

## DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA DE ANÁLISE DE MISTURAS BIODIESEL:DIESEL UTILIZANDO CROMATOGRAFIA GASOSA-ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Rita C. M. Faria, Michelle J. C. Rezende\*, Cláudia M. Rezende e Angelo C. Pinto

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia, Bloco A, Ilha do Fundão, 21949-900 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

Recebido em 13/11/06; aceito em 21/6/07; publicado na web em 9/11/07

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A METHODOLOGY FOR ANALYSIS OF BIODIESEL: DIESEL BLENDS USING GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY. The aim of this work was to develop and validate a method of analysis of biodiesel:diesel blends using HRGC-MS in SIM mode. The proposed method is applicable to biodiesel from linoleic oils, such as soybean oil. The following results were obtained: linearity over the methyl linoleate concentration range of 250-2500 mg L<sup>-1</sup> (R<sup>2</sup> > 0.999); limits of detection and quantification of 2 and 5 mg L<sup>-1</sup>, respectively; recovery from 82 to 96% of biodiesel in diesel and repeatability < 2% (RSD). Comparison between two operators showed that it is not necessary the same operator to do the analysis.

Keywords: biodiesel; diesel; HRGC-MS-SIM.

### INTRODUÇÃO

A maior parte de toda energia consumida no mundo provém do petróleo, carvão e gás natural. Essas fontes são limitadas e com previsão de esgotamento no futuro. A busca por fontes alternativas de energia torna-se, assim, de suma importância.

A utilização de biodiesel como combustível vem apresentando potencial promissor no mundo inteiro. Em primeiro lugar, pela sua enorme contribuição ao meio ambiente, com a redução qualitativa e quantitativa dos níveis de poluição ambiental. Em segundo lugar, como fonte estratégica de energia renovável em substituição ao óleo diesel. No cenário brasileiro, o seu uso pode também reduzir a dependência de importação deste combustível.

O óleo diesel é o principal produto do fracionamento do petróleo no Brasil. Esse combustível é constituído por hidrocarbonetos parafínicos, olefínicos e aromáticos com cadeia carbônica de 6 a 30 átomos. Alguns compostos apresentam também enxofre, oxigênio e nitrogênio. Já o biodiesel é constituído por ésteres alquílicos obtidos, principalmente, a partir da transesterificação de óleos vegetais ou gordura animal. A reação é conduzida na presença de metanol ou etanol e de um catalisador adequado. Este biocombustível também pode ser produzido a partir da esterificação direta de ácidos graxos livres. Entretanto, este processo é raramente utilizado uma vez que as fontes de triglicérides são mais disponíveis do que de ácidos graxos<sup>1</sup>. O biodiesel possui algumas vantagens sobre o diesel, tais como alto número de cetano; alto ponto de fulgor; menor emissão de material particulado, monóxido de carbono e dióxido de carbono; biodegradabilidade; além de ser isento de enxofre e de compostos aromáticos<sup>2,3</sup>.

Em 2004, foi lançado no Brasil o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel. A lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira. A lei determina a adição mínima obrigatória de 5% de biodiesel ao óleo diesel a partir de janeiro de 2013, e estabelece a utilização de um percentual mínimo obrigatório intermediário de 2% a partir de janeiro de 2008. A Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), órgão regulador, aponta para a necessidade de se avaliar a qualidade desta mistura a partir da realização de análises laboratoriais e emissão de Boletim de Conformidade. O desenvolvimento de metodologias para análise de misturas biodiesel:diesel passa a ser um recurso estratégico no controle de qualidade do combustível a ser disponibilizado nos postos de abastecimento.

