



DETERMINAÇÃO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA PARA AVALIAR O TEOR DE BIODIESEL EM DIESEL POR ESPECTROSCOPIA IV-FT EM PASTILHAS DE KBr

George Nogueira de Oliveira¹, Victor Augusto Araújo de Freitas², Jamal da Silva Chaar³, Larissa Silveira Moreira Wiedemann⁴

Submetido 20/12/2013 – Aceito 16/04/2014 – Publicado on-line 19/07/2014

Resumo

A obrigatoriedade da adição de 5% (v / v) de biodiesel à matriz energética brasileira através da lei 11.097 de 2005, demanda um rigoroso controle de qualidade deste biocombustível comercializado. Para tanto, diversas metodologias analíticas têm sido propostas, dentre elas, a que tem recebido destaque é a espectroscopia de infravermelho (IV-FT). Esta técnica utiliza células de transmissão e acessório ATR. Porém, estes itens acabam agregando alto custo às análises com manutenção do aparelho e peças de reposição. Uma alternativa é o uso de pastilhas de KBr. Contudo, para que a metodologia proposta possa ser utilizada, é necessário validar o método. Desta forma, foram confeccionadas curvas de calibração que foram submetidas a testes analíticos e comparadas com o método normatizado (ABNT NBR 15568:2008), a partir das correlações das curvas de calibração, testes analíticos e avaliação dos parâmetros de validação, obteve-se resultados satisfatórios para a quantificação de biodiesel em diesel.

Palavras-Chave: espectroscopia IV-FT, pastilhas de KBr, validação.

Abstract

The obligatoriness addition of 5% (v / v) of biodiesel to the brazilian energy matrix through Law 11,097 of 2005 demands a strict quality control of this commercialized biofuel. To this end, several analytical methods have been proposed, among them, that has received attention is the infrared spectroscopy (FT-IR). This technique uses cells of transmission and ATR accessory. However, these items end up adding to the high cost analyzes with equipment maintenance and spare parts. An alternative is the use of KBr pastille. However, for the proposed methodology can be used, it is necessary to validate the method. Thus, calibration curves were subjected to analytical testing and compared with the established method (ABNT NBR 15568:2008), from the correlations of the calibration curves, analytical testing and evaluation of validation parameters, we obtained results suitable for the quantification of biodiesel in diesel engines.

Key-words: infrared spectroscopy (FT-IR), KBr pallets, validation.

¹Graduando em Química na Universidade Federal do Amazonas, Departamento de Química, ICE, Av. Gal. Rodrigo Octávio, 3.000, Coroado II, Manaus, Amazonas e-mail: george_wizard@hotmail.com

²Doutorando em Química pela Universidade Federal de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Química da UFMG: Av. Antônio Carlos, 6627 – Belo Horizonte, MG.

³Professor Associado no Departamento de Química da Universidade Federal do Amazonas. Av. Gal. Rodrigo Octávio, 3.000, Coroado II, Manaus, Amazonas.

⁴Professora Adjunta no Departamento de Química da Universidade Federal do Amazonas. Av. Gal. Rodrigo Octávio, 3.000, Coroado II, Manaus, Amazonas.

1. Introdução

Nos últimos anos o biodiesel tem se apresentado como um potencial substituinte do óleo diesel por ser renovável, biodegradável e devido à sua miscibilidade, podendo ser misturado ao óleo diesel na proporção de até 20% (v / v) e adicionado em motores diesel sem necessidade de adaptações, podendo substituir parcialmente o óleo diesel. Quimicamente, ele é um composto formado pela mistura de alquilésteres de cadeia linear, obtida pela reação de transesterificação de óleos e gorduras com alcoóis de cadeia curta na presença de um catalisador (SILVA, 2012; ROCHA, 2008; LÔBO, 2009).

As aplicações no setor energético das misturas deste biocombustível adicionado ao óleo diesel têm sido cada vez mais empregadas por diversos países. Na União Europeia, Alemanha e França estão entre os que mais incentivam o consumo de biodiesel, podendo ser encontrado em transportes públicos, ou em postos de combustíveis, nos quais ele é adicionado ao óleo diesel em diferentes proporções. No Brasil, a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) estabeleceu por meio da resolução nº. 14 de 2005, que o teor de biodiesel adicionado ao óleo diesel seja de $5 \pm 0,5$ % em volume (NORONHA, 2011; BRASIL, 2012).

