0,02$ | $1,53 \pm 0,01$ | $0,24 \pm 0,01$ | $0,75 \pm 0,05$ | $1,49 \pm 0,10$ |
| C                              | $0,25 \pm 0,02$ | $0,75 \pm 0,01$ | $1,47 \pm 0,01$ | $0,26 \pm 0,02$ | $0,85 \pm 0,01$ | $1,62 \pm 0,11$ |
| D                              | $0,23 \pm 0,01$ | $0,74 \pm 0,03$ | $1,55 \pm 0,02$ | $0,26 \pm 0,02$ | $0,77 \pm 0,05$ | $1,51 \pm 0,01$ |
| Mg                             |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| Água                           |                 |                 |                 | Ácido fórmico   |                 |                 |
| Glicerina                      | 0,20            | 0,40            | 0,50            | 0,20            | 0,40            | 0,50            |
| 1                              | $0,20 \pm 0,01$ | $0,42 \pm 0,01$ | $0,51 \pm 0,01$ | $0,21 \pm 0,01$ | $0,41 \pm 0,01$ | $0,50 \pm 0,01$ |
| A                              | $0,23 \pm 0,01$ | $0,43 \pm 0,01$ | $0,51 \pm 0,01$ | $0,19 \pm 0,01$ | $0,37 \pm 0,01$ | $0,51 \pm 0,03$ |
| C                              | $0,23 \pm 0,01$ | $0,44 \pm 0,01$ | $0,53 \pm 0,01$ | $0,21 \pm 0,01$ | $0,38 \pm 0,01$ | $0,45 \pm 0,01$ |
| D                              | $0,23 \pm 0,01$ | $0,44 \pm 0,01$ | $0,53 \pm 0,01$ | $0,21 \pm 0,01$ | $0,39 \pm 0,02$ | $0,47 \pm 0,01$ |
| K                              |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| Água                           |                 |                 |                 | Etanol          |                 |                 |
| Glicerina                      | 0,20            | 0,60            | 1,0             | 0,20            | 0,60            | 1,0             |
| 1                              | $0,20 \pm 0,01$ | $0,64 \pm 0,01$ | $0,99 \pm 0,01$ | $0,20 \pm 0,01$ | $0,61 \pm 0,01$ | $0,98 \pm 0,01$ |
| A                              | $0,23 \pm 0,01$ | $0,64 \pm 0,01$ | $0,99 \pm 0,01$ | $0,21 \pm 0,01$ | $0,56 \pm 0,01$ | $0,96 \pm 0,01$ |
| C                              | $0,22 \pm 0,01$ | $0,63 \pm 0,02$ | $0,95 \pm 0,01$ | $0,20 \pm 0,01$ | $0,58 \pm 0,01$ | $1,01 \pm 0,06$ |
| D                              | $0,23 \pm 0,01$ | $0,64 \pm 0,01$ | $0,97 \pm 0,01$ | $0,20 \pm 0,01$ | $0,61 \pm 0,01$ | $1,04 \pm 0,01$ |

1 = amostra de glicerina purificada; A, C e D = amostras de glicerina bruta.

As recuperações variaram de 90 a 115%, indicando a exatidão dos métodos avaliados e os valores de desvio padrão relativo (RSD) foram menores que 8%, demonstrando assim uma boa precisão. Através dos resultados obtidos conclui-se que a determinação de Ca, Mg e K em amostras de glicerina com solubilização em diferentes solventes é eficiente.

### 5.5.2 Aplicação analítica

As concentrações encontradas nas amostras de glicerina bruta por análise em F AAS e F AES, após solubilização em água, ácido fórmico e etanol, estão expressas na Tab. 9, juntamente com seu respectivo desvio padrão, para comparação dos resultados obtidos entre ambos os métodos.