Dentre as ferramentas analíticas disponíveis para identificação e quantificação de compostos em misturas, pode-se destacar a Cromatografia Gasosa de Alta Resolução acoplada à Espectrometria de Massas (CGAR-EM), a Espectroscopia na Região do Infra-Vermelho (IV) e do Ultra-Violeta (UV) e a Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Em agosto de 2006 foi realizada uma consulta à base de dados “Sci Finder” a fim de verificar a existência de trabalhos voltados para a aplicação destas técnicas na análise de misturas biodiesel:diesel. O acesso forneceu aproximadamente 1830 referências utilizando *biodiesel* como tópico de pesquisa. Em seguida, a ferramenta de refino foi aplicada neste conjunto de referências utilizando, separadamente, “chromatography”, “infrared”, “nmr” e “ultra violet” como palavras-chave. O resultado da pesquisa selecionou 69, 26, 18 e 15 referências para cada palavra-chave, respectivamente. A partir da leitura cuidadosa deste conjunto de referências pôde-se constatar que somente 4 publicações tinham como objetivo analisar misturas biodiesel-diesel. Um artigo utilizou a cromatografia líquida com detector UV<sup>4</sup>, dois trabalhos empregaram a técnica de IV<sup>5,6</sup> e o último comparou a técnica de IV com RMN<sup>7</sup>. Com relação às demais publicações, nenhuma teve como objetivo central a análise de biodiesel em diesel, a grande maioria utilizava estas técnicas para o acompanhamento da produção de biodiesel.

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento e a validação de uma metodologia de análise de misturas biodiesel:diesel empregando CGAR-EM no modo de análise por monitoramento seletivo de íons (MSI). Além do controle de qualidade do combustível, esta metodologia pode ser empregada no estudo de estabilidade da mistura e das condições adequadas de estocagem.

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento e a validação de uma metodologia de análise de misturas biodiesel:diesel empregando CGAR-EM no modo de análise por monitoramento seletivo de íons (MSI). Além do controle de qualidade do combustível, esta metodologia pode ser empregada no estudo de estabilidade da mistura e das condições adequadas de estocagem.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Materiais e reagentes

Linoleato de metila e 1-pentadecanol foram provenientes da Aldrich (> 99%, EUA). Cloreto de propanoíla e sílica (70-230 mesh)

\*e-mail: michelle@iq.ufrj.br

foram adquiridos da Merck (EUA). Carbonato de potássio, sulfato de sódio e os solventes (hexano, acetato de etila, diclorometano e metanol) foram adquiridos da Vetec (Brasil). O diesel foi comprado em posto de abastecimento de combustível e o óleo de soja foi comprado em estabelecimento comercial.

### Síntese e purificação do padrão interno

O propanoato de *n*-pentadecanoíla foi o composto selecionado para uso como padrão interno (PI) na quantificação das misturas biodiesel:diesel por CGAR-EM-MSI. A síntese do éster foi realizada a partir da esterificação de cloreto de propanoíla com 1-pentadecanol em diclorometano. A mistura foi mantida em agitação constante a temperatura ambiente por 90 min. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o produto foi purificado em coluna de sílica usando hexano como eluente. A pureza do padrão interno (> 99%) foi determinada por cromatografia gasosa de alta resolução com detector de ionização por chama (CGAR-DIC).

### Preparo da curva de calibração

Foram construídas duas curvas de calibração para o linoleato de metila, sendo cada uma realizada por um analista diferente (Analista A e Analista B). Cada curva foi constituída por seis pontos e cada ponto foi realizado em triplicata. As amostras padrão foram preparadas a partir de um volume conhecido (25, 50, 75, 100, 150 e 250 µL) da solução estoque de linoleato de metila 5000 mg L<sup>-1</sup>, 50 µL de diesel e 100 µL da solução estoque de padrão interno 2000 mg L<sup>-1</sup>. O volume final foi completado até 500 µL com acetato de etila. As amostras padrão apresentaram concentração de 250, 500, 750, 1000, 1500 e 2500 mg L<sup>-1</sup> de linoleato de metila, respectivamente, e 400 mg L<sup>-1</sup> do padrão interno.

### Instrumentação e condições cromatográficas

As análises por CGAR-EM foram realizadas em cromatógrafo Agilent modelo 6890 acoplado a um detetor de espectrometria de massas Agilent modelo 5973 com ionização por impacto de elétrons a 70 eV e analisador do tipo quadrupolo. A coluna capilar utilizada foi DB-1 HT (J&W) 15 m x 0,25 mm x 0,10 µm de espessura de fase. O gás de arraste utilizado foi hélio (1,7 mL min<sup>-1</sup>) e a pressão na cabeça da coluna foi de 8 psi. O volume de injeção da amostra foi 1,0 µL com divisão de fluxo de 1:20. A temperatura inicial do forno foi de 80 °C seguida por três rampas de aquecimento: a primeira taxa de aquecimento foi de 10 °C min<sup>-1</sup> até 150 °C; a segunda, de 5 °C min<sup>-1</sup> até 200 °C e a última, de 15 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C permanecendo nesta temperatura por 5 min. O tempo total de corrida foi 28,70 min. O injetor foi operado a 290 °C e a interface a 300 °C. As medidas quantitativas foram realizadas no modo MSI. Os íons monitorados e os tempos de retenção dos compostos estão apresentados na Tabela 1. O modo SCAN, na faixa de massa de 40 a 500 Daltons, foi utilizado para confirmação dos espectros de massas.

