



ADRIANA TEIXEIRA GODOY

**MONITORAMENTO DOS PRODUTOS DE OXIDAÇÃO DO BIODIESEL POR
ESPECTROMETRIA DE MASSAS AMBIENTE COM IONIZAÇÃO SONIC-SPRAY
(EASI-MS)**

Campinas

2013



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

ADRIANA TEIXEIRA GODOY

**MONITORAMENTO DOS PRODUTOS DE OXIDAÇÃO DO BIODIESEL POR
ESPECTROMETRIA DE MASSAS AMBIENTE COM IONIZAÇÃO SONIC-SPRAY
(EASI-MS)**

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCOS NOGUEIRA EBERLIN

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA
AO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRA EM QUÍMICA NA
ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA.**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA POR
ADRIANA TEIXEIRA GODOY, E ORIENTADA PELO PROF.DR. MARCOS NOGUEIRA EBERLIN.**

Assinatura do Orientador

**CAMPINAS
2013**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144 -
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

G548m Godoy, Adriana Teixeira (1984-).
Monitoramento dos produtos de oxidação do biodiesel por espectrometria de massas ambiente com ionização Sonic-Spray (EASI-MS) / Adriana Teixeira Godoy. – Campinas, SP: [s.n.], 2013.

Orientador: Marcos Nogueira Eberlin.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Espectrometria de Massas. 2. Biodiesel.
3. Oxidação. I. Eberlin, Marcos Nogueira. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Oxidation products of biodiesel monitoring by easy ambient Sonic-Spray ionization mass spectrometry (EASI-MS)

Palavras-chave em inglês:

Mass Spectrometry
Biodiesel
Oxidation

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestra em Química na área de Química Analítica

Banca examinadora:

Marcos Nogueira Eberlin [Orientador]
Renato Grimaldi
Pedro Luiz Onófrio Volpe

Data de defesa: 26/02/2013

Programa de pós-graduação: Química

Dedico imensamente este trabalho e tudo em
minha vida à minha família, meu porto seguro,
aos meus pais Eduardo e Helena, e às minhas
irmãs Juliana e Fabiana.

“A recompensa de nosso trabalho
é a transformação que ele promove em cada um de nós”

(Paulo coelho)

“A sabedoria não nos é dada. É preciso descobri-la por nós mesmos, depois de uma
viagem que ninguém nos pode poupar ou fazer por nós.”

(Marcel Proust)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre guiar meus caminhos, por colocar ao meu redor pessoas tão queridas e pela saúde e força que me dá;

A toda minha família que eu amo demais, obrigada por estarem sempre ao meu lado...

Mãe e Pai, Helena e Eduardo, cujo carinho, apoio e estímulo não poderiam ser melhores! Tudo que conquistei e sou hoje é devido a todos os bons valores que recebi de vocês. Obrigada por me proporcionarem uma boa educação, um exemplo de vida e honestidade e pelo imenso amor e proteção; e mãe lhe agradeço novamente por me ajudar neste e em tantos outros trabalhos!

Minhas irmãs, Fabiana e Juliana, pelas risadas, pelo companheirismo em todas as horas e por todas as brigas que nunca tivemos! Não saberia existir sem vocês! Meu lindo sobrinho Juliano, que já no primeiro sorriso encheu todo o meu coração de alegria. Meu tio Zequinha e a Carol, sempre dispostos a ajudar e sempre torcendo por mim; Minha vizinha Helena, pelos ensinamentos de vida e pelo carinho mais gostoso do mundo!

Aos velhos e aos novos amigos, todos muito queridos: Maikon, Priscila Arruda (capivarinha), Priscila Oliveira (capivarinha), Camila, Jota, Marina, Luis, Fernanda, Capixaba, Bozo, Aninha, Maça (lobinho), Carol Picone, Bosso, Marcelo, Kívia, Papito, Ferrugem, Evandro, e tantos outros que eu poderia citar aqui também. Não é possível que a vida sem amigos seja a mesma, não tão fácil e divertida quanto vocês a tornam para mim! Obrigada por estarem por perto nessa fase da minha vida e terem me ajudado de alguma forma.

A todo o pessoal do O'Grupo de Dança de salão e todos os amigos do forró, que a cada passo, a cada aula, a cada música me levaram para um lugar mágico onde eu só encontrei sorrisos.

As amigas de faculdade, Marina e Carol, que serão sempre melhores amigas. Obrigada por me darem força e tranquilidade. Agradeço todas as mensagens, todas as broncas, as lembranças e amizade que não tem fim!

A todos os amigos que encontrei no Laboratório ThoMSon, em especial Maíra, Regina, Aninha, Jose, Rosy, Mirela, Eduardo, Nicolas, Clécio, Elias, Vanessa, Phellipe, Marcos (Franco), Marcos (Pudenzi), Carmem, Elaine, Cristina, Yuri, Priscila, Núbia, Simone, Deleon, Português, Dona Cida, pela amizade, ajuda e ótima convivência que tornaram esse trabalho muito mais fácil;

Agradeço a amiga e companheira de laboratório de um jeito mais especial ainda, que esteve comigo durante todo o mestrado, que largava tudo o que estava fazendo para me ajudar, ouvir um desabafo, compartilhar alegrias, obrigada de coração Flamys por não me deixar desanimar e pela forte amizade!

Ao grupo de óleos e biodiesel do laboratório ThoMSon:

Deninha, por ajudar em todos os sentidos e por compartilhar do alto astral maravilhoso “*Bom dia-tarde!*”;

Gustavo (FEA), pelas diversas vezes que pedi ajuda e sempre esteve disposto a ajudar do melhor jeito possível;

Lucas (IC), obrigada demais pelo esforço e pela paciência em trabalhar comigo, sou muito grata por sua ajuda e Alexandre (IC), agradeço a você também;

E de forma muito especial agradeço a Rosana pelos conselhos e por ter me ajudado tanto no desenvolvimento do trabalho, sem você nada seria possível!

Ao professor Marcos Eberlin pela orientação, pela oportunidade de aprendizado, pelo esforço e sucesso em manter um laboratório tão privilegiado ao qual pude usufruir, pela descontração com as “*quatrocentas e cinqüentinhas*” brincadeiras e pela confiança;

Ao Instituto de Química da UNICAMP e aos professores pela estrutura de ensino disponibilizada. Ao pessoal da Coordenadoria de pós-graduação, obrigada por toda a atenção;

Ao INMETRO e ao Laboratório de óleos e gorduras da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP pela colaboração na realização dos experimentos;

Ao CNPq pela bolsa concedida;

SUMULA CURRICULAR

Adriana Teixeira Godoy

Possui graduação em Química, modalidade Bacharel, pela Universidade Estadual de Campinas (2009). Tem experiência na área de Química Analítica com ênfase em cromatografia e espectrometria de massas

Formação Complementar

Iniciação Científica. Título do Projeto “Preparo e estudo do butadieno imobilizado sobre sílica como sorvente para extração em fase sólida”. Orientadora: Carla Beatriz Grespan Bottoli. Bolsa Cnpq, 2007.

Iniciação Científica. Título do Projeto “Avaliação do teor de ferro e zinco em alimentos à base de farinhas de trigo e milho enriquecidas”. Orientadora: Juliana Azevedo Lima Pallone. Bolsa: FAPESP, 2008.

Iniciação Científica. Título do Projeto “Desenvolvimento de metodologia para a determinação de agrotóxicos em uva empregando polibutadieno imobilizado sobre sílica como sorvente de extração em fase sólida”. Orientadora: Carla Beatriz Grespan Bottoli. Bolsa Cnpq, 2009.

Integrante Projeto de Pesquisa “Avaliação do emprego de tensoativos naturais na indústria petrolífera”. Coordenadora: Carmen Lúcia Queiroga. Bolsa: Petrobrás. 2010.

Integrante Projeto de Pesquisa “Caracterização e controle de qualidade de biodiesel por espectrometria de massas ambiente”. Coordenador: Marcos Nogueira Eberlin. Bolsa: Cnpq, 2010 a 2012.

Artigos completos publicados em periódicos

Correa, HAM.; Cabral, FA; Magalhaes, PM; Queiroga, CL; **Godoy, AT**; Camargo, APS.; Paviani, LC. Extracts from the leaves of *Baccharis dracunculifolia* obtained by a combination of extraction processes with supercritical CO₂, ethanol and water. *The Journal of Supercritical Fluids*, 63: 31-39, 2012.

Morelli, LL.; **Godoy, AT**; Lima-Pallone, JA. Iron and Zinc in Fortified Soybean-based Fruit Juice and Soymilk. *Journal of Public Health Frontier*, 1: 53-56, 2012.

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

Godoy, AT, Ferreira, LL, Cunha, IBS, Eberlin, MN, Alberici, RM. Avaliação da estabilidade do biodiesel em diferentes condições de armazenamento por espectrometria de massas ambiente com ionização sonic-spray. Anais do 5º Congresso da rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel e 8º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, Salvador, 2012.

- Moratori, CC, **Godoy, AT**, Teixeira-Filho, J, Lima-Pallone, JA, Godoy, HT. Folic acid and iron levels in bread prepared with enriched wheat flours. In: Anais do 9º Encontro de Química dos Alimentos, Angra do Heroísmo, 2009.
- Godoy, AT**, Teixeira-Filho, J, Godoy, HT. Folate in Brazilian fruits. In: Anais do 9º Encontro de Química dos Alimentos, Angra do Heroísmo, 2009.

Resumos publicados em anais de congressos

- Ballus, CA, Meinhart, AD, **Godoy, AT**, Oliveira, RG, Godoy, HT. Optimization of capillary zone electrophoresis separation and on-line preconcentration of 16 phenolic compounds from wines produced in South America. Anais do 18th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology-LACE, Buenos Aires, 2012.
- Bogusz, JS, Teixeira Filho, J, Zini, CA, Godoy, AT, Godoy, HT. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry (GCxGC-TOFMS) analysis of volatiles in Brazilian Capsicum spp. Chili peppers. Anais do 7º Nacional de Cromatografia, Porto, 2012.
- Godoy, AT**, Ferreira, LL, Cunha, IBS, Eberlin, MN, Alberici, RM. Biodiesel storage tests monitored by EASY ambiente sonic-spray ionization mass spectrometry. Anais IV Congresso BrMASS, 2011.
- Godoy, AT**, Ferreira, LL, Fernandes, AMAP, Cunha, IBS, JARA, JLP, Tega, DU, DARODA, RJ, Sá, GF, Eberlin, MN, Alberici, RM. Espectrometria de massas com ionização ambiente aplicada ao controle de qualidade do biodiesel em longos períodos de armazenamento. Anais do 6º Congresso Internacional de Bioenergia 2011.
- Queiroga, CL, Spindola, HM, **Godoy, AT**, Figueiredo, J, Foglio, MA, Montanari Junior, I, Carvalho, JE. Atividade anti-inflamatória de *Pfaffia paniculata* Martius (Kunze)(Amaranthaceae). Anais da 34º Reunião da Sociedade Brasileira de Química SBQ, 2011.
- Almeida, G, **Godoy, AT**, Cunha, IBS, Sawaya, ACHF, Jara, JLP, Eberlin, M. N. Estudo de compostos orgânicos voláteis e semi-voláteis em amostras de mel visando avaliar biomarcadores e adulteração. Anais 34º Reunião da Sociedade Brasileira de Química SBQ, 2011.
- Ballus, CA, Pertuzatti, PB, Meinhart, AD, Godoy, HT, **Godoy, AT**, Teixeira-Filho, J. Efeito da concentração de ácido bórico na separação simultânea de 16 compostos fenólicos presentes em alimentos. Anais do XVII Encontro Nacional de Analistas de Alimentos e III Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos, Cuiabá, 2011.
- Lima-Pallone, JA., **Godoy, AT**. Molar ratio for iron and zinc content in cookies prepared with fortified wheat flours. In: Anais European Symposium on Atomic Spectrometry, 2010, Wrocław.

- Godoy, AT**, Godoy, HT, Pallone, JAL. Iron and zinc fortified Brazilian soybean juice. In: Anais do 3rd Internacional IUPAC Symposium on Trace Elements in Food, 2009, Roma.
- Godoy, AT**, Lima-Pallone, JA. Iron in cookies prepared with fortified flour. In: 3rd Internacional IUPAC Symposium on Trace Elements in Food, 2009, Roma.
- Godoy, AT**, Lima-Pallone, JA. Iron and zinc in snacks. In: 3rd Internacional IUPAC Symposium on Trace Elements in Food, 2009, Roma.
- Godoy, AT**, Lima-Pallone, JA. Ferro e zinco em polenta elaborada com fubá de milho fortificado com ferro. In: Anais do 8º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos (SLACA), 2009.
- Cerro-Quintana, RS, Gragnani, MAL, **Godoy, AT**, Teixeira-Filho, J, Godoy, HT. Otimização do processo de extração do pigmento do sabugo de milho roxo (*Zea mays* L.) utilizando acetona, através da análise de superfície de resposta. In: Anais do 8º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos (SLACA), Campinas, 2009.
- Costa, PA, Ballus, CA, **Godoy, AT**, Teixeira-Filho, J, Godoy, HT. Teor de tocoferóis em frutas do norte/nordeste brasileiro. In: Anais do 8º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos (SLACA), Campinas, 2009.
- Costa, PA, Ballus, CA, Teixeira-Filho, J, **Godoy, AT**, Godoy, HT. Fitosteróis em frutas brasileiras. In: Anais do 8º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos (SLACA), Campinas, 2009.
- Godoy, AT**, Lima-Pallone, JA. Ferro e zinco em biscoitos doces e salgados elaborados com farinhas fortificadas com ferro. In: Anais do 15º Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA) e 3º Congresso Iberoamericano de Química Analítica, Salçvador, 2009.
- Murate, EH, Godoy, AT, Teixeira-Filho, J, Godoy, HT. Estudo da estabilidade do ácido fólico em iogurte, requeijão e queijo Minas frescal. Anais do I Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos-SBCTA, Salvador, 2009.
- Godoy, AT**, Bottoli, CBG. Polibutadieno imobilizado sobre sílica como sorvente de extração em fase sólida e sua aplicação na extração de agrotóxicos em uva. Anais do 12º Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XII), 2008.
- Godoy, AT, Teixeira-Filho, J, Godoy, HT. Teor de folatos em frutas. Anais do Latin American Congress of Chromatography and Related Techniques, Florianópolis, 2008.

Organização de Eventos

Godoy, AT. Participação da organização do IV BrMass. 2011.

Godoy, AT, 2013. Monitoramento dos produtos de oxidação do biodiesel por espectrometria de massas ambiente com ionização sonic-spray (EASI-MS). Campinas: Dissertação de Mestrado – Instituto de Química-UNICAMP, 109p.

RESUMO

Biodiesel é uma fonte de energia renovável de interesse mundial e uma das alternativas mais atraentes para substituir os combustíveis derivados do petróleo. Devido a sua natureza química, durante um longo período de armazenamento pode sofrer reações de oxidação influenciadas por alguns fatores, tais como temperatura, exposição à luz e ao oxigênio. A formação de produtos de oxidação no biocombustível diminui a sua qualidade. Métodos clássicos físico-químicos para análises da qualidade de óleos e gorduras, atualmente vem sendo aplicados ao biodiesel. Estas análises consomem uma quantidade elevada de solvente e requerem extenso tempo de análise. A técnica de espectrometria de massas ambiente com ionização sonic-spray (EASI-MS) tem sido aplicada com sucesso como um método rápido e direto para avaliar os parâmetros de qualidade de biodiesel, incluindo tipificação da matéria prima graxa, contaminantes orgânicos típicos, quantificação de biodiesel em blends de diesel/biodiesel e adulteração com óleos vegetais. O objetivo deste trabalho foi monitorar o processo de oxidação de amostras de biodiesel de óleo de soja e de óleo residual de fritura mantidas em diferentes condições de armazenamento empregando a técnica EASI-MS, assim como identificar marcadores do processo oxidativo. Para comparação foram também realizadas análises de caracterização físico-química: índice de acidez, índice de iodo, índice de peróxido, viscosidade cinemática e estabilidade oxidativa. Os resultados obtidos por EASI-MS foram compatíveis com os resultados das análises físico-químicas realizadas nas mesmas amostras. A técnica de EASI-MS permitiu monitorar a oxidação do biodiesel de uma maneira rápida e sem preparo de amostra fornecendo uma visão geral sobre a formação dos produtos primário de oxidação, os hidroperóxidos.

Godoy, AT, 2013. Monitoring the oxidation products of biodiesel by easy ambient sonic spray ionization mass spectrometry (EASI-MS). Campinas: Masters dissertation – Chemistry Institute-UNICAMP, 109p.

ABSTRACT

Biodiesel is a renewable source of global concern and one of the most attractive alternatives to replace petroleum fuels. Due to its chemical nature over a long period of storage can suffer oxidation reactions influenced by some factors such as temperature, exposure to light and oxygen. The oxidation products formed in the biodiesel decreases its quality. Classical methods for physico-chemical analyzes of the quality in oils and fats, is now being applied to biodiesel. These analyzes consume a large amount of solvent and require extensive analysis time. The technique Easy Ambient Sonic-Spray Ionization mass spectrometry (EASI-MS) has been successfully applied as a fast and direct method to evaluate the quality parameters of biodiesel including the type of raw fat material fat, typical organic contaminants, biodiesel's quantification in blends of diesel/biodiesel and adulteration with vegetable oils. The aim of this work was to monitor the oxidation process in samples of biodiesel from soybean oil and waste frying oil kept under different storage conditions by EASI-MS, as well as identifies markers of oxidative process. For comparison analyzes were also carried out physico-chemical characterization: acid number, iodine value, peroxide value, kinematic viscosit and oxidative stability. The results obtained by EASI-MS were consistent with the results of the physico-chemical analyzes performed on the same samples. EASI-MS allowed monitoring the oxidation of biodiesel quickly and without sample preparation by providing an overview of the formation of the primary product of oxidation, hydroperoxide.

Índice Geral

Lista de abreviaturas.....	xxiii
Lista de Tabelas.....	xxv
Lista de Figuras.....	xxvii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	7
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	9
3.1. O que é o Biodiesel.....	9
3.2 Vantagens do Biodiesel como Biocombustível.....	12
3.3 Oxidação do Biodiesel.....	14
3.4 Problemas Relacionados à Oxidação do Biodiesel.....	18
3.5 Padrões de Qualidade para o Biodiesel.....	19
3.6 Métodos Analíticos para Avaliação da Qualidade do Biodiesel.....	21
3.6.1 Índice de peróxidos.....	22
3.6.2 Índice de acidez.....	24
3.6.3 Viscosidade cinemática.....	25
3.6.4 Índice de iodo.....	26
3.6.5 Umidade.....	27
3.6.6 Estabilidade oxidativa.....	28
3.7 Aplicação da Espectrometria de Massas como Método Analítico para o controle de qualidade do Biodiesel.....	30
3.7.1 Espectrometria de massas.....	30
3.7.2 Espectrometria de massas ambiente.....	31
3.7.3 Ionização em condição ambiente por EASI-MS	33
3.7.4 Analisador quadrupolo.....	37
3.7.5 Monitoramento do biodiesel e dos produtos de oxidação por EASI-MS.....	38
3.7.6 Caracterização das amostras de biodiesel por ESI FT-ICR MS.....	38
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
4.1 Amostras de Biodiesel.....	41

4.2 Reagentes e Soluções.....	41
4.3. Equipamentos.....	42
4.4 Condições de Armazenamento.....	43
4.5 Análises das Amostras Armazenadas.....	44
4.5.1 Índice de peróxido ASTM D3703.....	44
4.5.2 Índice de acidez ASTM D664.....	45
4.5.3 Viscosidade cinemática.....	46
4.5.4. Índice de iodo EN/ISO 14111.....	47
4.5.5 Umidade ASTM 6304.....	48
4.5.6 Estabilidade oxidativa EN/ISO 14112.....	49
4.5.7 Tempo de vida útil.....	51
4.5.8 Espectrometria de massas.....	51
4.5.8.1 Monitoramento da oxidação em amostras de biodiesel utilizando EASI-MS.....	51
4.5.8.2 Monitoramento da oxidação acelerada de um padrão de ácido graxo esterificado.....	52
4.5.8.2.1 Preparo do éster metílico.....	52
4.5.8.2.2 Oxidação acelerada.....	54
4.5.8.3 Caracterização das amostras utilizando a técnica de ESI FT-ICR MS.....	54
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	57
5.1 Biodiesel de Óleo de Soja.....	57
5.1.1 Índice de peróxido.....	57
5.1.2 Índice de acidez.....	58
5.1.3 Viscosidade cinemática.....	60
5.1.4 Índice de iodo.....	61
5.1.5 Umidade.....	62
5.1.6 Estabilidade oxidativa.....	63
5.1.7 Vida útil.....	64
5.2 Biodiesel de Óleo Residual de Fritura.....	64
5.2.1 Índice de peróxido.....	64
5.2.2 Índice de acidez.....	65
5.2.3 Viscosidade cinemática.....	66
5.2.4 Índice de iodo.....	67
5.2.5 Umidade.....	68

5.2.6 Estabilidade oxidativa.....	69
5.2.7 Vida útil.....	70
5.3 Monitoramento das Amostras de Biodiesel por EASI-MS.....	70
5.3.1 Biodiesel de soja.....	70
5.3.2 Biodiesel de óleo residual de fritura.....	77
5.3.3 Monitoramento por EASI-MS da oxidação acelerada de um padrão de ácido oleico esterificado.....	81
5.4 Caracterização das Amostras de Biodiesel Utilizando Alta Resolução FT-ICR.....	83
5.4.1 Biodiesel de óleo de soja.....	83
5.4.2 Biodiesel de óleo residual de fritura.....	86
6. CONCLUSÕES.....	91
7. REFERÊNCIAS.....	95

Lista de abreviaturas

ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível
ASTM	<i>American Society of Testing and Materials</i>
Da	Dalton
EASI	<i>Easy Ambient Sonic-Spray Ionization</i>
EN	Norma europeia
ESI	<i>Electrospray</i>
FAEE	<i>Fatty acid ethyl esters</i>
FAME	<i>Fatty acid methyl esters</i>
FT-ICR	<i>Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance</i>
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
<i>m/z</i>	razão massa sobre carga
MS	<i>Mass Spectrometry</i>

Lista de Tabelas

Tabela 1. Composição química do óleo de soja.....	11
Tabela 2. Padrões de qualidade do biodiesel.....	20
Tabela 3. Condições de armazenamento das amostras de biodiesel.....	43
Tabela 4. Valores de m/z dos principais íons detectados por EASI-MS no estudo de oxidação do biodiesel de soja na forma de aduto de sódio e potássio.....	75
Tabela 5. Relação m/z dos íons que foram monitorados durante a oxidação acelerada.....	82
Tabela 6. Composição dos principais ésteres metílicos de ácidos graxos e seus produtos de oxidação identificados nas amostras de biodiesel de óleo de soja por ESI FT-ICR MS.....	85
Tabela 7. Composição dos principais ésteres metílicos e etílicos de ácidos graxos e seus produtos de oxidação identificados nas amostras de biodiesel de óleo residual de fritura por ESI FT-ICR MS.....	88

Lista de Figuras

Figura 1. Reação de Transesterificação para Produção de Biodiesel.....	9
Figura 2. Representação das estruturas do (a) triacilglicerol, (b) diesel (hidrocarbonetos) e do (c) biodiesel (ésteres alquílicos).....	13
Figura 3. Mecanismo de oxidação para um éster metílico de ácido linoleico	15
Figura 4. Processo de oxidação em cadeias lipídicas.....	17
Figura 5. Diagrama demonstrativo de um espectrômetro de massas.....	31
Figura 6. Ilustração de uma fonte de ionização EASI-MS na análise de biodiesel.....	34
Figura 7. Ilustração do mecanismo de ionização por EASI.....	35
Figura 8. Incidência das gotículas sobre a superfície e a formação das gotículas secundárias em uma sequência de tempo.....	35
Figura 9. Ilustração dos mecanismos de transferência dos íons para a fase gasosa.....	36
Figura 10. Ilustração de um analisador monoquadrupolo.....	37
Figura 11. Ilustração do viscosímetro de bola.....	47
Figura 12. Ilustração do equipamento Rancimat [®] e esquema básico de funcionamento.....	50
Figura 13. Fonte de ionização EASI acoplada ao analisador monoquadrupolo utilizado para as análises de biodiesel.....	52
Figura 14. Reação e preparação do éter do ácido oleico por catálise ácida.	53
Figura 15. Evolução média do índice de peróxido para o biodiesel de óleo de soja a cada 15 dias de análise.....	57
Figura 16. Curva potenciométrica obtida por titulação manual para amostra de biodiesel de óleo residual de fritura.....	58
Figura 17. Evolução média do índice de acidez para o biodiesel de óleo de soja a cada 15 dias de análise.....	59
Figura 18. Evolução média da viscosidade cinemática para o biodiesel de óleo de soja a cada 15 dias de análise.....	60
Figura 19. Evolução média do índice de iodo para o biodiesel de óleo de soja a cada 15 dias de análise.....	61
Figura 20. Teor de umidade para as amostras de biodiesel de óleo de soja nos tempos inicial e após 90 dias de armazenamento.....	62
Figura 21. Estabilidade oxidativa determinada por Rancimat [®] para as	

amostras de biodiesel de óleo de soja nos tempos inicial e após 90 dias de armazenamento.....	63
Figura 22. Evolução média do índice de peróxido para o biodiesel de óleo de soja a cada 15 dias de análise.....	65
Figura 23. Evolução média do índice de acidez para o biodiesel de óleo residual de fritura a cada 15 dias de análise.....	66
Figura 24. Evolução média da viscosidade cinemática para o biodiesel de óleo residual de fritura a cada 15 dias de análise.....	67
Figura 25. Evolução média do índice de iodo para o biodiesel de óleo residual de fritura a cada 15 dias de análise.....	68
Figura 26. Teor de umidade para as amostras de biodiesel de óleo residual de fritura nos tempos inicial e após 90 dias de armazenamento...	68
Figura 27. Estabilidade oxidativa determinada por Rancimat [®] para as amostras de biodiesel de óleo residual de fritura nos tempos inicial e após 90 dias de armazenamento.....	69
Figura 28. Espectro de massa para o biodiesel de óleo de soja obtido por EASI-MS no tempo inicial do estudo de monitoramento da oxidação do biodiesel.....	71
Figura 29. Espectros de massa das amostras de biodiesel de óleo de soja monitoradas durante armazenamento a 40°C/ar nos tempos (a) inicial e após (b) 45 dias e (c) 90 dias.....	73
Figura 30. Evolução da oxidação no biodiesel de óleo de soja em um período de 90 dias armazenado em cinco condições diferentes.	74
Figura 31. Espectro de massa para o biodiesel de óleo residual de fritura obtido por EASI-MS no tempo inicial do estudo de monitoramento da oxidação do biodiesel.....	77
Figura 32. Espectros de massa das amostras de biodiesel de óleo residual de fritura monitoradas durante armazenamento a 40°C/ar nos tempos (a) inicial e após (b) 45 dias e (c) 90 dias.....	79
Figura 33. Evolução da oxidação no biodiesel de óleo de soja em um período de 90 dias armazenado em cinco condições diferentes.	80
Figura 34. Monitoramento dos íons relacionados ao éster metílico do ácido oleico durante o processo de oxidação acelerada.....	82
Figura 35. Espectros de massas ESI FT-ICR(+) MS das amostras de biodiesel de óleo de soja no a) tempo inicial e b) após 90 dias de armazenamento sob 40 °C/ar.....	84
Figura 36. Espectros de massas ESI FT-ICR(+) MS das amostras de biodiesel de óleo residual de fritura no a) tempo inicial e b) após 90 dias de armazenamento sob 40°C/ar.....	87

1. INTRODUÇÃO

Suprir a demanda energética mundial é um dos grandes desafios para nossa sociedade. Questões ambientais relacionadas à queima de combustíveis fósseis aliada ao elevado preço do barril de petróleo também têm contribuído na busca de novas fontes energéticas. Assim fontes de energia sustentáveis e renováveis tornaram-se mais atraentes devido, principalmente, aos benefícios ambientais, e neste contexto, o biodiesel merece destaque. O uso da energia proveniente da biomassa é apontado como uma grande opção que poderia contribuir para o desenvolvimento sustentável, tanto ambiental, social como econômica. (TREVISANI, FABBRI, RIBANI, 2007).

O biodiesel é um exemplo, já em aplicação, do emprego da biomassa para produção de energia. Trata-se de um combustível biodegradável e de baixa emissão de poluentes durante o processo de combustão (CORRÊA, ARBILLA, 2006), quando comparado ao diesel de petróleo (OLIVEIRA et al., 2006), se constituindo dessa forma como uma adequada fonte de energia (LEUNG, KOO, GUO, 2006). Em relação aos fatores socioeconômicos o biodiesel surge como outra fonte de renda ao setor agrícola. Este foi instituído na matriz energética brasileira em janeiro de 2005 mediante lei Nº11. 097. Esta lei regulamenta a utilização comercial do biocombustível, além de prever as misturas existentes entre diesel e biodiesel.

