

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

BRUNA DINARTE DOS SANTOS

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA  
DETERMINAÇÃO DE CLORETOS EM BIODIESEL POR TITULAÇÃO  
POTENCIOMÉTRICA**

Porto Alegre, 2015.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

BRUNA DINARTE DOS SANTOS

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA  
DETERMINAÇÃO DE CLORETOS EM BIODIESEL POR TITULAÇÃO  
POTENCIOMÉTRICA**

Monografia apresentada junto à atividade de ensino “Projeto tecnológico” do Curso de Química Industrial, como requisito parcial para a obtenção do grau de Químico Industrial.

Prof. Dr. Diogo Pompéu de Moraes  
Orientador

Porto Alegre, 2015.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Diogo Pompéu de Moraes pela oportunidade de desenvolver este trabalho em seu grupo de pesquisa, bem como por toda a orientação, paciência e conhecimento durante este período.

Aos meus pais, por priorizarem a educação de seus filhos com todo o amor e dedicação possível. Obrigada nunca será suficiente.

À minha irmã e sua linda família, que torceram por mim mesmo de longe, e que entenderam a minha ausência em diversas ocasiões.

Ao Evandro, por ter tornado esta jornada mais feliz e mais completa. Obrigada por todo o carinho, incentivo e paciência.

Às minhas amigas, Pâmela e Rafaela, pela alegria, apoio e principalmente pelo companheirismo de todas as horas.

À Braskem S.A pela experiência enriquecedora em um ambiente de trabalho fantástico.

## RESUMO

Pioneiro no uso de biocombustíveis, o Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo. Para a comercialização de um produto de qualidade, uma série de especificações físico-químicas, estabelecidas pela ANP e contidas no Regulamento Técnico nº 3/2014, devem ser atendidas, como por exemplo, a concentração de íons como enxofre, sódio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo. No entanto, a concentração de cloretos no biodiesel ainda não é considerada um parâmetro de qualidade na sua especificação. Sua determinação é de grande importância, visto que este ânion pode estar presente tanto na matéria-prima quanto ser inserido por meio da etapa de lavagem durante o processo de produção do biocombustível. Com isso, podem ocorrer problemas como a corrosão do tanque de combustível e do sistema de injeção de veículos. Neste contexto, foi proposta uma metodologia analítica para a determinação de íons cloreto em amostras de biodiesel por meio da titulação potenciométrica, posteriormente à uma etapa de extração líquido-líquido assistida por ultrassom. Esta metodologia foi avaliada por meio de parâmetros de validação como repetibilidade, precisão intermediária e exatidão, bem como investigou-se a menor quantidade de analito detectável pelo método. Por fim, comparou-se com os resultados obtidos por titulometria de precipitação clássica (método de Mohr) e avaliou-se os efeitos da adição de ácido nítrico anteriormente à etapa de determinação do analito. Os ensaios de validação apresentaram resultados satisfatórios, com coeficientes de variação adequados, recuperações quantitativas e similares aos dos encontrados no método de Mohr. Os resultados obtidos nos testes de adição de  $\text{HNO}_3$  indicaram uma diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre as médias dos percentuais de recuperação do método modificado (com adição de ácido) e do método não modificado, em um nível de confiança de 95%.

**Palavras-chave:** Biodiesel. Cloretos. Titulação potenciométrica.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Reação de transesterificação de um triglicerídeo.....	12
FIGURA 2 - Fluxograma do processo de produção do biodiesel.....	12
FIGURA 3 - Reação que ocorre com os sabões presentes no biodiesel, após uma lavagem ácida.....	15
FIGURA 4 - Exemplo de uma curva de titulação potenciométrica.....	20
FIGURA 5 - Exemplo de um gráfico de primeira derivada de uma curva de titulação potenciométrica. ....	20
FIGURA 6 - Exemplo de um gráfico de segunda derivada de uma curva de titulação potenciométrica. ....	21
FIGURA 7 - Exemplo de gráfico utilizado para determinação do ponto final pelo método da semelhança de triângulos.....	22
FIGURA 8 - Exemplo de um eletrodo de calomelano saturado comercial. ....	24
FIGURA 9 - Reação que ocorre no método de Mohr entre o haleto e o titulante.....	25
FIGURA 10 - Reação que ocorre no método de Mohr entre o indicador e um excesso de íons prata. ....	25
FIGURA 11 – Foto do sistema utilizado para a determinação de cloretos em biodiesel por titulação potenciométrica.....	35
FIGURA 12 - Gráfico que relaciona o potencial da f.e.m em função do volume gasto de titulante na avaliação da repetibilidade. ....	39
FIGURA 13 - Gráfico da primeira derivada da curva de titulação obtida na avaliação da repetibilidade do método. ....	40
FIGURA 14 - Gráfico da segunda derivada da curva de titulação obtida na avaliação da repetibilidade do método. ....	40
FIGURA 15 - Início da titulação de Mohr. ....	45
FIGURA 16 - Titulação próxima do ponto final (método de Mohr).....	45
FIGURA 17 - Gráfico que relaciona o potencial da f.e.m em função do volume gasto de titulante na avaliação da quantidade mínima detectável. ....	46
FIGURA 18 - Gráfico da primeira derivada da curva de titulação do ensaio de quantidade mínima detectável.....	47
FIGURA 19 - Gráfico da segunda derivada da curva de titulação do ensaio de quantidade mínima detectável.....	47

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Especificações físico-químicas do biodisel para comercialização. ....	16
TABELA 2 - Exemplo de dados de uma titulação potenciométrica baseado em uma reação de neutralização. ....	22
TABELA 3 - Resultados obtidos na avaliação da repetibilidade do método. ....	39
TABELA 4 - Resultados obtidos na avaliação da precisão intermediária do método. ....	41
TABELA 5 - Resultados obtidos na avaliação da recuperação do método. ....	42
TABELA 6 - Resultados obtidos na avaliação da adição de HNO <sub>3</sub> . ....	43
TABELA 7 - Resultados das recuperações obtidas nas análises realizadas via método de Mohr. ....	44
TABELA 8 - Recuperações obtidas na avaliação da quantidade mínima de NaCl adicionada. ....	46
TABELA 9 - Relação de materiais necessários para implementação da metodologia proposta em um laboratório de controle de qualidade. ....	49
TABELA 10 - Estimativa de custos para a execução de uma análise. ....	50

## LISTA DE ABREVIACÕES

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ASTM - *American Society for Testing and Materials*

CEN - *Comité Européen de Normalisation*

CGTRQ - Centro de Gestão e Tratamento de Resíduos Químicos

CV - Coeficiente de Variação

DPR - Desvio Padrão Relativo

ECS - Eletrodo de Calomelano Saturado

f.e.m - Força Eletromotriz

ICH - *International Conference on Harmonization*

ISO - *International Organization for Standardization*

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

LLE - Extração Líquido-Líquido (do inglês, *Liquid-Liquid Extraction*)

LOD - Limite de Detecção (do inglês, *Limit of Detection*)

LOQ – Limite de Quantificação (do inglês, *Limit of Quantitation*)

MRC - Material de Referência Certificado

S - Desvio Padrão

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>11</b>
2.1 PRODUÇÃO NACIONAL DE BIODIESEL .....	11
2.2 BIODIESEL.....	11
2.2.1 Tratamento da matéria-prima .....	13
2.2.2 Reação de transesterificação.....	13
2.2.3 Separação das fases .....	14
2.2.4 Recuperação e desidratação do álcool .....	14
2.2.5 Destilação da glicerina .....	14
2.2.6 Purificação dos ésteres.....	15
2.3 CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL.....	15
2.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO .....	17
2.4.1 Extração líquido-líquido .....	17
2.4.2 Extração assistida por ultrassom .....	18
2.5 TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA .....	18
2.5.1 Detecção do ponto final.....	19
2.5.2 Eletrodo de referência de Calomelano Saturado .....	23
2.6 MÉTODOS CLÁSSICOS PARA DETERMINAÇÃO DE CLORETOS .....	24
2.6.1 Método de Mohr .....	25
2.7 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS .....	26
2.7.1 Parâmetros de validação.....	26
2.7.2 Repetibilidade.....	26
2.7.3 Precisão intermediária.....	27
2.7.4 Ensaio de recuperação.....	28
<b>3 SITUAÇÃO ATUAL .....</b>	<b>29</b>
3.1 DETERMINAÇÃO DE CLORETOS .....	29
<b>4 OBJETIVOS .....</b>	<b>31</b>
<b>5 PROPOSTA TECNOLÓGICA .....</b>	<b>32</b>
<b>6 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
6.1 MATERIAIS E REAGENTES .....	33

6.2 LIMPEZA DO MATERIAL .....	33
6.3 AMOSTRAS.....	33
6.4 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM.....	34
6.5 INSTRUMENTAÇÃO .....	34
6.6 ENSAIOS DE VALIDAÇÃO .....	35
6.6.1 Repetibilidade.....	35
6.6.2 Precisão intermediária.....	35
6.6.3 Avaliação da exatidão .....	36
6.7 ADIÇÃO DE HNO <sub>3</sub> .....	36
6.8 TITULAÇÃO DE MOHR.....	36
6.9 QUANTIDADE MÍNIMA DETECTÁVEL.....	36
<b>7 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>7.1 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM .....</b>	<b>38</b>
7.2 AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	38
7.3 ENSAIOS DE VALIDAÇÃO .....	38
7.3.1 Repetibilidade.....	38
7.3.2 Precisão intermediária.....	41
7.3.3 Avaliação da exatidão .....	42
7.4 ADIÇÃO DE HNO <sub>3</sub> .....	43
7.5 TITULAÇÃO DE MOHR.....	44
7.6 QUANTIDADE MÍNIMA DETECTÁVEL.....	45
<b>8 CUSTOS .....</b>	<b>49</b>
<b>9 CONCLUSÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>52</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O biodiesel é um combustível biodegradável derivado de fontes renováveis, como óleos vegetais e gorduras animais. Em 2005, foi introduzido na matriz energética brasileira em decorrência da criação do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel, que autorizou sua adição ao diesel mineral, numa proporção de 2% em volume. Atualmente, este percentual encontra-se em 7%. Pioneiro no uso de biocombustíveis, o Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo, com uma produção anual, em 2014, de 3,4 bilhões de litros.

Para ser comercializado, o biodiesel deve atender a diversas especificações físico-químicas estabelecidas pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). No entanto, a concentração de cloretos neste biocombustível ainda não é considerada um parâmetro de qualidade na especificação do produto. Trata-se de uma importante característica a ser analisada, dado que a presença deste ânion pode induzir a corrosão das peças metálicas de motores à combustão.