**Tabela 1.** Tempos de retenção ( $t_R$ ) e íons selecionados

Compostos	$t_R$ (min)	Íons característicos ( $m/z$ )
Propanoato de <i>n</i> -pentadecanoíla	10,30	182 / 210 / <b>255</b>
Linoleato de metila	11,49	220 / 262 / <b>263</b>

Íons para análise quantitativa em negrito.

### Avaliação de interferentes

Para verificar possíveis interferentes no método proposto, a matriz diesel foi diluída em acetato de etila na razão 1:10 e, em seguida, analisada por CGAR-EM no modo MSI. Foram monitorados os íons de  $m/z$  182, 210 e 255, referentes ao propanoato de *n*-pentadecanoíla, e de  $m/z$  220, 262 e 263, referentes ao linoleato de metila.

### Preparo das misturas biodiesel:diesel para o estudo de recuperação

O biodiesel foi preparado a partir da reação de transesterificação do óleo de soja com metanol na razão molar óleo:álcool 1:9 e utilizando 0,5% (m/m) de carbonato de potássio como catalisador. A mistura foi mantida sob refluxo e agitação constante por 3 h. Os ésteres metílicos foram isolados após neutralização do meio reacional com ácido clorídrico diluído, seguida de extração com acetato de etila e lavagens com água destilada. A fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio anidro, filtrada e, em seguida, evaporada. A conversão em ésteres metílicos (99%) foi calculada a partir dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de <sup>1</sup>H)<sup>8</sup>.

Para o estudo de recuperação, foram analisadas três concentrações diferentes de biodiesel em diesel (B0,7, B1,9 e B4,3). Foram selecionadas concentrações próximas aos limites inferior e superior da faixa de estudo estabelecida e uma concentração próxima ao percentual mínimo obrigatório intermediário de biodiesel em diesel (B2). Para cada concentração foram preparadas três misturas de biodiesel:diesel. Cada amostra analisada foi composta por 50 µL da mistura correspondente, 100 µL da solução estoque de padrão interno 2000 mg L<sup>-1</sup> e 350 µL de acetato de etila. Foram preparadas 9 amostras e, cada uma, foi analisada em triplicata. Vale ressaltar que as concentrações selecionadas para o estudo da recuperação foram diferentes das concentrações estabelecidas para construção das curvas de calibração.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Desenvolvimento do método cromatográfico

Em virtude da complexidade da matriz diesel, o método foi desenvolvido no modo de análise por monitoramento seletivo de íons. Esta técnica é frequentemente aplicada para misturas de compostos onde é requerida uma análise quantitativa mais sensível e específica<sup>9</sup>.

O éster linoleato de metila (LIN) foi selecionado para o monitoramento e quantificação do biodiesel presente nas misturas biodiesel:diesel. O ácido linoleico está presente majoritariamente em diversos óleos vegetais, dentre eles, óleo de soja (53-55%), óleo de milho (57-60%), óleo de algodão (55-57%) e óleo de girassol (68-73%)<sup>10-12</sup>. Esta foi a principal motivação para a escolha deste éster no desenvolvimento deste primeiro estudo.

A quantificação foi realizada pelo método de padronização interna, empregando propanoato de *n*-pentadecanoíla como padrão interno. Este composto é diferente de qualquer éster graxo oriundo de óleo vegetal<sup>13</sup>. Adicionalmente, possui boa estabilidade e tempo de retenção distinto do analito, ou seja, do linoleato de metila. A partir dos espectros de massas do linoleato de metila e do propanoato de *n*-pentadecanoíla, apresentados na Figura 1, foram selecionados três íons característicos de cada éster para caracterização. Após esta seleção, os picos correspondentes ao padrão interno e ao linoleato de metila foram confirmados pela injeção em diesel, em diferentes concentrações. A Tabela 1 apresenta os tempos de retenção,

de acordo com a programação de temperatura adotada, e os fragmentos característicos selecionados para as análises qualitativas e quantitativas.