Embora o biodiesel forneça uma quantidade de energia cerca de 10% menor que o diesel de petróleo, seu desempenho no motor é praticamente o mesmo no que diz respeito à potência e ao torque (LOTTERO et al., 2005). Por apresentar maior viscosidade, o biodiesel proporciona maior lubricidade que o diesel mineral, logo, tem-se observado redução no desgaste das partes móveis do motor. Por outro lado, sua viscosidade é comparativamente menor que a do óleo de origem apresentando

maior eficiência de queima, reduzindo significativamente a deposição de resíduos nas partes internas do motor.

O biodiesel é uma mistura de alquilésteres de cadeia linear, obtida da transesterificação dos triacilgliceróis de óleos e gorduras com álcoois de cadeia curta. Dentre os álcoois empregados os mais utilizados são metanol e etanol. O metanol é mais amplamente aplicado na produção de biodiesel em escala comercial e, por ser mais reativo, implica em menor temperatura e tempo de reação. O etanol, além de ter produção consolidada no Brasil, é consideravelmente menos tóxico, é renovável e produz biodiesel com maior lubricidade. Uma grande desvantagem do etanol está no fato deste promover uma maior dispersão do glicerol no biodiesel, dificultando a sua separação.

A reação de transesterificação de óleos ou gorduras é realizada na presença de catalisadores ácidos, básicos ou enzimáticos. Os catalisadores mais empregados são os alcóxidos que por serem mais ativos, resultam em rendimentos superiores a 98% na reação de transesterificação, no entanto são mais sensíveis à presença de água. Os hidróxidos de sódio e de potássio, embora menos ativos, apresentam menor custo, promovem rendimentos satisfatórios e têm sido mais amplamente empregados.

Ao contrário dos combustíveis fósseis que são relativamente inertes e mantêm as suas características essenciais pouco alteradas, o biodiesel degrada-se com o tempo devido ao seu contato com contaminantes, tanto de natureza inorgânica, quanto microbiana, sendo a oxidação decorrente da sua exposição ao ar atmosférico um dos principais problemas a que está sujeito.

A evolução da oxidação de um biodiesel está atrelada a diversos fatores como a composição do óleo do qual foi sintetizado, da quantidade e da natureza das insaturações presentes, do processamento do biodiesel e condições de

armazenamento (CRAPISTE, BREVEDAN, CARELLI, 1999; BERTHIAUME, TREMBLAY, 2006; FOX, STACHOWIAK, 2006).

Existem muitos trabalhos que realizam os estudos de oxidação de forma acelerada, que visam prever a oxidação em condições normais de armazenamento e uso do biodiesel. Contudo, os resultados obtidos podem sofrer desvios dos valores reais, uma vez que a medida que as amostras são expostas a temperaturas elevadas, exposição ao oxigênio e à luz, ou outros fatores, o mecanismo de reação altera-se. A ocorrência de algumas reações paralelas como a polimerização pode ser potencializada. (ANTONIASSI, 2001; FOX, STACHOWIAK, 2006; COMANDINI et al., 2009).

Estudos vêm sendo desenvolvidos a fim de melhorar e garantir a qualidade do biodiesel, em função da matéria prima utilizada, buscando assim aprimorar as propriedades físico-químicas, e então, solucionar os problemas existentes, principalmente na área do controle da qualidade e armazenamento (RODRIGUES FILHO, 2010). No Brasil, o óleo de soja se destaca como a matéria prima mais utilizada na obtenção do biodiesel.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, com aproximadamente 22 milhões de hectares (QUINTELLA et al., 2009). Apesar do baixo teor de óleo, cerca de 18%, a soja possui a logística e o ciclo tecnológico desenvolvidos para atender a demanda do mercado. Segundo Dantas (2010) a soja é de fácil cultivo e apresenta produção de duas vezes ao ano, o que representa um grande potencial para o desenvolvimento do programa nacional de biodiesel.

No entanto, um dos principais problemas associados com a utilização do biodiesel de soja é a sua susceptibilidade aos processos oxidativos, como a auto-oxidação, devido às características estruturais dos ácidos graxos do óleo que apresentam sítios mais reativos (duplas ligações) na etapa inicial da auto-oxidação.

Entretanto, o processo da auto-oxidação pode ser minimizado e/ou retardado, diminuindo as condições que contribuem para o seu aumento, como por exemplo, diminuir a formação de radicais livres por meio de antioxidantes (RAMALHO, JORGE, 2006), manter exposição mínima à luz e altas temperaturas, evitar a presença de traços de metais e impedir ao máximo o contato com oxigênio.

A oxidação do biodiesel produz vários compostos (aldeídos, cetonas, ácidos, peróxidos, polímeros) que podem modificar substancialmente as propriedades do combustível, comprometendo assim o funcionamento do motor. Sob este aspecto a estabilidade oxidativa deve ser considerada como um parâmetro essencial no controle da propriedade do biodiesel (DANTAS et al., 2011).

Assim, métodos analíticos que possam assegurar a qualidade do biodiesel, desde o processo e durante a estocagem, monitorando a presença e formação dos compostos oriundos dos processos oxidativos, são essenciais. Vários métodos são adotados pelas agencias reguladoras, não só para a caracterização do biodiesel como também na garantia da qualidade. No entanto esses métodos analíticos demandam tempos longos de análises, preparo complexo de amostra e gasto de grande volume de solventes orgânicos.

A motivação deste trabalho foi buscar uma técnica alternativa a esses métodos analíticos que além de rápida fosse economicamente viável e que permitisse a avaliação das primeiras etapas da oxidação do biodiesel.

A espectrometria de massas, (MS) constitui uma das técnicas instrumentais mais abrangentes da ciência, com amplas aplicações em diversas áreas devido a recentes avanços em instrumentação e o desenvolvimento de novas técnicas de ionização. Neste contexto, surgiu um novo campo que passou a ser conhecido como análise por espectrometria de massas ambiente, no qual a ionização ocorre à pressão atmosférica diretamente sobre a amostra no estado tal qual ela se encontre. Os trabalhos de Cooks e colaboradores (TAKÁTS et al., 2004) foram os pioneiros

nessa área explorando a técnica de DESI (*Dessorption Electrosparry Ionization*) seguidos pelos trabalhos de Cody e Laramée (2005) com DART (*Direct Analysis in Real Time*) nos anos de 2004 e 2005, respectivamente.

A espectrometria de massas já vem sendo utilizada para a caracterização de óleos vegetais e biodiesel através das técnicas de ionização/dessorção a laser assistida por matriz, *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization* (MALDI) e *Electrospray* (ESI).

Contudo, a nova técnica de ionização ambiente por sonic-spray, *Easy Ambient Sonic-Spray Ionization* (EASI) é uma das técnicas de ionização ambiente para espectrometria de massas que elimina totalmente o preparo de amostra e se torna economicamente viável para analisar biodiesel por produzir excelente resultados quando adaptada a um analisador monoquadrupolar, considerado simples e barato em relação aos outros tipos de analisadores de massas. A proposta apresentada neste trabalho possibilita estudar as espécies formadas (hidroperóxidos) que são de grande importância na determinação da qualidade e avaliação da estabilidade do biodiesel.

Neste trabalho foram caracterizadas por espectrometria de massas duas matrizes, biodiesel de óleo de soja e biodiesel de óleo residual de fritura. Para isso foram utilizadas técnicas de ionização e analisadores de massas compatíveis com o grau de detalhamento desejado.

2. OBJETIVOS

Este estudo teve como principal objetivo monitorar os produtos de oxidação do biodiesel, na fase inicial do processo, de forma rápida e abrangente por espectrometria de massas com ionização ambiente por *sonic-spray* (EASI-MS – *Easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry*).

Objetivos específicos:

- Simular diferentes condições de armazenamento para o biodiesel, próximas as reais, obtendo situações de oxidação distintas, a curto e longo prazo;
- Avaliar e caracterizar os produtos de oxidação molecularmente/quimicamente por EASI-MS e outras técnicas de espectrometria de massas.
- Estabelecer marcadores da oxidação por EASI-MS
- Acompanhar a oxidação do biodiesel armazenado também por determinações de parâmetros físico-químicos através de técnicas clássicas.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. O que é o Biodiesel

O Biodiesel é uma fonte de energia renovável de interesse mundial e foi definido pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis através da lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005 (ANP, 2005) como:

Biocombustível derivado da biomassa renovável para uso em motores a combustão interna ou, conforme regulamento para outro tipo de geração de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustível de origem fóssil.

O biodiesel é obtido principalmente por uma reação de transesterificação como ilustrado na **Figura 1**.

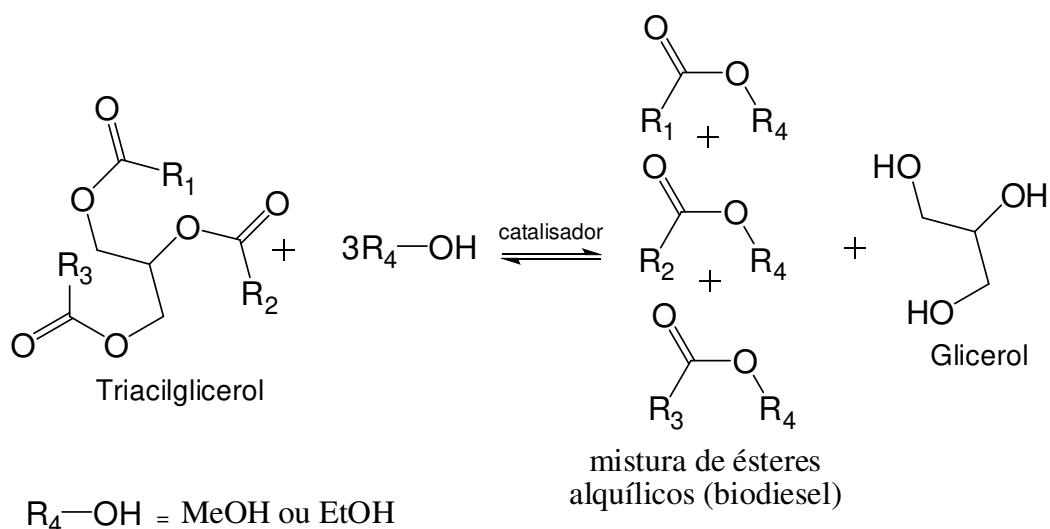


Figura 1. Reação de Transesterificação para Produção de Biodiesel.

O método consiste em reagir um triacilglicerol com um álcool na presença de um catalisador gerando uma mistura de ésteres alquílicos de ácidos graxos, que é a composição básica do biodiesel, e como subproduto o glicerol.

Os triacilgliceróis utilizados na reação são provenientes de fontes renováveis como os óleos vegetais ou gordura animal. No Brasil, existem diferentes espécies oleaginosas que podem ser utilizadas como matéria prima para o biodiesel como a soja, o babaçu, a mamona, o milho, o algodão, o amendoim, o pinhão manso entre outras que ainda estão sendo exploradas (VARGAS, SCHUCHARDT, SERCHELI, 1998; VASCONCELOS et al., 2006; CONCEIÇÃO et al., 2007). O mercado brasileiro de agronegócio ocupa a segunda maior produção de soja a nível mundial, com aproximadamente 22 milhões de hectares (QUINTELLA et al., 2009), logo é viável que essa cultura apresente maior potencial para o desenvolvimento imediato do programa nacional de biodiesel. Portanto, apesar da grande diversidade de matérias primas, mais de 80% do biodiesel produzido hoje no país são do óleo de soja. Nessa matriz, predominam os ácidos graxos insaturados (**Tabela 1**), principalmente os ácidos oléico, linoléico e linolênico (FRANGUI, HANNA, 1999; COSTA NETO et al., 2000; CANDEIA et al., 2009) que caracterizam a composição dos ésteres alquílicos no biodiesel.

De acordo com a literatura, o teor de compostos insaturados, está diretamente correlacionado com processos oxidativos associado ao biodiesel. Fato este, que tem chamado à atenção de inúmeros pesquisadores, na tentativa de melhorar a qualidade do biodiesel, objetivando o aumento do tempo de estocagem sem que haja uma diminuição da qualidade. A presença de ligações duplas na cadeia de ésteres de ácidos graxos confere maior reatividade da molécula com O₂, especialmente quando a molécula está em contato com ar e água. (JAIN, SHARMA, 2010).

Tabela 1. Composição química do óleo de soja.

Ácidos Graxos	Contribuição percentual (%)
Ácido mirístico (C14:0)	< 0,5
Ácido Palmítico (C16:0)	7,0 – 14,0
Ácido Palmitoléico (C16:1)	< 0,5
Ácido Esteárico (C18:0)	1,4 – 5,5
Ácido Oleico (C18:1)	19,0 – 30,0
Ácido Linoleico (C18:2)	44,0 – 62,0
Ácido Linolênico (C18:3)	4,0 – 11,0
Ácido Araquídico (C20:0)	<0,1
Ácido Eicosenóico (C20:1)	< 0,1
Ácido Behênico (C22:0)	< 0,5

A estabilidade térmica e oxidativa do biodiesel de soja, durante o processo de armazenamento, foi avaliada por Candeia e colaboradores (2011) através da calorimetria diferencial de varredura pressurizada e viscosidade, e os resultados mostraram que houve um aumento da viscosidade evidenciado pela temperatura e tempo de estocagem, diminuindo a estabilidade do biodiesel. Knothe (2006b) acompanhou o processo de oxidação do biodiesel metílico de soja, através da variação de área de contato com oxigênio nas amostras analisadas. Foi observado que a taxa de oxidação do biodiesel aumentou com o tempo e com o grau de exposição ao ar.

Os alcoóis utilizados na síntese do biodiesel possuem cadeias curtas, como o metanol e o etanol. A escolha para cada álcool pode depender de fatores como preço, quantidade necessária, facilidade de reação e de recuperação dos produtos, aspectos ambientais entre outros. A maioria dos produtores de biodiesel tem optado

pelo uso do metanol devido ao menor custo, porém o metanol adquirido normalmente é importado, sendo assim outros produtores procuram aplicar o etanol, que já faz parte da matriz energética brasileira e é considerado ecologicamente correto, com uma única desvantagem relacionada com a alta solubilidade do glicerol.

Os catalisadores empregados na transesterificação podem ser heterogêneos ou homogêneos e podendo ser ácidos ou básicos. No processo industrial a preferência é para catalisadores básicos que permitem um processo mais rápido (SCHUCHARDT, SERCHELI, VARGAS, 1998; BAJPAI, TYAGI, 2006). Os hidróxidos de metais alcalinos (KOH e NaOH), normalmente de preços mais acessíveis, são frequentemente empregados nas sínteses. (RAMADHAS, JAYARAJ, MURALEEDHARAN, 2005; SARIN et al., 2009).

3.2 Vantagens do Biodiesel como Biocombustível

As fontes de energia sustentável e renovável tornaram-se bastante atraentes devido aos seus benefícios ambientais. Neste cenário, o biodiesel tem potencial em substituir ou no mínimo complementar os combustíveis convencionais derivados do petróleo.

O óleo vegetal e a gordura animal quando utilizados diretamente como combustível em motores do ciclo diesel acarretam problemas como alta viscosidade, maior densidade e baixa volatilidade (DEMIRBAS, 2005; HRIBERNIK, KEGL, 2008) gerando falhas como a combustão incompleta, formação de depósitos de carbono nos sistemas de injeção e comprometendo a durabilidade desses motores. A transformação dos óleos em biodiesel é capaz de contornar esse problema da viscosidade além de gerar um biocombustível com

características físico-químicas muito semelhantes ao diesel, que é composto por longas cadeias de hidrocarbonetos (**Figura 2**) (KNOTHE et al., 2006; DANTAS, 2006).

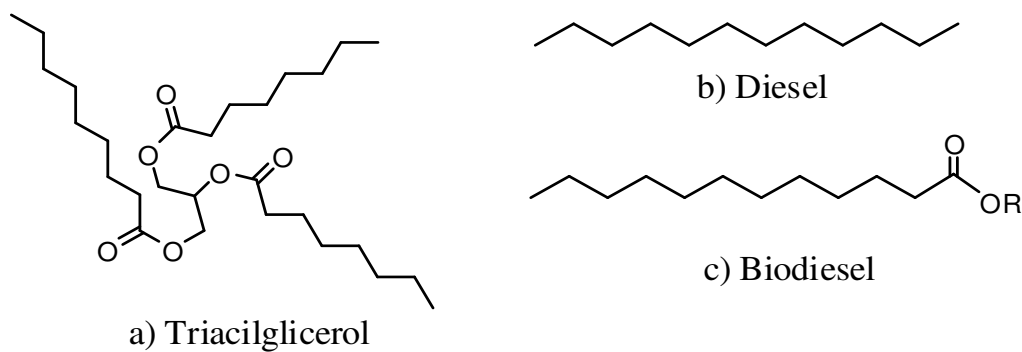


Figura 2. Representação das estruturas do (a) triacilglicerol, (b) diesel (hidrocarbonetos) e do (c) biodiesel (ésteres alquílicos).

Essa analogia permite que o biodiesel seja utilizado como combustível em uma grande frota de automóveis com motores à combustão já estabelecida no mundo. A miscibilidade em todas as composições que ocorre entre o diesel e o biodiesel comporta ainda o uso de misturas contendo esses dois combustíveis conhecidas como blendas, cuja designação é abreviada por Bn, sendo n a proporção em volume do biodiesel em relação ao volume total da mistura. Por exemplo, o B5 possui 5% de biodiesel adicionado ao diesel.

O favorecimento da aplicação do biodiesel e das blendas como fonte energética não apenas no Brasil, mas em outros países como Estados Unidos, Argentina, Alemanha, França, Itália, Áustria, deve-se a algumas vantagens características do biodiesel em comparação com o diesel de petróleo como:

(a) sua origem renovável, (b) diminuir a emissão de CO₂ através da fixação do carbono na matéria orgânica (c) ser biodegradável, (d) não ser inflamável em

condições normais de manuseio, transporte e armazenamento, (e) Reduzir significativamente a emissão de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), (f) Reduzir a emissão de material particulado, (g) ser livre ou ter a redução na emissão dos compostos SO_x, dependendo da proporção na blenda (f) melhor ignição e maior poder de combustão, (g) viscosidade e lubricidade apropriada (SILVA, CASTELLANELLO, SOUZA, 2008; DEMIRBAS, 2008a; HANH et al., 2008; MACLEOD, LEE, WILSON, 2008; KEGL 2008; DUPONT et al., 2009; LAPUERTA et al., CHIEN et al., 2009).

3.3 Oxidação do Biodiesel

O estudo sobre o processo de oxidação do biodiesel é análogo àqueles sobre as reações que ocorrem na oxidação lipídica (BONDIOLI et al., 2003; DUNN, 2005; FERRARI et al., 2005; LIANG et al., 2006). Muitos dos mecanismos que ocorrem ainda não estão totalmente estabelecidos e tem uma descrição mais complexa, contudo o processo pode ser resumidamente descrito nas seguintes etapas:

- (i) Inicialização - formação de radicais livres;
- (ii) Propagação - formação de radicais peróxidos e hidroperóxidos como produtos primários de oxidação;
- (iii) Finalização - formação dos produtos secundários e terciários de oxidação.

Na iniciação são formados os radicais livres (L•) através da remoção do hidrogênio de um átomo de carbono na cadeia graxa. As cadeias dos ésteres de ácidos graxos insaturados são mais susceptíveis à formação dos radicais livres que os compostos saturados e à medida que o grau de insaturações aumenta na cadeia

essa tendência cresce. Isto ocorre, pois o átomo de hidrogênio alílico, localizado no carbono adjacente da dupla ligação, é mais facilmente retirado. Ainda, nos compostos polinsaturados, como os ésteres de ácido linoleico e linolênico, devido ressonância que existe entre as duplas ligações, ocorre a formação de um radical mais estável (FENNEMA, PARKIN, SRINIVASAN, 2007).

Na etapa de propagação, o processo de oxidação continua com a reação do oxigênio com o radical livre formando os radicais peróxidos ($\text{LOO}\cdot$). Esses radicais possuem reatividade suficiente para promover a remoção de um átomo de hidrogênio de outro éster presente (LH) e se converterem em hidroperóxidos (LOOH), que é fundamentalmente o produto primário de oxidação. Concomitantemente à formação dos hidroperóxidos são gerados novos radicais resultando em reações em cadeia no ciclo de propagação. Trata-se de um processo auto-catalítico. (FENNEMA et al., 2007)

A formação do hidroperóxido a partir da dupla ligação do éster metílico do ácido linoleico está ilustrada na **Figura 3** e tem como base as reações de oxidação lipídica estudadas por Frankel, 1984.

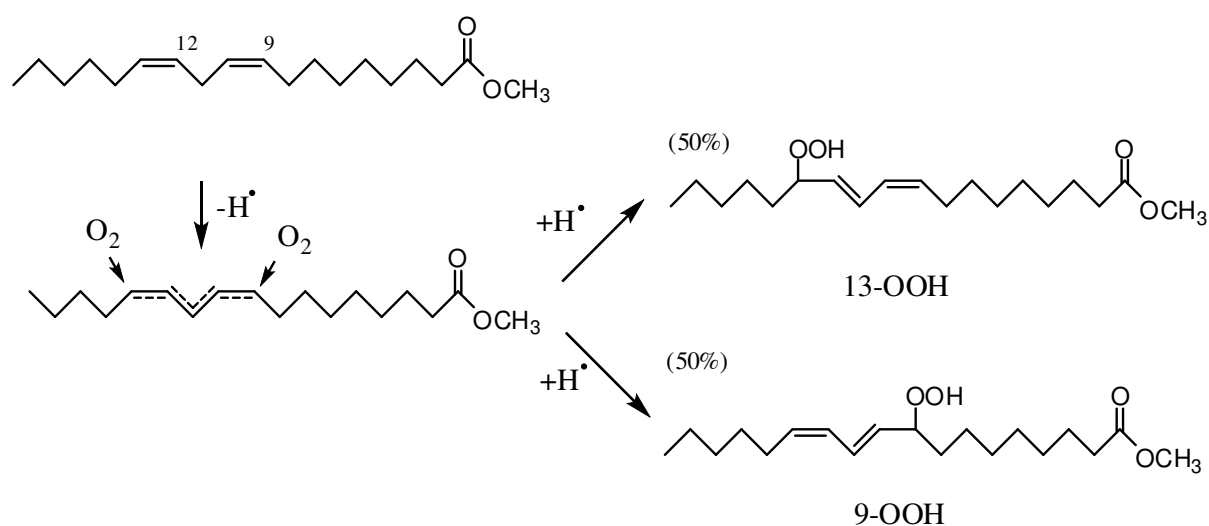


Figura 3. Mecanismo de oxidação para um éster metílico de ácido linoleico.

A presença dos hidroperóxidos, que no período de iniciação não é muito expressiva, aumenta no período de propagação e indica o início do processo de oxidação do biodiesel de modo geral.

Com o decorrer da oxidação ocorre a decomposição dos hidroperóxidos que pode produzir uma grande variedade de produtos secundários. Apesar das reações que podem estar envolvidas no processo de formação desses produtos serem muito complicadas, estão descritos alguns dos produtos gerados nessa etapa de finalização (MOREIRA et al., 1999; MITTELBACH, GANGL, 2001; KNOTHE, 2002; DUNN, 2005; FRANKEL, 2005; KNOTHE, 2007), com segue:

Reações nos hidroperóxidos:

- Interação dos hidroperóxidos com duplas ligações – epóxidos
- Desidratação dos hidroperóxidos – cetonas
- Redução do grupo hidroperóxido – derivados hidroxilas

Produtos de baixa massa molecular:

- Compostos voláteis formados por meio de clivagens que na maioria das vezes ocorre no carbono adjacente ao grupo hidroperóxido – aldeídos, cetonas, alcoóis e hidrocarbonetos

Produtos de alta massa molecular:

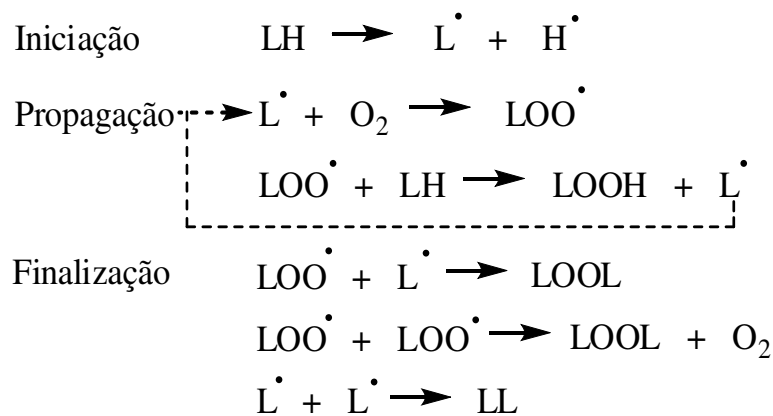
- Polimerização dos radicais livres que se originam da degradação do hidroperóxido ou copolimerização com outros componentes do biodiesel – dímeros ou trímeros

O peróxido pode atuar como o principal radical de reações na formação dos produtos finais quando existe um excesso de oxigênio. Quando não há oxigênio em

excesso os produtos finais são resultados da interação dos radicais alquil, gerando principalmente os dímeros de ácido graxo (FENNEMA et al., 2007).

A sequência de reações descrita anteriormente pode ser melhor visualizada, mesmo que de forma resumida, na **Figura 4**.

Existem alguns estudos sobre a estabilidade do biodiesel sintetizado a partir de diversas matérias-primas e que definem a auto-oxidação como um dos processos de degradação do biodiesel mais comum. O biodiesel que é armazenado por longos períodos ou de forma inadequada está sujeito a sofrer degradação. A constituição dos ésteres alquílicos no biocombustível pode variar de acordo com o óleo do qual foi originado, quanto maior a concentração dos ácidos graxos na forma insaturada (exemplos: ácidos oleico, linoleico e linolênico) maior é a susceptibilidade do biodiesel sofrer oxidação (AIDOS et al., 2002; FRANKEL, 2005; HUANG, SATHIVEL, 2008).



LH - Ácido graxo insaturado; $L^{\bullet}$ - Radical livre; $LOO^{\bullet}$ - radical peróxido;
 LOOH - Hidroperóxido

Figura 4. Processo de oxidação em cadeias lipídicas.

3.4 Problemas Relacionados à Oxidação do Biodiesel

A formação de depósitos por precipitação ocorre em função do envelhecimento e/ou oxidação do biodiesel. Foi observada a formação de borras em virtude de contaminação microbiana, devido à água presente no biodiesel, que é um meio favorável ao crescimento microbiano.

Testes realizados pela Bosch (DABAGUE, 2003), em parceria com a ANFAVEA (Associação Nacional dos Fabricantes de Veículos Automotores), AEA (Associação Brasileira de Engenharia Automotiva) e Sindipeças (Sindicato Nacional da Indústria de Componentes para Veículos Automotores), constataram que a degradação oxidativa do biodiesel gera resinificação que, por aderência, constitui uma das principais causas da formação de depósitos nos equipamentos de injeção. Em decorrência desse fenômeno, foi também observada uma queda no desempenho, aumento da susceptibilidade à corrosão e diminuição da vida útil dos motores. Aliado a esses problemas foi constatado uma maior frequência na troca de filtros, problemas com os bicos injetores e um aumento de consumo. A oxidação de óleos insaturados representa um processo relativamente complexo que envolve reações entre radicais livres e oxigênio molecular. Os peróxidos e hidroperóxidos produzidos através da reação de auto-oxidação podem se polimerizar com outros radicais e produzir moléculas de elevada massa molar, sedimentos insolúveis, gomas e, em alguns casos, pode quebrar a cadeia do ácido graxo oxidado, produzindo ácidos de cadeias menores e aldeídos (PRANKL, SCHINDLBAUER, 1998). Estudos anteriores (CLARK et al., 1984; TAO, 1995) constataram que a formação desses ácidos pode estar ligada à corrosão do sistema combustível dos motores porque, devido à alta instabilidade dos hidroperóxidos, eles apresentam forte tendência a atacar elastômeros.

3.5 Padrões de Qualidade para o Biodiesel

O estabelecimento de padrões de qualidade é de importância fundamental para garantir a qualidade e as propriedades do biodiesel, objetivando estabelecer teores limites de substâncias que não venham prejudicar o desempenho, a integridade do motor e a segurança no transporte e manuseio, além de possíveis degradações durante o processo de estocagem.