Desta forma, diversas técnicas analíticas têm sido propostas para quantificar e garantir que o percentual de biodiesel em diesel encontre-se conforme o que foi estabelecido, tais como: cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta performance (HPLC) e a espectroscopia de infravermelho (IV-FT). Dentre essas técnicas a que vem recebendo destaque é a espectroscopia IV-FT, por ser uma técnica de análise não destrutiva, direta e de rápida determinação de diversas propriedades sem pré-tratamento da amostra. Em 2008, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) estabeleceu dois métodos de ensaio padrões para determinar ésteres (predominante em biodiesel) em misturas com diesel, usando infravermelho médio. Um diz respeito à análise em acessório de reflectância total atenuada (ATR) e o outro em células de transmissão. O ATR possui alto custo agregado e as células de transmissão utilizam placas de sais iônicos que são frágeis, aumentando o custo da mão de obra, manutenção do aparelho e aquisição de peças de reposição (KNOTHE, 2006; ABNT NBR:2008; PAVIA, 2008).

Uma alternativa seria o uso de pastilhas de brometo de potássio (KBr) como porta-amostra. Este sal iônico possui a propriedade de fluidez a frio, apresentando transparência e transmissão através da maior parte da região do infravermelho médio. Em contrapartida a sua alta higroscopicidade é um fator negativo, pois a absorção de umidade pode causar interferências no espectro final obtido (PAVIA, 2008).

Relatos sobre o uso da espectroscopia IV-FT para monitorar reações de transesterificação de óleos vegetais e também determinar alguns parâmetros de qualidade do biodiesel, são amplamente encontrados na literatura. Como o biodiesel e diesel possuem funções químicas distintas, os espectros de infravermelho desses dois combustíveis pode ser utilizado para identificar as espécies de interesse pelo exame da banda de absorção característica de uma molécula: enquanto em diesel é predominante a presença de hidrocarbonetos, em biodiesel destaca-se a banda de carbonila C=O. No entanto, torna-se necessário verificar o desempenho desta metodologia, bem como o desempenho das suas medidas por meio da estimativa de figuras de mérito, através da etapa de validação (GUARIEIRO, 2008; OLIVEIRA, 2006; RIBEIRO, 2008).

A validação de um método consiste em demonstrar que ele possui as características necessárias para obtenção de resultados com a qualidade exigida nas condições em que é praticado. Para isso, utilizam-se alguns parâmetros: seletividade, linearidade, faixa linear e faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, tendência/ recuperação, precisão e robustez (INMETRO, 2010; LEITE, 2008).

Assim sendo, no presente trabalho investiga-se a eficiência de pastilhas de KBr como porta amostra para análises do teor de biodiesel em diesel por espectroscopia IV-FT, com o objetivo de obter modelos de calibração e posterior validação do método proposto por meio de testes analíticos e figuras de mérito.

2. Material e Método

Soluções-padrão foram preparadas nas concentrações de 1,0 % a 10 % (v / v) de biodiesel em diesel. As diluições foram conduzidas de acordo com as recomendações da norma NBR 15568.

As pastilhas foram confeccionadas utilizando-se 600,00 mg de KBr (Sigma®, grau analítico). Em seguida, o mesmo é macerado em almofariz

de ágata e é levado a um pastilhador de aço inox, que, em seguida, é colocado em prensa hidráulica e submetido a uma pressão de 8 toneladas por cerca de 10 minutos.

Todos os espectros das misturas de biodiesel foram obtidos no equipamento IRAffinity-1 da Shimadzu, com 16 varreduras, 4 cm⁻¹ de resolução e formato final em absorvância. Obteve-se primeiro o branco da análise e posteriormente uma camada da amostra foi depositada sobre a pastilha de KBr, formando uma película de espessura inferior a 1 mm.

Para as análises com o acessório ATR, foi depositado um volume da amostra de 200 µL sobre uma porta amostra de seleneto de zinco, faixa espectral de 4000-400 cm⁻¹, resolução de 4 cm⁻¹ e número de varreduras igual a 32.