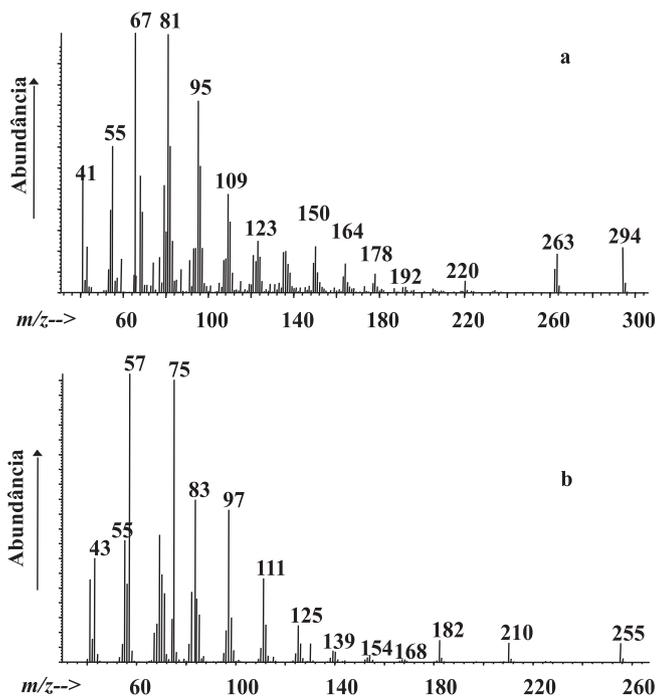


Figura 1. Espectros de massas: a) linoleato de metila e b) propanoato de *n*-pentadecanoila (padrão interno)

### Validação do método proposto

A validação do método foi realizada a partir da análise dos seguintes critérios de desempenho: análise de interferentes, linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão. Os testes estatísticos utilizados incluíram a análise de resíduo, os testes de Grubbs, de Cochran e o teste F de Snedecor. A exatidão foi avaliada por ensaios de recuperação e a precisão foi avaliada por estudo de repetitividade e precisão intermediária a partir da comparação entre a inclinação das retas obtidas por dois analistas. Este estudo foi realizado baseando-se nas orientações sobre validação descritas por Ribani *et al*<sup>14</sup> e Fernandes<sup>15</sup>. A seguir serão apresentados os resultados de cada critério de desempenho.

Tabela 2. Resultado do teste de Cochran para o analista A

	LIN 250	LIN 500	LIN 750	LIN 1000	LIN 1500	LIN 2500
Áreas	0,8803	1,6919	2,4540	3,1487	4,7224	7,6055
	0,9009	1,6428	2,4583	3,1670	4,6748	7,6844
	0,8914	1,6702	2,4627	3,1648	4,6856	7,6264
$\langle x_1 \rangle$	0,8909	1,6683	2,4583	3,1602	4,6943	7,6388
S	1,0310E-02	2,4605E-02	4,3501E-03	9,9912E-03	2,4955E-02	4,0878E-02
S <sup>2</sup>	1,0630E-04	6,0541E-04	1,8923E-05	9,9823E-05	6,2277E-04	1,6710E-03
DPR	1,1573	1,4749	0,1770	0,3162	0,5316	0,5351
$\Sigma S^2$	0,0031; C <sub>cal</sub>	0,1993; C <sub>tab</sub>	0,6160			

$\langle x_1 \rangle$ : valor médio; S: desvio padrão; S<sup>2</sup> variância;  $\Sigma S^2$ : somatório das variâncias; DPR: desvio padrão relativo; C<sub>cal</sub> e C<sub>tab</sub>: valor calculado e tabelado, respectivamente, de Cochran (95% de confiança).