Atualmente, não há nenhum método oficial para a análise de cloretos em biodiesel. Porém, existem algumas normas que determinam a concentração deste íon, por meio da titulação potenciométrica em outros tipos de matrizes como álcool, manteiga e alimentos enlatados. Neste contexto, o objetivo principal deste trabalho foi desenvolver uma metodologia para a determinação de íons cloreto em amostras de biodiesel, fazendo o uso da titulação potenciométrica, após uma etapa de extração líquido-líquido assistida por ultrassom. Além do mais, este trabalho contou com os seguintes objetivos específicos: avaliar a metodologia por meio de parâmetros de validação como repetibilidade, precisão intermediária e exatidão; comparar os resultados obtidos por potenciometria com os resultados obtidos por titulometria de precipitação clássica (método de Mohr) e estudar a influência da adição de  $\text{HNO}_3$  na titulação potenciométrica.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 PRODUÇÃO NACIONAL DE BIODIESEL

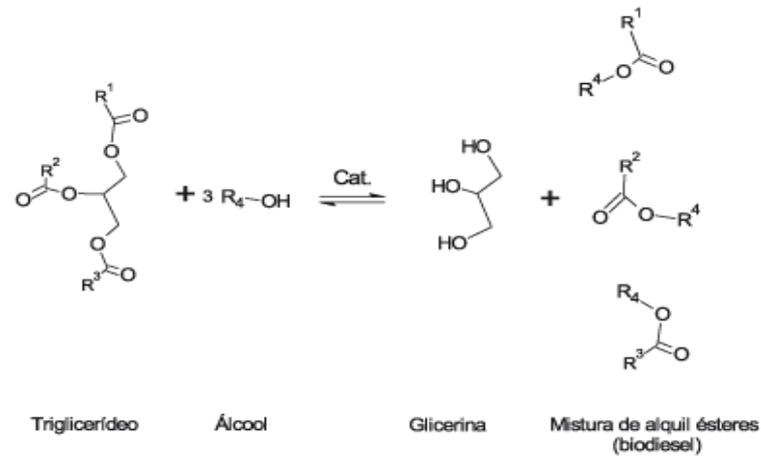
A busca por fontes renováveis de energia, como os biocombustíveis, torna-se cada vez mais importante e necessária, seja devido a problemas ambientais atrelados à queima de combustíveis fósseis, por esgotamento das reservas petrolíferas ou pela contínua elevação do preço do barril de petróleo.<sup>1,2</sup> Sendo assim, a produção e o consumo de biocombustíveis, como o biodiesel, vem conquistando importante relevância na matriz energética dos países produtores. Em 2005, o Brasil criou o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel, por meio da lei nº 11.097/2005, que tem como objetivo substituir parcial ou totalmente o uso de combustíveis de origem fóssil em motores a combustão interna com ignição por compressão.<sup>3</sup> Com o advento deste programa, foi autorizada a adição de biodiesel ao diesel mineral, numa proporção de 2% em volume.<sup>3</sup> Esta mistura, denominada então de B2, tornou-se obrigatória em 2008 e, em 2010, teve sua proporção alterada para 5% (B5). Hoje este percentual encontra-se em 7% (B7), em decorrência da lei nº 13.033/2014.<sup>4</sup>

Atualmente o país possui 59 plantas produtoras de biodiesel autorizadas para operação pela ANP, o que corresponde a uma capacidade de produção de 645.195 m<sup>3</sup>/ mês. No entanto, a produção mensal deste biocombustível é de cerca de 300 mil m<sup>3</sup>, valor ligeiramente acima da demanda compulsória do país. As principais matérias-primas utilizadas no processo produtivo são o óleo de soja e a gordura bovina, sendo responsáveis, respectivamente, por 75,57 e 20,39% da produção.<sup>5</sup>

### 2.2 BIODIESEL

O biodiesel é um combustível biodegradável derivado de fontes renováveis, como óleos vegetais e gorduras animais. É composto por uma mistura de alquilésteres de cadeia linear e obtido através de uma reação de transesterificação dos triglicerídeos presentes nos óleos e nas gorduras com alcoóis de cadeia curta (como o metanol ou o etanol) na presença de um catalisador (ácido ou básico), sendo o glicerol um coproduto desta reação.<sup>2,6</sup>

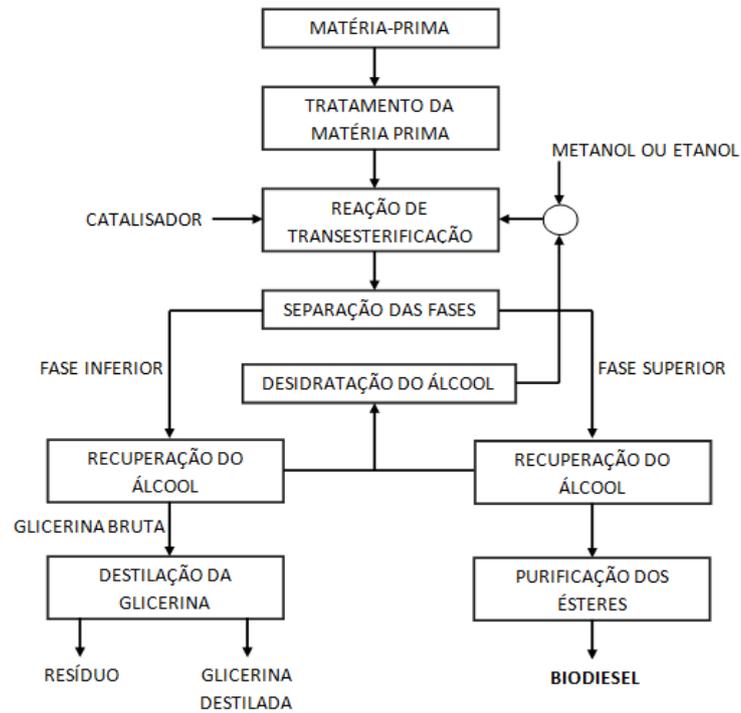
Figura 1 - Reação de transesterificação de um triglicerídeo.



Fonte: LÔBO *et al.*, 2009.

O processo de produção do biodiesel, através da reação de transesterificação, compreende diversas etapas operacionais, como pode ser visualizado na Figura 2.

Figura 2 - Fluxograma do processo de produção do biodiesel.



Fonte: Adaptado de JARDINE, J. G. *et al.* (2009)

### 2.2.1 Tratamento da matéria-prima

Para obter as melhores condições de reação, e com isso elevadas taxas de rendimento, a matéria-prima deverá ser submetida à uma etapa de pré-tratamento. Esta etapa tem por objetivo minimizar os teores de umidade e de acidez, e é realizada através da lavagem deste material com uma solução alcalina de hidróxido de sódio ou de potássio, seguida de uma operação de secagem e desumidificação. A redução dos teores de umidade se faz necessária, uma vez que a água é um dos agentes causadores de reações paralelas de saponificação, resultando no consumo do catalisador e na redução da eficiência da reação de transesterificação. Já o controle dos níveis de acidez está relacionado com o percentual de ácido graxo livre presente na matéria-prima. Para que o processo de transesterificação seja satisfatório, os óleos vegetais devem conter no máximo 3% de acidez.<sup>7,8</sup>

### 2.2.2 Reação de transesterificação

É nesta etapa que ocorre a conversão dos triglicerídeos presentes na matéria-prima nos alquilésteres que constituem o biodiesel. Esta reação pode ser feita por meio tanto da catálise ácida quanto da catálise básica. Entretanto, o uso de bases como catalisadores (hidróxido de sódio ou de potássio, ou seus alcóxidos) levam a reações muito mais rápidas comparado ao uso de catalisadores ácidos (como ácido clorídrico), além de serem mais viáveis economicamente.<sup>8</sup>

Nesta etapa, o álcool, o catalisador e o óleo são misturados em um reator sob agitação por cerca de uma hora, a uma temperatura de 60 °C.<sup>8</sup> Esta agitação não deve ser muito enérgica, visto que pode provocar a formação de sabões, acarretando em uma emulsão de difícil separação. Quanto maior for a temperatura do processo, menor será o tempo de reação, entretanto, temperaturas muito elevadas levam a perda de álcool por volatilização. O álcool mais utilizado neste processo é o metanol, pois promove melhores rendimentos. Por ser uma reação reversível, é necessário empregar um excesso de álcool na reação, na proporção de 1:6 molar (óleo:álcool), para aumentar o rendimento dos alquilésteres e promover a separação do glicerol com a formação de uma fase não miscível.<sup>9</sup>

### 2.2.3 Separação das fases

Com a reação completa, o meio reacional é composto por duas fases. A fase inferior é constituída por glicerina, excesso de álcool que não reagiu, resíduo de catalisador, água, sabão e impurezas relativas a matéria-prima. Já a fase superior deverá conter o produto principal, que também estará impregnado com impurezas e excessos reacionais de álcool.<sup>7</sup> A separação das fases ocorre por decantação ou por centrifugação e o excesso de álcool presente não é removido do reator antes que os metilésteres sejam separados do meio, de modo a evitar a reversão da reação.<sup>8</sup>

### 2.2.4 Recuperação e desidratação do álcool

O álcool presente, tanto na fase leve quanto na fase pesada, é recuperado através de evaporação e posteriormente reutilizado no processo. Contudo, o produto recuperado contém quantidades significativas de água, sendo necessária uma etapa de desidratação, realizada através de um processo de destilação.<sup>7,8</sup>

É importante ressaltar que, se o álcool utilizado for o metanol, problemas referentes a formação de azeótropos serão evitados. Por outro lado, ao fazer uso de etanol na reação, a etapa de desidratação será de difícil execução, em decorrência da formação de um azeótropo.<sup>7,8</sup>

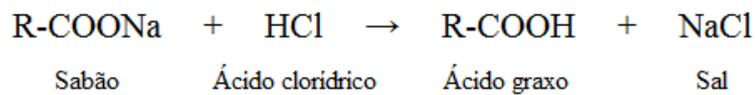
### 2.2.5 Destilação da glicerina

A glicerina resultante do processo de separação das fases já possui valor comercial, no entanto, para se tornar um produto de maior valor agregado, deverá ser submetida a um estágio de purificação. A purificação é realizada por destilação a vácuo e o produto resultante é límpido e transparente, com uma pureza de cerca de 85%.<sup>7,8</sup>

### 2.2.6 Purificação dos ésteres

Depois de obtido, o biodiesel deverá passar por uma etapa de purificação, que dependerá da natureza do catalisador utilizado. Se o catalisador empregado for básico, uma lavagem com uma solução aquosa acidificada (0,5% HCl) será empregada a fim de neutralizar qualquer resíduo de catalisador, bem como de separar qualquer sabão que possa ter sido formado durante a reação. Como mostra a Figura 3, os sabões irão reagir com o ácido formando sais solúveis em água e ácidos graxos livres.<sup>8,9</sup>

Figura 3 - Reação que ocorre com os sabões presentes no biodiesel, após uma lavagem ácida.



Fonte: Adaptado de KNOTHE *et al.*, 2005.

Os sais formados serão removidos em uma etapa de lavagem com água e os ácidos graxos livres permanecerão no biodiesel. O biocombustível será separado da fase aquosa por decantação e posteriormente aquecido para secagem e remoção de umidade. Ao final deste processo, as características do produto final deverão estar de acordo com as especificações estabelecidas pela ANP contidas no Regulamento Técnico nº 3/2014.<sup>10</sup>

## 2.3 CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL

De acordo com a lei vigente, o biodiesel para ser comercializado, deve atender as especificações contidas no Regulamento Técnico ANP nº 3/2014 (Tabela 1).<sup>10</sup> A determinação destas características deverá ser feita mediante o emprego das normas da ABNT, das normas internacionais da *American Society for Testing and Materials* (ASTM), da *International Organization for Standardization* (ISO) e do *Comité Européen de Normalisation* (CEN).

Tabela 1 - Especificações físico-químicas do biodiesel para comercialização.

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	LIMITE
Aspecto	-	Límpido s/ impurezas
Massa específica a 20°C	kg m <sup>-3</sup>	850 a 900
Viscosidade Cinemática a 40°C	mm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>	3,0 a 6,0
Teor de água, máx.	mg kg <sup>-1</sup>	200,0
Contaminação Total, máx.	mg kg <sup>-1</sup>	24
Ponto de Fulgor, min.	°C	100,0
Teor de Éster, min.	% massa	96,5
Cinzas sulfatadas, máx.	% massa	0,020
Enxofre Total, máx.	mg kg <sup>-1</sup>	10
Sódio + Potássio, máx.	mg kg <sup>-1</sup>	5
Cálcio + Magnésio, máx.	mg kg <sup>-1</sup>	5
Fósforo, máx.	mg kg <sup>-1</sup>	10
Corrosividade ao cobre, 3h a 50°C, máx.	-	1
Número de Cetano	-	Anotar
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.	°C	Depende da UF
Índice de acidez, máx.	mg KOH g <sup>-1</sup>	0,50
Glicerol livre, máx.	% massa	0,02
Glicerol total, máx.	% massa	0,25
Monoacilglicerol, máx.	% massa	0,7
Diacilglicerol, máx.	% massa	0,20
Triacilglicerol, máx.	% massa	0,20
Metanol e/ou Etanol, máx.	% massa	0,20
Índice de Iodo	g/100g	Anotar
Estabilidade à oxidação a 110°C, min.	h	8

Fonte: Regulamento Técnico ANP nº 3/2014.