O primeiro país a definir e colocar em prática padrões de qualidade para o biodiesel foi a Áustria seguida por outros países que estabeleceram padrões de qualidade para outros tipos de biodiesel. (SHARMA, SINGH, UPADHYAY, 2008) Atualmente o padrão de qualidade americano, elaborado pela ASTM (*American Society of Testing and Materials*), através da norma ASTM D6751, e o estabelecido na União Européia através da norma EN 14214 do Comitê Europeu de Normalização (*Comité Européen de Normalisation* - CEN) Figuram como os mais conhecidos e são geralmente usados como referência ou base para outros padrões. (KNOTHE, 2006a)

No Brasil a partir de janeiro de 2008, a Lei 11097/05 instituiu a obrigatoriedade da adição de 2% de biodiesel ao diesel e torna obrigatórias as misturas de 5% até 2013. O Conselho Nacional de Políticas Energéticas (CNPE), através de sua Resolução nº 2/2008, tornou obrigatória a adição de 3% de biodiesel ao diesel a partir de 1º de julho de 2009, já antecipando o cumprimento da lei. Esta medida, além de reduzir o consumo do diesel mineral, fortalecer a indústria nacional e aumenta a exportação de biodiesel. A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), através da Resolução nº 07 de 2008 (RANP 07/08) que substituiu a Resolução nº 42 de 2004, tornou os critérios de avaliação da qualidade do biodiesel brasileiro mais restritivos, como também estabelece as especificações do biodiesel a ser misturado ao diesel mineral. Esses padrões de

Tabela 2. Padrões de qualidade do biodiesel.

Característica	Unidade	Limite	Método		
			ABNT NBR	ASTM D	EN/ISO
Aspecto	-	LII	-	-	-
Massa específica a 20° C	kg/m³	850-900	7148 14065	1298 4052	EN ISO 3675 - EN ISO 12185
Viscosidade Cinemática a 40°C	Mm²/s	3,0-6,0	10441	445	EN ISO 3104
Teor de Água, máx.	mg/kg	500	-	6304	EN ISO 12937
Contaminação Total, máx.	mg/kg	24	-	-	EN ISO 12662
Ponto de fulgor, mín.	°C	100,0	14598	93	EN ISO 3679
Teor de éster, mín	% massa	96,5	15764	-	EN 14103
Resíduo de carbono	% massa	0,050	15586	4530	-
Cinzas sulfatadas, máx.	% massa	0,020	6294	874	EN ISO 3987
Enxofre total, máx.	mg/kg	50	- -	5453	- EN ISO 20846 EN ISO 20884
Sódio + Potássio, máx.	mg/kg	5	15554 15555 15553 15556	-	EN 14108 EN 14109 EN 14538
Cálcio + Magnésio, máx.	mg/kg	5	15553 15556	-	EN 14538
Fósforo, máx.	mg/kg	10	15553	4951	EN 14107
Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx.	-	1	14359	130	EN ISO 2160
Número de Cetano	-	Anotar	-	613 6890 (6)	EN ISO 5165
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.	°C	19	14747	6371	EN 116
Índice de acidez, máx.	mg KOH/g	0,50	14448 -	664 -	- EN 14104
Glicerol livre, máx.	% massa	0,02	15341 15771 - -	6584 (8) -	- EN 14105 EN 14106
Glicerol total, máx.	% massa	0,25	15344 -	6584 (8) -	- EN 14105
Mono, di, triacilglicerol	% massa	Anotar	15342 15344	6584 (8)	- - EN 14105
Metanol ou Etanol, máx.	% massa	0,20	15343	-	EN 14110
Índice de Iodo	g/100g	Anotar	-	-	EN 14111
Estabilidade à oxidação a 110°C, mín.	h	6	-	-	EN 14112

Fonte: (ANP, 2008)

qualidades presentes nesta resolução foram estabelecidos com base nas normas ASTM D6751 e EN 14214 (**Tabela 2**). A mistura óleo diesel/biodiesel tem sua especificação estabelecida pela resolução ANP 15/2006.

Nas normas, encontram-se parâmetros que são provenientes da normatização do diesel mineral e os que foram originados de análises de óleos vegetais, comumente utilizados na indústria química de óleos, no entanto fornecem resultados bastante esclarecedores quanto à qualidade do biodiesel.

Devido às estruturas moleculares dos ésteres constituintes, à presença de contaminantes oriundos da matéria prima, do processo de produção ou formados durante a estocagem, a qualidade do biodiesel pode sofrer variações. A absorção de umidade e os processos de degradação oxidativa durante o armazenamento do biodiesel contribuem para a presença de água, peróxidos e ácidos carboxílicos de baixa massa molecular.

3.6 Métodos Analíticos para Avaliação da Qualidade do Biodiesel

Os métodos analíticos para avaliação da qualidade do biodiesel objetivam fornecer informações sobre: a determinação de contaminantes provenientes da matéria prima (fósforo, enxofre, cálcio e magnésio); a avaliação do processo produtivo (presença em maior ou menor quantidade de glicerina livre, glicerídeos não reagidos, sabões, álcool residual, resíduos de catalisadores e água); a avaliação das propriedades inerentes às estruturas moleculares dos ésteres (tamanho da cadeia carbônica, quantidade e posição das insaturações, presença de agrupamentos na cadeia); e o monitoramento da qualidade do biodiesel durante o processo de estocagem (presença de água, peróxidos e ácidos carboxílicos).

A partir dos resultados analíticos da avaliação da qualidade do biodiesel podem-se obter informações importantes a respeito da seleção da matéria prima, do processo fabril e do armazenamento, bem como do desempenho do biodiesel como combustível e da qualidade das suas emissões.

Algumas propriedades do biodiesel estão relacionadas com as estruturas moleculares dos ésteres constituintes que podem afetar o desempenho do combustível. (DEMIRBAS, 2008b) Dentre estas estão a viscosidade cinemática e o índice de iodo, além de outras (massa específica, fração de destilados, ponto de névoa, ponto de entupimento de filtro a frio e ponto de fluidez). Parâmetros como a estabilidade oxidativa, teor de umidade e índices de acidez e peróxido são muito úteis no que tange a estabilidade do biodiesel durante o processo de estocagem.

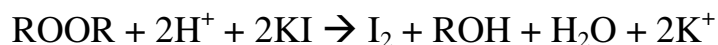
3.6.1 Índice de peróxidos

O índice de peróxido é um parâmetro de qualidade normalmente utilizado na determinação do grau de oxidação de óleos e gorduras indicando a etapa inicial de oxidação (SHAHIDI et al., 2005). Embora não seja mencionado em normas específicas para o biodiesel este parâmetro tem sido aproveitado nos estudos de seu armazenamento também para avaliar o processo de oxidação (BONDIOLO et al., 2003; FERRARI et al., 2005; BOUAID, MARTINEZ, ARACIL, 2009; BORSATO et al., 2010). A determinação do índice de peróxido se torna importante ao longo da cadeia de distribuição do biodiesel uma vez que a formação e a variação da presença de peróxidos e hidroperóxidos neste biocombustível indica o início da degradação causada pela reação com o oxigênio (XIN, IMAHAR, SAKA, 2008). A formação desses produtos também pode ocorrer em maior tempo dependendo das condições de armazenamento que favorecem a oxidação mais

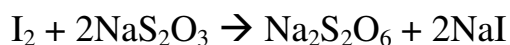
rápida, como em temperaturas muito elevadas e a alta exposição ao O₂ (DUNN, 2008).

O índice de peróxido foi determinado através do método descrito na norma da *American Society For Testing and Materials* (ASTM) D3703 (Hydroperoxide Number of Aviation Turbine Fuels, Gasoline) (ASTM, 2009a) que foi desenvolvido para combustíveis de aviação e apesar de não ter uma precisão conhecida para os testes com biodiesel foi suficiente para mostrar tendências ao longo do tempo. O método é capaz de detectar os constituintes oxidados que estão presentes na amostra e o valor obtido determina a quantidade de peróxidos e hidroperóxidos em um líquido combustível dado em mili-equivalentes de oxigênio ativo por quilograma de amostra.

Neste método é utilizada a titulação iodométrica a qual se baseia na habilidade do hidroperóxido, em meio ácido, em oxidar os íons iodeto (I⁻) em iodo (I₂), como descrito na equação a seguir:



O iodo formado fornece a quantidade de hidroperóxidos presentes quando é titulado com uma solução de tiosulfato de sódio usando solução de amido como indicador (MORETTO, FETT, 1998). Assim, a quantidade de tiosulfato de sódio consumida é proporcional à quantidade de peróxidos presentes na amostra (BACCAN et al., 2001).



É importante ressaltar a necessidade de realizar mais de um índice por amostra, pois os resultados são complementares uma vez que medem etapas

distintas da oxidação. (AOCS, 2004; DYSSSELER, DIEFFENBACHER, 2000) Os métodos acelerados constituem técnicas analíticas de importância singular no estudo da estabilidade oxidativa. Sua aplicação acarreta em economia de tempo e quantidade de amostra, entretanto a falta de correlação entre os diferentes parâmetros utilizados para determinar o grau de oxidação (formação de produtos secundários, absorção de oxigênio etc.) não reflete a evolução do processo oxidativo em condições reais. Assim sendo há a necessidade de outros métodos analíticos, a exemplo das técnicas cromatográficas. (SONG, et al., 1993; NEFF, BYRDWELL, 1998; AKASAKA, OHRUI, MEGURO, 1998; BAUER-PLANK, STEENHOORST-SLIKKERVEER, 2000; SJOVALL, KUKSIS, KALLIO, 2001), que são hoje uma das principais e mais empregadas técnicas de análise química instrumental, mas todas com extenso preparo de amostra e tempos longos de corrida.

3.6.2 Índice de acidez

Durante o período de estocagem é fundamental o monitoramento da acidez no biodiesel, o que pode significar a presença de água (rancidez hidrolítica). O índice de acidez é a medida dos ácidos minerais e dos ácidos graxos livres contidos numa amostra de combustível, podendo ter origem no processo de produção ou degradação do biodiesel (KNOTHE; 2002). Quanto menos compostos residuais estiverem presentes, menor será o valor do índice de acidez. O valor deste parâmetro também poderá aumentar ao longo do tempo em que o biodiesel estiver sendo armazenado.

O objetivo geral da análise é a determinação dos constituintes ácidos totais no biodiesel através de uma titulação. O método recomendado pela norma EN 14214 é o EN14104, que utiliza uma solução alcoólica de KOH como titulante e

fenolftaleína como indicador. A ASTM recomenda é o método potenciométrico D664 (ASTM, 2009c). Segundo Knothe (2006a), este método não apresenta boa reprodutibilidade e recomenda o método ASTM D974, que se baseia na titulação em sistema não aquoso e utiliza solução de KOH em isopropanol como titulante e p-naftolbenzoina como indicador. Os métodos adotados pela RANP 07/08 (ANP, 2008) são os mesmos indicados pelas normas americana e européia, além do método de titulação potenciométrica ABNT NBR 14448. Independente do método, todas as normas citadas acima estabeleceram limites máximos de acidez de 0,5 mg de KOH/g.

Reda e colaboradores (2007) elaboraram um método de determinação de índice de acidez em biodiesel por ressonância nuclear magnética protônica. Os resultados obtidos apresentaram boa correlação com valores determinados pelo método oficial. Deve-se, no entanto, levar em conta o custo de aquisição e manutenção do equipamento, o que eleva demasiadamente o custo da análise.

3.6.3 Viscosidade cinemática

A viscosidade do biodiesel é maior do que a do diesel de petróleo, o que confere maior lubricidade e por consequência redução na deterioração das peças móveis do motor, e esta aumenta com o comprimento da cadeia carbônica e com o grau de saturação. (KNOTHE, 2005) Contudo, uma viscosidade muito alta pode reduzir a eficiência de queima do combustível o que acarreta na deposição de resíduos entupindo filtros obstruindo o injetor e causando outros danos ao motor. Deficiências relacionadas ao processo produtivo do biodiesel, como a presença de sabões residuais, glicerídeos não reagidos e os produtos da degradação oxidativa, também são responsáveis pelo aumento da viscosidade do biodiesel. Todas essas substâncias podem ser monitoradas indiretamente através da determinação da viscosidade cinemática a 40°C.

A norma EN 14214 (método analítico EN ISO 3104) estabelece um intervalo aceitável de viscosidade de 3,5 a 5,0 mm²/s; a norma ASTM D6751 (método analítico D 445) permite um intervalo mais amplo, de 1,9 a 6,0 mm²/s, enquanto a RANP 07/08 (método ABNT NBR 10441 ou ASTM D445) estabelece uma faixa de viscosidade permitida de 3,0 a 6,0 mm²/s. (ASTM, 2009b; ANP, 2008).

3.6.4 Índice de iodo

O número de insaturações não tem apenas efeito sobre a densidade e viscosidade, mas também é de grande importância na estabilidade oxidativa dos biodieseis. Embora existam métodos mais modernos, o índice de iodo é um dos parâmetros mais comum na determinação do grau de insaturação de amostras contendo cadeias graxas como óleos, gorduras e biodiesel (ISBELL, ABBOTT, CARLSON, 1999; TIAN, DASGUPTA, 1999; KNOTHE, DUNN, 2003; KNOTHE et al., 2005; KNOTHE, 2006a).

As normas européia (EN 14214) e brasileira (RANP 07/08) adotaram o índice de iodo (método analítico EN ISO 1411) para determinar o número de insaturações. O método baseia-se na adição de iodo em excesso à amostra, que se adicionará às duplas ligações. O iodo não reagido é então titulado com tiosulfato de sódio e o resultado expresso como gramas de iodo que reagem com as insaturações em 100 g de amostra. O valor máximo aceito na norma européia é de 120 g I₂/100 g, enquanto que para a agência que regulariza as normas para biodiesel no Brasil, a ANP, não estabelece limites, apenas indica que o valor seja anotado (ANP, 2008). Isto se deve ao fato de que o biodiesel da principal matéria prima utilizada no país, a soja, tenha valores de índice de iodo mais elevados. Além do mais, alguns trabalhos existentes concordam que este parâmetro não é corretamente utilizado para avaliar o biodiesel quanto a sua estabilidade, pois apenas avalia o

número total de insaturações não avaliando a posição de cada uma delas, o que também pode influenciar na estabilidade oxidativa (KNOTHE, 2002; KNOTHE, DUNN, 2003; SCHOBER et al., 2007).

Independente desta discussão, o índice de iodo pode ser empregado para observar a oxidação gradativa do biodiesel durante o armazenamento, já que a série de reações que ocorrem neste processo é caracterizada pelo decaimento da quantidade total de insaturações (NAZ et al., 2004).

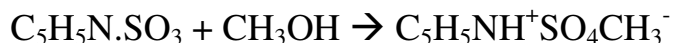
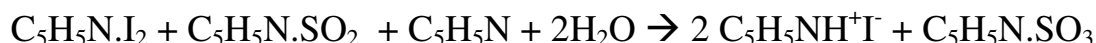
3.6.5 Umidade

A água, além de promover a hidrólise do biodiesel resultando em ácidos graxos livres (elevação do pH), também está associada à corrosão nos tanques de estocagem e proliferação de microrganismos, com deposição de sedimentos.

Como o biodiesel apresenta certo grau de hidrosopicidade, o teor de água deve ser monitorado durante o armazenamento. O teor de umidade é um dos parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira para o biodiesel e não deve ter valores superiores a 500 mg kg^{-1} (ANP, 2008). O limite proposto se deve a alguns fatores relacionados aos problemas que a presença de água pode causar no combustível e consequentemente nos motores.

A determinação é feita através do método coulométrico (Karl Fischer) da ASTM D6304, que apresenta maior sensibilidade para a determinação do teor de água (ASTM, 2007) que utiliza um aparelho coulométrico de Karl Fisher. A norma ASTM D6751 adotou o método ASTM D2709 para determinação de água e sedimento por centrifugação, estipulando um valor máximo permitido de 0,05%volume.

A reação de Karl Fischer é baseada na oxidação do dióxido de enxofre (SO₂) pelo iodo (I₂) na presença de água (H₂O) e de uma base, no caso a piridina (C₅H₅N), como descrito na equação a seguir:



3.6.6 Estabilidade à oxidação

A estabilidade oxidativa do biodiesel está diretamente relacionada ao número e posição das duplas ligações dos ésteres presentes, e isto varia de acordo com a matéria prima utilizada na produção do biodiesel. (MEHER, SAGAR, NAIK, 2006; BOUAID, MARTINEZ, ARACIL, 2007) Quanto maior o número de insaturações, maior a susceptibilidade da molécula à degradação tanto térmica quanto oxidativa. Grande parte dos produtos de degradação formados são insolúveis, o que pode ocasionar a formação de depósitos e entupimento do sistema de injeção de combustível do motor. Uma vantagem seria a presença de antioxidantes naturais (ex. tocoferóis), presentes nos óleos vegetais, que promoveriam uma maior estabilidade aos processos oxidativos, no entanto, essas substâncias antioxidantes podem ser perdidas durante o processo de refino ou por degradação térmica. (FERRARI, OLIVEIRA, SCABIO, 2009)

Altas temperaturas e exposição ao ar são fatores importantes que afetam a estabilidade do biodiesel, entretanto o efeito é ainda mais significativo quando estes dois fatores estão presentes ao mesmo tempo. (LEUNG, KOO, GUO, 2006) A presença de água no biodiesel pode também promover a oxidação (hidrolítica), geralmente, em menor extensão. A estabilidade do biodiesel pode ser avaliada em

tempo real (condições normais de armazenamento ou de distribuição) através da viscosidade e do índice de peróxido, por exemplo, ou em testes acelerados (preditivos), os quais promovem um envelhecimento acelerado. AKOH (2001) Uma das dificuldades para avaliar o grau de oxidação reside na escolha do momento mais adequado para efetuar esta determinação, de um modo geral, procura-se avaliar em condições padronizadas e selecionar um determinado parâmetro indicador, o período de indução (PI) da reação, ou seja, o tempo necessário para se atingir um ponto crítico de oxidação.

Uma vez que os fenômenos naturais de oxidação são processos lentos, os testes de estabilidade em tempo real tornam-se incompatíveis com o controle de qualidade a nível industrial. Deste modo, os testes de estabilidade acelerados assumem particular importância na rotina analítica. (DUNN, 2002) Entre os métodos de estabilidade acelerada o equipamento Rancimat[®] é um dos mais utilizados. A combinação de desses parâmetros podem ser utilizadas para o monitoramento da degradação oxidativa do biodiesel durante o período de estocagem.

A norma EN 14214 e a resolução da ANP nº 7 de 2008 (RANP 07/08) tem o método Rancimat como padrão para análise da estabilidade oxidativa do biodiesel (método EN 14112), com valor mínimo de período de indução de 6 h. Neste método, uma amostra do biodiesel é mantida em um vaso de reação, a temperatura de 110°C e sob um fluxo de ar borbulhante. São formados nesta primeira etapa de oxidação principalmente os peróxidos, seguidos da formação de compostos orgânicos voláteis (ácidos orgânicos de baixa massa molecular). Estes compostos são carregados pelo fluxo de ar para outro recipiente contendo água destilada, onde a presença dos ácidos orgânicos é então detectada pelo aumento da condutividade no sistema. O tempo decorrente até a detecção dos ácidos orgânicos é denominado de período de indução.

A oxidação do biodiesel sintetizado a partir do óleo de soja foi estudada por Knothe (2006b) Neste trabalho, variou-se a área de contato com o ar e as condições de oxidação (aquecimento a 80°C por 168 h e a 165°C por 3h). A oxidação do biodiesel foi acompanhada por ressonância nuclear magnética protônica (*proton nuclear magnetic resonance* - ¹H-NRM) para a determinação dos ácidos graxos de cadeias curtas e para as alterações nas duplas ligações, ambos decorrentes do processo de oxidação do biodiesel. Foi observado que a taxa de oxidação do biodiesel aumenta com o tempo e com o grau de exposição ao ar e que o aumento na concentração dos ácidos graxos de cadeia curta, aumento na acidez e no valor da viscosidade cinemática coincide com a diminuição do teor de metil éster.

3.7 Aplicação da Espectrometria de Massas como Método Analítico para o controle da qualidade do Biodiesel

3.7.1 Espectrometria de massas

A Espectrometria de Massas (MS) é uma técnica analítica que permite discriminar íons de acordo com a razão massa sobre carga (m/z) de cada um. A técnica oferece uma ferramenta poderosa para a identificação e a caracterização estrutural de átomos e moléculas de forma muito abrangente e com seletividade, sensibilidade e velocidade como nenhuma outra técnica conhecida atualmente (FUCHS, SCHILLER, 2009; SAWAYA et al., 2010).

A análise em um espectrômetro de massas ocorre essencialmente em cinco etapas: a) a inserção da amostra, que pode ser realizada de maneira simples com uma seringa ou bomba, ou utilizando equipamentos mais complexos como um cromatógrafo que trata de uma separação previa dos analitos; b) a ionização dos

analitos; c) a passagem e discriminação dos íons por um analisador de massas; d) detecção dos íons, transformação do sinal em corrente elétrica; e e) processamento dos dados, que converte o sinal elétrico recebido em função da razão m/z proporcionando um espectro de massas correspondente (DASS, 2007). A **Figura 5** exibe o diagrama de um espectrômetro de massas.

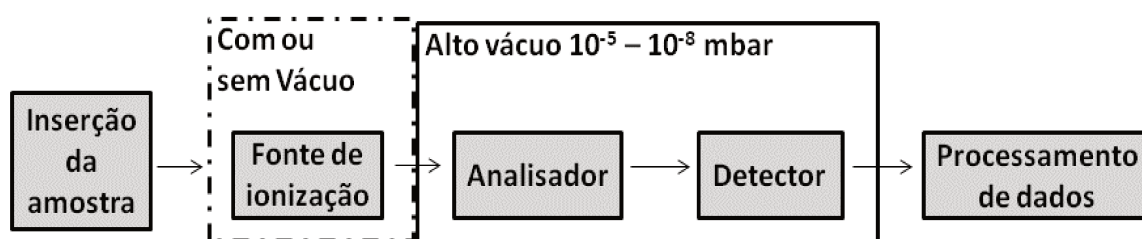


Figura 5. Diagrama demonstrativo de um espectrômetro de massas.

Como se observa o analisador de massas e o detector devem ser mantidos sob alto vácuo, já a ionização pode efetivar-se tanto no vácuo como em pressão atmosférica.

3.7.2 Espectrometria de massas ambiente

A análise direta por espectrometria de massas tornou-se ainda mais simplificada devido ao progresso ocorrido na instrumentação e ao desenvolvimento de novas técnicas de ionização/dessorção nos últimos anos, um novo campo que passou a ser conhecido como análise por espectrometria de massas ambiente (TAKÁTS, WISEMAN, COOKS, 2005; HAEFLIGER, JECKELMAN, 2007; CHIEN et al., 2009).

Em 2004 foi publicada uma das técnicas pioneiras em espectrometria de massas ambiente com o trabalho de Cooks e colaboradores (TAKÁTS et al., 2005),

a ionização/dessorção por *electrospray*, denominada DESI (*Dessorption Electrosparry Ionization*) (SHEN et al., 1999). Outras técnicas se seguiram como a técnica de DART (*Direct Analysis in Real Time*) desenvolvida por Cody e Laramée (2005). Hoje, mais de trinta métodos de ionização ambiente são conhecidos (WESTON, 2010; IFA et al., 2010) e os trabalhos mais atuais os definem como uma classe de técnicas na qual a ionização ocorre fora do espectrômetro de massas. Os íons formados e não a amostra como um todo é que são introduzidos no equipamento.

As técnicas de espectrometria de massas ambiente permitem a análise direta de compostos em suas matrizes e estado original, sem necessidade ou com pouco preparo de amostra, em ambiente aberto de forma rápida e principalmente de maneira muito simples (HARRIS, NYADONG, FERNANDEZ, 2008; CHIEN et al., 2009). As técnicas de ionização ambiente mais conhecidas são baseadas no spray de solvente (DESI) (SHEN et al., 1999); *Easy Ambient Sonic-Spray Ionization*, (EASI) (HADDAD et al., 2008a) *Extractive Electrospray Ionization*, (EESI) (CHEN, VENTER, COOKS, 2006), no spray de solvente acoplado a um laser (*Electrospray-Assisted Laser Desorption Ionization*, ELDI) (HUANG et al., 2006); *Matrix-Assisted Laser Desorption Electrospray Ionization*, (MALDESI) (SAMPSON et al., 2006) e em descarga elétrica (*Direct Analysis in Real Time*, (DART) (CODY, LARAMÉE, DURST, 2005); *Desorption Atmospheric Pressure Chemical Ionization*, (DAPCI) (WILLIAMS et al., 2006); *Low-Temperature Plasma Ionization*, (LTP) (HARPER et al., 2008); *Atmospheric Pressure Solid Analysis Probe*, (ASAP) (MCEWEN, GUTTERIDGE, 2007).

3.7.3 Ionização em condição ambiente por EASI-MS

A técnica de Espectrometria de Massas Ambiente com ionização Sonic-Spray (EASI), que foi desenvolvida e introduzida por Eberlin e colaboradores no Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas (Instituto de Química/UNICAMP/Brasil) (HADDAD et al., 2006; HADDAD et al., 2008.a; HADDAD et al. 2008.b;), faz parte desse novo cenário de técnicas de ionização.

Diferentemente de outras técnicas de ionização ambiente conhecidas EASI apresenta vantagens como uma aparelhagem muito simples (**Figura 6**), facilmente implementada e acoplada a diversos analisadores de massas, e por não utilizar nenhum tipo de aquecimento, radiação ou voltagem é livre de qualquer interferência de descarga elétrica, térmica e de oxidação/redução o que causa pouca ou nenhuma fragmentação na fonte melhorando a relação de sinal ruído nos espectros de massas. Sendo assim, EASI é uma das mais simples e brandas técnicas de ionização para análises com espectrometria de massas ambiente existindo inúmeras aplicações descritas em outros trabalhos (ALBERICI et al., 2010b), especialmente em óleos vegetais e gordura animais (SIMAS et al., 2010; RICCIO et al., 2010; RICCIO et al., 2011; SIMAS et al., 2012; PORCARI et al., 2012; FERNANDES, G. et al., 2012; CARDOSO et al., 2012) e biodiesel (ABDELNUR et al., 2008, ALBERICI et al., 2010a; ALBERICI et al., 2010c; ALBERICI et al., 2012a; ALBERICI et al., 2012b; FERNANDES, A. et al., 2012; CUNHA et al., 2012).

O mecanismo de ionização do EASI é baseado em sonic-spray (HIRABAYASHI, SAKAIRI, KOIZUMI, 1994; HIRABAYASHI, SAKAIRI, KOIZUMI, 1995), onde gotículas carregadas são formadas no spray sônico. Quando um solvente polar, como o metanol frequentemente utilizado, sofre uma nebulização muito rápida (vazão do gás de nebulização (N_2) 3 L min^{-1} e vazão do

solvente de $20 \mu\text{L min}^{-1}$) através de um capilar de sílica fundida (d.i. $100 \mu\text{m}$) ocorre um grande cisalhamento no jato de spray formando gotículas. Como a formação dessas gotículas ocorre muito rapidamente e o tamanho reduzido limita a densidade de carga (z/r) a probabilidade estatística é de que ocorra um desequilíbrio na distribuição de cargas entre elas tornando as carregadas tanto positivamente como negativamente.

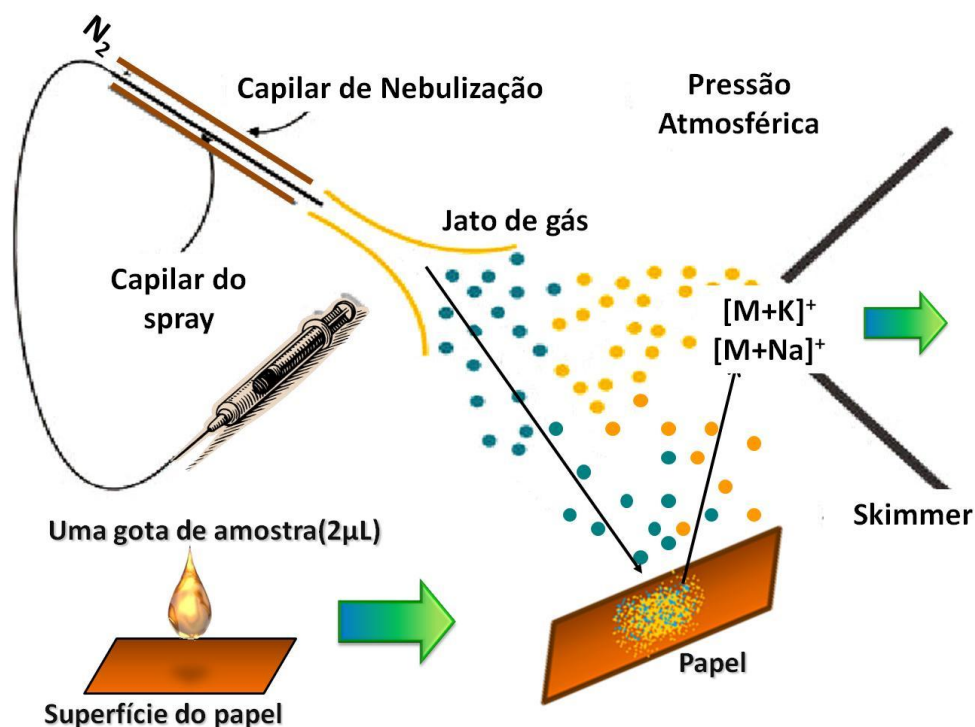


Figura 6. Ilustração de uma fonte de ionização *EASI-MS* na análise de biodiesel.