3. Resultados e Discussão

Validação do método proposto

Testes de seletividade

Neste teste, o objetivo foi verificar se a solução da amostra contém componentes que podem interferir no desempenho da medição. Como as correlações feitas com as vibrações do estiramento da ligação C-O são menos confiável que aquelas feitas utilizando C=O (carbonila), pelo fato de hidrocarbonetos também absorverem radiação nesta faixa, foi escolhida a região de absorção do grupo carbonila, proveniente de ésteres, para a metodologia proposta. Conforme a Figura 1 observa-se que com o aumento da concentração de biodiesel em diesel é há um aumento proporcional da banda de carbonila (GUARIEIRO, 2008).

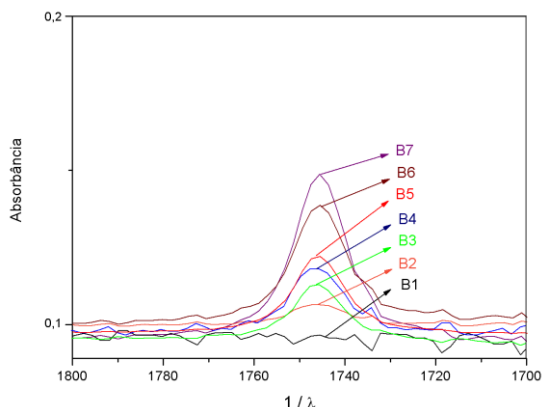


Figura 1. Espectro das misturas biodiesel:diesel, com destaque para a banda de C=O.

Linearidade

No intuito de verificar a relação entre resposta medida e concentração do analito, faz-se necessário verificar a linearidade. Para o método proposto, foram feitas duas curvas de calibração: uma utilizando acessório ATR, a outras pastilhas de KBr, por meio de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados. Para isso, foram utilizadas as variáveis Concentração vs. Absorvância e relacionadas por meio da equação:

$$y = a + bx,$$

em que y é a resposta medida (absorvância); x é a concentração; a = interseção com o eixo y, quando x é igual a zero e b é a inclinação da curva analítica, ou sensibilidade (INMETRO, 2010).

Analisando-se as duas curvas obtidas, conforme a Figura 2 observa-se que a curva que obteve o melhor coeficiente de regressão linear foi a curva obtida com acessório ATR (R² = 0,9987). No entanto, a obtenção de um bom coeficiente de regressão linear não é suficiente para atestar a qualidade da equação obtida. Nesse sentido, foram estudadas a homocedasticidade (ou homogeneidade) da variância dos resíduos através do teste de Cochran para as diferentes metodologias (CHUI, 2001).

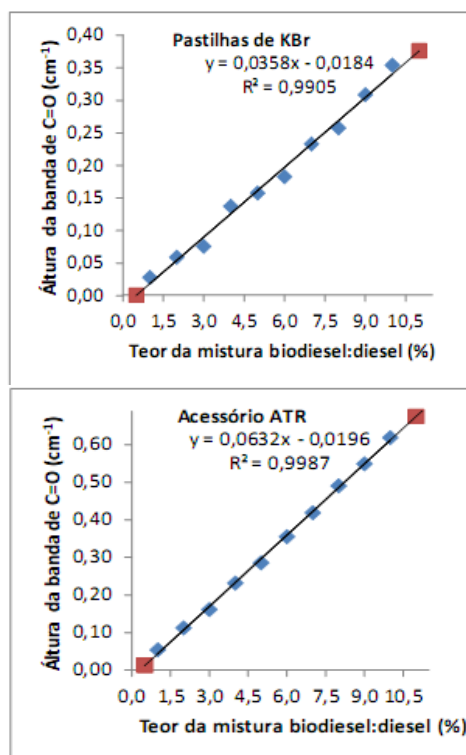


Figura 2. Curva de calibração para quantificação do teor de biodiesel em diesel utilizando pastilhas de KBr e abaixo, acessório ATR.

Para verificar a homocedasticidade ou homogeneidade da variância dos resíduos, utilizou-se o teste de Cochran tanto para os valores encontrados utilizando pastilhas de KBr, quanto para o acessório ATR (Tabela 1).

Tabela 1. Teste de Cochran para verificar homogeneidade de variâncias.

Acessório ATR	
$C_{\text{calculado}} =$	0,169642857
$C_{\text{tabelado}} =$	0,445
Pastilhas de KBr	
$C_{\text{calculado}} =$	0,299332851
$C_{\text{tabelado}} =$	0,445

Observa-se que o valor de $C_{\text{calculado}}$, tanto para o acessório ATR, quanto para as pastilhas de KBr, são menores que os valores de C_{tabelado} . Com base nesses valores é possível afirmar que há variações homogêneas conforme o aumento da concentração de biodiesel em diesel. As curvas de calibração podem ser utilizadas com um limite de confiança aceitável (FARIA, 2007).