Analisando a tabela acima, é possível observar que a concentração de cloretos no biodiesel ainda não é regulamentada. No entanto, trata-se de um importante parâmetro a ser analisado, visto que este ânion pode estar presente tanto na matéria-prima quanto ser inserido por meio da etapa de purificação do biocombustível (item 2.2.6), mediante a lavagem do produto com uma solução de ácido clorídrico. A presença deste íon, mesmo em baixas

concentrações, pode danificar a camada de óxido de cromo que protege as peças metálicas dos veículos da corrosão, como o tanque de combustível e o sistema de injeção, levando a uma menor vida útil destas peças.<sup>11,39</sup>

## 2.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

### 2.4.1 Extração líquido-líquido

A extração líquido-líquido (LLE) ainda é uma das técnicas de extração mais populares para amostras líquidas<sup>12</sup> e trata-se de uma das técnicas de separação mais importantes utilizadas em aplicações ambientais e industriais.<sup>13</sup> Baseia-se na solubilidade relativa dos analitos presentes na amostra em duas fases imiscíveis (orgânica e aquosa), onde compostos mais hidrofílicos estarão mais presentes na fase aquosa, enquanto compostos mais hidrofóbicos estarão principalmente na fase orgânica.<sup>14</sup>

Geralmente, a amostra é colocada em um funil de separação e, em seguida, um solvente extrator imiscível em água é adicionado, formando uma mistura heterogênea. Na sequência, o sistema é agitado de modo a proporcionar um aumento na área de superfície entre as fases<sup>13</sup> e, ao final deste processo, espera-se que o analito presente na fase aquosa seja transferido para a fase orgânica.<sup>12,15</sup>

Uma vez que esta técnica fundamenta-se em um processo de equilíbrio, sua eficiência depende de alguns fatores como a afinidade do soluto pelo solvente de extração, a razão das fases e o número de extrações.<sup>16</sup> Algumas alterações no equilíbrio químico, tais como mudanças de pH, formação de pares iônicos e complexação, podem ser utilizadas para melhorar a recuperação do analito e/ou para a eliminação de interferências.<sup>14</sup>

Embora a LLE apresente diversas vantagens como facilidade de operação, baixo custo e uma variedade de solventes a serem utilizados, trata-se de uma técnica relativamente demorada e de difícil automação, podendo ocorrer a formação de emulsões e a adsorção dos analitos na vidraria. Além disso, requer volumes relativamente grandes de amostra e de solvente, podendo acarretar problemas no descarte destes resíduos.<sup>16</sup>

### 2.4.2 Extração assistida por ultrassom

O emprego da radiação ultrassônica na química analítica vem crescendo ao longo dos anos, seja para extrações líquido-líquido de compostos orgânicos e inorgânicos, homogeneização e emulsificação de soluções, desenvolvimento de reações ou digestão de amostras sólidas, entre outras aplicações.<sup>17</sup> Consiste em ondas mecânicas com frequências maiores do que 16 kHz, que propagam-se em ciclos consecutivos de compressão e rarefação.<sup>18</sup>

Em certas condições, a utilização de ultrassom em meio líquido conduz a um fenômeno de cavitação acústica, que envolve a formação, crescimento e implosão de inúmeras bolhas de gás, denominadas bolhas de cavitação.<sup>19</sup> As dimensões das bolhas alteram-se de acordo com as consecutivas fases de rarefação e compressão da onda acústica que se propaga e, ao atingirem uma determinada dimensão, entram em colapso, ocorrendo então a implosão. Por consequência, tem-se a elevação da temperatura e da pressão a valores extremos no centro da bolha colapsada, o que leva a decomposição térmica do soluto, bem como à formação de radicais livres e outros compostos.<sup>18,19</sup>

Os principais equipamentos geradores de ultrassom, os quais convertem energia elétrica em energia ultrassônica, são do tipo banho e sonda. A eficiência desta transformação depende das características do equipamento (frequência, intensidade de energia acústica, disposição e potência dos transdutores), das propriedades da solução (viscosidade, tensão superficial) e de algumas condições ambientais como temperatura e pressão.<sup>20</sup>

## 2.5 TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA

Na titulação potenciométrica, um eletrodo indicador e um eletrodo de referência são utilizados para compor uma célula galvânica, cuja força eletromotriz (f.e.m) é medida após a adição de volumes sucessivos de solução titulante.<sup>21</sup> Esta medida expressa a variação do potencial (mV) ao longo da titulação, o que faz com que esta técnica não seja dependente de valores absolutos da f.e.m da célula, de modo que o eletrodo de referência não necessita ter um potencial rigorosamente conhecido.

Em comparação com a titulometria tradicional, que emprega indicadores visuais, a titulação potenciométrica apresenta diversas vantagens como: dispensa o uso de indicadores; pode ser utilizada em soluções turvas e fortemente coloridas; permite determinar

sucessivamente várias espécies em uma mistura sem a necessidade de separação prévia, bem como pode ser empregada em meios não-aquosos e em soluções muito diluídas. Como desvantagem, trata-se de uma técnica que consome mais tempo quando não automatizada.<sup>21,22</sup>

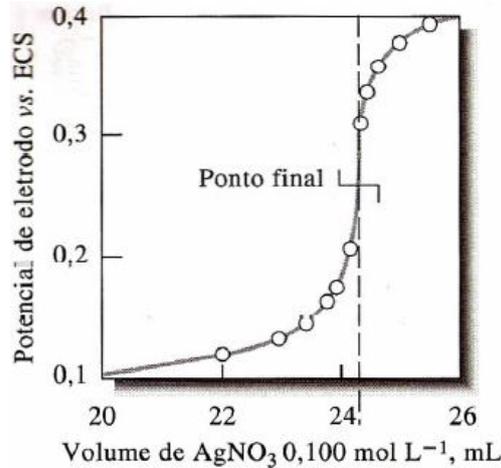
Quando comparada à potenciometria direta, trata-se de uma técnica mais exata e mais precisa, visto que se baseia na variação do potencial próximo ao ponto de equivalência e não na inclinação da resposta nernstiana do eletrodo indicador. A exatidão desta técnica está relacionada com a magnitude do salto do potencial no ponto final, que é dependente da constante de equilíbrio da reação em questão. Além disso, os problemas relacionados com o recobrimento da superfície do eletrodo acabam não sendo tão preocupantes, e os potenciais de junção líquida pouco afetam a variação da f.e.m, uma vez que permanecem relativamente constantes durante a titulação. Por fim, outra vantagem da titulação potenciométrica é que o resultado expressa a concentração do analito, ainda que o eletrodo responda à atividade.<sup>21,23</sup>

### 2.5.1 Detecção do ponto final

A detecção do ponto final de uma titulação potenciométrica pode ser feita de várias maneiras: por meio da identificação do ponto de inclinação máxima de um gráfico potencial (mV) x volume de titulante adicionado (ml), a partir de gráficos de primeira e de segunda derivada da curva de titulação, e também pelo método da semelhança de triângulos.<sup>21-23</sup> Em todos os casos, independente do método a ser escolhido, procede-se a titulação da seguinte forma: inicialmente, adicionam-se incrementos de solução titulante relativamente grandes (de 1 a 5 ml) e, com a proximidade do ponto final, dado o aumento na diferença de potencial, acrescentam-se incrementos menores (cerca de 0,1 ml). Neste estágio, é necessário aguardar um certo tempo após a adição de cada incremento para que o eletrodo indicador atinja um potencial relativamente constante (variação não maior que 1 a 2 mV/min) antes da leitura da f.e.m.<sup>21</sup>

O método mais simples para a localização do ponto final consiste em um gráfico que relaciona o potencial da f.e.m em função do volume gasto de titulante. Estima-se visualmente o ponto de inflexão na parte mais vertical da curva e, assim, tem-se o volume do ponto final da titulação.<sup>23</sup> A Figura 4 traz um exemplo de uma curva de titulação potenciométrica que utiliza este método.

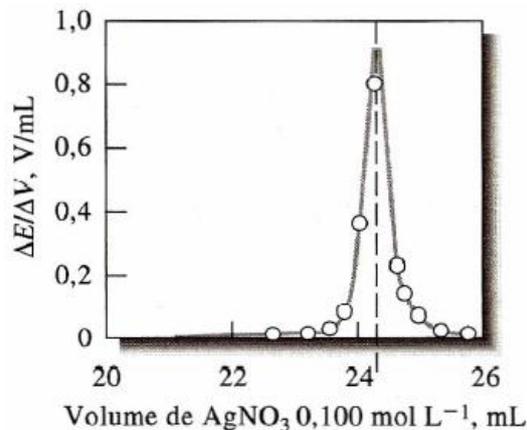
Figura 4 - Exemplo de uma curva de titulação potenciométrica.



Fonte: SKOOG *et al.*, 2010.

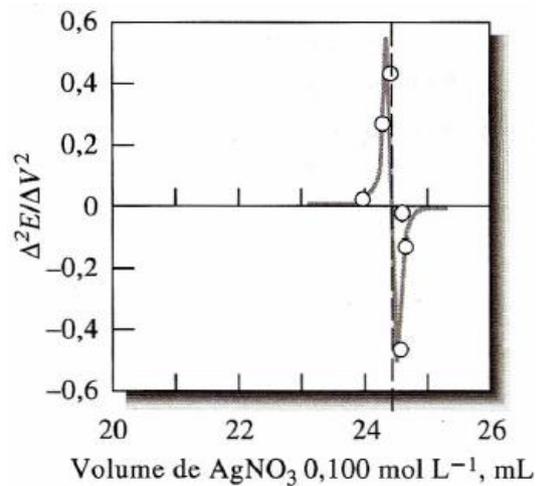
Outra forma de determinar o ponto final é a partir da primeira e da segunda derivada da curva de titulação. No gráfico da primeira derivada, tem-se a relação da variação do potencial da f.e.m por volume de titulante ( $\Delta E/\Delta V$ ) com o volume médio do titulante adicionado, de modo que o ponto de inflexão máxima corresponderá ao ponto final se a curva for simétrica (Figura 5). As curvas serão simétricas se a reação no eletrodo indicador for reversível e se o titulante e o analito reagirem na razão 1:1.<sup>23</sup> Por fim, no gráfico da segunda derivada (Figura 6), relaciona-se a variação de  $\Delta^2 E/\Delta V^2$  em função do volume de titulante adicionado, e o ponto da curva onde a segunda derivada passa pelo zero é considerado o ponto final da titulação.

Figura 5 - Exemplo de um gráfico de primeira derivada de uma curva de titulação potenciométrica.



Fonte: SKOOG *et al.*, 2010.

Figura 6 - Exemplo de um gráfico de segunda derivada de uma curva de titulação potenciométrica.



Fonte: SKOOG *et al.*, 2010.