**Tabela 9** – Concentrações ( $\text{mg kg}^{-1} \pm \text{SD}$ ) de Ca, Mg e K obtidas em amostras de glicerina bruta (n=5) utilizando os três métodos.

|           | Água             | Ácido fórmico    |
|-----------|------------------|------------------|
| Glicerina | Ca               |                  |
| A         | $20,00 \pm 1,48$ | $19,46 \pm 1,07$ |
| B         | $10,63 \pm 0,95$ | $11,30 \pm 0,54$ |
| C         | $11,13 \pm 0,77$ | $11,20 \pm 0,70$ |
| D         | $7,01 \pm 0,60$  | $7,40 \pm 0,32$  |
|           | Água             | Ácido fórmico    |
| Glicerina | Mg               |                  |
| A         | $4,53 \pm 0,09$  | $4,42 \pm 0,08$  |
| B         | $2,25 \pm 0,08$  | $2,64 \pm 0,07$  |
| C         | $3,10 \pm 0,07$  | $3,46 \pm 0,09$  |
| D         | $2,73 \pm 0,07$  | $2,86 \pm 0,03$  |
|           | Água             | Etanol           |
| Glicerina | K                |                  |
| A         | $14,40 \pm 0,17$ | $14,10 \pm 0,20$ |
| B         | $39,42 \pm 0,30$ | $39,05 \pm 0,95$ |
| C         | $10,70 \pm 0,11$ | $10,90 \pm 0,87$ |
| D         | $8,90 \pm 0,25$  | $9,25 \pm 0,55$  |

A, B, C e D = amostras de glicerina bruta.

De acordo com os resultados apresentados na Tab. 9, é possível observar que a quantidade dos analitos variaram entre as amostras, isto se deve ao tipo de matéria prima e reagentes utilizados na produção do biodiesel. O K e o Ca

apresentaram concentrações expressivas e este tipo de informação é relevante quando utilizada a glicerina bruta na aplicação de novos produtos.

Para a avaliação da exatidão dos resultados fornecidos pelo método proposto de solubilização em água, as concentrações obtidas em cada replicata (em um total de 5) por este e pelos métodos utilizando ácido fórmico e etanol, foram submetidas ao teste t de *Student* pareado com nível de confiança de 95%, onde foram comparados o ( $t_{cal}$  e  $t_{tab}$ ), por exemplo, na amostra **A** para determinação de Ca foi obtido um ( $t_{cal} = 1,53$ ), para o Mg ( $t_{cal} = 1,22$ ) e para o K ( $t_{cal} = 1,60$ ) estes foram comparados com o ( $t_{tab} = 2,77$ ), como todos os valores calculados foram menores que o tabelado, pode-se afirmar que não existe diferença significativa entre resultados fornecidos pelos métodos avaliados, todas as amostras analisadas indicaram que não havia diferença entre os resultados, demonstrando novamente a exatidão do método proposto. O RSD < 8,9 demonstra uma precisão adequada aos métodos, por se tratar de uma matriz complexa.

Os resultados obtidos demonstram que as condições otimizadas para cada método foram adequadas para determinação de Ca, Mg e K em amostras de glicerina, com precisão e exatidão. Sendo assim, o método proposto de solubilização em água, apresenta grande potencial para ser utilizado em análise de rotina.

Os métodos desenvolvidos também foram testados para a determinação de Na em amostras de glicerina, mas devido as altas concentrações encontradas na ordem de ( $g\ kg^{-1}$ ) foram necessários altos fatores de diluição, o que pode ter ocasionado erros sistemáticos, os quais não possibilitaram que os resultados fossem aprovados pelo teste estatístico.

## 6 CONCLUSÕES

A ampliação do mercado, muitas vezes não é acompanhada pela formalidade para criação de documentos regulatórios e nem pelo desenvolvimento de novos métodos analíticos que atendam a demanda. Essa diferença entre a necessidade e o desenvolvimento é, portanto, um constante desafio, tanto para os órgãos reguladores, quanto para os setores de pesquisa e desenvolvimento. Neste sentido, o desenvolvimento de métodos analíticos capazes de atender às necessidades atuais do mercado é oportuno, principalmente por permitir o aprimoramento do controle de qualidade.

O monitoramento de metais é de extrema importância em amostras de glicerina independente do seu grau de pureza, considerando sua posterior aplicação como um componente de diferentes produtos. Através dos resultados apresentados neste trabalho, pode-se concluir que os métodos desenvolvidos são capazes de associar a necessidade do desenvolvimento de métodos simples, rápidos e de baixo custo. Além disso, este tipo de proposta torna-se ainda mais interessante, pois possibilita que o consumidor final receba um produto de melhor qualidade. Desta forma, os resultados apresentados contribuem grandemente com os interesses do consumidor final.