Para verificar a eficiência do modelo proposto de regressão linear, foi construído e analisado o gráfico de resíduos. O resíduo foi calculado através da diferença entre o valor observado e o valor calculado pela equação da reta de regressão para cada valor de x , na Figura 3 encontram-se os gráficos de resíduos. A partir da distribuição aleatória em torno da linha, observa-se que há homocedasticidade no comportamento das variâncias, conforme previsto pelo teste de Cochran. Desta forma, a resposta obtida reflete a boa qualidade dos espectros coletados. (GUARIEIRO, 2008).

Faixa de trabalho e faixa linear

A faixa de trabalho teve como pressuposto a lei 11.097 de 2005, que determina a obrigatoriedade da adição de biodiesel em $5 \pm 0,5$ %. Desta forma, foram construídas as curvas de maneira que esta concentração se encontra como o valor intermediário da faixa linear. No limite inferior, o fator limitante é o valor do limite de quantificação (BRASIL, 2012; INMETRO, 2010).

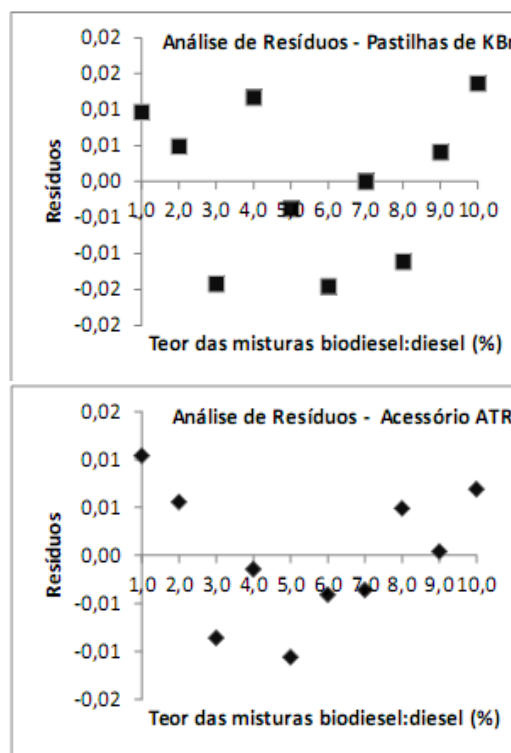


Figura 3. Gráficos de resíduos para curva de calibração com pastilhas de KBr e abaixo, acessório ATR.

Todos os dados obtidos foram submetidos ao teste G (teste de Grubbs) para detectar a presença de possíveis valores aberrantes. Como todos os valores encontrados, tanto utilizando pastilhas de KBr, quanto por meio de acessório ATR foram menores que os valores de G tabelado ($G = 1,55$ para um nível de 95 % de confiança) nenhum valor foi considerado aberrante, logo, todos os valores foram utilizados para o levantamento das curvas de calibração (LEITE, 2008).

Limite de detecção (LD)

É definido como a menor quantidade do analito, presente em determinada amostra que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas (INMETRO, 2010).

Tendo em vista que em concentrações abaixo de 0,5 % de biodiesel em diesel, a linha de base do espectro IV-FT, utilizando pastilhas de KBr, começa a ser confundida com a banda de $C=O$, adotou-se esse valor de concentração como LD, determinado experimentalmente tanto para o método ATR,

quanto para o método de pastilhas de KBr. Para o cálculo teórico do limite de detecção, utilizou-se a fórmula:

$$LD = 3 \cdot (\text{sinal} / \text{ruído}),$$

onde encontrou-se um valor de limite de detecção de 0,05% (v / v) para o método KBr, em um nível de confiança de 99%. Ainda segundo as recomendações do documento de Orientações sobre validação de métodos e ensaios químicos (INMETRO, 2010), analisou-se 7 alíquotas do branco da amostra com a adição da menor concentração aceitável do analito, portanto, obteve-se $7-1 = 6$ graus de liberdade, para os quais o valor de t de Student (unilateral), para 99% de confiança é 3,14. Desta forma:

$$LD = t \cdot S \text{ (desvio-padrão amostral).}$$

Limite de quantificação (LQ)

Muitas vezes é também chamado de “Limite de Determinação”. Na prática, o limite de quantificação corresponde ao padrão de menor concentração, com exclusão do branco. Também pode referir-se ao valor da média das amostras em branco, mais 5, 6 ou 10 vezes o desvio-padrão (INMETRO, 2010).