A incidência das gotículas carregadas sobre a amostra forma uma fina camada de solvente na qual o analito será dissolvido e ionizado (**Figura 7**). Subsequentes choques das gotículas carregadas do spray irão formar gotículas secundárias causando a dessorção do analito ionizado (**Figura 8**). Após a

dessorção, ocorre a evaporação do solvente favorecida pela energia térmica ambiente e do auxílio de um gás secante (N_2).

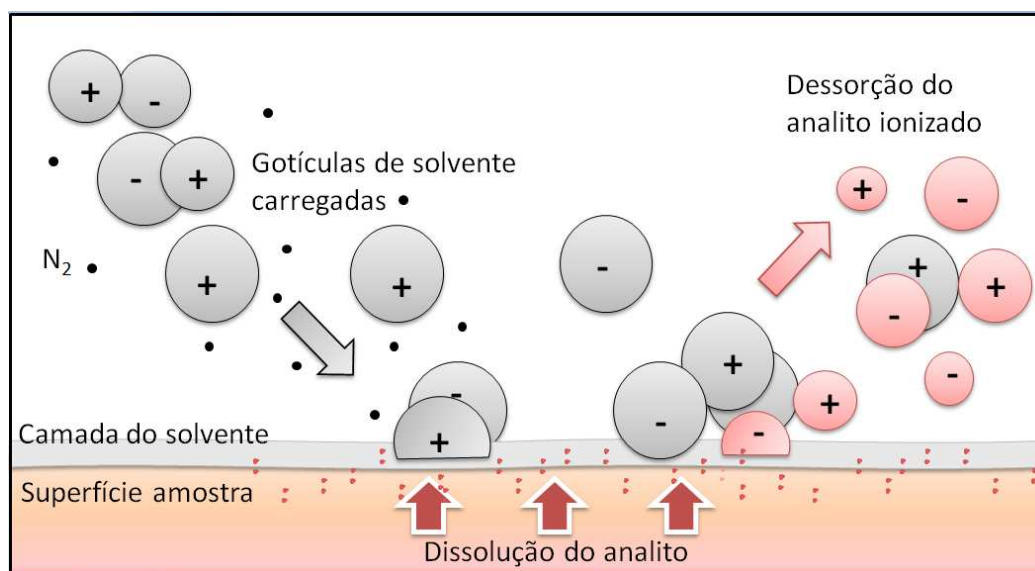


Figura 7. Ilustração do mecanismo de ionização por EASI.



Figura 8. Incidência das gotículas sobre a superfície e a formação das gotículas secundárias em uma sequência de tempo. (adap. de Costa e Cooks, 2008).

O processo de transferência dos íons para a fase gasosa pode ser descrito através de dois mecanismos propostos. O modelo de cargas residuais, *charged residue model* (CRM), considera que o tamanho reduzido e a evaporação do solvente aumentem a densidade de carga (z/r) nas gotículas suficientemente para

que as forças repulsivas de Coulomb entre as cargas superficiais exceda a tensão superficial levando à divisão da gotícula inicial. Com a continuação desse processo de sucessivas divisões é alcançado um estado no qual o solvente se evapora completamente, restando apenas os íons da amostra (DOLE et al., 1968; FENN et al., 1989; COLE, 1997).

Outro modelo, o da evaporação dos íons, *ion evaporation model* (IEM) sugere que o aumento da densidade superficial de carga origina um campo superficial que supera as forças de solvatação dos íons, o que causa a sua ejeção para a fase (IRIBARNE, THOMSON, 1976; FENN et al., 1989; COLE, 1997). Então, os íons na fase gasosa são atraídos por um campo elétrico até o cone de amostragem (skimmer) e guiados para o analisador de massas.

A **Figura 9** retrata um esquema típico dos dois mecanismos de dessorção dos íons que ocorrem.

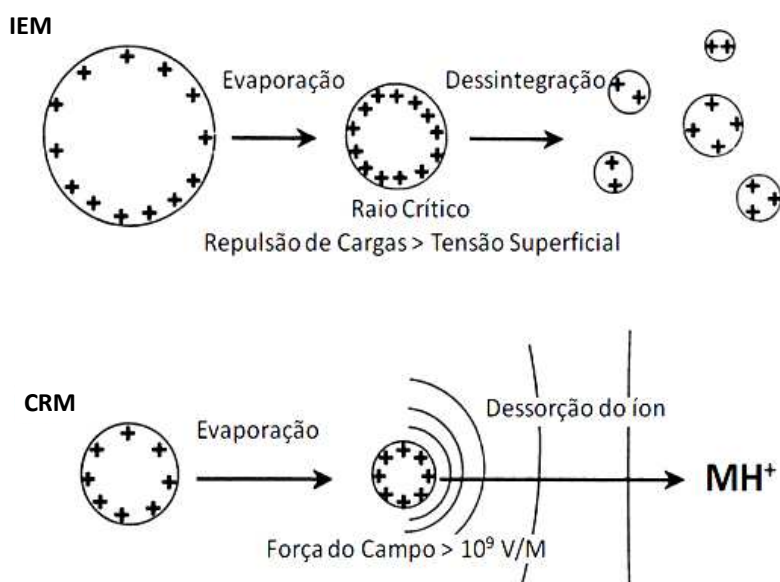


Figura 9. Ilustração dos mecanismos de transferência dos íons para a fase gasosa.

(Paul, Kerbale, 2009)

3.7.4 Analisador quadrupolo

Um analisador quadrupolo (**Figura 10**) é composto basicamente por quatro cilindros metálicos nos quais é aplicada uma corrente elétrica do tipo contínua, *direct current* (DC), e um potencial de rádio frequência (RF). A aplicação das voltagens RF e DC proporciona uma trajetória oscilante aos íons dependente da razão m/z de cada um. Os íons que foram gerados na fonte de ionização são acelerados por um potencial de 5-10 eV e atravessam axialmente o quadrupolo. Somente os íons com a m/z selecionada conseguem manter uma trajetória estável e atravessar o quadrupolo, todos os outros íons irão colidir com os cilindros e não serão detectados. O espectro de massas é obtido fazendo-se uma varredura em toda faixa de m/z desejada.

Devido ao modo em que a separação dos íons é feita, o quadrupolo tem a desvantagem de possuir resolução unitária, diferindo apenas uma unidade na relação m/z entre os íons e quando não é utilizado em série com outros quadrupolos ou *ion trap* não possibilitam análises de fragmentação (MS/MS).

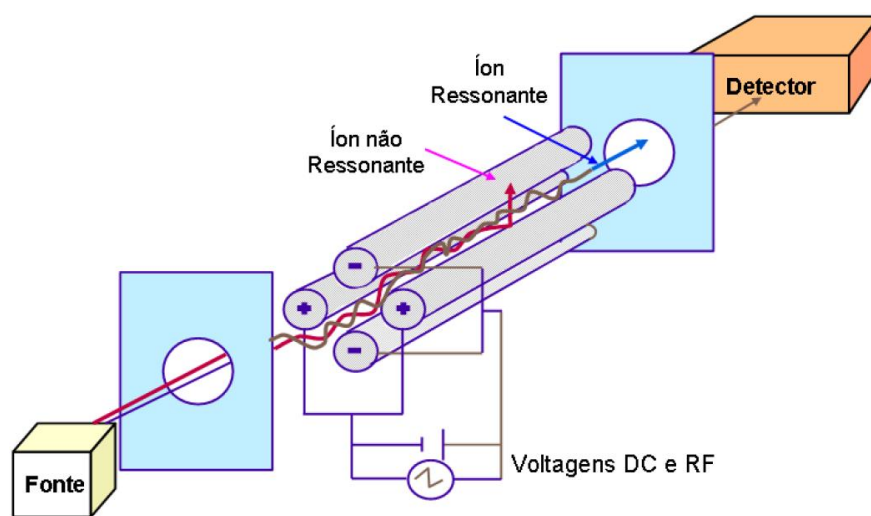


Figura 10. Ilustração de um analisador monoquadrupolo.

Contudo, o quadrupolo possui algumas vantagens como tempos de varredura curtos (<100 ms), uma propriedade vantajosa para análises em tempo real, boa reprodutibilidade, tamanho compacto, simplicidade, robustez, fácil interfaceamento com muitos sistemas de inserção de íons e é um dos analisadores de menor custo utilizado comercialmente para espectrometria de massas. Empregar este tipo de analisador é uma alternativa que fornece espectros com informações de qualidade e fácil interpretação para análises de rotina.

3.7.5 Monitoramento do biodiesel e dos produtos de oxidação por EASI-MS

Os novos métodos de ionização/dessorção surgiram para simplificar as análises por espectrometria de massas e esta simplicidade tem gerado uma grande facilidade de operação. A técnica de EASI tem recebido maior destaque na análise de biodiesel, visto que a mesma será utilizada como base para o desenvolvimento de uma nova ferramenta para estudos de oxidação de biodiesel. (ALBERICI et al., 2010a; ALBERICI et al., 2012a; ALBERICI et al., 2012b; FERNANDES, A. et al., 2012; CUNHA et al., 2012).

3.7.6 Caracterização das amostras de biodiesel por ESI FT-ICR MS

Na técnica *Electrospray* (ESI) desenvolvida por Fenn e colaboradores (YAMASHITA, FENN, 1984) a ionização dos analitos ocorre em solução a pressão atmosférica e os íons são transferidos para a fase gasosa. Esta técnica foi acoplada

ao analisador de ressonância ciclotrônica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR).

O ICR é capaz de analisar a razão m/z dos íons provenientes de uma fonte de ionização, como o ESI, essencialmente através de medidas de frequência que estes adquirem na presença um campo magnético uniforme. O movimento que o pacote de íons realiza em frequência gera um sinal no domínio de tempo. Este sinal será digitalizado e submetido à transformada de Fourier que origina um espectro de frequências ciclotrônicas dos íons. Através de uma manipulação matemática simples a frequência é então convertida para unidade de razão m/z resultando no espectro de massas (MARSHALL et al., 2007). Este analisador possibilita a aquisição de espectros de massas com altíssimo poder de resolução ($m/\Delta m 50\% > 100.000$) e com altíssima exatidão de massas (menor que 1.0 ppm). A exatidão de massas descreve quão perto a medida de massa experimental está de sua massa teórica e é obtida pelo erro calculado em ppm do desvio entre essas duas massas. Em uma situação ideal onde se obtém a medida de massa com altíssima exatidão é possível determinar uma fórmula molecular empírica única baseando-se na massa exata, originada dos defeitos de massas específicos dos átomos (MARSHALL, HENDRICKSON, JACKSON, 1998).

Essa ferramenta já foi utilizada em trabalhos anteriores aplicada a óleos vegetais (WU, RODGERS, MARSHALL, 2004). Como a composição do biodiesel é muito semelhante à dos óleos, esta técnica pode ser muito útil em estudos de oxidação do biodiesel, pois propõe um método que dispensa uma série de procedimentos e técnicas analíticas mais dispendiosas, além de conferir à análise um alto grau de refinamento e desempenho.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras de Biodiesel

As amostras de biodiesel de óleo de soja e biodiesel de óleo residual de fritura utilizadas neste estudo foram adquiridas comercialmente da Petrobrás (Replan, Paulínia) e da cooperativa de processamento de biodiesel Remodela, respectivamente. A cooperativa apesar de ainda não ter a licença da ANP para comercializar o biodiesel como combustível de meios de transporte, investe no desenvolvimento da tecnologia para que isto ocorra assim como aconteceu para o biodiesel de óleo de soja da Petrobrás, que hoje é adicionado ao diesel e abastece grande parte da frota do transporte coletivo na região metropolitana de Campinas. Desta forma, o estudo pode ser realizado em amostras reais de abastecimento. O biodiesel de soja recebido possuía uma mistura de 30% de biodiesel de sebo bovino, que é uma matéria prima de menor valor agregado, e foi sintetizado através de uma reação de transesterificação utilizando hidróxido de sódio como catalisador. A amostra de biodiesel de óleo residual de fritura continha em sua composição uma mistura de ésteres metílicos e etílicos e o hidróxido de sódio como catalisador.

4.2 Reagentes e Soluções

Os reagentes utilizados, grau analítico (p.a.) ou cromatográfico dependendo da sua aplicação, foram: metanol (J.T.Baker), álcool isopropílico (J.T.Baker), ácido acético glacial (Synth), tiosulfato de sódio ($5H_2O$) (Synth), iodeto de potássio (Synth), dicromato de potássio puro (Synth), amido solúvel p.a. (Synth), cicloexano (Synth), hidróxido de sódio lentilhas 85% (Lafan), biftalato de potássio (Lafan),

fenolftaleína em pó (Lafan), ácido clorídrico (Vetec), carbonato de sódio anidro 95% (Vetec), iso-octano (Vetec), metanol para LC-MS (Merck), Reagente de Wijs (Dinâmica), solução Karl Fisher (Vetec), metanol seco (Vetec).

4.3. Equipamentos

Determinador de Umidade Karl Fischer Q349 (Quimis, Brasil) utilizado para determinar o teor de umidade (água) nas amostras de biodiesel.

Viscosímetro Haake de bola 1942 (Haake Messtechnik, Karlsruhe, Alemanha), utilizado para medir a viscosidade cinemática das amostras de biodiesel.

Rancimat 743 (Metrohm, UK) utilizado para determinar o período de indução do biodiesel de soja e de óleo residual de fritura.

Espectrômetro de massas LCMS 2010 EV (Shimadzu, Kyoto, Japão), provido de analisador monoquadrupolar e a fonte de ionização EASI construída no laboratório utilizado para caracterização das amostras de biodiesel.

Espectrômetro de massas LTQ FT Ultra (ThermoScientific, Bremen, Alemanha), provido de analisador híbrido de ressonância ciclotrônica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR MS) com um *íon trap* linear, *Linear íon Trap* (LIT); e fonte de ESI, *Eletrospray*, utilizado para atribuir as fórmulas moleculares dos íons de interesse presentes nas amostras de biodiesel por determinação da m/z com alta resolução.

4.4 Condições de Armazenamento

As amostras de biodiesel de óleo de soja e de biodiesel de óleo residual de fritura foram estocadas durante 90 dias em garrafas de vidro (2 L) transparentes e âmbar e mantidas nas cinco condições indicadas na **Tabela 3**, onde variou-se a temperatura, a exposição a atmosfera presente e à luminosidade natural do laboratório, simulando as condições mais comuns de armazenamento.

Tabela 3. Condições de armazenamento das amostras de biodiesel.

Condição	Temperatura (°C)	Exposição à atmosfera	Exposição à luminosidade
25°C	25 ± 2	Não	Não
25°C/luz	25 ± 2	Não	Sim
25°C/ar	25 ± 2	Sim	Não
40°C/ar	40 ± 1	Sim	Não
4°C	4 ± 1	Não	Não

As condições de armazenamento utilizadas neste trabalho foram estabelecidas com a finalidade de se obter amostras de biodiesel em diferentes estados de oxidação. Não se estabeleceu um controle rígido sobre as diferentes condições de armazenamento, pois o objetivo não era avaliar diretamente a influência da cada variável.

A oxidação das amostras de biodiesel foi avaliada ao longo do tempo (zero a 90 dias), a cada 15 dias, em cada condição de armazenamento.

4.5 Análises físico-químicas das Amostras Armazenadas

Foram avaliados alguns parâmetros físico-químicos relacionados ao processo de oxidação que foram conduzidos segundo as normas internacionais da *American Society For Testing and Materials* (ASTM) e da *The European Standard/International Organization for Standardization* (EN ISO).

4.5.1 Índice de peróxido, método ASTM D3703 (*Hydroperoxide Number of Aviation Turbine Fuels, Gasoline*) (ASTM, 2009a)

Conforme a norma, 15 g de amostra ($\pm 0,001$ g) foi dissolvida em 25 mL de iso-octano e colocada em contato com 2 mL de solução aquosa de iodeto de potássio 120% (m/v) dentro de um erlenmeyer de 150 mL. Após 30 s de uma leve agitação e 5 min de repouso foram adicionados 100 mL de água deionizada. A solução é mantida sob agitação formando uma emulsão. Os hidroperóxidos foram reduzidos e o iodo liberado foi titulado com solução padronizada de tiosulfato de sódio 0,01 mol L⁻¹, usando amido como indicador. O branco foi determinado seguindo o mesmo procedimento, porém sem o biodiesel. O índice de peróxido foi calculado com a fórmula a abaixo e o resultado foi expresso em miliequivalente de peróxido por quilograma de amostra. Todas as determinações foram feitas em triplicata.

$$n^{\circ}\text{peróxido} = \frac{[(A - B)C.1000.8]}{m} \quad \text{mg / kg amostra}$$

Onde,

A – Volume de titulante consumido para amostra (mL);

B – Volume titulante consumido para branco (mL);

C – concentração da solução S_2O_7 (mol L^{-1});

m – massa da amostra de biodiesel (g)

(1 mL de solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de tiosulfato corresponde a aproximadamente 80 g de oxigênio)

4.5.2 Índice de acidez ASTM D664 (*Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration*) (ASTM, 2009c)

A amostra, 5 g de biodiesel ($\pm 0,001 \text{ g}$), foi dissolvida em 50 mL de álcool isopropílico e titulada potenciometricamente com solução de hidróxido de sódio/álcool isopropílico $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ padronizado com solução de biftalato de potássio $2 \cdot 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$. Foram adicionados aproximadamente 0,20 mL de titulante por medida; esses valores exatos foram anotados durante experimento. Os dados potenciométricos foram adquiridos por um eletrodo combinado de pH. Com os volumes de titulante adicionados e seus respectivos valores potenciométricos se obteve um gráfico sendo este uma curva titulométrica de inflexção bem definida. O índice de acidez foi calculado com o volume de titulante adicionado no ponto equivalente que foi encontrado fazendo-se a primeira derivada da curva de titulação e seu valor foi expresso em miligramas de hidróxido de potássio por grama de amostra. A equação utilizada para o cálculo encontra-se a seguir:

$$n^{\circ} \text{acidez} = \frac{[V_{\text{amostra}} - V_b] C_{\text{KOH}} 56,1}{m_{\text{amostra}}} \quad \text{mg KOH / g amostra}$$

Onde,

V_b – Volume de titulante consumido para branco (mL);

V_{amostra} – Volume titulante consumido para amostra (mL);

m_{amostra} – massa da amostra de biodiesel (g);

C_{KOH} – concentração do KOH (mol L^{-1})

A adição de um indicador colorimétrico (fenolftaleína) foi feita para fornecer uma confirmação secundária do ponto final da titulação. O auxílio foi utilizado para que fossem detectados possíveis erros na leitura do eletrodo que pode ter sua superfície de vidro desidratada por estar submersa em solvente apolar. Todas as determinações foram realizadas em quadruplicata.

4.5.3 Viscosidade Cinemática

Utilizou-se um viscosímetro de bola (**Figura 11**) do Laboratório de Óleos e Gorduras da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, utilizado comumente para medir a viscosidade de óleos (COSTA 2006). Este instrumento consiste em um tubo de vidro com precisão volumétrica que foi preenchido com a amostra de biodiesel a ser analisada. O ensaio consistiu em cronometrar uma bola de densidade conhecida que cai por meio do biodiesel no tubo entre dois pontos de referência com distância pré-estabelecida na vertical sob a força da gravidade. O tubo que continha a amostra foi envolvido por outro recipiente maior o qual foi responsável por manter um banho de água a temperatura de 30°C. O tempo necessário foi convertido para viscosidade dinâmica e para obter a viscosidade cinemática dividiu-se o valor da primeira pela densidade do biodiesel, que foi medida utilizando um picnômetro devidamente calibrado, na mesma temperatura em que foi medida a viscosidade. Todas as medidas foram obtidas em triplicata. Como o estudo não foi realizado com o banho à 40 °C, como determina a norma, os

resultados obtidos apenas refletem a variação ocorrida durante todo período de análise.

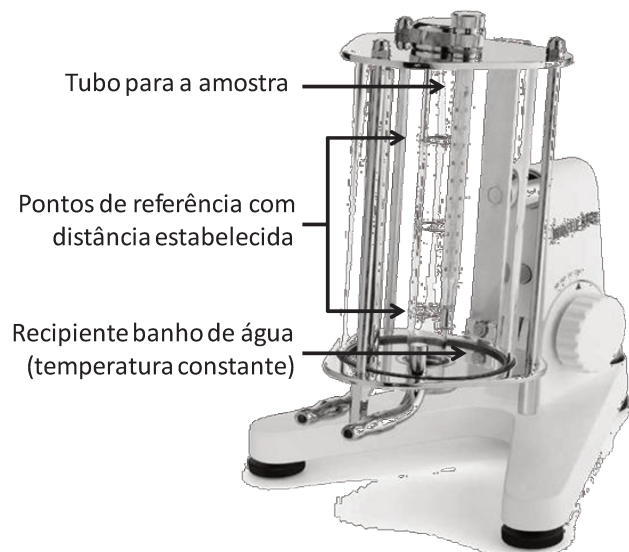


Figura 11. Ilustração do viscosímetro de bola.

4.5.4. Índice de iodo EN/ISO 14111 (*Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of iodine value*) (EN, 2003a)

Para determinar o índice de iodo das amostras utilizou-se o método titulométrico de Wijs (EN, 2003a), sendo o valor obtido igual a massa de halogênio absorvido em 100 g da amostra (g iodo/100 g de biodiesel). Seguindo a norma, 0,13 g de amostra ($\pm 0,001$ g) foram dissolvidos em 20 mL da mistura dos solventes ciclohexano e ácido acético glacial, 1:1 (v/v), e depois foi adicionado 25 mL do reagente de Wijs. Essa solução permaneceu no escuro por 1 hora. Então, adicionou-se 20 mL de iodeto de potássio $1 \cdot 10^{-1}$ g mL⁻¹ e 150 mL de água ultra pura. O iodo liberado foi titulado com solução aquosa de tiosulfato de sódio $2,5 \cdot 10^{-2}$ g mL⁻¹,

padronizada com dicromato de potássio $2,6 \cdot 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$, utilizando o amido como indicador.

O índice de iodo foi feito em triplicata para cada amostra e foi calculado com a seguinte equação:

$$\text{índice de iodo} = \frac{12,69 C_{S_2O_3}(V_b - V_{amostra})}{m_{amostra}} \quad (\text{g de iodo/100 g biodiesel})$$

Onde,

V_b – Volume titulante consumido para o branco (mL);

$V_{amostra}$ – Volume titulante consumido para a amostra (mL);

$C_{S_2O_3}$ – Concentração da solução S_2O_7 (mol L^{-1});

$m_{amostra}$ – massa da amostra (g).

4.5.5 Umidade ASTM 6304 (*Determination of Water in Petroleum Products, Lubricating Oils, and Additives by Coulometric Karl Fischer Titration*) (ASTM, 2007)

Inicialmente foi feita uma fatoração com água ultra-pura (Milli-Q), uma calibração da solução titulante. Então, uma alíquota da amostra de massa conhecida foi adicionada no frasco destinado à titulação com metanol seco. Nesse frasco o iodo foi gerado coulometricamente no ânodo. A titulação foi feita com o reagente de Karl Fisher e quando toda a água presente for titulada, o iodo em excesso foi detectado. A titulação segue a estequiometria da reação sendo 1 mol de iodo que reage com 1 mol de água. O ponto final da titulação foi detectado pelo aparelho quando há uma variação brusca da corrente elétrica. A fórmula abaixo especifica o

cálculo. O teor de umidade foi determinado, somente para as amostras no tempo inicial e após 90 dias de armazenamento, em triplicata.

$$\textbf{Fatoração} = \frac{m_{H_2O} \cdot 100}{V_t} \text{ 100 g/mL}$$

$$\textbf{Umidade} = \frac{V_t \cdot F}{10 \cdot m_{amostra}} \text{ mg / kg amostra}$$

Onde,

m_{H_2O} – massa de água (g);

$m_{amostra}$ – massa da amostra de biodiesel (g)

F – Valor da Fatoração (100 g/mL);

V_t – Volume do titulante (g)

4.5.6 Estabilidade oxidativa EN/ISO 14112 (*Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test)*) (EN, 2003b)

A estabilidade oxidativa é um parâmetro muito empregado em análises de qualidade do biodiesel, pois expressa a sua susceptibilidade à oxidação. Sua medida é feita através do período de indução, expresso em horas, que é determinado pela norma EN 14112 (*Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test)*) (EN, 2003b) que utiliza o equipamento automático Rancimat[®] (**Figura 12**). Foram mantidos 3 g de amostra do biodiesel em um frasco fechado a uma temperatura de 110°C e um fluxo constante de ar borbulhante 10L h⁻¹. Estas condições foram empregadas para acelerar as reações de deterioração do biodiesel que começa a formar os produtos

de degradação como os peróxidos e os compostos orgânicos voláteis como ácidos orgânicos de baixa massa molecular. O fluxo de ar contínuo transportou os compostos voláteis para outro recipiente que continha água destilada, na qual foram solubilizados. Durante toda a análise a condutividade da água foi medida. Com o teste foi estabelecido um tempo mínimo chamado de tempo de indução (ID) da reação, que foi determinado como o tempo necessário para que o grau de oxidação do biodiesel aumentasse abruptamente.

O teste de estabilidade foi conduzido pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO-RJ) utilizando-se o equipamento Rancimat. Sendo assim, não foi possível realizar a análise para todas as amostras coletadas periodicamente no laboratório, mas somente para a amostra no tempo inicial e após 90 dias de armazenamento em todas as condições estabelecidas.

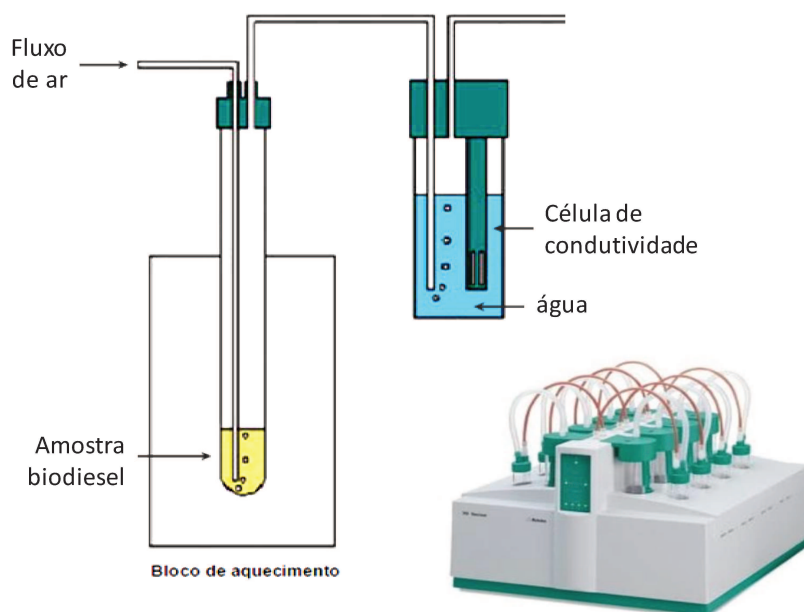


Figura 12. Ilustração do equipamento Rancimat[®] e esquema básico de funcionamento.

3.5.7 Tempo de vida útil

As amostras iniciais de biodiesel (3 g) foram mantidas em três temperaturas diferentes (90, 110, 130°C) sobre um fluxo constante de ar 10L h⁻¹ no equipamento Rancimat[®] (**Figura 11**). A partir dos tempos de indução obtidos nas diferentes temperaturas experimentais foi possível extrapolar os dados no sentido de prever o tempo de estabilidade oxidativa correspondente ao armazenamento das amostras à temperatura ambiente (25°C) segundo o método de Farhoosh (2007).

A umidade e a estabilidade oxidativa foram determinadas nas amostras de biodiesel iniciais e após 90 dias armazenadas, enquanto que as análises para o tempo de vida útil foram feitas somente para as amostras de biodiesel inicial. Todas as outras análises físico-químicas foram realizadas periodicamente a cada 15 dias.

4.5.8 Espectrometria de massas

4.5.8.1 Monitoramento da oxidação em amostras de biodiesel utilizando EASI

A oxidação do biodiesel armazenado ao longo do tempo também foi avaliada utilizando-se a espectrometria de massas, com o intuito de utilizar um método rápido e mais robusto. Empregou-se um espectrômetro de massas provido de analisador monoquadrupolar e a fonte de ionização EASI (**Figura 13**).

A técnica de EASI-MS foi utilizada para monitorar periodicamente, a cada 15 dias, a evolução da oxidação nas amostras de biodiesel durante o período estabelecido de 90 dias de armazenamento.