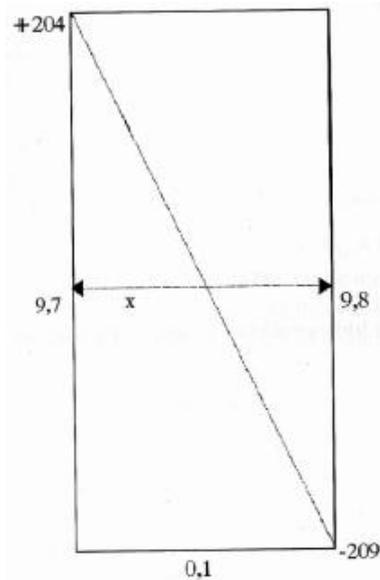
O método da semelhança de triângulos também se baseia no pressuposto da simetria das curvas de titulação, e se utiliza dos dados gerados pela segunda derivada ( $\Delta^2E/\Delta V^2$ ), principalmente dos que mudam de sinal nas proximidades da derivada zero. Os dados da Tabela 2 mostram um exemplo de titulação baseado em uma reação de neutralização. Observa-se que, ao alcançar o volume de 9,7 ml, o valor correspondente à segunda derivada é de + 204. Ao adicionar 0,1 ml de solução, este valor muda para - 209. Ao ocorrer essa mudança de sinais, é possível constatar que a segunda derivada passa pelo zero no eixo dos volumes, como mostra a Figura 7. Sendo assim, emprega-se os conceitos de semelhança de triângulos para então calcular o volume de x que deve ser somado aos 9,7 ml para obter o volume do ponto final.<sup>22</sup>

Tabela 2 - Exemplo de dados de uma titulação potenciométrica baseado em uma reação de neutralização.

V (mL)	$\Delta V$	$V_m$	pH	$\Delta pH$	$\Delta pH/\Delta V$	$\Delta^2 pH/\Delta V^2$
9,3			6,10			1
	0,1	9,35		0,11	1,1	
9,4			6,21			6
	0,1	9,45		0,17	1,7	
9,5			6,38			8
	0,1	9,55		0,25	2,5	
9,6				6,63		32
	0,1	9,65		0,57	5,7	
9,7			7,20			204
	0,1	9,75		2,61	26,1	
9,8			9,81			-209
	0,1	9,85		0,52	5,2	
9,9			10,33			-27
	0,1	9,95		0,25	2,5	
10,0			10,58			-8
	0,1	10,05		0,17	1,7	
10,1			10,75			-5
	0,1	10,15		0,12	1,2	
10,2			10,87			-4

Fonte: CIENFUEGOS, VAITSMAN, 2000.

Figura 7 - Exemplo de gráfico utilizado para determinação do ponto final pelo método da semelhança de triângulos.



Fonte: CIENFUEGOS, VAITSMAN, 2000.

Para o cálculo de x temos que:

$$\frac{x}{0,1} = \frac{204}{204+209}$$

Logo:  $x = 0,05$  ml

Portanto, o volume gasto de titulante no ponto final é de:

$$V = 9,70 + x = 9,75 \text{ ml}$$

### 2.5.2 Eletrodo de referência de Calomelano Saturado

O eletrodo de calomelano saturado (ECS) é o eletrodo de referência de mercúrio mais utilizado, dado a sua facilidade de preparação.<sup>24</sup> É composto basicamente de mercúrio, cloreto de mercúrio (I) e uma solução de cloreto de potássio saturada<sup>21</sup>:



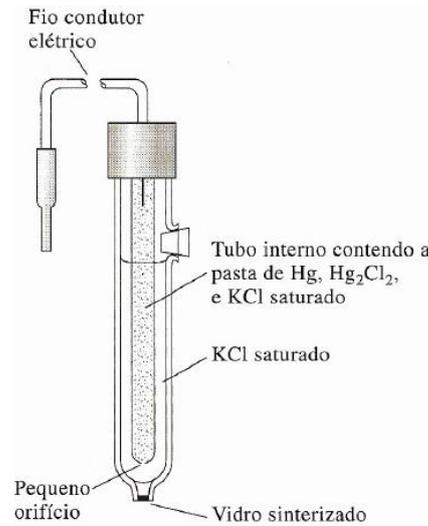
A principal desvantagem deste tipo de eletrodo é a dependência da temperatura quando consideráveis oscilações ocorrem durante as medidas. Seu uso não é recomendado acima de 70 °C, pois apresenta uma histerese durante o aquecimento e o resfriamento.<sup>24</sup> A 25 °C o potencial deste eletrodo é de 0,2444 V.

A reação que ocorre na meia-célula é:



A Figura 8 ilustra um eletrodo de calomelano comercial típico. Ele é composto por um tubo externo de 5 a 15 cm de comprimento e diâmetro de 0,5 a 1,0 cm. Em um tubo interno, uma pasta de mercúrio/cloreto de mercúrio (I) em cloreto de potássio saturado é colocada e interligada a uma solução de cloreto de potássio saturado presente em um tubo externo por meio de uma pequena abertura. Além disso, um eletrodo de metal inerte é mergulhado na pasta, e o contato com a solução do analito se dá por meio de um disco sinterizado selado na extremidade do tubo externo.<sup>23</sup>

Figura 8 - Exemplo de um eletrodo de calomelano saturado comercial.



Fonte: SKOOG *et al.*, 2010.

## 2.6 MÉTODOS CLÁSSICOS PARA DETERMINAÇÃO DE CLORETOS

Para a determinação de cloretos por titulometria clássica existem três métodos principais: o de Volhard, o de Fajans e o de Mohr.

No método de Volhard, adiciona-se um excesso de nitrato de prata padrão à solução amostra e determina-se a prata residual por retrotitulação com uma solução padrão de tiocianato. O precipitado formado, cloreto de prata, é mais solúvel que o tiocianato de prata, sendo necessário removê-lo do meio por filtração com o objetivo de evitar que o tiocianato reaja com o cloreto de prata.<sup>23,25</sup>

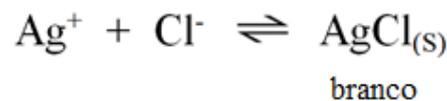
A titulação de Fajans também faz uso de nitrato de prata como solução titulante, no entanto, a detecção do ponto final é feita por meio de um indicador de adsorção. Ao adicionar a prata, há um excesso de íons cloreto em solução antes do ponto de equivalência. Alguns destes íons são adsorvidos seletivamente na superfície do precipitado formado de cloreto de prata, o que faz com que possua uma carga negativa. Após o ponto de equivalência, há um excesso de íons prata em solução, e a adsorção destes íons no precipitado cria cargas positivas. A mudança de cargas, de negativa para positiva, ocorre no ponto de equivalência.<sup>23,25</sup>

O método utilizado como referência para a determinação clássica de cloretos neste trabalho foi o de Mohr, uma vez que é um dos métodos empregados no ensino de Química Analítica Clássica na presente universidade.

### 2.6.1 Método de Mohr

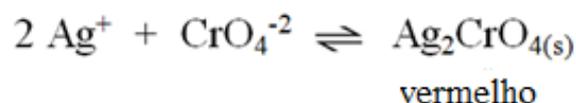
No método de Mohr, determina-se íons como cloreto, brometo e cianeto, utilizando uma solução padrão de  $\text{AgNO}_3$  como agente titulante e uma solução de  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  como indicador. Consiste em um caso de precipitação fracionada, em que o cloreto de prata, por ser o sal menos solúvel, precipita primeiro. No ponto final da reação, quando a precipitação do cloreto for completa, os íons prata irão reagir com o indicador, iniciando assim a precipitação do cromato de prata.<sup>25</sup> Um excesso de titulante deve ser adicionado para produzir precipitado suficiente e visível, pois, no ponto de equivalência, a concentração de íons cromato confere à solução uma intensa cor amarela, de forma que não é possível detectar imediatamente o precipitado vermelho de cromato de prata.<sup>23</sup> Desta forma, este método requer que uma titulação em branco seja feita para a correção do erro cometido na detecção do ponto final. Assim, o valor obtido no branco deverá ser subtraído do valor de solução padrão consumido na titulação.<sup>25</sup> As reações que ocorrem durante a titulação são apresentadas nas Figuras 9 e 10.

Figura 9 - Reação que ocorre no método de Mohr entre o haleto e o titulante.



Fonte: SKOOG *et al.*, 2010.

Figura 10 - Reação que ocorre no método de Mohr entre o indicador e um excesso de íons prata.



Fonte: SKOOG *et al.*, 2010.

A titulação deve ser conduzida em meio neutro ou fracamente básico, isto é, em pH entre 6,5 e 10,5. Em meio ácido, o cromato reage com íons hidrogênio levando a formação de  $\text{HCrO}_4^-$ , reduzindo assim a concentração de  $\text{CrO}_4^{2-}$ . Em contrapartida, em meio fortemente básico, a alta concentração de íons  $\text{OH}^-$  acarreta a formação de  $\text{AgOH}$ . Além disto, cátions

como cobre, níquel e cobalto também não devem estar presentes na titulação, pois conferem cor a solução e dificultam a detecção do ponto final. Metais como bário ou chumbo também interferem na análise pois reagem com o indicador.<sup>25</sup>

## 2.7 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS

Com o objetivo de garantir que uma determinada metodologia analítica forneça informações confiáveis e válidas sobre as amostras analisadas, ela deve sofrer uma avaliação denominada validação.<sup>26</sup> Segundo a NBR ISO/IEC 17025, a validação é a comprovação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos para um determinado uso são atendidos, ou seja, consiste em demonstrar que o método analítico é adequado para o seu propósito.<sup>26</sup> Para a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA), “a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados”.<sup>27</sup>

### 2.7.1 Parâmetros de validação

O guia de orientação sobre validação de métodos analíticos do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) sugere alguns parâmetros de validação, tais como: seletividade, linearidade, faixa de trabalho, faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação, tendência/recuperação, precisão (repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade) e robustez.<sup>28</sup> Estes termos são conhecidos como parâmetros de desempenho analítico, características de desempenho, ou ainda como figuras analíticas de mérito, e devem ser utilizados conforme a intenção do uso do método.<sup>29</sup> Sendo assim, apenas alguns destes parâmetros foram avaliados no presente trabalho.

### 2.7.2 Repetibilidade

A repetibilidade representa a concordância entre os resultados de sucessivas medidas de um mesmo método, realizadas sob as mesmas condições, instrumento, analista,

procedimento e local, no menor intervalo de tempo possível. É geralmente expressa pela estimativa do Desvio Padrão ( $S$ ) ou pelo Desvio Padrão Relativo (DPR), também conhecido como coeficiente de variação (CV) <sup>28</sup>.

$$\text{Desvio padrão: } S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

$$\text{Coeficiente de variação: } CV = \frac{(S \times 100)}{\bar{X}}$$

Onde:

$S$ : desvio padrão

$X_i$ : valor individual de uma medição

$\bar{X}$ : média aritmética de um pequeno número de determinações

$n$ : número de medições

O INMETRO recomenda sete ou mais repetições para o cálculo da estimativa do desvio padrão, já a *International Conference on Harmonization* (ICH) e a ANVISA sugerem no mínimo nove repetições. <sup>29</sup>

### 2.7.3 Precisão intermediária

Segundo a ISO 5725-3, a precisão intermediária refere-se à precisão avaliada sobre a mesma amostra, utilizando o mesmo método e no mesmo laboratório, porém variando uma ou mais das condições a seguir: analistas, equipamentos ou o tempo. <sup>28,30</sup> Sendo assim, este parâmetro tem por objetivo verificar se no mesmo laboratório o método fornecerá os mesmos resultados. A precisão intermediária, também denominada de reprodutibilidade interna ou reprodutibilidade intralaboratorial, é reconhecida como sendo a mais representativa em variabilidade dos resultados em um laboratório. <sup>31</sup> O desvio-padrão da reprodutibilidade é, usualmente, cerca de duas vezes maior que o da repetibilidade. <sup>32</sup> O número de ensaios necessários para avaliar este parâmetro segue a mesma recomendação para o cálculo de repetibilidade. <sup>28,33</sup>