Por se tratar de uma análise em nível de traços, foi adotado como LQ, o valor da concentração mais baixa da curva analítica, que na metodologia proposta equivale a 1 %, tanto para as pastilhas de KBr, quanto acessório ATR. Considerou-se que não existe área negativa, sendo assim, todo valor negativo medido foi igualado à zero. Desta forma, o limite de quantificação para o método padrão e o método proposto foi calculado pela seguinte equação:

$$LQ = X_m + 10s$$

onde obteve-se um valor de limite de quantificação de 0,8 % (v / v) para ambos os métodos, que é o valor próximo à menor concentração do analito na curva de calibração dos mesmos.

Teste de comparação de precisão de métodos

Este teste foi utilizado para comparar se a precisão entre os dois métodos (método ATR, recomendado pela ABNT e o método adaptado com pastilhas de KBr) possuem variabilidades semelhantes ou distintas. Ele baseia-se na análise das variâncias entre dois conjuntos de dados. Avaliando os resultados obtidos pelo Software

R®, observou-se que o valor de F calculado é de 3,091. Com o auxílio de uma tabela de valores F teóricos ($F_{\text{teórico}}$ de 3,179 para 9 graus de liberdade). Desta forma, pode-se afirmar que não há significância na diferença entre as duas precisões, num nível de 5 %, uma vez que o valor de F calculado é menor que o valor da distribuição F (LEITE, 2008).

Teste de t

Esse teste foi utilizado no intuito de comparar a média dos resultados obtidos utilizando pastilhas de KBr, com o método normatizado que utiliza acessório ATR, uma vez que as precisões não apresentaram diferença significativa. Assim sendo, com base nos resultados obtidos pelo Software R®, nota-se que o valor de p-value encontra-se dentro do intervalo de confiança 0,0003935 a 0,2985. Logo, a hipótese de que as médias para o método proposto e o método normatizado são iguais, é aceitável dentro de um intervalo de confiança de 95 % (LEITE, 2008).

Tendência / Recuperação

Na ausência de materiais de referência certificados (MCR), foram utilizados apenas materiais de referência (amostras estáveis, avaliadas periodicamente para garantir conformidade com os parâmetros exigidos pela resolução) para avaliar a tendência do método. Neste caso, a tendência foi expressa como recuperação analítica por meio da seguinte fórmula:

$$(\text{valor observado} / \text{valor esperado}) \times 100$$

Os valores obtidos por meio deste teste encontram-se no Tabela 2. A exatidão pode ser avaliada numericamente através da tendência. Assim sendo, observa-se que o método mais exato é aquele que utiliza acessório ATR, onde há recuperação analítica de até 99,73% em detrimento do método utilizando pastilhas de KBr. Observa-se ainda, que os erros relativos foram maiores no método que utiliza pastilhas de KBr, tais resultados podem decorrer das condições em que o método é utilizado: temperatura, umidade, qualidade e confecção das pastilhas.

A exatidão pode ser avaliada numericamente através da tendência. Assim sendo, observa-se que o método mais exato é aquele que utiliza acessório ATR, onde há recuperação analítica de até 99,73% em detrimento do método utilizando pastilhas de KBr. Observa-se ainda, que os erros



relativos foram maiores no método que utiliza pastilhas de KBr, tais resultados podem decorrer das condições em que o método é utilizado: temperatura, umidade, qualidade das pastilhas.

Tablea 2. Testes de tendência/recuperação para método que utiliza pastilhas de KBr e outro com acessório ATR.

Pastilhas de KBr			
Equação da Reta:	$y = 0,0358x - 0,0184$		
	b =	0,0358	
	a =	-0,0184	
Valor Esperado	2,00	5,00	8,00
Área	0,0710	0,1640	0,2950
Valor Encontrado	1,47	4,07	7,73
Recuperação Analítica	73,46	81,34	96,58
Erro Relativo	-0,27	-0,19	-0,03

Acessório ATR			
Equação da Reta:	$y = 0,0632x - 0,0196$		
	b =	0,0632	
	a =	-0,0196	
Valor Esperado	2,00	5,00	8,00
Área	0,1290	0,3240	0,5220
Valor Encontrado	1,73	4,82	7,95
Recuperação Analítica	86,55	96,33	99,37
Erro Relativo	-0,13	-0,04	-0,01

4. Conclusão

Analisando-se os resultados obtidos, pode-se verificar que a curva analítica que apresentou melhor correlação foi a confeccionada utilizando acessório ATR. Porém, a curva confeccionada utilizando pastilhas de KBr apresentou uma correlação boa para se tornar aplicável na quantificação do teor de biodiesel em óleo diesel.