A aquisição dos espectros de massas foi realizada utilizando 2 μL de biodiesel depositado sob uma superfície de papel posicionado com ângulo apropriado na entrada do cone de amostragem (*skimmer*) do espectrômetro de massas. Foi utilizado nitrogênio (N_2) como gás nebulizante com vazão de 3 L min^{-1} , solvente metanol puro no spray sônico com fluxo de $20 \mu\text{L min}^{-1}$ e espectros obtidos em modo positivo. Os espectros de massas foram acumulados por 60 segundos na faixa de m/z 100-1000.



Figura 13. Fonte de ionização EASI acoplada ao analisador monoquadrupolo utilizado para as análises de biodiesel.

4.5.8.2 Monitoramento da oxidação acelerada de um padrão de ácido graxo esterificado

4.5.8.2.1 preparo do éster metílico

Com o intuito de estudar mais profundamente a cinética dos produtos de oxidação formados no biodiesel, foi feito um estudo utilizando-se uma amostra

mais simples de um ácido graxo (oleico) padrão esterificado. Utilizou-se a oxidação acelerada para gerar os produtos de interesse e os resultados foram analisados por EASI-MS.

Para sintetizar um padrão de éster metílico do ácido oleico via catálise ácida (SANTACESARIA et al., 2007) foram adicionados em um balão de fundo redondo (50 mL), acoplado a condensador, uma proporção de 6 mol de metanol (18 mL /d=0,79 g/mL) para 1 mol de ácido oleico (20 g). Em seguida, o catalisador ácido sulfúrico foi adicionado lentamente em uma proporção de 1% m/m (0,2g; 0,11 mL) em relação ao ácido oleico. A mistura permaneceu sobre agitação magnética, aquecimento em banho de silicone a 110 °C e sob refluxo durante 4 horas (**Figura 14**).

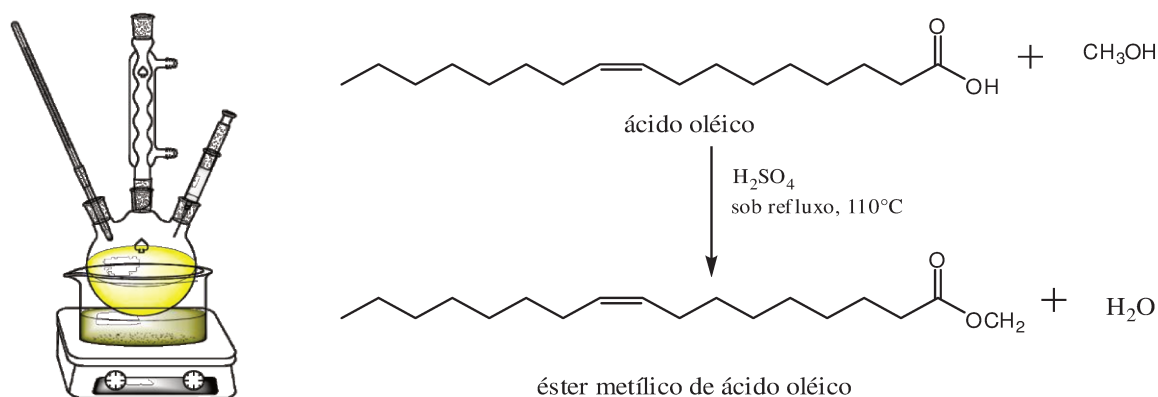


Figura 14. Reação e preparação do éter do ácido oleico por catálise ácida.

Após a reação, a mistura obtida foi transferida para um funil de separação onde permaneceu por duas horas. A fase aquosa (inferior) foi retirada e a fase superior restante foi lavada com água destilada (4 x 40 mL) em seguida com solução aquosa de bicarbonato de sódio 10% (3 x 50 mL) e novamente lavada com água destilada (3 x 100 mL). Durante a lavagem o pH foi medido para verificar a

neutralização da mistura e o fim da lavagem. Então, finalmente, o éster metílico do ácido oleico foi seco com sulfato de sódio anidro, filtrado e caracterizado por EASI-MS.

4.5.8.2.2 oxidação acelerada

Foram pesados 3,00 g de éster metílico de ácido oleico, sintetizado no laboratório como descrito anteriormente, em balança analítica. As amostras foram aquecidas a 110°C no equipamento Rancimat[®] e mantidas sob fluxo de ar de 20 L h⁻¹. Foram obtidas amostras no tempo inicial e oxidadas em 0,6 horas, 1,2 horas e 3 horas. O surgimento dos produtos de oxidação foi monitorado por EASI-MS sendo a aquisição dos espectros a mesma descrita no item **3.5.8.1**.

4.5.8.3 Caracterização das amostras utilizando a técnica de ESI FT-ICR MS

Determinou-se realizar a caracterização por ESI FT-ICR MS nas amostras de biodiesel de óleo de soja e de biodiesel de óleo residual de fritura. Foram coletadas amostras no período inicial e após o período de 90 dias de armazenamento a 40 °C em frasco aberto. Estas condições foram escolhidas para análise mais detalhada por serem as mais representativas no estudo de oxidação, uma no estágio inicial e outra na condição de maior grau de oxidação.

Dissolveu-se 20 µL do biodiesel em 90 µL de uma mistura de tolueno:metanol (1:1) (v/v) e em seguida adicionou-se metanol para obter uma solução de 1 mL. Da mesma maneira foi preparado um branco sem o biodiesel. As amostras foram injetadas no equipamento com uma fonte de ESI nas

especificações: voltagem do capilar de 3.63 kV, *tube lens* 154 V no modo positivo e vazão de 5 $\mu\text{l}/\text{min}$. Os espectros de massa foram obtidos com 400.000 de resolução, 10 microscans na faixa de m/z 200 a 500.

Os espectros obtidos pelo ESI FT-ICR MS para as amostras de biodiesel foram tratados através do software Xcalibur 2.0 da ThermoScientific. Primeiro atribuiu-se a m/z para cada sinal no espectro, em seguida um banco de dados teóricos é criado para correlacionar a razão m/z e a fórmula molecular. Assim, é determinada a composição elementar para cada sinal através da comparação com o banco de dados, obtendo-se ainda o valor do erro atribuído a essa comparação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nos gráficos que se seguem é possível visualizar, de acordo com as características de cada biodiesel e condições de estoque, as tendências para cada um dos parâmetros avaliados.

5.1 Biodiesel de Óleo de Soja

5.1.1 Índice de peróxido

A variação do índice de peróxido, expresso em miliequivalente de peróxido por kg de amostra, para o biodiesel de óleo soja nas cinco condições de armazenamento durante 90 dias de estudo podem ser visualizadas na **Figura 15**.

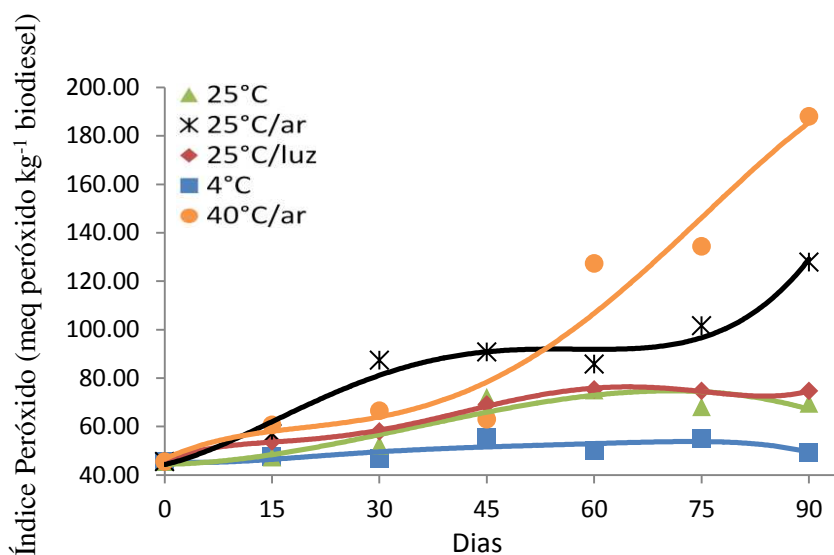


Figura 15. Evolução média do índice de peróxido para o biodiesel de óleo de soja a cada 15 dias de análise.

Analisando o comportamento das curvas nota-se que as amostras ainda estão na fase inicial do processo de oxidação em contínua formação dos hidroperóxidos. No caso fosse observada uma queda nesse índice, segundo Knothe (2007), seria constatado um estado mais avançado da oxidação no qual ocorre maior formação de produtos secundários em função da degradação dos hidroperóxidos.

O gráfico da **Figura 15** revela que as amostras armazenadas na condição 40°C/ar apresentaram, de forma geral, os maiores valores para o índice de peróxido ao longo do tempo diferentemente das amostras nas condições a 25°C, 25°C/luz e 4°C que apresentam um pequeno aumento no índice de peróxido em até 45 dias e depois se mantiveram. Para a amostra sob a condição de 25°C/ar nota-se um aumento para o índice de peróxido no período inicial, que se estabiliza e torna a crescer no fim do período de armazenamento.

5.1.2 Índice de acidez

De modo geral as curvas de titulação obtidas para todas as análises realizadas com o biodiesel apresentaram-se de forma regular e com inflexão bem definida. A **Figura 16** exemplifica uma das curvas da titulação obtida para amostra de biodiesel de óleo de soja.

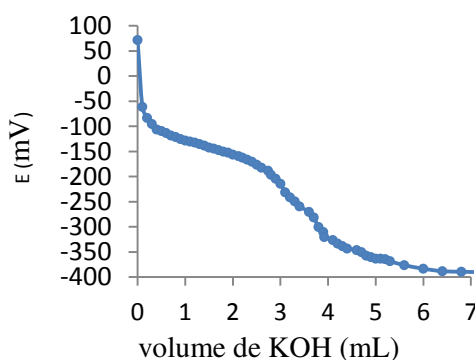


Figura 16. Curva potenciométrica obtida por titulação manual para amostra de biodiesel de óleo de soja.

No início do estudo o biodiesel de óleo de soja apresentou um valor de índice de acidez de $0,32 \text{ mg KOH g}^{-1}$, e no período pelo qual se decorreram os testes de armazenamento todas as amostras permaneceram dentro do limite máximo permitido pela legislação brasileira para o índice de acidez de no máximo $0,5 \text{ mg KOH/ g biodiesel}$ (ANP, 2008).

Existe uma relação entre o aumento do índice de acidez com o aumento do índice de peróxido, parte dos hidroperóxidos que são formados sucessivamente na etapa de propagação do processo de oxidação podem se degradar e formar os compostos ácidos como produtos secundários (FRANKEL, 1998; KNOTHE, 2007). Na **Figura 17** é possível observar o aumento no índice de acidez em todas as amostras analisadas, sendo as amostras armazenadas nas condições de 40°C/ar e 25°C/ar com os maiores índices observados ao fim do período de estudo, revelando assim uma relação direta com o aumento do índice de peróxido constatado na **Figura 15**.

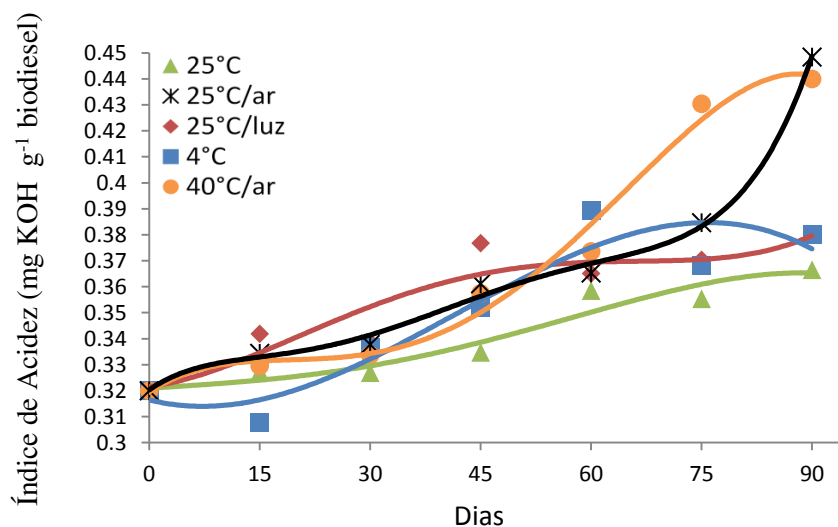


Figura 17. Evolução média do índice de acidez para o biodiesel de óleo de soja a cada 15 dias de análise.

5.1.3 Viscosidade cinemática

Durante a estocagem, a viscosidade das amostras de biodiesel tende a aumentar devido à formação de compostos mais polares, da presença de moléculas de oxigênio, da perda das insaturações e também pela formação de compostos poliméricos oxidados (KNOTHE, 2005)

Neste estudo, todas as amostras estocadas de biodiesel de óleo de soja mostraram um comportamento muito semelhante no aumento da viscosidade cinemática ao longo do tempo de armazenamento (**Figura 18**).

Embora se tenha um limite estabelecido pela agencia reguladora brasileira sobre o valor da viscosidade cinemática, entre 3,0 e 6,0 mm²/s (ANP, 2008), não se pode aplicar as amostras aqui analisadas, já que a medida foi realizada a 30°C e não 40°C, como recomenda a norma, por problemas técnicos, mesmo assim, confirmou-se o aumento na viscosidade.

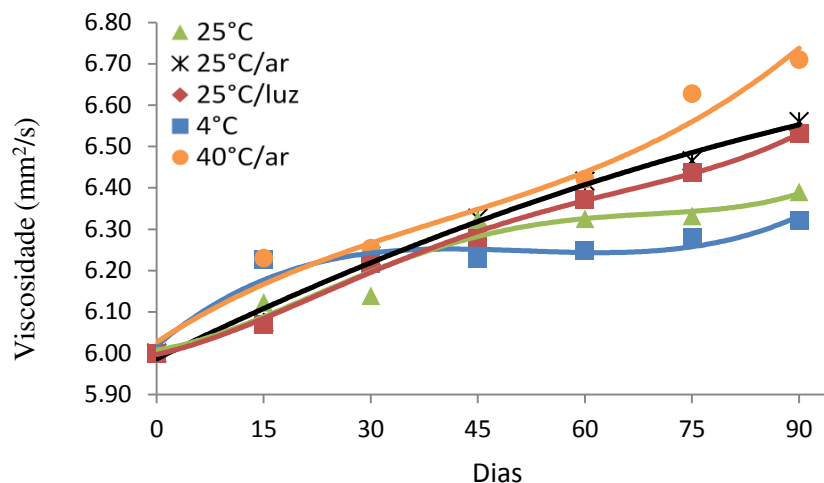


Figura 18. Evolução média da viscosidade cinemática para o biodiesel de óleo de soja a cada 15 dias de análise.

Uma vez constatado o aumento do índice de peróxidos, o qual indica maior presença de compostos polares, segundo Knothe e Steidley (2005) esses compostos também puderam contribuir para o aumento da viscosidade.

5.1.4 Índice de iodo

O gráfico da **Figura 19** apresenta o decaimento do índice de iodo em todas as amostras, como se era esperado, devido à oxidação gradual do biodiesel armazenado. Interessante observar que as amostras armazenadas a 40°C/ar e 25°C/ar apresentaram de forma clara um período de estabilidade, após um decaimento inicial, entre 15 e 45 dias, enquanto que as demais amostras apresentaram esse mesmo comportamento entre 30 e 60 dias, se mostrando mais resistentes aos processos de oxidação.

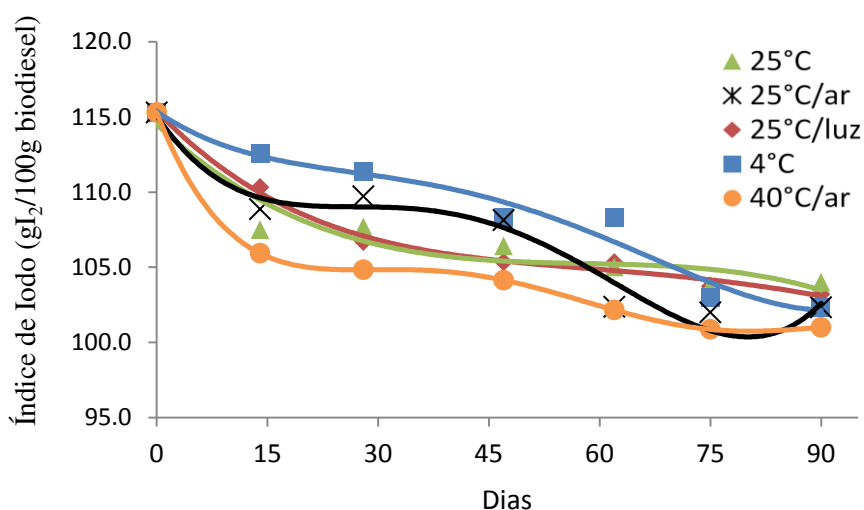


Figura 19. Evolução média do índice de iodo para o biodiesel de óleo de soja a cada 15 dias de análise.

5.1.5 Umidade

Os resultados para o teor de umidade obtidos das amostras de biodiesel de óleo de soja no tempo inicial e após 90 dias de armazenamento, nas cinco diferentes condições estudadas, são mostrados no gráfico da **Figura 20**.

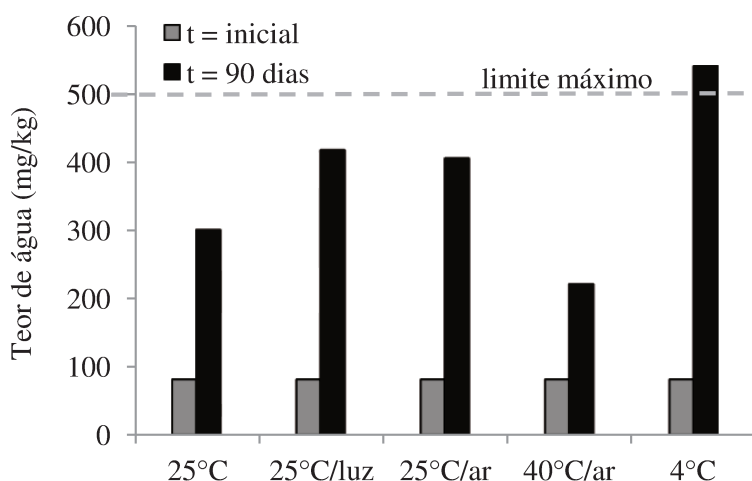


Figura 20. Teor de umidade para as amostras de biodiesel de óleo de soja nos tempos inicial e após 90 dias de armazenamento.

Todas as amostras permaneceram dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira para o teor de água em biodiesel que é de 500 mg kg^{-1} , com exceção da amostra estocada a 4°C , que apresentou após o período de estocagem de 90 dias um valor de 540 mg/Kg . O monitoramento do teor de água foi proposto devido aos problemas apontados por Halliwell e colaboradores (1995), a água presente no biodiesel pode causar oxidação hidrolítica e influenciar outros parâmetros de qualidade. Contudo, para a única amostra (estocada a 4°C por 90 dias) que teve o valor de umidade ligeiramente acima do limite estabelecido não foi

verificada, através das outras análises realizadas especificadamente nessa amostra, a influência da umidade sobre a oxidação. (4°C).

5.1.6 Estabilidade oxidativa

Os resultados do período de indução fornecidos pelo Rancimat[®] para as amostras de biodiesel de óleo de soja nos tempos inicial e após 90 dias de armazenamento nas cinco diferentes condições estudadas são mostrados na **Figura 21**.

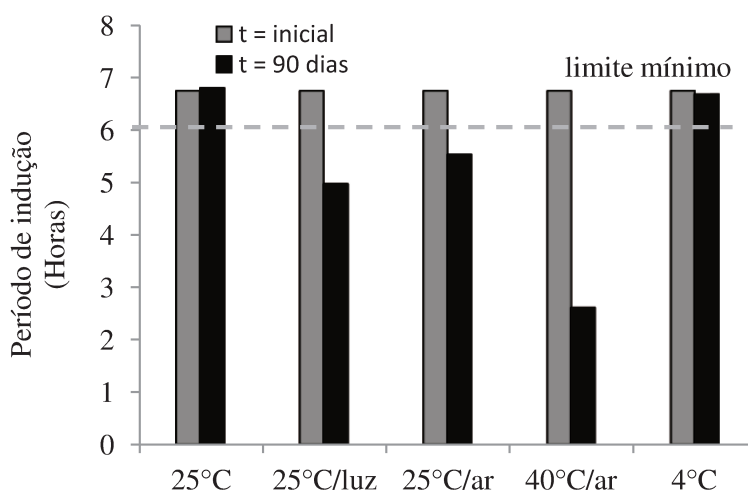


Figura 21. Estabilidade oxidativa determinada por Rancimat[®] para as amostras de biodiesel de óleo de soja nos tempos inicial e após 90 dias de armazenamento.

A amostra de biodiesel de soja apresentou um valor de estabilidade oxidativa de 6,74 h, atendendo dessa forma o valor mínimo de 6 h pela legislação brasileira (ANP, 2008). Após o período de 90 dias de armazenamento foi observado uma diminuição dos períodos de indução para as amostras de biodiesel nas condições de armazenamento a 25°C/luz e 25°C/ar, apresentando valores de 4,95 e 5,51 h,

respectivamente. A amostra estocada a 40°C/ar apresentou um valor de estabilidade de 2,60. Neste caso essas amostras estariam fora das especificações legais. As amostras estocadas sob as outras duas condições (25°C e 4°C) permaneceram com a estabilidade inalterada.

Aliada aos outros parâmetros físico-químicos determinados neste estudo (índice de peróxido, índice de iodo, índice de acidez e viscosidade cinemática), as amostras que tiveram diminuição do valor da estabilidade oxidativa estão mais susceptíveis à degradação.

5.1.7 Vida útil

Utilizando-se do Rancimat[®] foi possível estimar em 3329h (4 meses) o tempo de vida útil do biodiesel de óleo de soja. Este resultado foi importante para visualizar a estabilidade do biodiesel utilizado neste estudo durante o período de armazenamento, ou seja, entender que ao final dos 90 dias o biodiesel armazenado a 25°C ainda não estaria em um estágio de oxidação avançado. Isto vem de encontro aos objetivos desta pesquisa que é a aplicação de técnicas analíticas para avaliar os estágios iniciais da oxidação.

5.2 Biodiesel de Óleo Residual de Fritura

5.2.1 Índice de peróxido

O gráfico da **Figura 22** mostra que o índice de peróxido inicial para o biodiesel de óleo residual de fritura já apresentava um valor muito superior (100 meq peróxido Kg⁻¹) em comparação com o biodiesel de soja (40 meq peróxido Kg⁻¹), mas ao longo da estocagem o comportamento em relação ao índice de iodo se

comparou entre os dois tipos de biodiesel estudado. O gráfico também destaca uma variação significativa e rápida do índice de peróxido para a amostra armazenada na condição de 40°C/ar, o índice após 45 dias de armazenagem já era cerca de sete vezes maior que o valor encontrado na condição inicial.

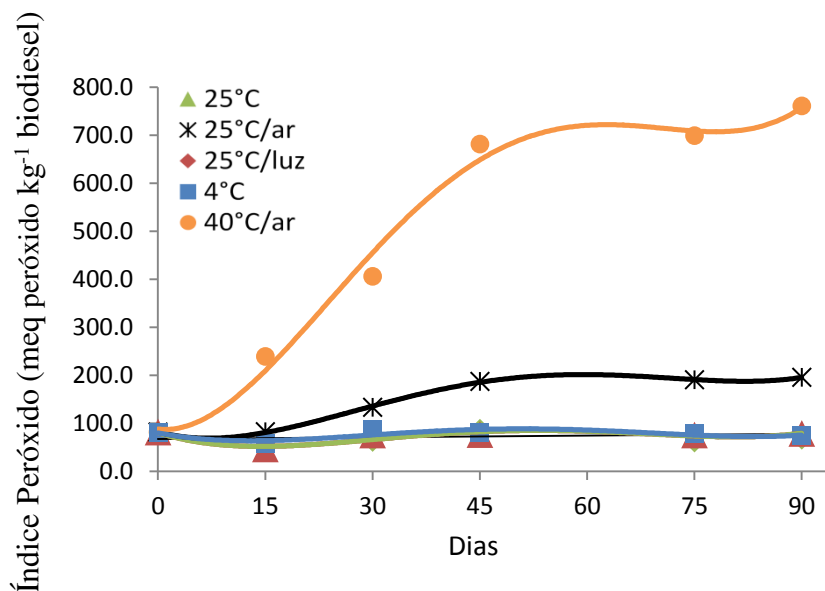


Figura 22. Evolução média do índice de peróxido para o biodiesel de óleo de soja a cada 15 dias de análise.

5.2.2 Índice de acidez

Como descrito anteriormente para o índice de acidez do biodiesel de óleo de soja (4.1.2), as análises para o índice de acidez do biodiesel de óleo residual de fritura também resultaram em curvas de titulação de forma regular e com inflexão bem definida.

Os resultados são mostrados na **Figura 23** e indicam que todas as amostras permaneceram dentro do limite máximo permitido pela legislação brasileira para o índice de acidez (0,5 mg KOH/ g biodiesel) mesmo após o período de estocagem.

A tendência de variação observada na **Figura 23** é o aumento do índice de acidez com o passar do tempo, sendo que as variações para maiores teores são para as amostras que foram armazenadas nas condições de 40°C/ar, 25°C/ar e 25°C/luz.

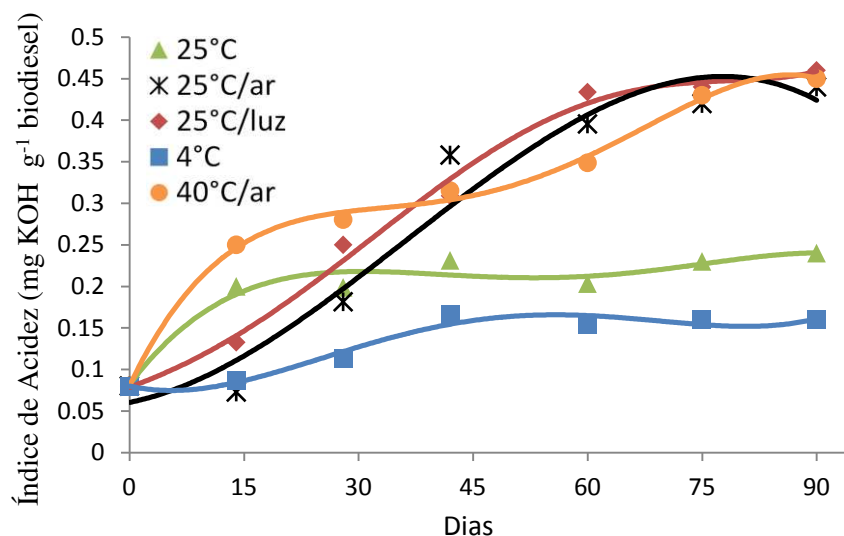


Figura 23. Evolução média do índice de acidez para o biodiesel de óleo residual de fritura a cada 15 dias de análise.

5.2.3 Viscosidade cinemática

Assim como ocorreu para as amostras de biodiesel de óleo de soja (item 4.1.1) todas as amostras de biodiesel de óleo residual de fritura (**Figura 24**) apresentaram um aumento da viscosidade cinemática ao longo do tempo de armazenamento, contudo em maior expressão. Observa-se que as amostras estocadas sob 40°C/ar se destacaram novamente com a maior variação.

Aqui, assim como para as amostras de biodiesel de soja, a medida por problemas técnicos foi realizada a 30°C e não a 40°C, impedindo uma avaliação quanto ao atendimento da legislação brasileira.

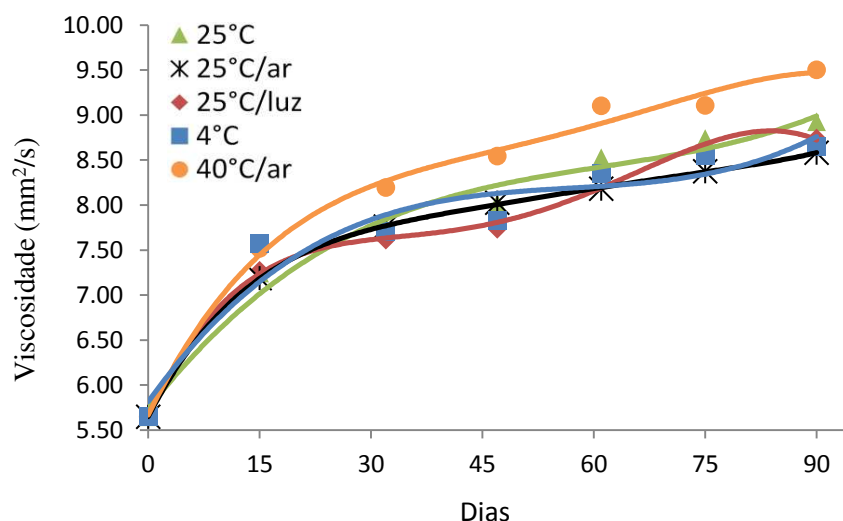


Figura 24. Evolução média da viscosidade cinemática para o biodiesel de óleo residual de fritura a cada 15 dias de análise.