Os resultados obtidos com a solubilização em água apresentaram boa concordância com os resultados das análises nas amostras solubilizadas com ácido fórmico e etanol, demonstrando assim a exatidão do método, além da simplicidade. Este trabalho abre oportunidade para desenvolvimento de projetos futuros como aplicação para diferentes analitos de interesse.

## 7 REFERÊNCIAS

- 1 - CONCEIÇÃO, M. M.; CANDEIA, R. A.; DANTAS, H. J.; SOLEDADE, L. E. B.; FERNANDES Jr., V. J.; SOUZA, A. G. Rheological behavior of Castor Oil Biodiesel. *Energy & Fuels*, v.19, p. 2185-2188, 2005.
- 2 - PINTO A. C.; GUARIEIRO L. L. N.; REZENDE M. J. C.; RIBEIRO N. M.; TORRES E. A.; LOPES W. A.; PEREIRA P. A. P.; ANDRADE J. B. Biodiesel: An Overview. *Journal Brazilian Chemical Society*, v. 16-6B, p. 1313-1330, 2005.
- 3 - RAMADHAS, A. S.; JAYARAJ, S.; MURALEEDHARAN, C. Use of vegetable oils as I.C. engine fuels - A review. *Renewable Energy*, v. 29, p. 727-742, 2004.
- 4 - WENLEI, X.; XIAOMING H. Synthesis of biodiesel from soybean oil using heterogeneous KF / ZnO catalyst. *Catalysis Letters*, v.107, p. 53-59, 2006.
- 5 - FELIZARDO, P.; CORREIA, M. J. N.; RAPOSO, I.; MENDES, J. F.; BERKEMEIER, R.; BORDADO, J. M. Production of biodiesel from waste frying oils. *Waste Management*, v. 26, p. 487- 494, 2006.
- 6 - ENCIMAR. J. M.; GONZALEZ. J. F.; RODRÍGUEZ, J. J.; TEJEDOR, A. Biodiesel fuels from vegetable oils: transesterification of *Cynara cardunculus* L. oils with ethanol. *Energy & Fuels*, v. 16, p. 443-450, 2002.
- 7 - MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. Disponível em: <[http://www.mme.gov.br/programas/biodiesel/menu/programa/objetivos\\_diretrizes.html](http://www.mme.gov.br/programas/biodiesel/menu/programa/objetivos_diretrizes.html)>. Acesso em: 10 mar. 2014.
- 8 - MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. Disponível em: <[http://www.mme.gov.br/mme/galerias/arquivos/conselhos\\_comite/CNPE/resolucao\\_2009/Resoluxo\\_6\\_CNPE.pdf](http://www.mme.gov.br/mme/galerias/arquivos/conselhos_comite/CNPE/resolucao_2009/Resoluxo_6_CNPE.pdf)>. Acesso em: 10 mar. 2014.
- 9 - ASSOCIAÇÃO DOS PRODUTORES DE BIODIESEL DO BRASIL. Disponível em: < <http://www.aprobio.com.br/midia.html#biomassa>>. Acesso em: 11 mar. 2014.



- 10 - SALVADOR A. F.; MACHADO, A. S.; SANTOS E. P. Purificação da glicerina bruta vegetal, Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, Brasília, agosto, 2006. Disponível em: <[www.biodiesel.gov.br/Coprodutos/Purificacao4, pdf](http://www.biodiesel.gov.br/Coprodutos/Purificacao4.pdf)> Acesso em: 15 mar. 2014.
- 11 - KNOTHE G.; GERPEN J. V.; KRAHL J.; RAMOS L. P. Manual de Biodiesel, 1ª ed, Edgard Blucher Ltda, São Paulo, 2008.
- 12 - KLEPÁCOVÁ, K.; MRAVEC, D.; KASZONYI, A.; BAJUS, M. Etherification of glycerol and ethylene glycol by isobutylene. Applied Catalysis A: General, v. 328, p. 1-13, 2007.
- 13 - BIODIESELBR. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/noticias/usinas/glicerina/glicerina-residuo-biodiesel-pesquisas-040712.htm>> . Acesso em: 20 mar. 2014.
- 14 - GERPEN J. V. Biodiesel processing and production. Fuel Processing Technology, v. 86, p. 1097-1107, 2005.
- 15 - FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SACBIO, A. Biodiesel de soja – Taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. Química Nova, v. 28-1, p.19-23, 2005.
- 16 - MAHAJAN, S.; KONAR, S.; BOOCOOCK, D. Variables Affecting the Production of Standard Biodiesel. Journal of the American Oil Chemists' Society, v. 84, p. 189-195, 2007.
- 17 - WANG, Z. X.; ZHUGE, J.; FANG, H.; PRIOR, B. A. Glycerol production by microbial fermentation: A review. Biotechnology Advances, v.19, p. 201-223, 2001.
- 18 - HESTER, A. Microbial glycerol. Industrial Bioprocess. v.22- 4, p. 3-5, 2000.