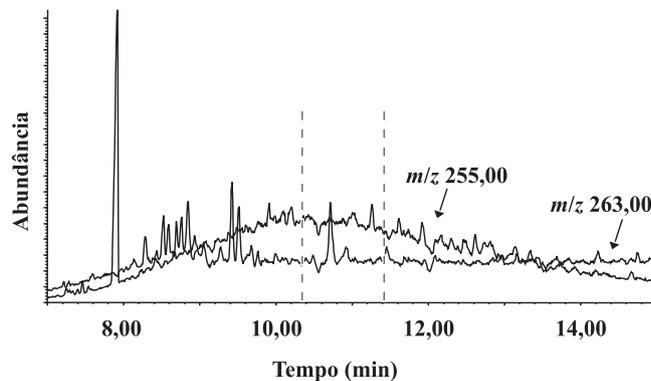


Figura 2. Cromatograma CGAR-EM-MSI *m/z* 255 e 263 do diesel

### Avaliação de interferentes

Para avaliar a presença de interferentes, o diesel puro foi analisado por CGAR-EM-MSI. O objetivo desta caracterização foi detectar, na matriz, compostos que pudessem apresentar os íons selecionados para quantificar o linoleato de metila e o padrão interno. A Figura 2 apresenta o cromatograma dos íons *m/z* 255 e 263 do diesel analisado.

O cromatograma mostra que o diesel não possui interferentes nos tempos de retenção (linhas tracejadas) do propanoato de *n*-pentadecanoila e do linoleato de metila. Desta forma, pôde-se assegurar que os registros dos íons de *m/z* 255 e 263 nos cromatogramas das misturas biodiesel:diesel não pertencem ao diesel, mas sim aos ésteres em questão.

### Determinação da faixa de trabalho

A seleção da faixa de trabalho foi realizada com base na proposta do governo brasileiro de implementação da mistura B2 (2% de biodiesel em diesel) como percentual mínimo obrigatório intermediário. A faixa de trabalho selecionada foi de 250 a 2500 mg L<sup>-1</sup> de linoleato de metila. Nesta faixa, o método permite a quantificação de 0,5 a 5% de biodiesel.

### Avaliação da linearidade

As curvas de calibração dos analistas A e B foram construídas a partir de 6 pontos em triplicata, nas concentrações de 250 a 2500 mg L<sup>-1</sup> de linoleato de metila e 400 mg L<sup>-1</sup> do padrão interno em diesel. A Figura 3 mostra os cromatogramas dos íons *m/z* 255 e 263 da mistura biodiesel:diesel em três concentrações.

Uma seqüência de ajustes e testes estatísticos foi aplicada aos

**Tabela 3.** Resultado do teste de Cochran para o analista B

	LIN 250	LIN 500	LIN 750	LIN 1000	LIN 1500	LIN 2500
Áreas	0,8977	1,6943	2,4792	3,2939	4,7466	7,7554
	0,8888	1,7048	2,5185	3,2438	4,7722	7,7483
	0,8715	1,7384	2,5044	3,2276	4,7645	7,7332
$\langle x_i \rangle$	0,8860	1,7125	2,5007	3,2551	4,7611	7,7456
S	1,3323E-02	2,3036E-02	1,9910E-02	3,4564E-02	1,3134E-02	1,1338E-02
S <sup>2</sup>	1,7749E-04	5,3067E-04	3,9639E-04	1,1947E-03	1,7251E-04	1,2854E-04
DPR	1,5037	1,3452	0,7962	1,0619	0,2759	0,1464
$\Sigma S^2$	0,0026; C <sub>cal</sub> 0,4595; C <sub>tab</sub> 0,6160					

$\langle x_i \rangle$ : valor médio; S: desvio padrão; S<sup>2</sup> variância;  $\Sigma S^2$ : somatório das variâncias; DPR: desvio padrão relativo; C<sub>cal</sub> e C<sub>tab</sub>: valor calculado e tabelado, respectivamente, de Cochran (95% de confiança).

dados experimentais obtidos. Os dados foram ajustados ao modelo de regressão linear ( $y = a + bx$ ), sendo submetidos ao teste de Grubbs, que se destina a verificar valores aberrantes. De acordo com o teste, nenhum valor foi descartado com 95% de confiança. Em seguida, as curvas de calibração foram submetidas ao teste de Cochran para avaliar o desvio bilateral das variâncias a um nível de

significância de 5%. Este teste destina-se a avaliar a homogeneidade das variâncias, o que permite utilizar a curva de calibração obtida com um limite de confiança aceitável. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 2 e 3 para as curvas obtidas pelos analistas A e B, respectivamente.

Os valores de Cochran calculados foram inferiores ao valor de Cochran tabelado, mostrando variâncias homogêneas conforme o aumento da concentração. Este resultado indica que ao longo da faixa de concentração estudada o modelo tem um comportamento homocedástico. Como o teste mostrou que as variâncias são estatisticamente equivalentes, as curvas de calibração foram determinadas através de regressão linear. A Tabela 4 apresenta as equações das retas e os valores de R<sup>2</sup> obtidos para cada analista.