#### 2.7.4 Ensaios de recuperação

A recuperação é definida como a proporção da quantidade de analito, presente ou adicionada na matriz do material de teste, que é extraída e passível de ser quantificada.<sup>34</sup> Pode ser considerada como uma medida da eficiência do processo de extração e isolamento do analito de interesse da matriz.<sup>32</sup> Pode ser estimada, quando possível, a partir de materiais de referência certificados (MRC), ou de um composto substituto – composto ou elemento puro adicionado ao material de teste, que possui comportamento físico e químico representativo ao da substância de interesse na forma nativa.<sup>35</sup> Estes compostos adicionados podem ser:

- Padrão da substância adicionado à matriz isenta da substância ou à amostra (fortificação, incorporação, dopagem, enriquecimento, termos provenientes do inglês “*spike*”);
- Uma versão da substância modificada isotopicamente;
- Composto quimicamente diferente do analito, mas representativo de seu comportamento.<sup>35</sup>

Este parâmetro pode ser expresso em termos de porcentagem da quantidade medida da substância em relação à quantidade adicionada na matriz, em um determinado número de ensaios.<sup>36</sup> Em geral, os intervalos aceitáveis de recuperação estão dentro da faixa de 70 a 120 %.<sup>37</sup>

### 3 SITUAÇÃO ATUAL

#### 3.1 DETERMINAÇÃO DE CLORETOS

Atualmente, não há nenhum método oficial para a análise de cloretos em biodiesel. No entanto, existem algumas normas que determinam a concentração deste íon por meio da titulação potenciométrica em outros tipos de matrizes. A ABNT NBR 10895 refere-se a determinação de cloretos em álcool etílico em concentrações acima de  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ .<sup>38</sup> Já a ISO 15648, trata sobre a determinação do teor de sal (expresso como cloreto de sódio) em manteigas para concentrações acima de 0,1% em massa.<sup>39</sup> Por fim, a AOAC 971.27 pode ser utilizada para a determinação do teor de sal de diversos produtos (como sucos concentrados, alimentos enlatados, margarinas, entre outros), com concentrações superiores a 0,03% de NaCl.<sup>40</sup>

Recentemente, alguns trabalhos relataram a extração líquido-líquido assistida por ultrassom como uma alternativa eficiente para a etapa de pré-tratamento de amostras, como o biodiesel ou matrizes similares complexas, para a subsequente determinação de íons. Silveira *et al.* propuseram um método para a análise quantitativa de acetato, formato, cloreto, fosfato e sulfato em amostras de biodiesel de origem vegetal e animal, empregando a cromatografia de íons com detector de condutividade. A extração dos ânions foi realizada utilizando 20 ml de água desionizada como solvente extrator. O sistema foi deixado sob agitação magnética por um período de 20 min, e então colocado em um banho termostático a  $85 \text{ }^\circ\text{C}$  por 30 min. Após agitação, a mistura foi submetida a um banho de ultrassom por 15 min. Para a análise de cloretos, o método apresentou limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) adequados, na ordem de 0,098 e 0,30 (em  $\text{mg kg}^{-1}$ ), levando em consideração a concentração destas espécies na amostra.<sup>41</sup>

Dugo *et al.* desenvolveram um procedimento para a determinação de fluoreto, cloreto, brometo, nitrito, nitrato, fosfato, sulfato e iodeto em óleos vegetais por cromatografia de íons com detector de condutividade. Os analitos foram extraídos da matriz utilizando 25 ml de água grau HPLC a pH 8 com tampão de carbonato/bicarbonato ( $3 \text{ mmol l}^{-1}$ ), sob agitação magnética a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  por um período de 30 min. Na sequência, a mistura foi colocada em um banho de ultrassom a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ , permanecendo 10 min. A precisão do método para cloretos foi de 3,9-4,2% e os limites de detecção e quantificação obtidos foram, respectivamente, 10 e  $33,3 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ .<sup>42</sup>

Caland *et al.* apresentaram um método para a quantificação simultânea de sódio, potássio, cálcio e magnésio em amostras de biodiesel a partir de diferentes matérias-primas como óleo de girassol, óleo de canola e sebo bovino, utilizando a cromatografia de íons com detector de condutividade. O tratamento das amostras foi composto por uma etapa de extração, utilizando 20 ml de uma solução acidificada com  $\text{HNO}_3$   $1 \text{ mol l}^{-1}$  como solução extratora. Depois de acidificada, a amostra foi aquecida em uma banho termostático a  $85 \text{ }^\circ\text{C}$  por 30 min, e por fim, colocada em um banho de ultrassom por 15 min. O método proposto apresentou recuperações quantitativas, e os limites de detecção foram adequados, variando de 0,11 a  $0,42 \text{ mg kg}^{-1}$ .<sup>43</sup>

Os métodos acima descritos, embora apresentem resultados satisfatórios para a quantificação dos analitos, possuem algumas desvantagens como, no caso da cromatografia de íons: o custo elevado do instrumento, o manuseio complexo do equipamento e o alto custo de operação. Além disso, o tempo necessário para realizar uma análise é considerável, de modo que o tempo de eluição dos analitos dificilmente é menor do que 30 min. Já a metodologia proposta neste trabalho faz uso de equipamentos de baixo custo, fácil execução e manutenção, bem como requer menos tempo para a realização de uma análise.

#### 4 OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo geral desenvolver uma metodologia para a determinação de íons cloreto em amostras de biodiesel, fazendo o uso de titulação potenciométrica, após a extração líquido-líquido assistida por ultrassom. Além disso, tem-se como objetivos específicos:

- Estudar a influência da adição de  $\text{HNO}_3$  na titulação potenciométrica;
- Comparar os resultados obtidos por titulometria de precipitação clássica (método de Mohr) com os obtidos por potenciometria;
- Avaliar esta metodologia por meio de alguns parâmetros de validação: repetibilidade, precisão intermediária e exatidão.

## **5 PROPOSTA TECNOLÓGICA**

Este trabalho tem como proposta tecnológica desenvolver uma metodologia analítica para a determinação de cloretos em biodiesel, uma vez que a concentração deste íon não é especificada no Regulamento Técnico nº 3/2014 da ANP. Trata-se de um importante parâmetro a ser analisado, pois a presença deste íon pode favorecer a corrosão das peças metálicas de motores a combustão.

O método proposto é de fácil execução e implementação, visto que utiliza equipamentos geralmente disponíveis em laboratórios de química, de simples manuseio e baixo custo. Além disso, não faz uso de solventes agressivos, dado que o solvente extrator utilizado é a água.

## 6 MATERIAIS E MÉTODOS

### 6.1 MATERIAIS E REAGENTES

Para o preparo de todas as soluções, bem como para a etapa de extração, foi utilizada água desionizada com resistividade de 18,2 M $\Omega$  cm, purificada em um sistema Milli-Q<sup>®</sup> da Millipore.

O titulante empregado, tanto na titulação potenciométrica quanto no método de Mohr, foi uma solução de AgNO<sub>3</sub> 0,1005 mol l<sup>-1</sup>, feita a partir da dissolução do reagente PA em água e previamente padronizada usando NaCl como padrão primário. Na titulação de Mohr, o indicador de K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> (5% m/v) foi preparado por meio da dissolução do reagente PA em água.

A solução de HNO<sub>3</sub> (4 mol l<sup>-1</sup>) foi preparada a partir da diluição do reagente PA 65% (m/m), da marca Sigma-Aldrich, purificado por destilação abaixo do ponto de ebulição em um destilador “sub-boiling” (Distillacid, Berghof).

### 6.2 LIMPEZA DO MATERIAL

Toda a vidraria, assim como os frascos utilizados para o armazenamento das soluções e das amostras, foi deixada em contato com uma solução de HNO<sub>3</sub> 10% (v/v) pelo período mínimo de 48 horas. Em seguida, para finalizar o processo de limpeza e descontaminação, todo o material foi enxaguado com água em ebulição.

### 6.3 AMOSTRAS

As amostras de biodiesel foram cedidas por duas empresas (denominadas de A e B por questões de sigilo), que forneceram três lotes distintos de amostras. Ambas empresas produzem o biocombustível a partir do óleo de soja. As amostras foram identificadas no laboratório de forma aleatória.

#### 6.4 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

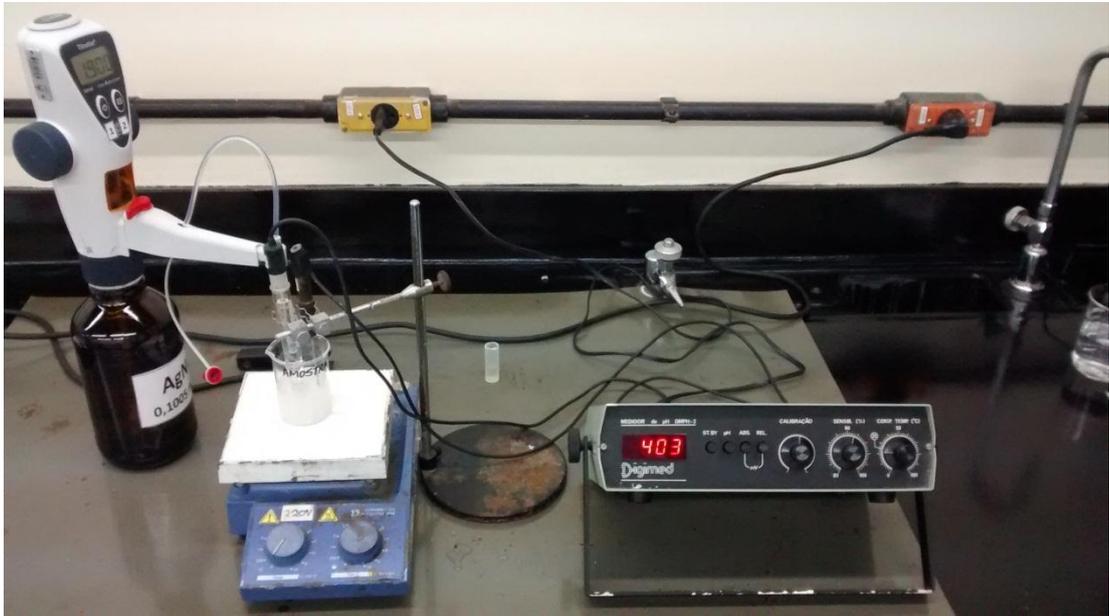
Alíquotas de aproximadamente 25 g de biodiesel foram pesadas em balança analítica (AY220, Shimadzu), com precisão de 0,1 mg. Na sequência, adicionou-se 50 ml de água desionizada, utilizada como solvente extrator. O sistema foi então colocado em um agitador magnético (Modelo 257, FANEM), no qual permaneceu por 20 min. Posteriormente, a mistura foi aquecida em um banho termostático a 85 °C por um período de 30 min. Logo após o aquecimento, a mistura foi colocada em banho de ultrassom (Ultra Cleaner 1400, Unique), na temperatura de 80 °C, com frequência de 40 kHz por 15 min. Por fim, procedeu-se com a separação das fases, mediante o uso de um funil de separação. A fase aquosa foi utilizada para a determinação do analito.

Para os ensaios de precisão, precisão intermediária, adição de HNO<sub>3</sub> e titulação de Mohr, procedeu-se com a adição de cerca de 40 mg de NaCl PA da marca Synth, dissolvidos em uma solução de etanol, anteriormente ao processo de extração.

#### 6.5 INSTRUMENTAÇÃO

Na determinação do analito utilizou-se um eletrodo de calomelano saturado com dupla junção líquida (KNO<sub>3</sub> 10%) como eletrodo de referência, e um fio de prata como eletrodo indicador. Para medir a diferença de potencial no decorrer das titulações, fez-se o uso de um potenciômetro (DMPH-2, Digimed). Uma bureta digital com precisão de 0,001 ml (Titrette, Brand) foi empregada tanto na titulação potenciométrica quanto no método de Mohr. Os instrumentos utilizados nas análises foram cedidos pelo Instituto de Química da UFRGS. A Figura 11 ilustra sistema montado para a determinação do analito.