- 19 - LÓPES, F. D.; REVILLA, J. L. G.; MUNILLA, M. H. Glicerol. Manual dos derivados da cana de açúcar: diversificação, matérias-primas, derivados do bagaço do melaço, outros derivados, resíduos, energia. Brasília: ABIPTI, cap. 5.4, p 393-397, 1999.
- 20 - RAMOS, L. P.; KUČEK, K. T.; DOMINGOS, A. K.; WILHEIM, H. Biodiesel: Um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil. *Biotechnologia Ciência e Desenvolvimento*, nº 31, jul-dez/ 2003.
- 21 - QUINTELLA, C. M.; TEIXEIRA, L. S. G.; KORN, M. G. A.; NETO, P. R. C., TORRES, E. A.; CASTRO, M. P.; JESUS, C. A. C. Cadeia do biodiesel da bancada à indústria: uma visão geral com prospecção de tarefas e oportunidades para P&D&I. *Química Nova*, v. 32, p. 793-808, 2009.
- 22 - VYAS, A. P.; VERMA, J. L.; SUBRAHMANYAM, N. A review on FAME production processes. *Fuel*, v. 89, p. 1–9, 2010.
- 23 - KEERA, S.T.; EL SABAGH, S. M.; TAMAN, A. R. Transesterification of vegetable oil to biodiesel fuel using alkaline catalyst. *Fuel*, v. 90, p. 42–47, 2011.
- 24 - MEHER, L. C.; DHARMAGADDA, V. S. S.; NAIK, S. N.; Optimization of alkali-catalyzed transesterification of *Pongamia pinnata* oil for production of biodiesel. *Bioresource Technology*. v. 97, p. 1392-1397, 2006b.
- 25 - KARMEE, S. K.; CHADA, A. Preparation of biodiesel from crude oil of *Pongamia pinnata*. *Bioresource Technology*. v. 96, p. 1425-1429, 2005.
- 26 - MARCHETTI, J. M.; MIGUEL, V. U.; A. F. Possible methods for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 11-6, p. 1300-1311, 2007.
- 27 - DEMIBRAS, A.; Combustion characteristics of different biomass fuels. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 30, p. 220-229, 2005.

- 28 - VICENTE, G.; MARTÍNEZ, M.; ARACIL, J. Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysts systems. *Bioresource Technology*, v. 92, p. 297-305, 2004.
- 29 - FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 92, p. 405-416, 2001.
- 30 - PARENTE, E. J. S. Biodiesel: Uma aventura tecnológica num país engraçado. Fortaleza: Unigráfica, p. 28, 2003.
- 31 - TN SUSTENTÁVEL. Disponível em: <<http://www.tnsustentavel.com.br/biodiesel>>. Acesso em: 22 mar. 2014.
- 32 - TAN, H. W.; AZIZN, A. A. R.; AROUA, M. K. Glycerol production and its applications as a raw material: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 27, p.118–127, 2013.
- 33 - AYOUB, M.; ABDULLAH, A. Z. Critical review on the current scenario and significance of crude glycerol resulting from biodiesel industry towards more sustainable renewable energy industry. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 16, p. 2671– 2686, 2012.
- 34 - MOTA C. J. A., SILVA C. X. A., GONÇALVES V. L. C., Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel, *Química Nova*, v. 32, p. 639-648, 2009.
- 35 - BARROS, T. D. Glicerol. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fj1mqgo602wyiv802hvm3j818huet.html>>. Acesso em: 22 mar. 2014.
- 36 - BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J. K.; LIMA, D. P. Glicerol: Um breve histórico e aplicações em sínteses estereoseletivas. *Química Nova*, v. 34-2, p. 306-319, 2011.