5.2.4 Índice de iodo

O decaimento das insaturações totais no biodiesel de óleo residual de fritura durante 90 dias de armazenamento em função do processo de oxidação está descrito na **Figura 25**.

Os resultados obtidos mostram, da mesma forma que para o biodiesel de soja, um decaimento do índice de iodo, apontando uma possível oxidação ao final do período de armazenamento em todas as condições estudadas.

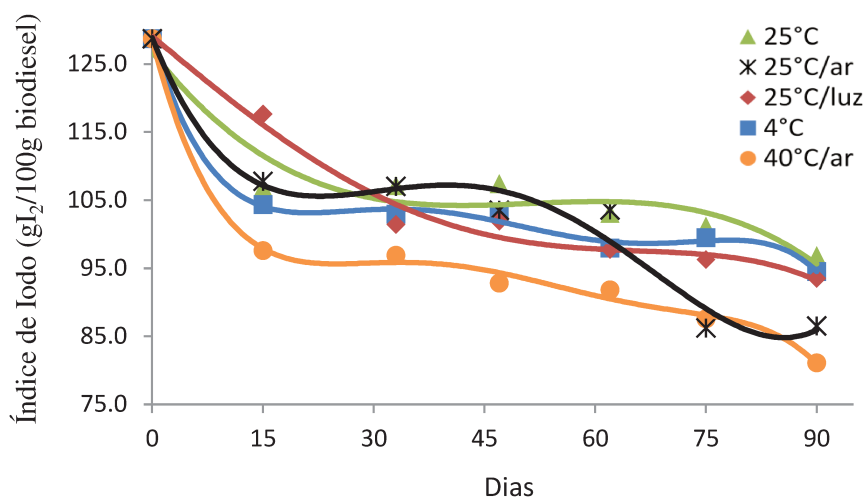


Figura 25. Evolução média do índice de iodo para o biodiesel de óleo residual de fritura a cada 15 dias de análise.

5.2.5 Umidade

Os valores do teor de umidade medidos inicialmente e após 90 dias de armazenamento das amostras de biodiesel de óleo residual de fritura estão descritos na **Figura 26**.

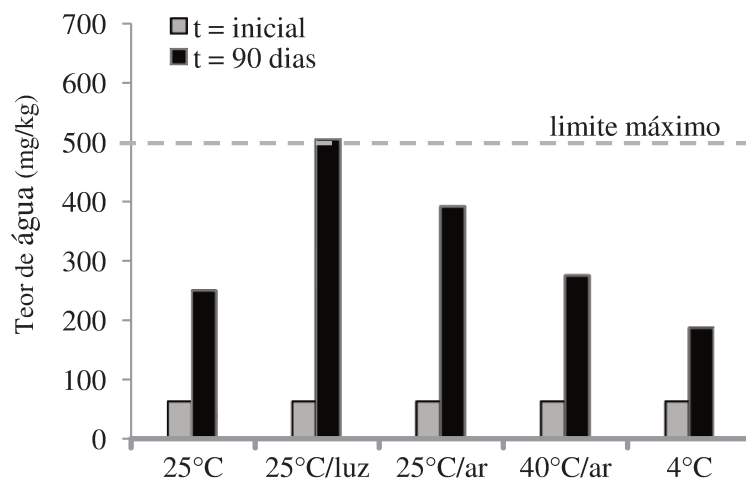


Figura 26. Teor de umidade para as amostras de biodiesel de óleo de residual de fritura nos tempos inicial e após 90 dias de armazenamento.

Todas as amostras, mesmo ao fim do período de estocagem, estavam em acordo com a legislação.

5.2.6 Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa do biodiesel de óleo residual de fritura para os tempos inicial e após 90 dias de armazenamento estão descritas na **Figura 27**. O biodiesel produzido a partir de óleo residual de fritura apresentou inicialmente um valor de estabilidade oxidativa de 1,32 h, muito abaixo do limite mínimo estabelecido pela legislação brasileira. Quando submetido às diferentes condições de estocagem todos os biodiesel apresentaram uma taxa de perda de estabilidade ainda maior, sendo que o biodiesel estocado a 40°C/ar não teve nem mesmo um período de indução mensurável.

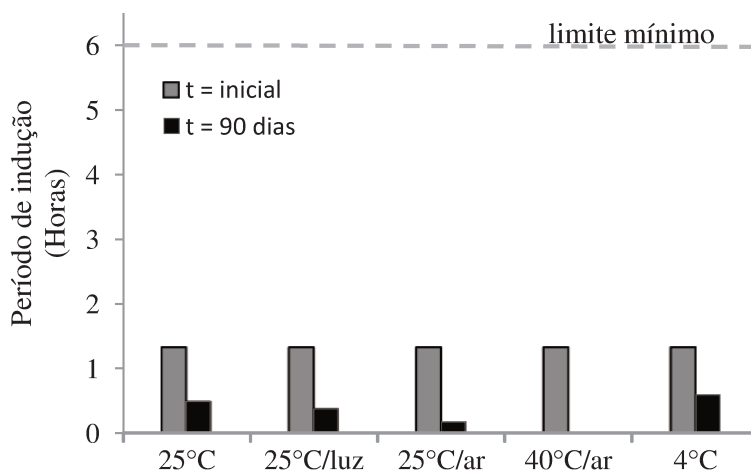


Figura 27. Estabilidade oxidativa determinada por Rancimat[®] para as amostras de biodiesel de óleo residual de fritura nos tempos inicial e após 90 dias de armazenamento.

Comparando os dois tipos de biodiesel estudados neste trabalho, o biodiesel de óleo residual de fritura já se mostrou muito mais propício à oxidação.

5.2.7 Vida útil

A vida útil calculada para o biodiesel de óleo residual de fritura foi de aproximadamente 18 dias (448 h) apenas. O resultado por si só evidencia a grande diferença entre as estabilidades frente à oxidação para o biodiesel de óleo de soja e o biodiesel de óleo residual de fritura. Este resultado confirma o que vários autores (RODRIGUES, CARDOSO, 2006; KAUL et al., 2007; PHAN, PHAN, 2008; MARU et al., 2009; MCCORMICK et al., 2010) reportaram sobre a estabilidade estar relacionada a matéria prima utilizada para a obtenção do biodiesel.

5.3 Monitoramento das Amostras de Biodiesel por EASI-MS

5.3.1 Biodiesel de soja

Os éteres alquílicos são os principais compostos que caracterizam as amostras de biodiesel. Para o biodiesel de soja utilizado neste trabalho eles se encontravam na forma de éteres metílicos (FAME - *fatty acid methyl ester*), e devido à composição dos ácidos graxos do óleo de soja (**Tabela 1**) do qual foram originados, são principalmente FAME's dos ácidos oléico, linoléico e linolênico. Esses ésteres puderam ser identificados a partir dos sinais do espectro de massas obtidos pela técnica de EASI-MS das amostras de biodiesel de soja (**Figura 28**).

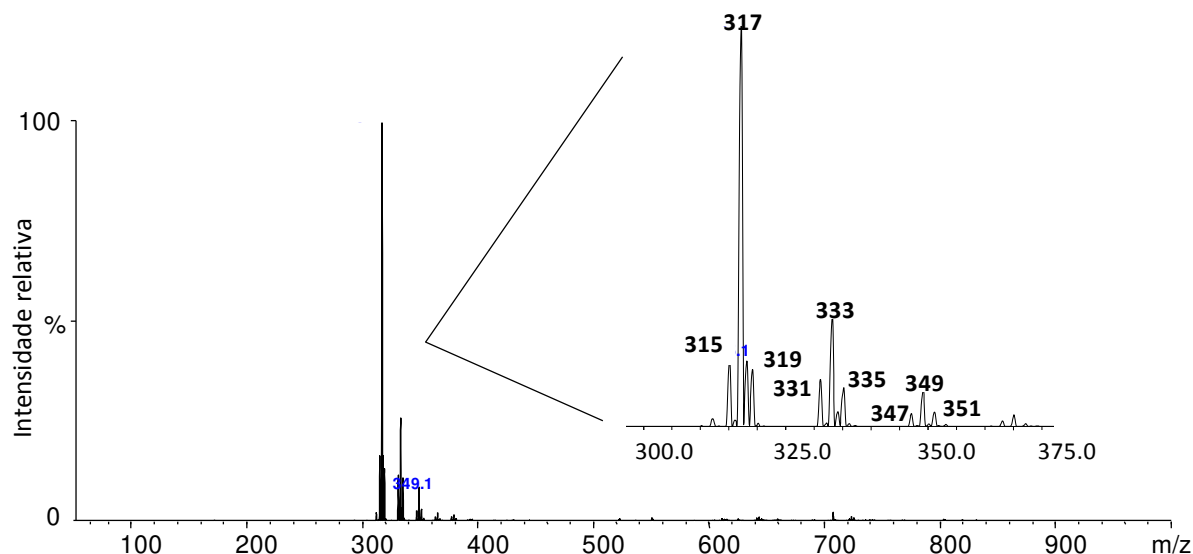


Figura 28. Espectro de massa para o biodiesel de óleo de soja obtido por EASI-MS no tempo inicial do estudo de monitoramento da oxidação do biodiesel.

Em trabalhos anteriores que utilizaram a técnica de EASI-MS (ALBERICI et al., 2010a) para amostras de biodiesel de soja foram identificados os íons nos espectros de massas na forma de adutos de sódio $[M+Na]^+$ e de potássio $[M+K]^+$. A formação desses íons se torna uma vantagem para a técnica, que já apresenta uma ionização branda, pois íons de sódio e potássio necessitam de energias muito altas para se fragmentarem o que contribui para um espectro de massas mais limpo (poucos sinais). A presença desses cátions (Na^+ e K^+) é pequena no solvente utilizado, mas estes podem estar na amostra como resíduos do processo de transesterificação.

O íon de m/z 317, mais intenso, que aparece no espectro de massas (**Figura 28**) é atribuído ao FAME do ácido linoleico na forma de aduto de sódio $[FAME+Na]^+$, que é o equivalente a soma da massa molecular do FAME (294) mais a massa atômica do sódio (+23). Da mesma forma, as razões m/z 315 e m/z

319 são atribuídas aos FAME's dos ácidos linolênico e oleico, respectivamente, porém em intensidade mais baixa. Os sinais de m/z 331, 333 e 335 são identificados como sendo o FAME do ácido linolênico, linoleico e oleico como adutos de potássio $[FAME+K]^+$, pois a massa atômica do potássio soma +39 Da.

Os espectros das amostras de biodiesel de soja obtidos a cada quinze dias, após o período inicial de armazenamento, contem íons que são relacionados aos produtos de oxidação. A diferença de +32 Da que aparece entre os íons de m/z 317 e m/z 349 indica a adição de uma moléculas de hidroperóxido ao FAME do ácido linoleico, caracterizando o íon de m/z 349 como o hidroperóxido $[FAME+OOH+Na]^+$ que é formado do início processo de oxidação, como sugerem os estudos de Frankel, 1984. O mesmo se diz para os íons m/z 347 e m/z 351, que representam a oxidação dos FAME's do ácido linolênico e oleico, nesta ordem. Ainda, na forma de aduto de potássio esses hidroperóxidos $[FAME+OOH+K]^+$ se detectam através dos íons de m/z 363, 365 e 367 dos ácido linolênico, linoleico e oleico, respectivamente.

A técnica de *EASI-MS* foi utilizada para monitorar a evolução da oxidação nas amostras de biodiesel durante o período de armazenamento estabelecido. A seguir, estão os espectros de massa obtidos pela técnica *EASI-MS* somente para as amostras que permaneceram sob 40°C/ar nos tempos inicial e após 45 e 90 dias de armazenamento (**Figura 29**).

Os espectros de massa da **Figura 29** servem apenas como um exemplo dos espectros adquiridos de todas as amostras durante o monitoramento da oxidação do biodiesel nas diferentes condições de armazenamento estudadas. Escolheu-se apresentar somente esses espectros de massa, pois a amostra armazenada nesta condição foi a que sofreu maior oxidação.

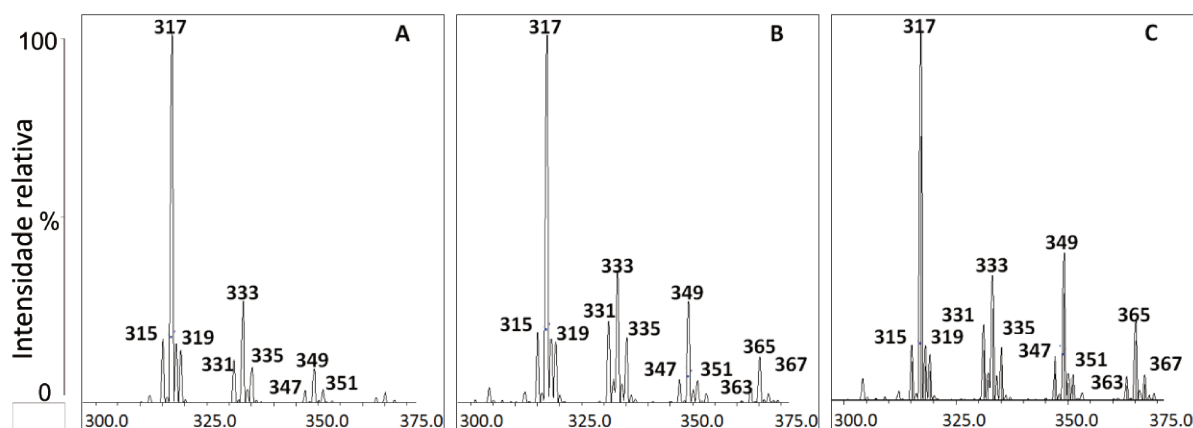


Figura 29. Espectros de massa das amostras de biodiesel de óleo de soja monitoradas durante armazenamento à 40°C/ar nos tempos (a) inicial e após (b) 45 dias e (c) 90 dias.

A sequencia ilustrada dos espectros demonstra que a intensidade relativa do íon de m/z 349 em relação ao íon de m/z 317 aumenta progressivamente com o tempo de armazenamento. A estratégia adotada para monitorar a oxidação do biodiesel armazenado foi construir gráficos mostrando a variação das intensidades relativas entre os íons de m/z 317 $[\text{FAME}+\text{Na}]^+$ do ácido linoleico e de m/z 349 $[\text{FAME}+\text{OOH}+\text{Na}]^+$, representando a formação do hidroperóxido. Os resultados do estudo utilizando-se a intensidade dos íons para o biodiesel de soja armazenado nas diferentes condições estão ilustrados nos gráficos da **Figura 30**.

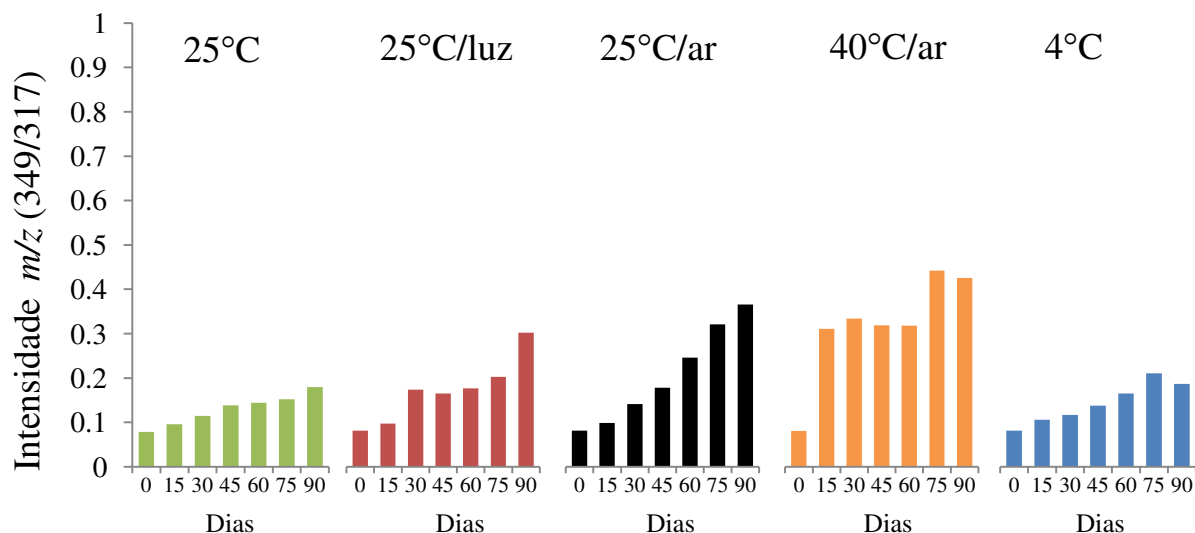


Figura 30. Evolução da oxidação no biodiesel de óleo de soja em um período de 90 dias armazenado em cinco condições diferentes.

As tendências observadas com os resultados do monitoramento do EASI-MS para as amostras do biodiesel de soja em cada condição de armazenamento assemelham-se com os resultados obtidos quando as mesmas amostras foram analisadas utilizando os parâmetros de índice de iodo, índice de acidez, índice de peróxido, viscosidade e estabilidade oxidativa. Resumidamente, o que se percebeu foi que a amostra armazenada a 40°C/ar apresentou sinais de oxidação mais elevados em relação a todas as outras amostras e este mesmo aspecto é visto na **Figura 30**. Para a amostra armazenada na condição 25°C/ar, a oxidação não chegou a ser tão evidenciada quanto na amostra estocada a 40°C/ar, contudo ela também apresentou uma oxidação um pouco mais elevada do que as outras amostras.

Foi levantada a possibilidade de que os íons sejam detectados tanto como adutos de sódio como adutos de potássio no estudo da oxidação do biodiesel podendo gerar algumas coincidências nos valores de m/z quando se utiliza um

analisador de baixa resolução, como o monoquadrupolo, que não permite determinar a massa molecular de cada íon nem mesmo distinguir os isômeros presentes. A **Tabela 4** exemplifica as coincidências nos valores de m/z atribuídos aos principais ésteres de ácido metílico e seus produtos de oxidação estudados no biodiesel de soja.

Tabela 4. Valores de m/z dos principais íons detectados por EASI MS no estudo de oxidação do biodiesel de óleo de soja na forma de aduto de sódio e potássio.

		Produtos de oxidação							
Composição ácido graxo	FAME (<i>m/z</i>)		[FAME + O] (<i>m/z</i>)		[FAME + OOH] (<i>m/z</i>)		[FAME + 3O] (<i>m/z</i>)		
	Na ⁺	K ⁺	Na ⁺	K ⁺	Na ⁺	K ⁺	Na ⁺	K ⁺	
Linolênico	315	331	331	347	347	363	363	379	
Linoleico	317	333	333	349	349	365	365	381	
Oleico	319	335	335	351	351	367	-	-	

* FAME – éster metílico de ácido graxo

A coincidência dos valores de m/z ocorrem para os FAME's de um mesmo ácido graxo quando estes estão na forma de aduto de potássio e como adutos de sódio com um oxigênio adicional na molécula. Por exemplo, a diferença de +16 Da entre os íons de m/z 317 e o íon de m/z 333, pode indicar a adição de um átomo de oxigênio na molécula do FAME do ácido linoleico formando o aduto de sódio $[FAME+O+Na]^+$. Porém, o aduto de potássio do FAME do ácido linoleico $[FAME+K]^+$ também tem m/z 333. Isso ocorre, pois a soma de um oxigênio mais o íon de sódio no calculo de m/z equivale a +39 Da que é igual a soma de +39 Da do íon potássio.

Sobre o íon de m/z 333 representar o $[\text{FAME}+\text{K}]^+$ e/ou o $[\text{FAME}+\text{O}+\text{Na}]^+$ do ácido linoleico:

Sabe-se que os produtos secundários de oxidação são gerados a partir dos hidroperóxidos e começam a se formar somente nos estágios mais avançados de oxidação. Como a variação da intensidade do íon de m/z 333 nos espectros de massa abordados não foi muito significativa, não se fez uma maior abordagem sobre este íon nas análises de EASI-MS, inclusive por existir uma grande limitação em saber determinar de qual produto de oxidação ele poderia se tratar (o átomo de oxigênio pode estar presente como uma hidroxila, uma cetona ou um grupo epóxido). A observação mais simplificada que se possa ter a respeito desse íon é que se for observado um aumento na intensidade relativa este aumento não pode ser em função do $[\text{FAME}+\text{K}]^+$.

Sobre o íon de m/z 349 representar o $[\text{FAME}+\text{OOH}+\text{Na}]^+$ e o $[\text{FAME}+\text{O}+\text{K}]^+$ do ácido linoleico:

O mesmo problema pode estar relacionado ao íon de m/z 349 que foi escolhido para monitorar a oxidação do biodiesel identificado como o hidroperóxido $[\text{FAME}+\text{OOH}+\text{Na}]^+$. Independente de qual etapa da oxidação que o biodiesel esteja será observado um acréscimo na intensidade relativa para esse íon. No início da oxidação esse aumento será em função apenas do hidroperóxido, quando a formação dos produtos secundários se tornar mais expressiva o aumento será em função de ambos, até a degradação dos hidroperóxidos torna-se mais importante e a cinética de oxidação rumar para um processo mais complexo do que se propõem a estudar neste trabalho.

As fórmulas relativas aos FAME's e aos produtos de oxidação do biodiesel de óleo de soja foram atribuídas utilizando alta precisão de m/z com as medidas feitas por FT-ICR MS.

5.3.2 Biodiesel de óleo residual de soja

Os resultados do biodiesel de óleo residual de fritura seguiram as mesmas abordagens feitas para o biodiesel de óleo de soja. A seguir está representado o espectro de massas do biodiesel de óleo residual de fritura obtido por EASI-MS no tempo inicial do estudo de armazenamento para monitoração da oxidação do biodiesel (**Figura 31**).

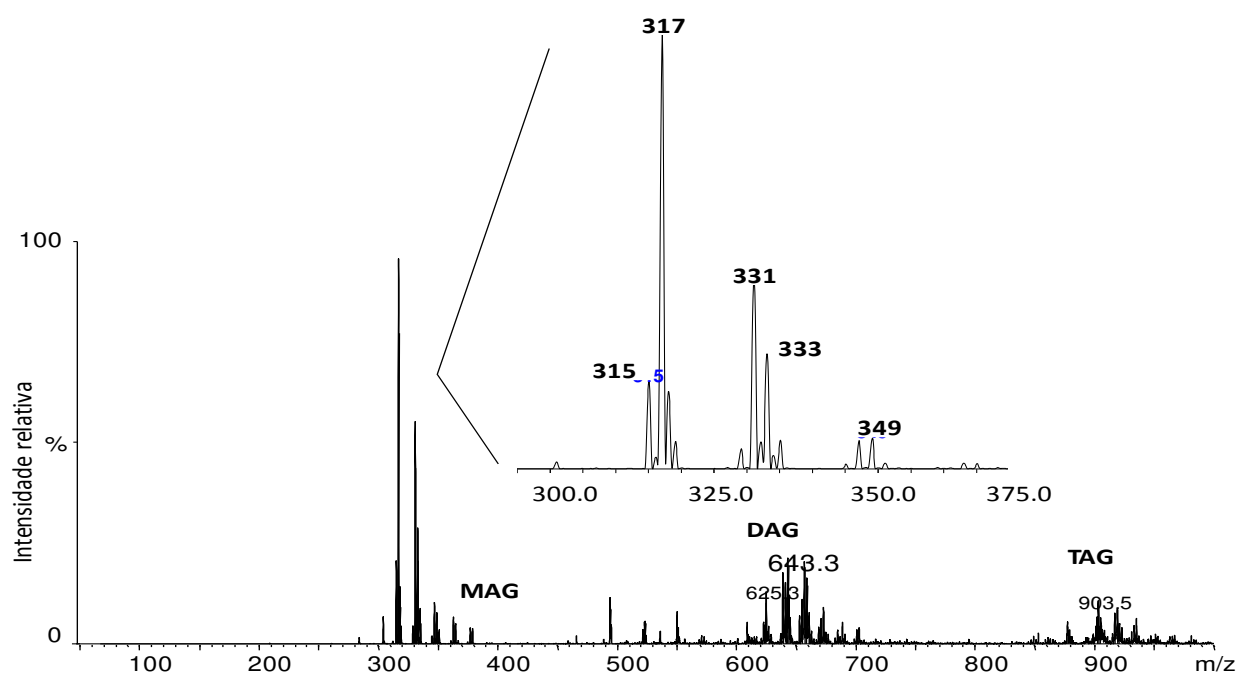


Figura 31. Espectro de massa para o biodiesel de óleo residual de fritura obtido por EASI-MS no tempo inicial do estudo de monitoramento da oxidação do biodiesel.

No espectro do biodiesel de óleo residual de fritura é possível observar além dos ésteres de ácido graxo, íons referentes aos monoacilglicerois (MAG) (faixa de m/z de 377 a 381) diacilglicerois (DAG) (faixa de m/z de 600 a 700) e triacilglicerois (TAG) (faixa de m/z de 850 a 950). Neste caso, são possíveis resíduos decorrentes da reação de transesterificação.

Os ésteres alquílicos de ácidos graxos esc olhidos para estudar a amostra do biodiesel de óleo residual de fritura foram os mesmos escolhidos para o biodiesel de óleo de soja, uma vez que o óleo mais utilizados no Brasil para fritura é o óleo de soja. Ainda, a amostra de biodiesel fornecida pelo comerciante continha uma mistura de ésteres metílicos (FAME) e etílicos (FAEE), sendo assim os íons correspondentes aos FAEE's e os produtos de oxidação deles também são identificados.

Na **Figura 31** do espectro de massas da amostra de biodiesel de óleo residual de fritura observam-se os íons:

- Os íons de m/z 315 e 317 atribuídos ao $[FAME+Na]^+$ e o m/z 319, mas com intensidade muito baixa.
- O íon de m/z 331 que neste caso pode ser identificado como sendo o $[FAME+O+Na]^+$ ou $[FAME+K]^+$ do ácido linolênico, ou o $[FAEE+Na]^+$ do ácido linoleico.
- O íon de m/z 333 como sendo o $[FAME+K]^+$ ou $[FAME+O+Na]^+$ do ácido linoleico, ou o $[FAEE+Na]^+$ do ácido oleico.
- O íon de m/z 349 como sendo o $[FAME+OOH+Na]^+$ ou $[FAME+O+K]^+$ do ácido linoleico, ou o $[FAEE+K]^+$ ou $[FAEE+O+Na]^+$ do ácido oleico.

O íon de m/z 349 foi escolhido para monitorar a oxidação do biodiesel de óleo residual de fritura assim como feito para o biodiesel de óleo de soja. O monitoramento da oxidação nas amostras de biodiesel de óleo residual de fritura

também foi feito por EASI-MS e a sequência de espectros obtidos nos tempos inicial e após 45 e 90 dias de armazenamento sob 40°C/ar (**Figura 32**).

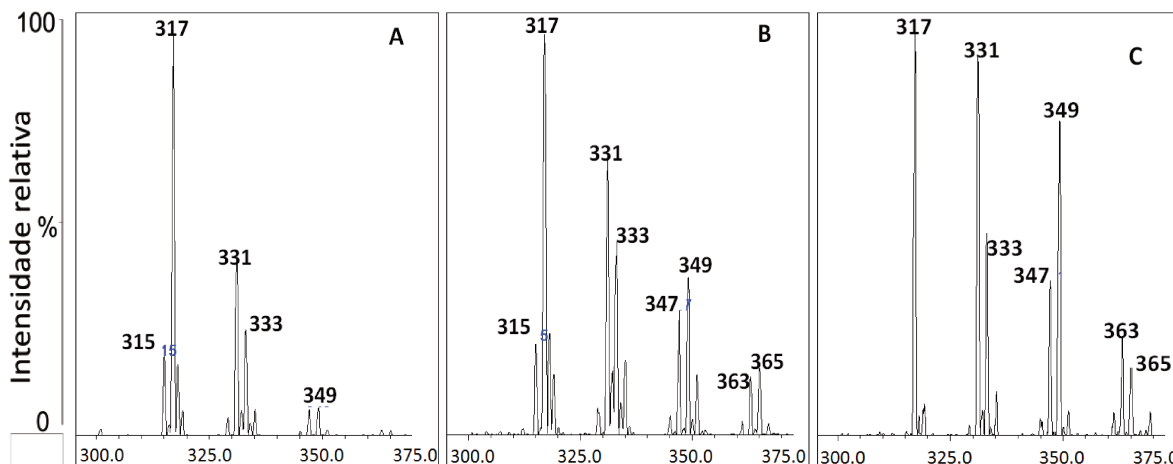


Figura 32. Espectros de massa das amostras de biodiesel de óleo residual de fritura monitoradas durante armazenamento à 40°C/ar nos tempos (a) inicial e após (b) 45 dias e (c) 90 dias.

Os espectros de massa da **Figura 32** são um exemplo dos espectros adquiridos de todas as amostras durante o monitoramento da oxidação do biodiesel nas diferentes condições de armazenamento estudadas. Escolheu-se apresentar somente esses espectros de massa, pois a amostra armazenada nesta condição foi a que sofreu maior oxidação e assim deixar o estudo que foi feito mais visível.