Figura 11 – Foto do sistema utilizado para a determinação de cloretos em biodiesel por titulação potenciométrica.



## 6.6 ENSAIOS DE VALIDAÇÃO

### 6.6.1 Repetibilidade

Para a avaliação da repetibilidade foram preparadas sete replicatas, analisadas no mesmo dia, pelo mesmo analista, e no mesmo equipamento. A partir dos resultados obtidos, foram calculados o desvio padrão entre as replicatas e o coeficiente de variação.

### 6.6.2 Precisão intermediária

A precisão intermediária, assim como a repetibilidade, também foi avaliada a partir da análise de sete replicatas, analisadas no mesmo dia, entretanto, com equipamento e analista diferente. O equipamento utilizado para medir a diferença de potencial foi um medidor de pH (TPH-2, Testa Tecnologia Eletrônica). A partir dos resultados obtidos, foram calculados o desvio padrão entre as replicatas e o coeficiente de variação.

### 6.6.3 Avaliação da exatidão

A exatidão do método proposto foi avaliada por meio de ensaios de recuperação, uma vez que não há materiais de referência certificados para cloretos em biodiesel - o que seria o ideal para a avaliação da exatidão. Sendo assim, procedeu-se com a adição de aproximadamente 40 mg de NaCl, dissolvidos em uma solução de etanol, anteriormente ao processo de extração. Ao final da determinação, estipulou-se a recuperação em termos de porcentagem da quantidade medida de NaCl em relação à quantidade adicionada à amostra.

### 6.7 ADIÇÃO DE HNO<sub>3</sub>

Para avaliar a influência da adição de HNO<sub>3</sub> na titulação potenciométrica adicionou-se, antes de cada determinação, 2 ml de uma solução de HNO<sub>3</sub> 4 mol l<sup>-1</sup> à amostra já tratada, baseado no que recomenda a ISO 15648.<sup>39</sup> O ensaio foi realizado em triplicata, e com os resultados adquiridos, calculou-se o desvio padrão, o coeficiente de variação e as recuperações, comparando-se os gráficos de segunda derivada obtidos com os dos demais ensaios.

### 6.8 TITULAÇÃO DE MOHR

Com o objetivo de comparar os resultados obtidos por potenciometria com os obtidos por titulometria de precipitação clássica, procedeu-se com a análise de três replicatas, adicionando 1 ml de uma solução de K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> (5% m/v) como indicador. O ponto final foi detectado pelo aparecimento da primeira tonalidade vermelha persistente por 30 s.

### 6.9 QUANTIDADE MÍNIMA DETECTÁVEL

Afim de investigar a menor quantidade de analito detectável pelo método, procedeu-se com a análise de três replicatas fortificadas com 4 mg de NaCl, o que corresponde a uma concentração de 160 µg g<sup>-1</sup>. Assim como nos demais casos, calculou-se o desvio padrão entre

as replicatas, o coeficiente de variação e as recuperações, e comparou-se os gráficos obtidos com os dos demais ensaios.

## 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7.1 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Baseado no método de extração proposto por Silveira *et al.*,<sup>41</sup> alguns testes foram realizados utilizando alíquotas de 10 g de amostra e adicionando 20 ml de solvente extrator (água ultrapura). Contudo, após a etapa de separação das fases, o volume total de fase aquosa obtido para a etapa de determinação se mostrou insuficiente para recobrir o eletrodo de referência. Sendo assim, modificou-se a quantidade de amostra e de solvente, aumentando para, respectivamente, 25 g e 50 ml. O método de extração utilizado no restante do trabalho está descrito no item 6.4.

### 7.2 AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de biodiesel foram submetidas à etapa de extração assistida por ultrassom e posteriormente analisadas via titulação potenciométrica, a fim de detectar a presença de íons cloreto em sua composição. Uma vez que não foi possível confirmar a presença deste analito, procedeu-se com a realização dos demais testes com a fortificação das amostras da empresa A com NaCl, conforme descrito no capítulo 6, para a simulação de sua presença na matriz.

### 7.3 ENSAIOS DE VALIDAÇÃO

#### 7.3.1 Repetibilidade

A repetibilidade foi avaliada pelo coeficiente de variação. Os resultados obtidos podem ser visualizados na Tabela 3. As Figuras 12,13 e 14, geradas no software Origin 6.1, apresentam os gráficos resultantes da titulação de uma das replicatas. As demais replicatas apresentaram perfis muito semelhantes aos dos apresentados a seguir. As Figuras 13 e 14 são, respectivamente, a primeira e a segunda derivada da Figura 12.

Tabela 3 - Resultados obtidos na avaliação da repetibilidade do método.

<b>Replicata</b>	<b>Massa NaCl adicionada (g)</b>	<b>Massa NaCl encontrada (g)</b>
<b>1</b>	0,0436	0,0431
<b>2</b>	0,0438	0,0434
<b>3</b>	0,0432	0,0423
<b>4</b>	0,0429	0,0428
<b>5</b>	0,0436	0,0437
<b>6</b>	0,0428	0,0423
<b>7</b>	0,0441	0,0439
	<b>Média</b>	0,0431
	<b>Desvio Padrão</b>	0,0006
	<b>CV (%)</b>	1,48

Figura 122 - Gráfico que relaciona o potencial da f.e.m em função do volume gasto de titulante na avaliação da repetibilidade.

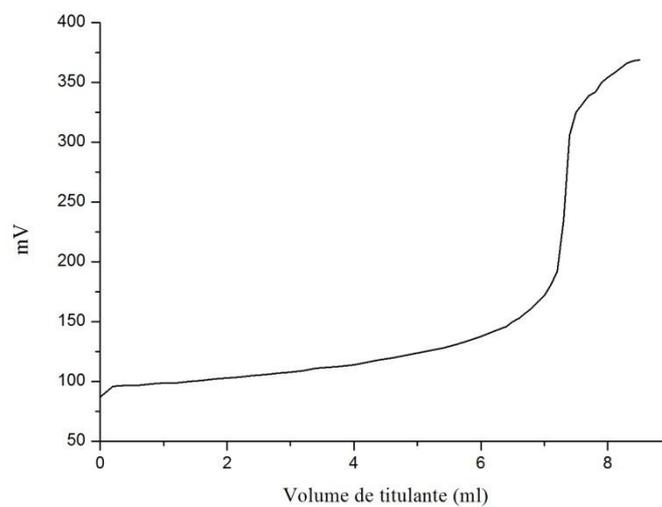


Figura 133 - Gráfico da primeira derivada da curva de titulação obtida na avaliação da repetibilidade do método.

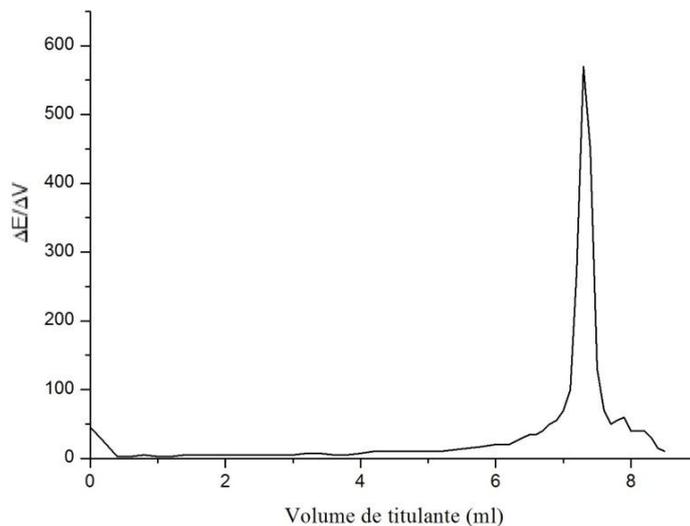
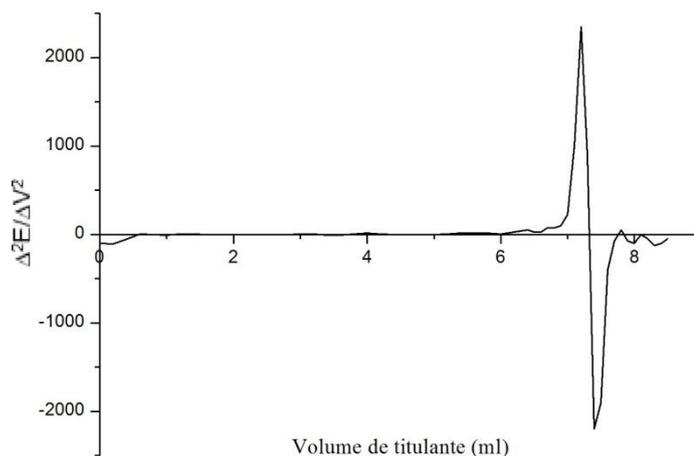


Figura 144 - Gráfico da segunda derivada da curva de titulação obtida na avaliação da repetibilidade do método.



Não há uma regra geral que limite os valores máximos para o coeficiente de variação, uma vez que, para isso, deve ser levada em consideração a concentração do analito em questão, a massa de amostra utilizada, o instrumento empregado para a análise e a

complexidade da matriz. No entanto, quanto menor for este valor, melhor será a concordância dos resultados entre si.

Comparando os resultados deste trabalho com os de repetibilidade encontrados na literatura, que fez uso da cromatografia de íons para a quantificação de alguns analitos em matrizes como o biodiesel e óleos vegetais, tem-se que: o método proposto por Silveira *et al.* apresentou um CV para a análise de cloretos de 0,78 %;<sup>41</sup> Dugo *et al.* encontraram valores para precisão que variaram de 3,9 a 4,2 % (também para a análise de cloretos)<sup>42</sup> e, por fim, Caland *et al.* determinaram diversos ânions em biodiesel, encontrando valores para repetibilidade que variaram de 1,4 a 12,6 %.<sup>43</sup> Assim sendo, percebe-se que o resultado obtido neste trabalho está de acordo com os relatados, apresentando em certos casos menor variação.

### 7.3.2 Precisão intermediária

Neste trabalho, a precisão intermediária, assim como a repetibilidade, foi avaliada pelo coeficiente de variação, porém neste caso obtido por meio dos resultados da análise de sete replicatas, analisadas com diferentes equipamento e analista, mas com as mesmas condições ambientais. Os resultados obtidos podem ser conferidos na Tabela 4. Os gráficos apresentaram perfis muito similares aos dos apresentados anteriormente no estudo da repetibilidade.

Tabela 4 - Resultados obtidos na avaliação da precisão intermediária do método.

<b>Replicata</b>	<b>Massa NaCl adicionada (g)</b>	<b>Massa de NaCl encontrada (g)</b>
<b>1</b>	0,0442	0,0438
<b>2</b>	0,0440	0,0433
<b>3</b>	0,0413	0,0409
<b>4</b>	0,0426	0,0424
<b>5</b>	0,0439	0,0438
<b>6</b>	0,0429	0,0423
<b>7</b>	0,0425	0,0421
	<b>Média</b>	0,0426
	<b>Desvio Padrão</b>	0,0011
	<b>CV (%)</b>	2,51

Analisando os resultados, verifica-se que o valor encontrado para o desvio-padrão da precisão intermediária foi praticamente o dobro do encontrado para a repetibilidade, estando assim de acordo com o citado na literatura.<sup>32</sup>

### 7.3.3 Avaliação da exatidão

Na inexistência de um material de referência certificado para cloretos em biodiesel e de um método de referência validado para a determinação do mesmo, a exatidão foi avaliada neste trabalho por meio de ensaios de recuperação. Os resultados obtidos, tanto nos ensaios de repetibilidade quanto nos de precisão intermediária, são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Resultados obtidos na avaliação da recuperação do método.