37 - LEONETI, A. B.; LEONETI V. A.; OLIVEIRA, S. V. W. B. Glycerol as a by-product of biodiesel production in Brazil: Alternatives for the use of unrefined glycerol. *Renewable Energy*, v. 45, p. 138-145, 2012.

38 - RESOLUÇÃO Nº 386 DE 5 DE AGOSTO DE 1999. Disponível em: <[www.anvisa.gov.br/alimentos/aditivos\\_alimentares.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/aditivos_alimentares.htm)>. Acesso em: 24 de mar. 2014.

39 - BRISSON, D; VOHL, MC; ST-PIERRE, J; HUDSON, TJ; GAUDET, D. Glycerol: a neglected variable in metabolic process? *BioEssays*, v. 23, p. 534-542, 2001.

40 - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Disponível em:< [www.anp.gov.br/?dw=8740](http://www.anp.gov.br/?dw=8740)>. Acesso em: 27 de mar. 2014.

41 - QUISPE, C. A. G.; .CORONADO, C. J. R.; CARVALHO, J. A. Glycerol: Production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.27, p. 475–493, 2013.

42 - BIODIESELBR. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/noticias/usinas/glicerina/glicerina-residuo-biodiesel-pesquisas-040712.htm>>. Acesso em: 28 mar. 2014.

43 - BIODIESELBR. Disponível em: < <http://www.biodieselbr.com/noticias/bio/glicerina-co-produto-biodiesel-vira-etanol-03-07-07.htm> >. Acesso em: 30 mar. 2014.

44 - CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S.; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S.; MATTOSO, L. H. C. Estudo Comparativo de Amidos Termoplásticos Derivados do Milho com Diferentes Teores de Amilose. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 15-4, p. 268-273, 2005.

45 - BIODIESELBR. Disponível em: < <http://www.biodieselbr.com/noticias/bio/pesquisa-transforma-glicerina-gas-metano-27-03-08.htm> >. Acesso em: 30 mar. 2014.

- 46 - AYOUB, M.; KHAYOON, M. S.; ABDULLAH, A Z. Synthesis of oxygenated fuel additives via the solventless etherification of glycerol. *Bioresource Technology*, v. 112, p. 308–312, 2012.
- 47 - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). GENPA 80 GRANOL. Ingrediente vegetal, Código SIF: RS-15127. Porto Alegre - RS, 2010.
- 48 - DONKIN, S.S. Glycerol from biodiesel production: the new corn for dairy cattle. *Revista Brasileira Zootecnia*, v.37, p.280-286, 2008.
- 49 - LÔBO, I.P.; FERREIRA, S.L.C.; CRUZ, R.S. Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Quim.Nova*, v. 32-6, p.1596-1608, 2009.
- 50 - THOMPSON, J.C., HE, B. B., Characterization of crude glycerol from production from multiple feedstocks, *Applied Engineering in Agriculture*, v. 22, p. 261-265, 2006.
- 51 - OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. *Journal Brazilian Chemical Society*, v. 14-2, p.174-182, 2003.
- 52 - ARRUDA, M. A. Z.; SANTELLI, R. E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. *Química. Nova*, v. 20- 6, p. 638-643, 1997.
- 53 - CAVICCHIOLI, A.; GUTZ, I. G. R. O. Uso de radiação ultravioleta para o pré tratamento de amostras em análise inorgânica. *Química Nova*, v. 26-6, p. 913-921, 2003.
- 54 - KORN, M. G. A.; MORTE, E. S. B.; SANTOS, D. C. M. B.; CASTRO, J. T.; BARBOSA, J. T. P.; TEIXEIRA, A. P.; FERNANDES, A. P.; WELZ, B.; SANTOS, W. P. C.; SANTOS, E. B. G. N. KORN, M. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods - A Review. *Applied Spectroscopy Review*, v. 43, p. 67-92, 2008.