**Tabela 4.** Parâmetros das curvas de calibração dos analistas A e B

Analista	Equação	R <sup>2</sup>
A	$Y = 1,2484X + 0,1753$	0,9998
B	$Y = 1,2653X + 0,1896$	0,9997

Y = área LIN/área PI; X = concentração LIN/concentração PI.

Para verificar a eficiência do modelo de regressão linear proposto foram analisados os gráficos de resíduo das duas curvas de calibração. O resíduo foi calculado através da diferença entre o valor observado e o valor calculado pela equação da reta de regressão para cada valor de concentração de linoleato de metila. Esta análise corroborou a conclusão do teste de Cochran, que indicou o método como homocedástico na faixa de concentração estudada.

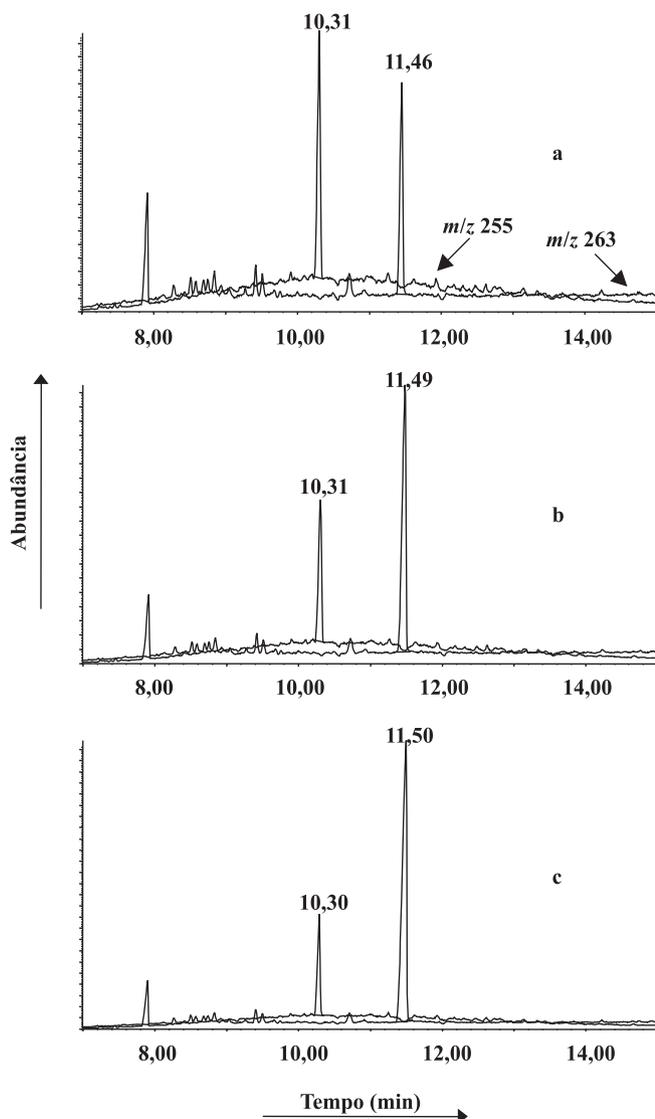
#### Determinação dos limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados pelo método da relação sinal-ruído. A relação sinal-ruído utilizada para o cálculo do LD e do LQ foi 3:1 e 10:1, respectivamente. Os limites de detecção e quantificação fornecidos pela análise foram de 2 e 5 mg L<sup>-1</sup> de linoleato de metila, respectivamente. Considerando que o diesel foi diluído em uma razão 1:10 para minimizar o efeito da matriz, o limite de quantificação do método corresponde a uma concentração de linoleato de metila de 50 mg L<sup>-1</sup> na mistura biodiesel:diesel.

A quantificação do biodiesel presente no diesel, entretanto, é realizada em função do óleo vegetal empregado para sua produção, ou seja, com base na concentração de linoleato de metila presente na matéria-prima.