<b>Repetibilidade</b>		<b>Precisão Intermediária</b>	
<b>Replicata</b>	<b>Recuperação (%)</b>	<b>Replicata</b>	<b>Recuperação (%)</b>
1	98,8	1	99,1
2	100,9	2	98,4
3	102,2	3	98,9
4	100,3	4	99,6
5	99,7	5	99,8
6	101,1	6	98,6
7	100,5	7	99,0
<b>Média</b>	100,5	<b>Média</b>	99,1
<b>Desvio-padrão</b>	1,066	<b>Desvio-padrão</b>	0,504
<b>CV (%)</b>	1,06	<b>CV (%)</b>	0,51

As recuperações obtidas foram quantitativas e encontram-se dentro do intervalo aceitável de recuperação recomendado pela literatura (70 a 120%)<sup>37</sup>, o que indica que o método utilizado é eficiente. Interferentes como sulfatos, fosfatos e outros compostos presentes no biodiesel, que poderiam ser extraídos na etapa de pré-tratamento, não prejudicaram os percentuais de recuperação. Além disto, estes resultados estão de acordo com

os encontrados na literatura: Silveira *et al.* obtiveram uma recuperação média de 105% para análise de cloretos em amostras de biodiesel de origem vegetal e animal <sup>41</sup>, já Dugo *et al.* encontraram um valor médio de 96,1% para a recuperação deste mesmo ânion em óleos vegetais. <sup>42</sup>

#### 7.4 ADIÇÃO DE HNO<sub>3</sub>

A ISO 15648, que diz respeito a determinação de cloretos em manteigas por titulação potenciométrica, sugere a adição de ácido nítrico anteriormente a determinação do analito em caso de dificuldade na titulação. Por se tratar de uma matriz semelhante a do biodiesel, procedeu-se com a adição deste ácido para avaliar sua influência nas análises utilizando a metodologia proposta. A Tabela 6 apresenta as recuperações obtidas nos ensaios de adição de HNO<sub>3</sub>.

Tabela 6 - Resultados obtidos na avaliação da adição de HNO<sub>3</sub>.

<b>Replicata</b>	<b>Massa NaCl adicionada (g)</b>	<b>Massa NaCl encontrada (g)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>1</b>	0,0436	0,0427	97,9
<b>2</b>	0,0420	0,0402	95,8
<b>3</b>	0,0416	0,0408	98,1
		<b>Média</b>	97,3
		<b>Desvio-padrão</b>	1,271
		<b>CV</b>	1,31

A fim de investigar se há diferença significativa entre as médias das recuperações obtidas pelos dois métodos (com e sem adição de ácido), aplicou-se um teste de diferenças entre médias para dados não pareados. O teste revelou que há diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre as recuperações, em um nível de confiança de 95%. Este resultado indicaria que a adição de HNO<sub>3</sub> é importante para a titulação potenciométrica, no entanto, para a confirmação desta hipótese, necessita-se de estudos complementares com maior número de replicatas, bem como, avaliação de outros eletrólitos. Um dos motivos para o emprego de

ácido nítrico antes da titulação seria para padronizar a mobilidade dos íons em solução, ou ainda, para evitar a adsorção dos íons livres na superfície do retículo cristalino do eletrodo.

## 7.5 TITULAÇÃO DE MOHR

Os resultados referentes as recuperações obtidas por este método encontram-se na Tabela 7. Assim como nos demais casos, calculou-se o desvio-padrão e o coeficiente de variação para fins de comparação.

Tabela 7 - Resultados das recuperações obtidas nas análises realizadas via método de Mohr.

<b>Replicata</b>	<b>Massa NaCl adicionada (g)</b>	<b>Massa NaCl encontrada (g)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>1</b>	0,0437	0,0433	99,08
<b>2</b>	0,0437	0,0434	99,31
<b>3</b>	0,0419	0,0418	99,76
		<b>Média</b>	99,38
		<b>Desvio-padrão</b>	0,346
		<b>CV (%)</b>	0,4

Estes resultados sugerem que a determinação clássica é tão eficiente quanto a potenciométrica, pois apresentou valores de CV próximos aos dos encontrados nos ensaios de validação, sendo até melhores no caso da recuperação. Com isso, assim como visto no item anterior (7.4), aplicou-se um teste de diferenças entre médias para dados não pareados, com o intuito de avaliar se há diferença significativa entre as médias das recuperações obtidas nos dois métodos (utilizando o método de Mohr e utilizando a titulação potenciométrica). O teste revelou que não há diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) entre as recuperações, em um nível de confiança de 95%.

Apesar desta técnica apresentar resultados satisfatórios, cabe ressaltar uma de suas principais desvantagens: a dificuldade de visualização do ponto final. As Figuras 15 e 16 ilustram, respectivamente, o início da titulação e a proximidade do ponto final.

Figura 155 - Início da titulação de Mohr.



Figura 166 - Titulação próxima do ponto final (método de Mohr).



Esta dificuldade na percepção do ponto final pode influenciar a precisão do método, uma vez que depende da interpretação de cada operador. Este inconveniente não ocorre na titulação potenciométrica, já que o ponto final é determinado pelo salto na diferença de potencial. Outra importante desvantagem desta técnica é a geração de resíduos químicos perigosos. Os resíduos deste método contêm cromo VI, que é o estado de oxidação mais perigoso do cromo pois é carcinógeno. Os rejeitos gerados neste trabalho foram enviados ao Centro de Gestão e Tratamento de Resíduos Químicos (CGTRQ) da Universidade para o descarte adequado.

## 7.6 QUANTIDADE MÍNIMA DETECTÁVEL

A Tabela 8 exhibe os resultados obtidos nos testes de quantidade mínima detectável. As Figuras 17, 18 e 19, geradas no software Origin 6.1, apresentam os gráficos resultantes de uma das titulações. As demais replicatas apresentaram perfis muito semelhantes aos dos apresentados a seguir. As Figuras 18 e 19 são, respectivamente, a primeira e a segunda derivada da Figura 17.

Tabela 8 - Recuperações obtidas na avaliação da quantidade mínima de NaCl adicionada.

<b>Replicata</b>	<b>Massa NaCl adicionada (g)</b>	<b>Massa NaCl encontrada (g)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>1</b>	0,0044	0,0042	95,8
<b>2</b>	0,0043	0,0042	97,5
<b>3</b>	0,0044	0,0043	97,7
		<b>Média</b>	97,0
		<b>Desvio-padrão</b>	1,029
		<b>CV (%)</b>	1,06

Figura 177 - Gráfico que relaciona o potencial da f.e.m em função do volume gasto de titulante na avaliação da quantidade mínima detectável.

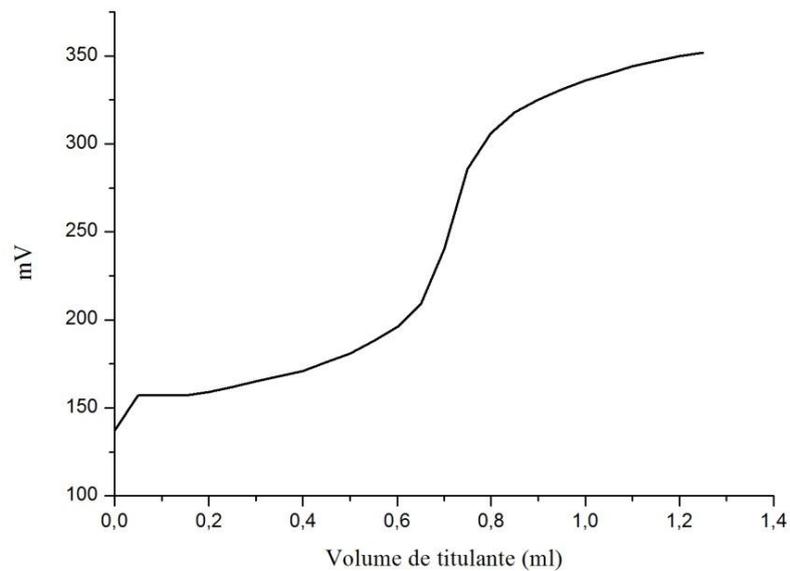


Figura 188 - Gráfico da primeira derivada da curva de titulação do ensaio de quantidade mínima detectável.

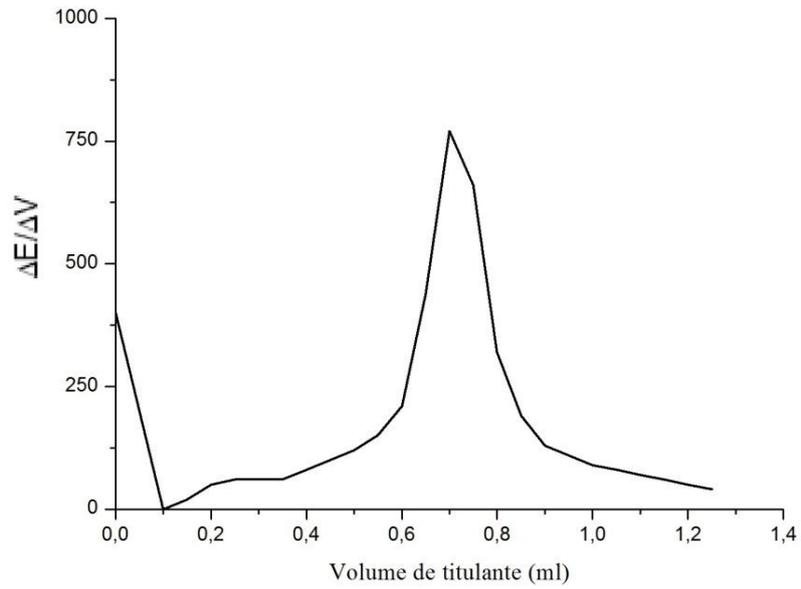
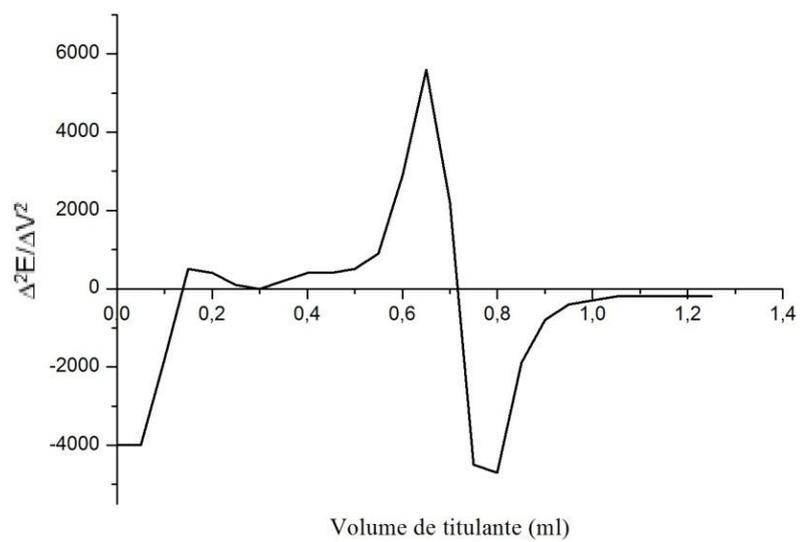


Figura 199 - Gráfico da segunda derivada da curva de titulação do ensaio de quantidade mínima detectável.



Estes resultados, apesar de apresentarem percentuais de recuperação quantitativos e encontrarem-se dentro do intervalo recomendado pela literatura (70 a 120%)<sup>37</sup>, são menores do que os encontrados nos ensaios anteriores. Esta diferença pode ser explicada pelo erro associado à etapa de pesagem, ao utilizar-se massas de NaCl dez vezes menores do que as utilizadas no restante deste trabalho. Neste caso, este erro é da ordem de 2% sobre a massa medida.

Além disso, dada a pequena massa de NaCl adicionada, verifica-se uma diminuição no salto potenciométrico, bem como oscilações na diferença de potencial, embora não tenham prejudicado a detecção do ponto final.