Entretanto, pelo fato dessa correlação não mostrar tendência linear em toda a sua extensão, fatores interferentes como a umidade, confecção das pastilhas e temperatura, devem ser controlados, a fim de se minimizar erros associados aos procedimentos operacionais. O método que utiliza pastilha de KBr deve ser otimizado de tal forma que possa se tornar um ensaio de rotina, uma vez que pelos testes comparativos, mostrou-se adequado para quantificação do teor de biodiesel em diesel frente

ao método normatizado, ainda que este não esteja mais em vigor.

Ainda baseado nos resultados obtidos, pode-se afirmar que as pastilhas de KBr podem apresentar-se como um porta amostra alternativo para análises de quantificação do teor de biodiesel em diesel, podendo substituí-lo em laboratórios de ensaio, quando da ausência deste acessório.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Pesquisa e Ensaio de Combustíveis (LAPEC), ao CNPq e FAPESP pelas bolsas de Iniciação Científica.

Referências

ABNT NBR 15568:2008. Biodiesel – Determinação do teor de biodiesel em óleo diesel por espectroscopia na região do infravermelho médio.

BRASIL. Resolução ANP, nº 14, de 11 de maio de 2012. Estabelece em cinco por cento, em volume, o percentual mínimo obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 maio. 2012.

CHUI, Q. S. H.; ZUCCHINI, R. R., LICHTIG, J. Qualidade de medições em química analítica. Estudo de caso: determinação de cádmio por espectrofotometria de absorção atômica com chama. Química Nova, Vol. 24, No. 3, p. 374-380, 2001.

FARIA, R. C. M.; et al. Desenvolvimento e validação de metodologia de análise de misturas biodiesel:diesel utilizando cromatografia gasosa-espectrometria de massas. Química Nova, Vol. 30, No. 8, 2007.

GUARIEIRO, L. L. N.; et al. Metodologia analítica para quantificar o teor de biodiesel na mistura biodiesel:diesel utilizando espectroscopia na região do infravermelho. Química Nova, Vol. 31, nº. 2, p. 421-426, 2008.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; Orientações sobre validação de métodos e ensaios químicos, DOQ-CGRE-008, Revisão: fevereiro/2010.

KNOTHE, G. Analyzing Biodiesel: standards and other methods. Journal of American Oil Chemists Society. V. 83, n. 10, p. 823 – 833, 2006.

LEITE, F. Validação em análise química. 5ª Edição, ampliada e atualizada – Campinas: Editora Átomo, 2008.



LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S.; Biodiesel: Parâmetros de Qualidade e Métodos Analíticos. *Química Nova*, Vol. 32, nº. 6, p. 1596-1608, 2009.

NORONHA, K; FROZZA, M. A produção de biodiesel no mundo: uma breve discussão sobre as políticas de incentivos nos principais players produtores.

Acesso em novembro de 2013. Disponível em: <http://www.unifra.br/eventos/sepe2011/Trabalhos/1897.pdf>

OLIVEIRA, J. S. et al. Determination of methyl ester contents in biodiesel blends by FTIR-ATR and FTNIR spectroscopies. *Talanta*, Vol. 69, p. 1278-1284, 2006.

PAVIA, D. L.; et al. Introdução à espectroscopia. Tradução da 4ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2008.

RIBEIRO, F. A. L.; et al. Planilha de validação: Uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Química Nova*, Vol. 31, No. 1, 164-171, 2008.

ROCHA, D. Q.; et al. Determinação da matéria-prima utilizada na produção do biodiesel adicionado ao diesel mineral através do monitoramento seletivo de íons. *Química Nova*, Vol. 31, nº. 5, p. 1062-1066, 2008.

SILVA M. J.; et. al. Motor gerador ciclo diesel sob cinco proporções de biodiesel com óleo diesel. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambiental*, v.16, n.3, p.320–326,2012.