É claramente visível a aumento progressivo da intensidade relativa do íon de m/z 349 em relação ao íon de m/z 317. Os resultados do estudo utilizando-se a intensidade dos íons de m/z 317 e 349 para o biodiesel de óleo residual de fritura armazenado nas diferentes condições estão ilustrados nos gráficos da **Figura 33**.

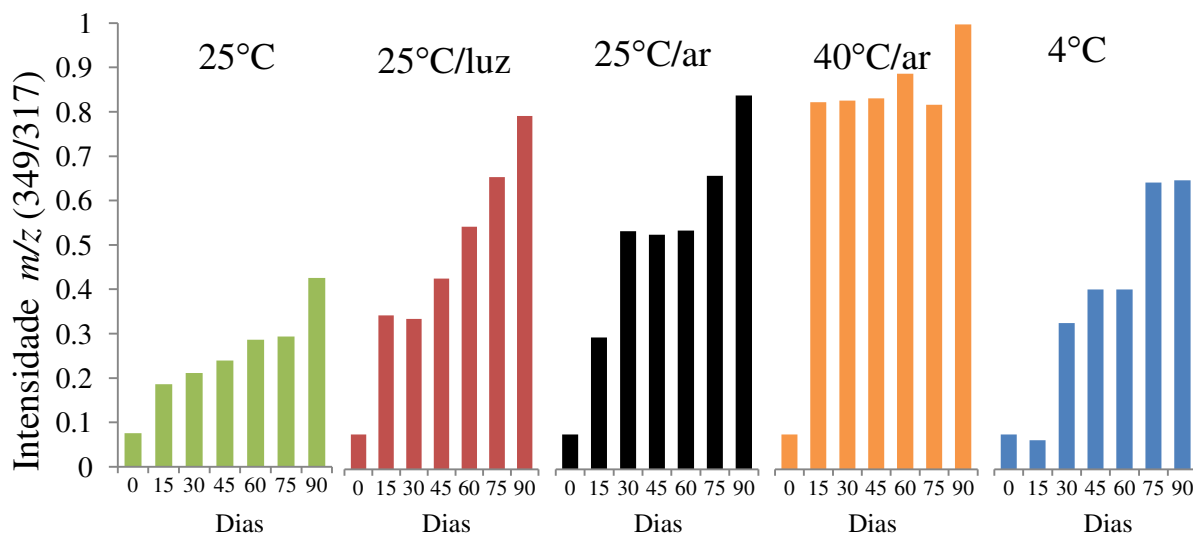


Figura 33. Evolução da oxidação no biodiesel de óleo de soja em um período de 90 dias armazenado em cinco condições diferentes.

Na **Figura 33** os gráficos que representam o monitoramento da oxidação do biodiesel de óleo residual de fritura nas cinco condições de armazenamento demonstram um quadro de oxidação muito maior quando comparado ao que se observa no monitoramento do biodiesel de óleo de soja (**Figura 30**). Esta maior oxidação que ocorre no biodiesel de óleo residual de fritura comparada ao biodiesel de óleo de soja é indicada em todos os parâmetros que foram avaliados periodicamente (índice de iodo, índice de acidez, índice de peróxido e viscosidade) e pela estabilidade oxidativa.

Sobre outras comparações entre o monitoramento por EASI-MS e dos parâmetros avaliados, verifica-se que a amostra armazenada sob 40°C/ar apresentou uma intensidade relativa entre os íons de m/z 349 e m/z 333 bem elevada já nos primeiro 15 dias e condiz com o elevado índice de peróxido observado da mesma forma. A estabilidade oxidativa dessa amostra em 90 dias, que não teve um valor mensurável devido ao alto grau de oxidação, o que corrobora com os resultados de oxidação que se observa no gráfico da **Figura33**.

Todos os outros resultados obtidos pelos parâmetros físico-químicos analisados foram compatíveis com o monitoramento por EASI-MS, demonstrando tanto o grau de oxidação ao longo do tempo quanto a taxa em que se observou os indícios de oxidação.

Devido a complexidade da identificação de todos os outros íons presentes, principalmente pelas coincidências de m/z , neste trabalho não foi desenvolvido um raciocínio para descrever seus comportamentos ao longo do processo de oxidação. Apenas atribuiu-se as fórmulas relativas aos FAME's, aos FAEE's e aos produtos de oxidação utilizando alta precisão de m/z com as medidas feitas por FT-ICR MS.

5.3.3 Monitoramento por EASI-MS da oxidação acelerada de um padrão de ácido oleico esterificado

A análise por EASI-MS revelou que a esterificação do padrão de ácido oleico foi realizada com êxito.

A amostra do éster metílico sintetizado que permaneceu em diferentes tempo sob oxidação forçada foram monitoradas por EASI-MS. As análise foram realizadas em triplicata. Os íons correspondentes ao éster metílico do ácido oleico e seus produtos de oxidação (**Tabela 5**) monitorados ao longo do tempo de oxidação estão na **Figura 34**.

A **Figura 34** ilustra o monitoramento resultante da análise por EASI de uma maneira simplificada da oxidação que ocorre para o éster metílico de ácido oleico m/z 315 $[FAME + Na]^+$ sintetizado.

Tabela 5. Relação m/z dos íons que foram monitorados durante a oxidação acelerada.

Aduto de sódio do éster metílico	m/z
[FAME+Na] ⁺	319
[FAME+O+Na] ⁺	335
[FAME+OOH+Na] ⁺	351

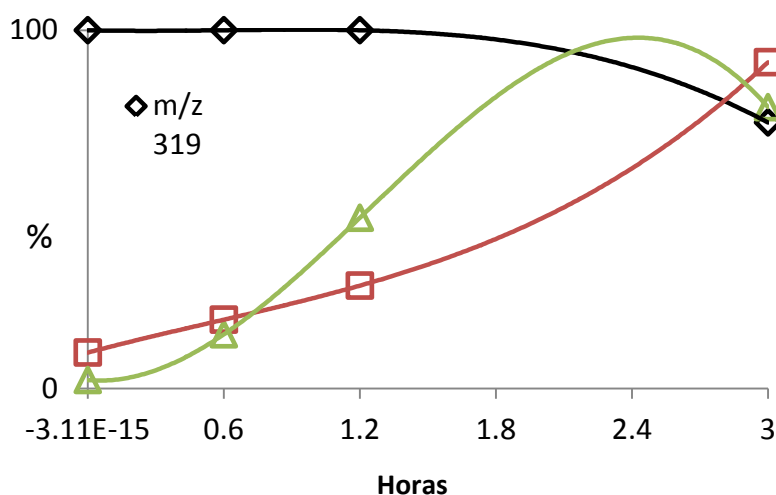


Figura 34. Monitoramento dos íons relacionados ao éster metílico do ácido oleico durante o processo de oxidação acelerada.

Observa-se a intensidade relativa do produto de oxidação o hidroperóxido [FAME + OOH + Na]⁺ de m/z 351 aumentar inicialmente com uma taxa muito mais elevada do que o produto de oxidação secundário [FAME + O + Na]⁺ de m/z 335, como se esperava. Quando a oxidação acelera, a formação de hidroperóxido aumenta rápido até atingir um ponto no qual a sua oxidação contínua começa a formar os produtos secundários de oxidação. Então, estes produtos secundários

como o representado pelo íon m/z 335, aumenta sua taxa de formação. Pode-se perceber que a intensidade relativa do FAME (m/z 319) inicia uma queda aproximadamente em 1,2 h, quando a taxa de produção do hidroperóxido está maior; é quando a oxidação se torna mais agressiva devido ao tempo de exposição ao calor e ao ar na oxidação acelerada no equipamento Rancimat.

5.4 Caracterização das Amostras de Biodiesel Utilizando Alta Resolução FT-ICR

5.4.1 Biodiesel de óleo de soja

A **Figura 35** representa os espectros para as amostras de biodiesel de óleo de soja inicial e após 90 dias de armazenamento sob 40 °C e exposto à atmosfera, obtidos por ESI FT-ICR MS.

Na caracterização dos ésteres metílicos dos ácidos graxos estudados bem como os seus produtos de oxidação nas amostras de biodiesel de soja por ESI FT-ICR MS não foram identificados adutos de potássio. O que se deduz sobre este fato é que o biodiesel utilizado foi sintetizado com um catalisador contendo sódio, como informou o produtor, deixando a matriz saturada com este metal alcalino, prevalecendo então a formação dos seus respectivos adutos.

Ainda que íons formados com potássio não tenham sido observados na análise por ESI FT-ICR MS não se pode afirmar que nas análises feita por EASI estes mesmos íons não estejam presente, uma vez que a fonte de ionização utilizada não é a mesma.

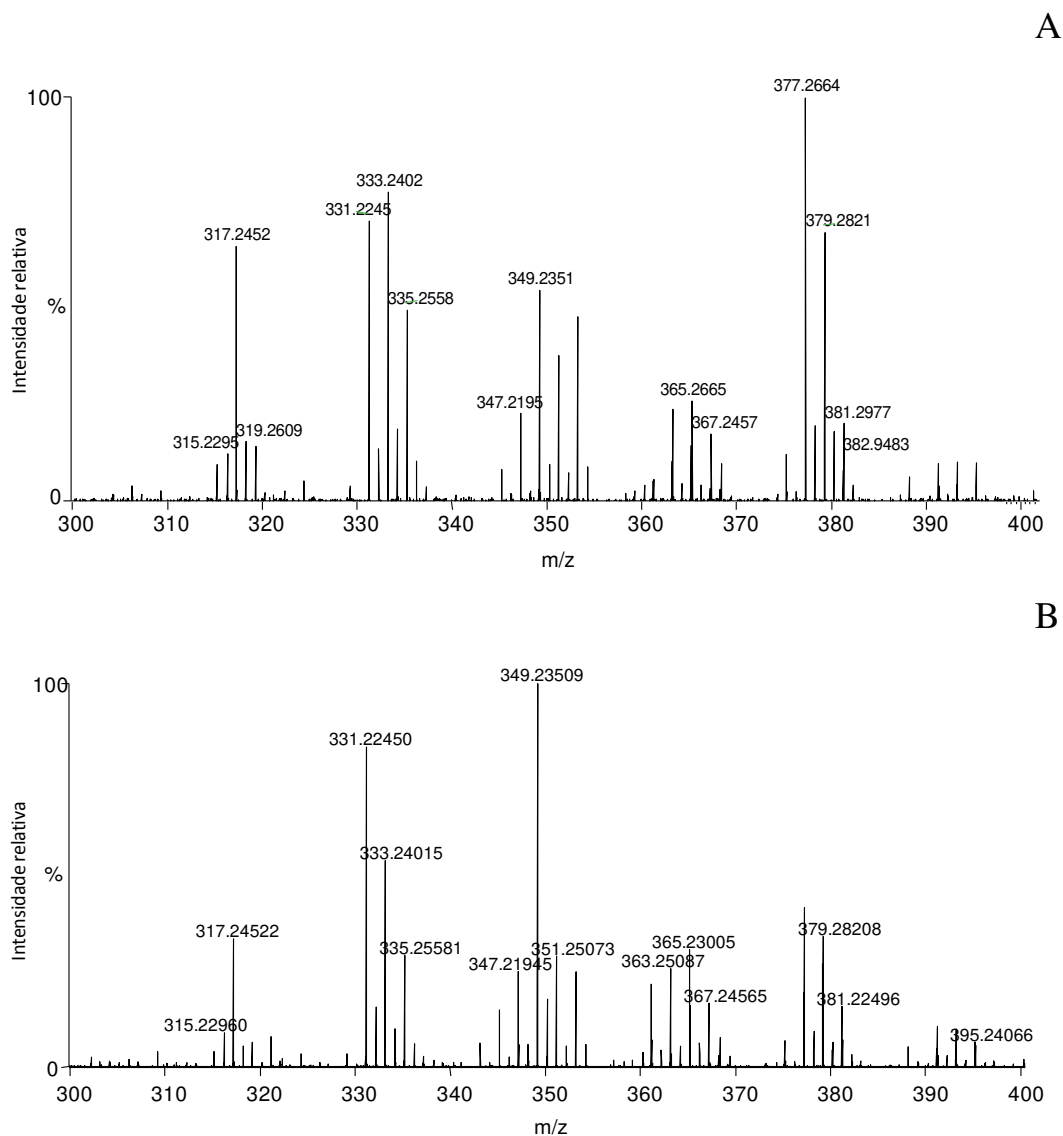


Figura 35. Espectros de massas ESI FT-ICR(+) MS das amostras de biodiesel de óleo de soja no a) tempo inicial e b) após 90 dias de armazenamento sob 40 °C/ar.

A **Tabela 6** descreve os principais ésteres dos ácidos graxos (oleico, linoleico e linolênico) incluindo os seus produtos de oxidação encontrados nas amostras iniciais e após 90 dias de armazenamento sob 40 °C e exposto à atmosfera do biodiesel de soja como adutos de sódio.

Tabela 6. Composição dos principais ésteres metílicos de ácidos graxos e seus produtos de oxidação identificados nas amostras de biodiesel de óleo de soja por ESI FT-ICR MS.

Íon (Na ⁺)	Fórmula Molecular	<i>m/z</i>	<i>m/z</i> <i>exata</i>	erro (ppm)
FAME*	C ₁₉ H ₃₆ O ₂ Na ⁺	319,2609	319,2608	0,42
O* FAME+O	C ₁₉ H ₃₆ O ₃ Na ⁺	335,2558	335,2557	0,43
FAME+2O	C ₁₉ H ₃₆ O ₄ Na ⁺	351,2508	351,2506	0,52
FAME	C ₁₉ H ₃₄ O ₂ Na ⁺	317,2452	317,2451	0,39
FAME+O	C ₁₉ H ₃₄ O ₃ Na ⁺	333,2402	333,2400	0,41
L* FAME+2O	C ₁₉ H ₃₄ O ₄ Na ⁺	349,2351	349,2349	0,52
FAME+3O	C ₁₉ H ₃₄ O ₅ Na ⁺	365,2300	365,2300	0,55
FAME+4O	C ₁₉ H ₃₄ O ₆ Na ⁺	381,2250	381,2248	0,68
FAME	C ₁₉ H ₃₂ O ₂ Na ⁺	315,2295	315,2295	0,46
FAME+O	C ₁₉ H ₃₂ O ₃ Na ⁺	331,2245	331,2244	0,40
Ln* FAME+2O	C ₁₉ H ₃₂ O ₄ Na ⁺	347,2195	347,2193	0,53
FAME+3O	C ₁₉ H ₃₂ O ₅ Na ⁺	363,2144	363,2142	0,47
FAME+4O	C ₁₉ H ₃₂ O ₆ Na ⁺	379,2092	379,2091	0,53
FAME+5O	C ₁₉ H ₃₂ O ₇ Na ⁺	395,2043	395,2040	0,66

* O: ácido oleico; L: ácido linoleico e Ln: ácido linolênico; FAME – éster metílico de ácido graxo.

Os resultados obtidos com a técnica de ESI FT-ICR MS permitiram caracterizar as amostras de biodiesel de óleo de soja atribuindo-se as fórmulas moleculares dos compostos em estudo com um erro menor que 0,7 ppm.

A partir da interpretação dos espectros de massas obtidos por EASI-MS das

amostras de biodiesel de soja descrito anteriormente, não foi possível identificar a qual composto o íon de m/z 333 representaria. Com as atribuições das fórmulas moleculares por ESI FT-ICR MS é comprovado que o produto de oxidação do FAME do ácido linoleico com adição de um oxigênio a sua estrutura esteja presente na amostra inicial do biodiesel de óleo de soja. Então, esses produtos de oxidação já estariam presentes no biodiesel fornecido para análise.

Os produtos de oxidação do FAME de ácido linolênico $[\text{FAME} + n\text{O} + \text{Na}]^+$ listados na **Tabela 6**, os quais se diferenciam pela quantidade de oxigênios adicionados à molécula, encontram-se relativamente mais intensos com maior tempo de armazenamento do que no tempo inicial de análise.

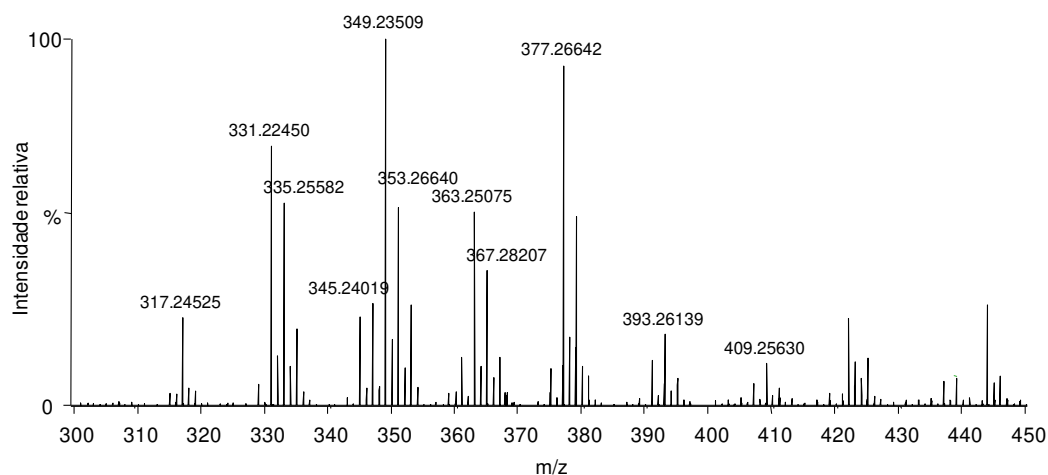
Na oxidação do FAME do ácido linoleico o hidroperóxido (FAME+OOH) após os 90 dias armazenado possui maior intensidade que no tempo inicial de estudo.

Finalmente, se observa que o hidroperóxido do FAME de ácido oleico tem sua intensidade relativa aumentado significativamente após os 90 dias de armazenamento.

5.4.2 Biodiesel de óleo residual de fritura

A **Figura 36** representa os espectros para as amostras de biodiesel de óleo residual de fritura inicial e após 90 dias de armazenamento sob 40 °C e exposto à atmosfera, obtidos por ESI FT-ICR MS.

A



B

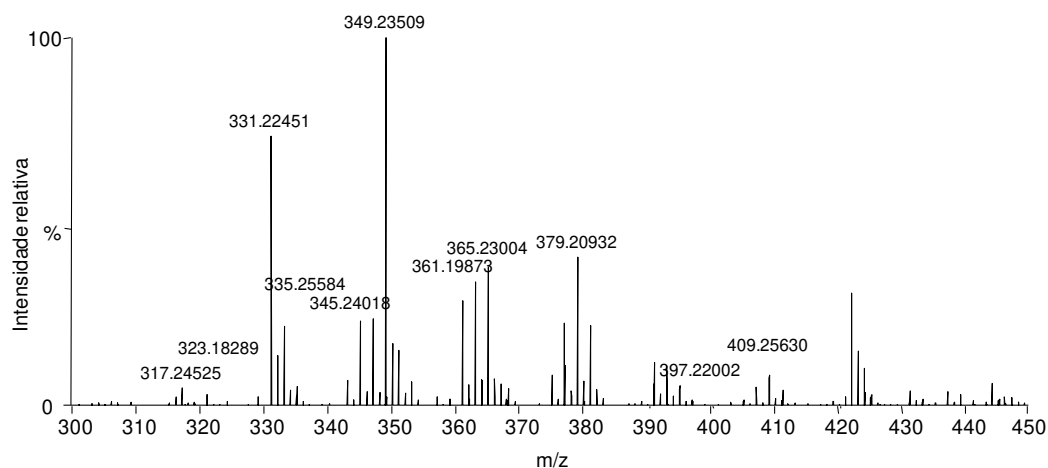


Figura 36. Espectros de massas ESI FT-ICR(+) MS das amostras de biodiesel de óleo residual de fritura no a) tempo inicial e b) após 90 dias de armazenamento sob 40°C/ar.

O biodiesel de óleo residual de fritura, segundo o produtor, também foi sintetizado utilizando-se um catalisador sódico, sendo assim não se visualiza íons formados com o potássio nos resultados do ESI FT-ICR MS.

Na **Tabela 7** estão descritos os principais ésteres metílicos e etílicos identificados como adutos de sódio presentes na amostra do biodiesel de óleo

Tabela 7. Composição dos principais ésteres metílicos e etílicos de ácidos graxos e seus produtos de oxidação identificados nas amostras de biodiesel de óleo residual de fritura por ESI FT-ICR MS.

Íon (Na ⁺)	Fórmula Molecular	<i>m/z</i>	<i>m/z exata</i>	erro (ppm)	
O*	FAME*	C ₁₉ H ₃₆ O ₂ Na ⁺	319,2609	319,2608	0,34
	FAME+O	C ₁₉ H ₃₆ O ₃ Na ⁺	335,2559	335,2557	0,56
	FAME+2O	C ₁₉ H ₃₆ O ₄ Na ⁺	351,2508	351,2506	0,52
	FAME+3O	C ₁₉ H ₃₆ O ₅ Na ⁺	367,2457	319,2608	0,62
	FAEE*	C ₂₀ H ₃₈ O ₂ Na ⁺	333,2761	333,2764	-0,79
	FAEE+O	C ₂₀ H ₃₈ O ₃ Na ⁺	349,2714	349,2713	0,32
	FAEE+2O	C ₂₀ H ₃₈ O ₄ Na ⁺	365,2665	365,2662	0,66
	FAEE+3O	C ₂₀ H ₃₈ O ₅ Na ⁺	381,2614	381,2612	0,69
L*	FAME	C ₁₉ H ₃₄ O ₂ Na ⁺	317,2453	317,2451	0,53
	FAME+O	C ₁₉ H ₃₄ O ₃ Na ⁺	333,2402	333,2400	0,45
	FAME+2O	C ₁₉ H ₃₄ O ₄ Na ⁺	349,2351	349,2349	0,53
	FAME+3O	C ₁₉ H ₃₄ O ₅ Na ⁺	365,2301	365,2300	0,56
	FAME+4O	C ₁₉ H ₃₄ O ₆ Na ⁺	381,2252	381,2248	1,00
	FAEE	C ₂₀ H ₃₆ O ₂ Na ⁺	331,26100	331,2608	0,68
	FAEE+O	C ₂₀ H ₃₆ O ₃ Na ⁺	347,2559	347,2557	0,59
	FAEE+2O	C ₂₀ H ₃₆ O ₄ Na ⁺	363,2508	363,2506	0,57
	FAEE+3O	C ₂₀ H ₃₆ O ₅ Na ⁺	379,2458	379,246	0,84
	FAEE+4O	C ₂₀ H ₃₆ O ₆ Na ⁺	395,2407	395,2404	0,61
Ln*	FAME	C ₁₉ H ₃₂ O ₂ Na ⁺	315,2297	315,2295	0,65
	FAME+O	C ₁₉ H ₃₂ O ₃ Na ⁺	331,2245	331,2244	0,51
	FAME+2O	C ₁₉ H ₃₂ O ₄ Na ⁺	347,2195	347,2193	0,57
	FAME+3O	C ₁₉ H ₃₂ O ₅ Na ⁺	363,2144	363,2142	0,53
	FAME+4O	C ₁₉ H ₃₂ O ₆ Na ⁺	379,2094	379,2091	0,84
	FAME+5O	C ₁₉ H ₃₂ O ₇ Na ⁺	395,2041	395,2040	0,22
	FAEE	C ₂₀ H ₃₄ O ₂ Na ⁺	329,2447	329,2451	-1,00
	FAEE+O	C ₂₀ H ₃₄ O ₃ Na ⁺	345,2402	345,2400	0,46
	FAEE+2O	C ₂₀ H ₃₄ O ₄ Na ⁺	361,2351	361,2349	0,58
	FAEE+3O	C ₂₀ H ₃₄ O ₅ Na ⁺	377,2301	377,2299	0,69
	FAEE+4O	C ₂₀ H ₃₄ O ₆ Na ⁺	393,22500	393,2248	0,56
	FAEE+5O	C ₂₀ H ₃₄ O ₇ Na ⁺	409,2201	409,2197	0,99

* O: ácido oleico; L: ácido linoleico e Ln: ácido linolênico; FAME – éster metílico de ácido graxo; FAEE – éster etílico de ácido graxo.

residual de fritura uma vez que essa amostra possui a mistura de biodiesel sintetizado tanto com metanol como com etanol.

Os resultados obtidos com a técnica de ESI FT-ICR MS permitiram caracterizar as amostras de biodiesel de óleo residual de fritura atribuindo-se as fórmulas moleculares dos compostos em estudo com um erro menor que 1,00 ppm.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos pelas análises físico-químicas, índice de peróxido, índice de acidez, viscosidade cinemática, índice de iodo, teor de umidade, estabilidade oxidativa e vida útil conclui-se que:

- O biodiesel de óleo de soja apresentou um quadro de oxidação muito menor quando comparado ao biodiesel de óleo residual de fritura.
- Embora não se tenha adotado um sistema rígido de controle nas condições de armazenamento capaz de avaliar a influência individual de cada variável (temperatura, exposição ao oxigênio e luminosidade) foram obtidas diferentes condições de oxidação nas amostras de biodiesel como se pretendia.
- As amostras expostas a condição de 40°C/ar durante o período de armazenamento estudado revelaram os maiores valores e taxas de oxidação.
- As amostras estocadas na condição de 25°C/ar, também apresentaram evidências de oxidação maiores em relação às amostras estocadas nas demais condições.
- Pelos parâmetros avaliados não foi possível observar grandes variações entre as taxas de oxidação para as amostras armazenadas sob as condições de 25°C, 25°C/luz e 4°C, no entanto dados de algumas análises apontaram uma maior estabilidade para o biodiesel armazenado a 4°C.

A técnica de EASI-MS forneceu o perfil das espécies de FAME/FAEE e de seus produtos de oxidação através da detecção de um conjunto característico de íons, permitindo a avaliação da formação dos hidroperóxidos, produto primário da

oxidação. A ionização mais branda de EASI resultou em espectros de massa mais limpos, sem a presença de fragmentos, facilitando a interpretação dos sinais.

A técnica EASI-MS comprovou sua aplicabilidade no monitoramento da oxidação do biodiesel armazenado com sucesso, dispensando qualquer tipo de preparo de amostra, o que possibilitou obter resultados mais reprodutíveis. Aliado a este fato, a aquisição quase instantânea dos espectros de massa resultaram em um método muito rápido.

Monitorar a oxidação acelerada do padrão de ácido oleico esterificado utilizando a técnica de EASI-MS permitiu visualizar o comportamento da cinética de oxidação e compará-lo com o surgimento dos produtos de oxidação detectados também por EASI-MS.

A caracterização dos FAME/FAEE utilizando a espectrometria de massas de alta resolução FT-ICR foi importante para comprovar a presença destes compostos nas amostras de biodiesel através da atribuição das fórmulas moleculares.

Os resultados das análises físico-químicas foram concordantes entre si e foram suficientes para mostrar o processo inicial da oxidação do biodiesel. Foram ferramentas importantes para também corroborar os resultados obtidos pela técnica de EASI-MS.

Com este trabalho a técnica EASI-MS mostrou potencial de aplicação na avaliação dos processos oxidativos iniciais no biodiesel, tornando-se uma opção bastante interessante em relação aos métodos físico-químicos tradicionais.

Os resultados deste estudo vem complementar outros já realizados com biodiesel aplicando-se a técnica EASI-MS na caracterização da qualidade do biodiesel. A somatória desses estudos mostram que em uma “única tacada” é possível a tipificação da matéria prima graxa, a determinação de contaminantes orgânicos típicos, a quantificação de biodiesel em blendas (diesel/biodiesel), a comprovação de adulteração com óleos vegetais e, finalmente, o monitoramento do processo de oxidação.

7. REFERÊNCIAS

- Abdelnur, PV; Eberlin, LS, De Sá, G F, De Souza, V, Eberlin, MN. Single-Shot Biodiesel Analysis: Nearly Instantaneous Typification and Quality Control Solely by Ambient Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry** (Washington), 80(20): 7882-7886, 2008.
- Aidos, I; Lourenço, S; Van der Padt, A; Luten, JB; Boom, RM. Stability of crude herring oil produced from fresh byproducts: influence of temperature during storage. **Journal of Food Science**, 67(9): 3314-3320, 2002.
- Akasaka, K; Ohru, H; Meguro, H. Normal phase Hight Performance Liquid Chromatography of hidroperoxides wiyha fluorometric pos column detection system for lipid hidroperoxides. **Journal Chromatography A**, 628: 31-35, 1998.
- Akoh, C. Oxidative stability of fat substitutes and vegetable oils by the oxidative stability index method. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 71(1): 211-216, 2001.
- Alberici, RM; Simas, RC; Abdelnur, PV; Eberlin, MN; Souza, V; Sá, GF; Daroda, RJ. A highly effective antioxidant and artificial marker for biodiesel. **Energy & Fuels**, 24: 6522-6526, 2010a.
- Alberici, RM; Simas, RC; Sanvido, GS; Romão, W; Lalli, PM; Benassi, M; Cunha, IBS; Eberlin, MN. Ambient Mass Spectrometry: Bringing MS into the Real World. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 398:265-294, 2010b.
- Alberici, RM; Simas, RC; Souza, V; De Sá, GF; Daroba, RJ; Eberlin, MN. Analysis of fuels via easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 659: 15-22, 2010c.
- Alberici, R.M ; Souza, V; Sa, GF; Daroda, RJ ; Eberlin, MN. Used Frying Oil: A Proper Feedstock for Biodiesel Production?. **Bioenergy Research**, 5: 1002-1008, 2012a.
- Alberici, RM; Souza, V; Goncalves, LV; Cunha, VS; Eberlin, MN; Daroda, RJ. Easy ambient sonic-apray ionization mass spectrometry: an alternative method to quantify organic impurities biodiesel. **Journal of ASTM International**, 9: 1-5, 2012b.
- ANP- Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução ANP nº 15, de 18/5/2005 (DOU 20/5/2005), 2005.