## 8 CUSTOS

A Tabela 9 apresenta uma estimativa dos investimentos necessários a um laboratório de controle de qualidade de biocombustíveis para implementação da metodologia proposta neste trabalho.<sup>44-51</sup>

Tabela 9 - Relação de materiais necessários para implementação da metodologia proposta em um laboratório de controle de qualidade.

<b>Ítem</b>	<b>Preço (R\$)</b>
Vidraria geral*	890,1
Banho de ultrassom	1.260,32
Balança analítica	4.051,30
Potenciômetro de bancada	1.239,50
Banho maria digital	1.298,50
Nitrato de prata P.A (100 g)	87,35
Agitador magnético multiposições	4.071,53
Bureta digital	4.199,00
Sistema purificador de água Milli-Q	34.149,00
<b>Total</b>	<b>51.246,60</b>

\*Os itens considerados como vidraria geral são: copo de béquer, funil de separação, pipeta volumétrica, pipetador e barra magnética.

Cabe lembrar que muitos dos itens apresentados na Tabela 9 já estão presentes em um laboratório de controle de qualidade, como por exemplo: balança analítica, banho maria e sistema purificador de água. Logo, o custo real de implementação é muito menor do que o mencionado.

Uma das vantagens desta metodologia, com relação à etapa de determinação do analito, é que a titulação potenciométrica pode ser feita com simples instrumentos de medida de potencial como, por exemplo, um potenciômetro de bancada. Isto é possível pois, como visto no Capítulo 2, esta técnica não é dependente de valores absolutos da f.e.m da célula, mas sim da variação do potencial ao longo da titulação. Sendo assim, o gasto com este tipo de

instrumento acaba sendo mínimo, de modo que este equipamento está disponível na maioria dos laboratórios.

A Tabela 10 exhibe uma estimativa dos custos para a execução de uma análise. Esta estimativa leva em consideração os reagentes utilizados, o consumo de energia elétrica e a remuneração equivalente a 1h de trabalho do técnico responsável pela execução da análise.<sup>47,52,53</sup>

Tabela 10 - Estimativa de custos para a execução de uma análise.

	<b>Preço (R\$)</b>
Energia elétrica consumida na etapa de extração	0,38
AgNO <sub>3</sub>	0,13
Analista (Técnico em Química)	9,40**
<b>Total</b>	<b>9,91</b>

\*\*Cálculo realizado com base na remuneração média de um profissional (R\$ 1.808,30).

Esta estimativa desconsidera os custos relacionados a serviços administrativos, depreciação dos equipamentos, consumo de água e os custos relativos ao tratamento dos resíduos gerados.

## 9 CONCLUSÃO

Neste trabalho apresentou-se uma proposta de metodologia analítica para a determinação de cloretos em amostras de biodiesel, uma vez que a concentração deste íon não é especificada no Regulamento Técnico nº 3/2014 da ANP. A etapa de pré-tratamento das amostras consistiu em uma extração líquido-líquido assistida por ultrassom, utilizando água desionizada como solvente extrator. A determinação do ânion foi realizada por meio de uma titulação potenciométrica, utilizando um eletrodo de calomelano saturado com dupla junção líquida ( $\text{KNO}_3$  10%) como eletrodo de referência e um fio de prata como eletrodo indicador.

Os resultados obtidos para os parâmetros de validação avaliados (repetibilidade, precisão intermediária e exatidão) foram satisfatórios, com percentuais de recuperação e coeficientes de variação adequados para a faixa de concentração trabalhada ( $160\text{-}1600 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e com resultados similares aos dos encontrados via método de Mohr. Contudo, cabe lembrar que a precisão do método de titulometria tradicional está relacionada com a interpretação do operador, visto que a detecção do ponto final é feita de maneira visual.

Os resultados alcançados nos testes de adição de  $\text{HNO}_3$  indicaram uma diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre as médias dos percentuais de recuperação do método modificado (com adição de ácido) e do método não modificado, em um nível de confiança de 95%. Isto indicaria que a adição de ácido influencia nos resultados da titulação potenciométrica, entretanto, para a confirmação desta hipótese, necessita-se de estudos complementares com maior número de replicatas, bem como, avaliação de outros eletrólitos.

Os ensaios de quantidade mínima detectável apresentaram recuperações quantitativas e o desvio padrão relativo encontrado foi adequado, mesmo com as oscilações de potencial visíveis na primeira e na segunda derivada da curva de titulação.

Embora este método não tenha detectado a presença de íons cloreto nas amostras avaliadas, este mostra-se promissor, com baixo custo de implementação, fácil execução e de acordo com os princípios da química verde.

## REFERÊNCIAS

1. DA ROCHA, G. O. et al. Química sem fronteiras: o desafio da energia. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1540–1551, 2013.
2. LÔBO, I. P. et al. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.
3. BRASIL. Lei n. 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira. Legislação Federal, Ministério de Minas e Energia.
4. BRASIL. Lei n. 13.033, de 24 de setembro de 2014. Dispõe sobre a adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado com o consumidor final. Legislação Federal, Ministério de Minas e Energia.
5. Boletim mensal do biodiesel. Superintendência de Refino, Processamento de Gás Natural e Produção de Biocombustíveis, março de 2015.
6. GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**, v 86, p. 1097-1107, 2005.
7. COSTA, B. J.; DE OLIVEIRA, S. M. M. Dossiê técnico: Produção de biodiesel. **Instituto de Tecnologia do Paraná**, 26 p, nov. 2006.
8. KNOTHE, G. et al. **The Biodiesel Handbook**. 1st ed. AOCS Publishing, 2005. 286 p.
9. JARDINE, J. G. et al. **Considerações sobre Biodiesel como Biocombustível Alternativo ao Diesel**. 1 ed. Campinas, SP: Embrapa Informática Agropecuária, 2009. 25 p..
10. Resolução ANP n. 45, de 25/08/2014, ANP - Agência Nacional do Petróleo, gás natural e biocombustíveis, publicada no Diário Oficial em 26 de agosto de 2014. Disponível em: <[http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes\\_anp/2012/maio/ranp%2014%20-%202012.xml](http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2012/maio/ranp%2014%20-%202012.xml)> Acesso em: 08 de maio de 2015.
11. GENTIL, V. **Corrosão**. 3 ed. Rio de Janeiro: LTC, 1996.
12. LANÇAS, F. M. The hole of the separation sciences in the 21th century. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 2, p. 183– 197, 2003.

13. HARVEY, D. **Modern Analytic Chemistry**. 1st ed. McGraw-Hill, 2000. 797 p.
14. SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Practical HPLC Method Development**. 2nd ed. New York: Wiley-Interscience, 1997. 800 p.
15. MILLER, J. M. **Separation methods in chemical analysis**. New York: Wiley-Interscience, 1975. 309 p.
16. QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.
17. DE CASTRO, M. D. L.; CAPOTE, F. P. Ultrasound-assisted preparation of liquid samples. **Talanta**, v. 72, p. 321-334, 2007.
18. KRUG, F. J. et al. **Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. 1 ed. Piracicaba: Krug F. J. ed., 2010, 340 p.
19. NASCENTES, C. C. et al. Use of Ultrasonic Baths for Analytical Applications: A New Approach for Optimisation Conditions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, n. 1, p. 57-63, 2001.
20. PICÓ, Y. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 84-99, 2013.
21. OHLWEILER, O.A. **Fundamentos de análise instrumental**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1981, 486 p.
22. CIENFUEGOS, F; VAITSMAN, D. **Análise instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000, 606 p.
23. SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de química analítica**. 8. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010, 1124 p.
24. SMITH, T. J.; STEVENSON, K. J. Reference Electrodes. In: ZOSKI, C. G. **Handbook of Electrochemistry**. 1st ed. Amsterdam: Elsevier, 2007. Cap. 4, p. 73-110.

25. BACCAN, N. et al. **Química Analítica Quantitativa Elementar**. 3a ed. Campinas: Edgard Blücher, 2001, 308 p.
26. NBR ISO/IEC 17025. Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Calibração e de Ensaios. Brasil ABNT, 2005.
27. ANVISA. Resolução RE no 899. Brasil, 2003..
28. INMETRO. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos - DOQCGCRE-008. Brasil, 2011.
29. RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**. v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.
30. ISO 5725-3:1994 (2001). Accuracy (trueness and precision) of Measurement Methods and Results - Part 3: Intermediate Measures of Precision of a Standard Measurement Method.
31. ALBANO, F. M.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T. **Validação e garantia da qualidade de ensaios laboratoriais**. 1 ed. Porto Alegre: Rede Metrológica RS, 2009. 136 p.
32. LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: RiMa, 2004. 62 p.
33. ICH. Validation of Analytical Procedures: Methodology. 1995.
34. THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**. v. 74, n. 5, p. 857–867, 2002.
35. CUADROS-RODRÍGUEZ, L. et al. Calibration in chemical measurement processes. II. A methodological approach. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 20, n. 11, p. 620–636, 2001.X
36. BURNS, D. T.; DANZER, K.; TOWNSHEND, A. Use of the term “recovery” and “apparent recovery” in analytical procedures. **Pure and Applied Chemistry**. v. 74, n. 11, p. 2201–2205, 2002.
37. ICH. Validation of analytical procedures. 1996.

38. ABNT NBR 10895:1990. Determinação do teor de íon cloreto por técnica potenciométrica.
39. ISO 15648:2004. Butter: Determination of salt content - Potentiometric method.
40. AOAC Official Method 971.27. Sodium Chloride in Canned Vegetables - Method III: Potentiometric Method, 2005.
41. SILVEIRA, E. L. C.; CALAND, L. B.; TUBINO, M. Simultaneous quantitative analysis of the acetate , formate , chloride , phosphate and sulfate anions in biodiesel by ion chromatography. **Fuel**. v. 124. p. 97–101. 2014.
42. DUGO, G. et al. Determination of inorganic anions in commercial seed oils and in virgin olive oils produced from de-stoned olives and traditional extraction methods , using suppressed ion exchange chromatography (IEC). **Food Chemistry**. v. 102. p. 599-605. 2007
43. CALAND, L. B.; SILVEIRA, E. L. C.; TUBINO, M. Determination of sodium , potassium , calcium and magnesium cations in biodiesel by ion chromatography. **Analytica Chimica Acta**. v. 718. p. 116-120. 2012.
44. LABORCHEMIKER. Disponível em: < <http://www.laborchemiker.com.br>>. Acesso em: 4 de junho de 2015.
45. LOJA SYNTH. Acessórios e equipamentos para laboratórios. Disponível em: <<http://www.lojasynth.com>>. Acesso em: 4 de junho de 2015.
46. LABFAST CIENTÍFICA. Disponível em: <<http://www.labfast.com.br>>. Acesso em: 4 de junho de 2015.
47. QUIMIBRAS INDÚSTRIAS QUÍMICAS S.A. Disponível em: <<http://www.quimibras.com.br>>. Acesso em: 4 de junho de 2015.
48. DELLTA. Equipamentos para laboratório. Disponível em: < <http://www.dellta.com.br>>. Acesso em: 4 de junho de 2015.
49. HIPPERQUÍMICA. Equipamentos para laboratórios. Disponível em: <<http://www.hipperquimica.com.br>>. Acesso em: 4 de junho de 2015.

50. ALPAX. Disponível em: <<http://www.alpax.com.br>>. Acesso em: 4 de junho de 2015.
51. DIDATICA SP. Artigos e equipamentos para laboratórios. Disponível em: <<http://www.didaticasp.com.br>>. Acesso em: 4 de junho de 2015.
52. ANEEL. Agência Nacional de Energia Elétrica. Disponível em: <<http://www.aneel.gov.br>>. Acesso em: 4 de junho de 2015.
53. AQUI TEM RH. Disponível em: <<http://www.aquitemrh.com.br>>. Acesso em: 4 de junho de 2015.