- 55 - CHAVES, E. S; RAMOS, J. C; FONTANA, K. B; MODOLON, S; CURTIUS, A. J; Simple and fast method for the determination of Na and K in raw glycerin from biodiesel production by flame atomic emission spectrometry. *Brazilian Journal Analytical Chemistry*, v. 1, p. 54-49, 2010.
- 56 - HARNLY J. The future of atomic absorption spectrometry: a continuum source with a charge coupled array detector. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 14, p.137-146, 1999.
- 57 - SCHUETZ, M.; MURPHY, J.; FIELDS, R. E.; HARNLY, J. M. Continuum source-atomic absorption spectrometry using a two dimensional charge-coupled device. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 55, p. 1895-1912, 2000.
- 58 - KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, O. V. *Espectrometria de absorção atômica – Parte 1 Fundamentos e atomização com chama* (2004).
- 59 - MATUSIEWICZ, H. Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 52, p. 1711–1736, 1997.
- 60 - TAYLOR L. R., PAPP R. B., POLLARD B. D., *Instrumental Methods For Determining Elements, Selection and Application*, VCH publishers, Nova York , EUA, 1994.
- 61 - TODOLÍ, J. L.; MERMET, J. M. Acid interferences in atomic spectrometry: analyte signal effects and subsequent reduction. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 54, p. 895-929, 1999.
- 62 - BARROS, A. I; OLIVEIRA, A. P; MAGALHÃES, M. R. L.; VILLA, R. D.; Determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry, with dissolution in ethanol as a single sample preparation step. *Fuel*, v. 93, p.381–384, 2012.

63 - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA, INMETRO. DOQ-CGCRE-008: 2011 - Orientação sobre validação de métodos analíticos. rev. 4, 2011. 19 p.

64 - HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. Princípios de Análise Instrumental. 6ª edição, Porto Alegre: Bookman, 2009. 1056p.

65 - MORA J., HERNADIS V., CANALS A., Influence of solvent physical properties on drop size distribution, transport and sensitivity in flame atomic absorption spectrometry with pneumatic nebulization, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v 6, p 573-579, 1996.

66 - TORMENA, L.; GIL, A. R.; FRESCURA, V. L. A.; MARTINEZ, L.D.; CURTIUS, A. J. Determination of trace elements in biological samples treated with formic acid by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry using a microconcentric nebulizer. Spectrochimica Acta Part B, v 65, p 959–966, 2010.

67 - BARROS, A. I.; OLIVEIRA, A. P.; MAGALHÃES, M. R. L.; VILLA, R. D. Determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry, with dissolution in ethanol as a single sample preparation step. Fuel, v 93, p 381–384, 2012.

68 - QUADROS, D. P. C.; RAU, M.; IDREES, M.; CHAVES, E. S.; CURTIUS, A. J.; BORGES, D. L. G. A simple and fast procedure for the determination of Al, Cu, Fe and Mn in biodiesel using high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. Spectrochimica Acta Part B, v 66, p 373–377, 2011.

## ANEXO A

**Tabela 10** – Concentração ( $\text{mg kg}^{-1} \pm \text{SD}$ ) de Mg obtida em amostras de glicerina bruta ( $n=5$ ) utilizando a solubilização em água e solubilização em etanol.

|           | Água            | Etanol          |
|-----------|-----------------|-----------------|
| Glicerina | Mg              |                 |
| <b>A</b>  | $4,36 \pm 0,08$ | $4,29 \pm 0,10$ |
| <b>B</b>  | $2,86 \pm 0,40$ | $2,99 \pm 0,05$ |
| <b>D</b>  | $2,78 \pm 0,03$ | $2,82 \pm 0,04$ |

A e B = amostras de glicerina bruta.

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste t de *Student* pareado com nível de confiança de 95%. Para amostra **A** ( $t_{\text{cal}} = 2,62$ ), para amostra **B** ( $t_{\text{cal}} = 0,93$ ), para amostra **D** ( $t_{\text{cal}} = 1,67$ ) e o ( $t_{\text{tab}} = 2,77$ ). Desta forma, pode-se concluir que não existe diferença significativa entre resultados fornecidos pelos métodos avaliados.