ANP- Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução ANP nº 07 de 19 /3/2008 (dou 20/03/2008), 2008.

Antoniassi, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, 19(2): 353-380, 2001. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/40650053/ANTONIASSI>. Acedido a 28 de agosto de 2012.

AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. Champaign: AOCS, 2008.

ASTM-American Society for Testing and Materials. **ASTM D6304**. Determination of Water in Petroleum Products, Lubricating Oils, and Additives by Coulometric Karl Fischer Titration., 2007.

ASTM-American Society for Testing and Materials. **ASTM D3703**. Hydroperoxide Number of Aviation Turbine Fuels, Gasoline, 2009a.

ASTM-American Society for Testing and Materials. **ASTM D445**. Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and Calculation of Dynamic Viscosity), 2009b.

ASTM-American Society for Testing and Materials. **ASTM D664**. Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration, 2009c.

Baccan, N; Andrade, JC; Godinho, OES; Barone, JS; Química Analítica Quantitativa Elementar, 3 ed., São Paulo, Edgard Bluker, 2001.

Bajpai, D; Tyagi,VK. Biodiesel: Source, Production, Composition, Properties and Its enefits. **Journal of Oil Science**, 55(10): 487-502, 2006.

Bauer-Plank C, Steenhoorst-Slikkerveer L Analysis of triacylglyceride hidroperoxides in vegetale oils by nonaqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 77(3): 477-482, 2000.

Berthiaume, D; Tremblay, A. Study of the Rancimat Test Method in Measuring the Oxidation Stability of Biodiesel Ester and Blends. **Oleotek**. 2006. Disponível em: <http://www.technopoletford.ca/FichiersUpload/Softsystem/NRCan-OLEOTEK->

Study of the Rancimat Test Method in Measuring the Oxidation Stability of Biodiesel Esters and Blends.pdf. Acedido a 3 de Março de 2012.

Bondioli, P; Gasparoli, A; Bella, LD; Taghliabue, S; Toso, G. Biodiesel stability under commercial storage conditions over one year. **European Journal of Lipid Science Technology**, 105(12): 735-741, 2003.

Borsato, D; Dall'antonia, HL; Guedes, LC; Maia, EC; Freitas, RH; Moreira, I; Spacino, RK. Aplicação do delineamento simplex-centroide no estudo da cinética da oxidação de biodiesel B100 em mistura com antioxidantes sintéticos. **Química Nova**, 33(8): 1726-1731, 2010.

Bouaid, A; Martinez, M; Aracil, J. Long storage stability of biodiesel from vegetable and used frying oils. **Fuel**, 86(16): 2596-2602, 2007.

Bouaid, A; Martinez, M; Aracil, J. Production of biodiesel from bioethanol and Brassica carinata oil: Oxidation stability study. **Bioresource Technology**, 100: 2234–2239, 2009.

Candeia, RA; Silva, MCD; Carvalho Filho, JR; Brasilino, MGA; Bicudo, TC; Santos, IMG; Souza, AG. Influence of soybean biodiesel content on basic properties of biodiesel diesel blends. **Fuel** (Guildford), 88(4): 738-743, 2009.

Candeia, RA; Sinfonio, FS; Bicudo, TC; Queiroz, N; Barros Filho, AKD; Soledade, LEB; Santos, IMG; Souza, AL; Souza, AG. Influence of the storage on the thermo-oxidative stability of methyl and ethyl esters by PDSC. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 106(2): 581-586, 2011.

Cardoso, KC; Da Silva, MJ; Grimaldi, R; Stahl, M; Simas, RC; Cunha, IBS; Eberlin, MN; Alberici, RM. TAG profiles of *Jatropha curcas* L. seed oil by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 89(1): 67-71, 2012.

Chen, H; Venter, A; Cooks, RG. Extractive Electrospray Ionization for Direct Analysis of Undiluted Urine, Milk and Other Complex Mixtures without Sample Preparation. **Chemical Communications**, 19: 2042-2044, 2006.

Chien, YC; Lu, M; Chai, M; Boreo, FJ. Characterization of Biodiesel and Biodiesel Particulate Matter by TG, TG-MS, and FTIR. **Energy & Fuels**, 23: 202-206, 2009.

Clark, SJ; Wagner, L; Schrock, MD; Piennaar, PG. Methyl and ethyl soybean esters as renewable fuels for diesel engines. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 61(10):1632–1638, 1984.

Cody, RB; Laramée, JA; Durst, HD. Versatile New Ion Source for the Analysis of Materials in Open Air under Ambient Conditions. **Analytical Chemistry**, 77(8): 2297-2302, 2005.

Cole, RB. **Electrospray ionization mass spectrometry: Fundamentals instrumentation and applications**. New York: Jonh Wiley & Sons, 1997.

Comandini, P; Verardo, V; Maiocchi, P; Caboni, MF. Accelerated oxidation: Comparative study of a new reactor with oxidation stability instrument. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 111(9): 933 – 940, 2009. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.200900009/abstract>. Acedido a 14 de março de 2011.

Conceição, MM; Candeia, RA; Silva, FC; Bezerra, AF; Fernandes Jr, VJ; Souza, AG. Thermoanalytical characterization of castor oil biodiesel. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, 11(5): 964-975, 2007.

Cooks, RG; Ouyang, Z; Takás, Z; Wiseman, JM. Ambient Mass Spectrometry. Detection Technologies. **Science**, 311: 1566-1570, 2006.

Correa, SM; Arbilla, G. Aromatic hydrocarbons emissions in diesel and biodiesel exhaust. **Atmospheric Environment**, 40: 6821–6826, 2006.

Costa, AB; Cooks, RG, **Simulated splashes: Elucidating the mechanism of desorption electrospray ionization mass spectrometry**. Chemical Physics Letters Ed. 2008, 464 p.

Costa Neto, PR; Rossi, LFS; Zagonel, GF; Ramos, LP. Produção de Biocombustível Alternativo ao Óleo Diesel através da Transesterificação de Óleo de Soja usado em Frituras. **Química Nova**, 23(4): 531-537, 2000.

Costa, TL. Características físicas e fisicoquímicas do óleo de duas cultivares de mamona. **Dissertação de mestrado**- Universidade Federal de Campina Grande, Campinas Grande, Paraíba, 2006

Crapiste, GH; Brevédan, MIV; Carelli, AA. Oxidation of sunflower oil during storage. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 76(12): 1437-1443, 1999.

Cunha, IBS; Fernandes, AMAP; Tega, DU; Simas, RC; Nascimento, HL; Sa, GF; Daroda, RJ; Eberlin, MN; Alberici, RM. Quantitation and Quality Control of Biodiesel/Petrodiesel (B) Blends by Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry. **Energy & Fuels**, 26: 7018-7022, 2012.

Dabague, R. Programa de testes para o uso da mistura diesel/biodiesel. In: **1º Seminário Paranaense de Biodiesel**, Londrina, 2003. Anais eletrônicos. Disponível em: <<http://www.tecpar.br/cerbio/Seminario-palestras.htm>. > Acedido a 20 de setembro de 2010.

Dantas, MB. “Obtenção, Caracterização e Estudo Termoanalítico de Biodiesel de Milho”. 76p., 2006. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal da Paraíba-UFPB, João Pessoa, 2006.

DANTAS, M. B. “Blendas de biodiesel: Propriedades de Fluxo, Estabilidade Térmica, e Oxidativa e Monitoramento Durante Armazenamento.” 115p., 2010. Tese de Doutorado - Universidade Federal da Paraíba- UFPB, João Pessoa, 2010.

Dantas, MB; Albuquerque, AR; Barros, AK; Rodrigues Filho, MG; Antoniosi Filho, NR; Sinfrônio, FSM; Rosenhaim, R; Soledade, LEB; Santos, IMG; Souza, AG. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. **Fuel**, 90(1): 773-778, 2011.

Dass, C. **Fundamental of contemporary mass spectrometry**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2007.

Demirbas, A. Biodiesel production from vegetable oils via catalytic and noncatalytic supercritical methanol transesterification methods. *Progress in Energy and Combustion Science*, 31(5): 466-487, 2005.

Demirbas, A. Studies on cottonseed oil biodiesel prepared in non-catalytic SCF conditions. **Bioresource Technology**, 99: 1125–1130, 2008a.

Demirbas, A. Relationships derived from physical properties of vegetable oil and biodiesel fuels. **Fuel**, 87 (8-9): 1743-1748, 2008b.

Dole, M; Mack, LL; Hines, RL; Mobley, RC; Ferguson LD; Alice, MB. Molecular beams of macroions. **Journal of Chemical Physics**, 49(5): 2240-2249, 1968.

Dunn, RO. Effect of oxidation under accelerated conditions on fuel properties of methyl soyate (biodiesel). **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 79(9): 915-920, 2002.

Dunn, RO. Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel). **Fuel Processing Technology**, 86: 1071-1085, 2005.

Dunn, RO. Antioxidants for improving storage stability of biodiesel. **Biofuels, Bioproducts Biorefining**, 2: 304–318, 2008.

Dupont, J; Suarez, PAZ; Meneghetti, MR; Meneghetti, SMP. Catalytic production of biodiesel and diesel-like hydrocarbons from triglycerides. **Energy Environmental Science**, 2(1): 1258-1265, 2009.

Dysseler P, Dieffenbacher A (2000) The importance of analytical data fat technology. In: IUPAC workshop on fats, oils and oilseed analysis. Rio de Janeiro: EMBRAPA.

EN- The European Standard. **EN ISO 14111**. Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of iodine value, 2003a.

EN- The European Standard. **EN ISO 14112**. Fat and oil derivatives - Fatty acid methyl esters (FAME) - Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test), 2003b.

Farhoosh, R. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 84(3): 205-209, 2007.

Frangui, M; Hanna, MA. Biodiesel Production: a review. **Bioresource Technology**, 70(1): 1-15, 1999.

Frankel, EM. Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 61(12): 1908–1917, 1984.

Frankel, EM; Neff, WE; Miyashita, K. Autoxidation of polyunsaturated triacylglycerols and Trilinolenoylglycerol. **Lipids**, 25:40-47, 1998.

Frankel, EN. Lipid Oxidation. The Oily Press. U.K: PJ Barnes and Associates: Bridgwater, 2005.

Fenn, JB; Mann, M; Meng, CK; Wong, SF; Whitehouse, CM. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. **Science**, 246: 64-71, 1989.

Fennema, OR; Parkin, KL; Srinivasan, D. Fennemas' Food Chemistry, Madison, Wisconsin, USA, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2007.

Fennema, OR; Parkin, KL; Srinivasan, D. Food Chemistry, USA, CRC Press, Taylor and Francis Group, 2007.

Fernandes, AMAP; Tega, DU; Jara, J; Cunha, IBS; Sa, GF; Daroda, RJ; Eberlin, MN; Alberici, RM. Free and total glycerin in biodiesel: accurate quantitation by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. **Energy & Fuels**, 26: 3042-3047, 2012.

Fernandes, GD; Alberici, RM; Pereira, GG; Cabral, EC; Eberlin, MN; Barrera-Arellano, D. Direct characterization of commercial lecithins by easy ambiente sonic-spray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*, 135:1855-1860, 2012.

Ferrari, RA; Oliveira, V; Scabio, A. Oxidative stability of biodiesel from soybean oil fatty acid ethyl esters. **Scientia Agricola**, 62(3): 291-295, 2005.

Ferrari, RA; Oliveira, VS; Scabio, A. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**, 32(1): 106-111, 2009.

Fox, NJ; Stachowiak, GW. Vegetable oil-based lubricants: A review of oxidation. Elsevier Science Direct, 40pp, 1035-1046, 2006.

Fuchs B; Schiller J. Application of MALDI-TOF mass spectrometry in lipidomics. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 111: 83-98, 2009.

Haddad, R; Sparrapan, R; Eberlin, MN. Desorption sonic spray ionization for (high) voltage-free ambient mass spectrometry. *Rapid Communications In Mass Spectrometry*, 20: 2901-2905, 2006.

Haddad, R; Sparrapan, R; Kotiaho, T; Eberlin, MN. Easy ambient sonic-spray ionization-membrane interface mass spectrometry for direct analysis of solution constituents. **Analytical Chemistry**, 80:898-903, 2008a.

Haddad, R; Milagres, HMS, Catharino, RR, Eberlin, MN. Easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry combined with thin-layer chromatography. **Analytical Chemistry**, 80: 2744-2750, 2008b.

Haefliger, OP; Jeckelman, N. Direct mass spectrometry analysis of flavors and fragrances in real applications using DART. **Rapid Communications In Mass Spectrometry**, 21: 1361-1366, 2007.

Halliwel, B; Aeschbach, R; Lölinger, J; Aruoma, OI. The characterization on antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, 33(7): 601-617, 1995.

Hanh, HD; Dong, N; Kenji O; Nishimura, R; Maeda, Y. Biodiesel production through transesterification of triolein with various alcohols in an ultrasonic field. **Renewable Energy**, 30: 766-768, 2008.

Harper, JD; Charipar, NA; Mulligan, CC; Zhang, X; Cooks, RG; Ouyang, Z. Low-Temperature Plasma Probe for Ambient Desorption Ionization. **Analytical Chemistry**, 80(23): 9097-9104, 2008.

Harris, HA; Nyadong, L; Fernandez FM. Recent developments in ambient ionization techniques for analytical mass spectrometry. **Analyst**, 133: 1297-1301, 2008.

Hartvigsen, K; Hansen, LF; Lund, P; Bukhave, K; Holmer, G. Determination of neutral lipid hydroperoxides by size exclusion HPLC with fluorometric detection application to fish oil enriched. **Journal Agricultural Food Chemistry**, 48: 5842-5849, 2000.

Hirabayashi, A; Sakairi, M; Koizumi, H. Sonic Spray Ionization Method for Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, 66(24): 4557-4563, 1994.

Hirabayashi, A; Sakairi, M; Koizumi, H. Sonic spray mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, 67(17): 2878-2884, 1995.

Hribernik, A; Kegl, B. Influence of biodiesel fuel on the combustion and emission formation in a direct Injection diesel engine. **Energy Fuels**, 21(3): 1760-1767, 2008.

Huang, MZ; Hsu, HJ; Lee, JY; Jeng, J; Shiea, J. Direct protein detection from biological media through electrospray-assisted laser desorption ionization/mass spectrometry. **Journal of Proteome Research**, 5(5): 1107-1116, 2006.

Huang, J; Sathivel, S. Thermal and rheological properties and the effects of temperature on the viscosity and oxidation rate of unpurified salmon oil. **Journal of Food Engineering**, 89(2): 105-111, 2008.

Ifa, DR; Wu, C; Ouyang, Z; Cooks, RG.Desorption electrospray ionization and other ambient ionization methods: current progress and preview. **Analyst**, 135(4):669-681, 2010.

Isbell, TA; Abbott, TP; Carlson, KD. Oxidative stability index of vegetable oils in binary mixtures with meadowfoam oil. **Industrial Crops and Products**, 9: 115-123, 1999.

Iribarne, JV; Thomson, BA. On the evaporation of small ions from charged droplets. **Journal of Chemical Physics**, 64(6): 2287-2294, 1976.

Jain, S; Sharma, MP. Review of different test methods for the evaluation of stability of biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 14(7): 1937-1947, 2010.

Kaul, S; Saxena, RC; Kumar, A; Negi, MS; Bhatnagar, AK; Goyal, HB; Gupta, AK. Corrosive behavior of biodiesel from seed oils of Indian origin on diesel engine parts. **Fuel Processing Technology**, 88: 303-307, 2007.

Kebarle, P; Verkerk, UH. Electrospray: From Ions In Solution To Ions In The Gas Phase, What We Know Now. **Mass Spectrometry Reviews**, 28(6): 898-917, 2009.

Kegl, B. Effects biodiesel on emissions of a bus diesel engine. **Bioresource Technology**, 99: 863-873, 2008.

Knothe, G. Structure indices in FA chemistry. How relevant is the iodine value? **Journal of the American Oil Chemists'Society**, 79(9): 847-854, 2002.

Knothe, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. **Fuel Processing Technology**, 86: 1059-1070, 2005.

Knothe, G. Analyzing Biodiesel: Standards and Other Methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83(10): 823-833, 2006a.

Knothe, G. Analysis of oxidized biodiesel by ¹H-NMR and effect of contact area with air. **European Journal of Lipid Science Technology**, 108: 493-500, 2006b.

Knothe, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. **Fuel Processing Technology**, 88: 669-677, 2007.

Knothe, G; Dunn, RO. Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 80(10): 1021–1026, 2003.

Knothe, G; Steidley, KR. Kinematic viscosity of biodiesel fuel components and related compounds. Influence of compound structure and comparison to petrodiesel fuel components. **Fuel**, 84: 1059-1065, 2005.

Knothe, G; Gerpen, JV; Krah, J; Ramos, LP. Manual de Biodiesel. São Paulo: Edgard Blücher, 2006.

Lapuerta, M, Rodríguez-Fernández, J; Agudelo, JR. Diesel particulate emissions from used cooking oil biodiesel. **Bioresource Technology**, 99: 731-740, 2008.

Leung, DYC; Koo, BCP; Guo, Y. Degradation of biodiesel under different storage conditions. **Bioresources Technology**, 97: 250-256 , 2006.

Liang, YC; May, CY; Foon, CS; Ngan, MA; Hock, CC; Basiron, Y. The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm diesel. **Fuel**, 85(5-6): 867-870, 2006.

Lotero, E; Liu, Y; Lopez, DE; Suwannakarn, K; Bruce, DA; Goodwin, JG. Synthesis of Biodiesel via Acid Catalysis. **Industrial & Engineering Chemical Research**, 44(14): 5353-5363, 2005.

Macleod, CS; Lee, AF; Wilson, K. Evaluation of the activity and stability of alkali-doped metal oxide catalysts for application to a intensified method of biodiesel production. **Chemical Engineering Journal**, 135: 63-70, 2008.

Marshall, AG; Hendrickson, CL; Jackson, GS. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: A primer. **Mass Spectrometry Reviews**, 17(1): 1-35, 1998.

Marshall, AG; Hendrickson, CL; Emmett, MR; Rodgers, RP; Blakney, GT; Nilsson, CL. Fourier transform ion cyclotron resonance: state of the art. **European Journal of Mass Spectrometry**, 13:57-65, 2007.

Maru, MM; Lucchese, MM; Legnani, C; Quirino, WG; Baldo, A; Aranha, IB; Costa, LT; Vilani, C; De Sena, LA; Damasceno, JC; Cruz, TS; Lidizio, LR; Silva, RF; Jorio, A; Achete, CA. Biodiesel compatibility with carbon steel and HDPE parts. **Fuel Processing Technology**, 90: 1175-1182, 2009.

Mccormick, RL; Westbrook, SR. Storage Stability of Biodiesel and Biodiesel Blends. **Energy Fuels**, 24: 690-698, 2010.

McEwen, C; Gutteridge, S. Analysis of the inhibition of the ergosterol pathway in fungi using the atmospheric solids analysis probe (ASAP) method. **Journal of The American Society for Mass Spectrom**, 18: 1274-1278, 2007.

Meher, LC; Sagar, DV; Naik, SN. Technical aspects of biodiesel production by transesterification-a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 10(3): 248-268, 2006.

Mittelbach, M; Gangl, S. Long Storage Stability of Biodiesel Made from Rapeseed and Used Frying Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 78(6): 573-577, 2001.

Moreira, RG; Castell-Perez, ME; Barrufet, M. et al. Deep-Fat-Frying Fundamentals and Applications, Aspen Publication, Inc. Gaithersburg, Maryland , 1999.

Moretto, E; Fett, R. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos. São Paulo: Varela Editora e Livraria Ltda, 1998.

Naz, S; Sheikh, H; Siddiqi, R; Sayeed, SA. Oxidative stability of Olive, Corn and Soybean oil under different conditions. **Food Chemistry**, 88(2):253-259, 2004.

Neff, WE, Byrdwell, WC. Characterization of model triacylglycerol (triolein, trilinolein and trilinolenin) autoxidation products via high-performance liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Journal Chromatography A**, 818:169-186, 1998.

Oliveira, JS; Montalvão, R; Dher, L; Suarez, PAZ; Rubim, JC. Determination fo metyl ester contents in biodiesel blends by FTIR-ATR and FTNIR spectroscopies. **Talanta**, 69 (5), 1278-1284, 2006.

Phan, NA; Phan, TM. Biodiesel production from waste cooking oils. **Fuel**, 87: 3490-3496, 2008.

Porcari, AM; Schwab, NV; Alberici, RM; Cabral, EC; Moraes, DR; Montanher, PF; Ferreira, CR; Eberlin, MN; Visentainer, JV. Intact triacylglycerol profiles of fats and meats via thermal imprinting easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. **Analytical Methods**, 4(11): 3551-3557, 2012.

Prankl, X; Schindlbauer, X. Oxidation stability of fatty acid methyl esters. In: European Conference on biomass for energy and industry, Würzburg, Germany, 1998. **Anais...** Würzburg: BLT, 1998. p. 1-5. 10th European Conference on Biomass for Energy and Industry 8-11 June 1998, Würzburg, Germany

Quintella, CM; Teixeira, LSG; Korn, MGA; Neto, PRC; Torres, EA; Castro MP; Jesus, CAC. Cadeia do biodiesel da bancada à indústria: uma visão geral com prospecção de tarefas e oportunidades para P&D&I. **Química Nova**, 32(3): 793-808, 2009.

Ramadhas, AS, Jayaraj, S; Muraleedharan, C. Biodiesel production from high FFA rubber seed oil. **Fuel**, 84: 335-340, 2005.

Ramalho, VC; Jorge, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, 29(4): 755-760, 2006.

Reda, S. Y; Costa, B; Sossela, R. II Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel: livro de resumos, Brasília, Brasil, 2007.

Riccio, MF; Saraiva, SA; Marques, LA; Alberici, R; Haddad, R; Moller, JC; Eberlin, MN; Catharino, RR. Easy mass spectrometry for metabolomics and quality control of vegetable and animal fats. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 112(4): 434-438, 2010.

Riccio, MF; Sawaya, ACHF; Abdelnur, PV; Saraiva, SA; Haddad, R; Eberlin, MN; Catharino, RR. Easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometric of olive oils: Quality control and certification of geographical origin. **Analytical Letters**, 44(8): 1489-1497, 2011.

Rodrigues, JAE; Cardoso, FP. Correlating Chemical Structure and Physical Properties of vegetables oil Esters. **Journal American Oil Chemists Society**, 83: 353-357, 2006.

Rodrigues Filho, MG. Cardanol e Eugenol Modificados - Uso como Antioxidantes no Controle Oxidativo do Biodiesel Etílico de Algodão. 121pp. 2010. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

Sampson, JS; Hawkrigde, AM; Muddiman, DC. Generation and detection of multiply-charged peptides and proteins by matrix assisted laser desorption electrospray ionization (MALDESI) Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry.

Journal of The American Society for Mass Spectrometry, 17(12): 1712-1716, 2006.

Santacesaria, E; Tesser, R; Di Serio, M; Guida, M; Gaetano, D; Agreda, AG; Cammarota, F. Comparison of different reactor configurations for the Reduction of free acidity in raw materials for biodiesel production. **Industrial engineering Chemistry Research**, 46(25): 8355-8362, 2007.

Sarin, A; Arora, R; Singh, NP; Sharma, M; Malhotra, RK. Influence of metal contaminants on oxidation stability of Jatropha biodiesel. **Energy**, 34: 1271-1275, 2009.

Sawaya, ACHF; Abdelnur, PV; Eberlin, MN; Kumazawa, S; Ahn, MR; Bang, KS; Nagaraja, N; Bankova, VS; Afrouzan, H. Fingerprinting of propolis by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. **Talanta**, 81(1-2): 100-108, 2010.

Schober, M; Raghavan, S; Nikolova, M; Polak, L; Pasolli, HÁ; Beggs, HE; Reichardt, LF; Fuchs, E. Focal adhesion kinase modulates tension signaling to control actin and focal adhesion dynamics. **The Journal of Cell Biology**, 176(5): 667-680, 2007.

Schuchardt, U; Sercheli, R; Vargas, RM. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal Brazilian Chemists Society**, 9(3): 199-210, 1998.

Shahidi, F; Ying, W; Zhong, Zaith, R. Citrus oils and essences. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition, John Wiley & Sons, Inc., 2005.

Sharma, YC; Singh, B; Upadhyay, SN. Advancements in development and characterization of biodiesel: A review. **Fuel**, 87 (12): 2355-2373, 2008.

Shen, J; Evans, C; Wade, N; Cooks, RG. Ion-Ion Collisions Leading to Formation of C-C Bonds at Surfaces: An Interfacial Kolbe Reaction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 121(41): 9762-9763, 1999.

Silva, SL; Castellanell, M; Souza, SNM. Desempenho de motor ciclo diesel em bancada dinamométrica utilizando misturas diesel/biodiesel. **Engenharia Agrícola, Jaboticabal**, 28(1):145-153, jan./mar, 2008.

Simas, RC; Catharino, RR; Cunha, IBS; Cabral, EC; Barrera-Arellano, D; Eberlin, MN; Alberici, RM. Characterization of vegetable oils via TAG and FFA profiles by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. **Analyst**, 135(4): 738-744, 2010.

Simas, RC; Catharino, RR; Eberlin, MN; Barrera-Arellano, D; Souza, V; Alberici, RM. Triacylglycerols oxidation in oils and fats monitored by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 89(7): 1193-1200, 2012.

Sjovall, O; Kuksis, A; Kallio H. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of tertbutyl hydroperoxide oxidation products of unsaturated triacylglycerols. **Journal Chromatography A**, 905:119-132, 2001.

Song, JH; Chang, CO; Terão, J; Park, DK. Electrochemical detection of triacylglycerol Hydroperoxydes by RP-HPLC. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 57: 476-480, 1993.

Takáts, Z; Wiseman, JM; Gologan, B; Cooks, RG. Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization. **Science**, 306(5695): 471-473, 2004.

Takáts, Z; Wiseman, JM; Cooks, RG. Ambient mass spectrometry using desorption electrospray ionization (DESI): instrumentation, mechanisms and applications in forensics, chemistry, and biology. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 40(4): 1261-1275, 2005.

TAO, Y. Operation of cummins N-14 diesel on biodiesel: performance, emissions, and durability. Nashville: National Biodiesel Board, Ortech Corporation, 1995. Relatório Técnico, 46pg.

Tian, K; Dasgupta, PK. Determination of oxidative stability of oils and fats. **Analytical Chemistry**, 71(9): 1692-1698, 1999.

Trevisani, L; Fabbri, M; Negrini, F; Ribani, PL. Advanced energy recovery systems from liquid hydrogen. **Energy Conversion and Management**, 48(1): 146-154, 2007.

Vargas, RM; Schuchardt, U; Sercheli, R. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal Brazilian Chemists Society**, 9(3): 199-210, 1998.

Vasconcelos, AFF; Dantas, MB; Lima, AEA; Silva, FC; Conceição, MM; Santos, IMG; Sousa, AG. Compatibilidade de Misturas de Biodiesel de Diferentes Oleaginosas. **Revista Biodiesel**, nº 11, 2006.

Weston, DJ. Ambient ionization mass spectrometry: current understanding of mechanistic theory; analytical performance and applications areas. **Analyst**, 135(4): 661-668, 2010.

Williams, JP; Patel, VJ; Holland, R; Scrivens, JH. The use of recently described ionisation techniques for the rapid analysis of some common drugs and samples of biological origin. **Rapid Commun Mass Spectrom**, 20(9): 1447-1456, 2006.

Wu, Z; Rodgers, RP; Marshall, AG. Characterization of vegetable oils: Detailed compositional fingerprints derived from electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, 52: 5322–5328, 2004.

Xin, J; Imahar, H; Saka, S. Oxidation stability of biodiesel fuel as prepared with supercritical methanol. **Fuel** 87(10-11): 1807-1813, 2008.

Yamashita, M; Fenn, JB. Electrospray ion source, another variation on the free-jet theme. **The Journal of Physical Chemistry**, 88(20): 4451-4459, 1984.