#### Avaliação da exatidão por estudo de recuperação

A recuperação do método foi avaliada a partir de amostras preparadas com biodiesel de óleo de soja misturado ao óleo diesel nas



**Figura 3.** Cromatograma de íons totais CGAR-EM-MSI m/z 255 e 263 em três concentrações de LIN em diesel: a) 250 mg L<sup>-1</sup>; b) 750 mg L<sup>-1</sup>; c) 1500 mg L<sup>-1</sup>; PI a 400 mg L<sup>-1</sup>

concentrações 0,7; 1,9 e 4,3%. Para cada concentração foram preparadas três amostras e estas foram analisadas em triplicata.

O biodiesel foi preparado a partir da transesterificação de óleo de soja usando excesso de metanol e carbonato de potássio como catalisador<sup>16</sup>. A conversão de 99% de triglicerídeos em ésteres metílicos foi determinada por RMN de <sup>1</sup>H. A análise do biodiesel por CGAR-DIC mostrou a presença de 57,2% de linoleato de metila no biocombustível.

A partir do método desenvolvido foi determinada a concentração de linoleato de metila presente em cada amostra. Considerando que o éster compreende 57,2% do biodiesel utilizado no preparo das amostras, foi calculada a quantidade do biocombustível presente nas mesmas. A Tabela 5 apresenta os resultados do estudo de recuperação.

**Tabela 5.** Resultados da análise de exatidão por recuperação

Mistura	A <sub>1</sub>	<A <sub>1</sub> >	B <sub>teor</sub>	B <sub>exp</sub>	Rend. (%)	Erro (%)
B0,7	1,3308 1,3485 1,3757	1,3517	0,75	0,72	96,0	4,0
B0,7	1,3086 1,3080 1,2996	1,3054	0,73	0,69	94,5	5,5
B0,7	1,3574 1,3678 1,3536	1,3596	0,76	0,72	94,7	5,3
B1,9	3,2317 3,3140 3,3305	3,2921	1,87	1,78	95,2	4,8
B1,9	3,2703 3,3151 3,3268	3,3041	1,92	1,79	93,2	6,8
B1,9	3,2104 3,2447 3,3263	3,2605	1,92	1,76	91,7	8,3
B4,3	6,4691 6,5590 6,5496	6,5259	4,27	3,55	83,1	16,9
B4,3	6,4461 6,4412 6,4693	6,4522	4,28	3,51	82,0	18,0
B4,3	6,5332 6,4621 6,5001	6,4985	4,29	3,54	82,5	17,5

\* A<sub>1</sub>: área LIN/área PI; <A<sub>1</sub>>: média das áreas LIN/área PI; B<sub>teor</sub>: concentração de biodiesel teórica da mistura; B<sub>exp</sub>: concentração de biodiesel experimental da mistura; Rend.: rendimento.

O erro relativo encontrado variou de 4 a 18% ficando abaixo de 20% para todas as concentrações analisadas. A recuperação variou de 82 a 96%. Para a amostra de 1,9% em particular, o erro relativo foi inferior a 10%. Assim, pode-se concluir que o método de quantificação proposto apresentou uma recuperação adequada na concentração próxima à concentração de biodiesel em diesel determinada pelo governo (2%).

#### Avaliação da precisão por estudo de repetitividade e precisão intermediária

A precisão foi avaliada em função da repetitividade e precisão intermediária. Para avaliar a precisão do método proposto, dois analistas (A e B), em dias diferentes, realizaram, no mesmo aparelho, o procedimento para construção de duas curvas de calibração na mesma faixa de concentração.

A repetitividade foi avaliada a partir da estimativa do desvio padrão relativo (DPR) para cada analista. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 2 e 3, já citadas anteriormente. Verificou-se uma boa repetitividade, considerando os dados de cada analista isoladamente. Pode-se observar que o desvio padrão relativo obtido pelo analista A foi inferior a 2%, em toda faixa de trabalho. O mesmo comportamento foi observado para o analista B, onde o desvio também foi inferior a 2%.

Para verificar a precisão intermediária do método, foi feito um estudo comparativo das inclinações das retas obtidas pelos analistas A e B. Para esta avaliação foi realizado o Teste de hipóteses (F de Snedecor), que avalia o desvio bilateral das variâncias a um nível de significância de 5%. O objetivo deste estudo foi verificar se o método fornece os mesmos resultados para analistas diferentes (Tabela 6). O resultado mostrou que as retas dos analistas A e B possuem inclinações iguais, não sendo necessária a construção de uma curva de calibração diária e nem de um mesmo analista para a realização das análises.

**Tabela 6.** Resultado do estudo comparativo entre as inclinações das retas obtidas pelos analistas A e B

Analista	N	Euações	R	Se <sup>2</sup>
A	6	Y = 1,2484X + 0,1753	0,9998	0,004439
B	6	Y = 1,2653X + 0,1896	0,9997	0,006856

F<sub>cal</sub> = 1,544    F<sub>tab</sub> = 5,820  
t<sub>cal</sub> = -0,71    t<sub>tab</sub> = 2,31

\* N: número de pontos da reta; R: coeficiente de correlação linear da reta; Se<sup>2</sup>: variância da reta; F: valor de Snedecor; t: valor de t-Student a um nível de significância de 5%.

## CONCLUSÃO

Uma metodologia para a quantificação de misturas biodiesel:diesel por CGAR-EM-MSI foi desenvolvida e validada. A metodologia desenvolvida é aplicada para biodiesel oriundo de óleos ricos em ácido linoleico. Como perspectiva, a metodologia será ampliada para biodiesel produzido a partir de outros óleos vegetais de interesse nacional.

Os critérios de desempenho avaliados foram linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão. A faixa de concentração estudada foi de 250 a 2500 mg L<sup>-1</sup> de linoleato de metila. O método mostrou-se adequado uma vez que o teor de biodiesel nas misturas biodiesel:diesel a serem analisadas mantém-se acima do limite de quantificação encontrado. Além disto, o método de quantificação proposto apresentou uma boa recuperação, visto que para uma mistura de biodiesel:diesel de 1,9%, o erro relativo foi inferior a 10%. No estudo de repetitividade, o desvio padrão relativo manteve-se inferior a 2% em toda a faixa de trabalho para os analistas A e B, indicando uma boa sensibilidade e precisão dos resultados. Adicionalmente, a comparação entre a inclinação das retas obtidas pelos dois analistas mostrou que não é necessária a construção de uma curva de calibração diária e nem de um mesmo analista para a realização das análises.

## AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Formação de Recursos Humanos da ANP; ao Laboratório de RMN do Instituto de Química da UFRJ; à D. R. Fernandes pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

1. Pinto, A. C.; Guarieiro, L. L. N.; Rezende, M. J. C.; Ribeiro, N. M.; Torres, E. A.; Lopes, W. A.; Pereira, P. A. P.; de Andrade, J. B.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1313.
2. Haas, M. J.; Scott, K. M.; Alleman, T. L.; McCormick, R. L.; *Energy Fuels* **2001**, *15*, 1207.
3. Krawczyk, T.; *Inform.* **1996**, *7*, 801.
4. Foglia, T. A.; Jones, K. C.; Phillips, J. G.; *Chromatographia* **2005**, *62*, 115.
5. Pimentel, M. F.; Ribeiro, G. M. G. S.; Cruz, R. S.; Stragevitch, L.; Pacheco Filho, J. G. A.; Teixeira, L. S. G.; *Microchem. J.* **2006**, *82*, 201.
6. Oliveira, J. S.; Montalvão, R.; Daher, L.; Suarez, P. A. Z.; Rubim, J. C.; *Talanta* **2006**, *69*, 1278.
7. Knothe, G.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2001**, *78*, 1025.
8. Gelbard, G.; Brés, O.; Vargas, R. M.; Vielfaure, F.; Schuchardt, U. F.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1995**, *72*, 1239.
9. Barker, J.; *Mass Spectrometry*, 2<sup>nd</sup> ed., ACOL Serie John Wiley & Sons: Chichester, 1999.
10. Goering, C. E.; Schwab, A. W.; Daugherty, M. J.; Pryde, E. H.; Heakin, A. J.; *Trans. ASAE* **1982**, *25*, 1472.
11. Kincs, F. R.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1985**, *62*, 815.
12. Babayan, V. K.; *Lipids* **1987**, *22*, 417.
13. Rezende, M. J. C.; Perruso, C. R.; Azevedo, D. A.; Pinto, A. C.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1063*, 211.
14. Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C.; *Quim. Nova.* **2004**, *27*, 771.
15. Fernandes, D. R.; *Tese de Mestrado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 2004.
16. Schuchardt, U.; Sercheli, R.; Vargas, R. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1998**, *9*, 199.