

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DESENVOLVIMENTO DE BARRA MAGNÉTICA COM REVESTIMENTO
MONOLÍTICO DE CELULOSE PARA EXTRAÇÃO SORTIVA (SBSE) DE GLICEROL
EM BIODIESEL**

Discente: **Pablo Henrique Silva Martins**

Orientador: **Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria**

Ituiutaba, 2023

PABLO HENRIQUE SILVA MARTINS

**DESENVOLVIMENTO DE BARRA MAGNÉTICA COM REVESTIMENTO
MONOLÍTICO DE CELULOSE PARA EXTRAÇÃO SORTIVA (SBSE) DE GLICEROL
EM BIODIESEL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Biocombustíveis do Instituto de Química da
Universidade Federal de Uberlândia, atendendo ao
requisito para a obtenção do título de Mestre em
Ciências e Tecnologia de Biocombustíveis.

Discente: **Pablo Henrique Silva Martins**

Orientador: **Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria**

Linha de pesquisa: **Produtos e coprodutos**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

M386 2023	Martins, Pablo Henrique Silva, 1997- Desenvolvimento de barra magnética com revestimento monolítico de celulose para extração sortiva (SBSE) de glicerol em biodiesel [recurso eletrônico] / Pablo Henrique Silva Martins. - 2023. Orientador: Anizio Marcio de Faria. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Biocombustíveis. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.480 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações. 1. Biocombustível. I. Faria, Anizio Marcio de ,1977-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós- graduação em Biocombustíveis. III. Título. CDU: 662.756
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em
Biocombustíveis

Av. João Naves de Ávila, 2121 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902

Telefone: (34) 3239-4385 / 4208 - www.iq.ufu.br - ppbic@iqufu.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Biocombustíveis				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 047, PPBGBIOCOM				
Data:	14 de agosto de 2023	Hora de início:	09:00	Hora de encerramento:	11:15
Matrícula do Discente:	12112PGB002				
Nome do Discente:	Pablo Henrique Silva Martins				
Título do Trabalho:	Desenvolvimento de barra magnética com revestimento monolítico de celulose para extração sortiva (SBSE) de glicerol em biodiesel				
Área de concentração:	Biocombustíveis				
Linha de pesquisa:	Produtos e co-produtos				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Desenvolvimento de sistemas miniaturizados de preparação de amostra onepot baseados em sorventes monolíticos na ponteira de micropipeta				

Reuniu-se em ambiente virtual, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis, assim composta pelos Professores Doutores: Alexandre Soares dos Santos, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz, da Universidade Federal de Viçosa; e Anizio Marcio de Faria, orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). Anizio Marcio de Faria, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Anizio Marcio De Faria, Professor(a) do Magistério Superior**, em 14/08/2023, às 11:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Soares dos Santos, Usuário Externo**, em 14/08/2023, às 15:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz, Usuário Externo**, em 14/08/2023, às 20:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4658197** e o código CRC **900E87C6**.

Não há exemplo maior de dedicação do que o da nossa família. À minha querida família e em especial a minha vó Irene Alves, que tanto admiro e que sempre me incentivou. Ao meu eterno professor Larri Vidica (*in memoriam*). A vocês dedico o resultado do esforço realizado ao longo deste percurso.

“Você pode dizer que sou um sonhador,
mas eu não sou o único, eu espero que
algum dia você se junte a nós.”

John Lennon

AGRADECIMENTOS

O universo conspira muito ao nosso favor. E é por isso que agradeço a Deus e ao universo, por todos os acontecimentos que por uma razão tiveram como fruto, encontros e desencontros, que mudaram o rumo de minha vida como um todo!

Aos meus amados pais, Raquel Aparecida e Paulo César e avó, Ireni Alves da Silva, agradeço por todo o suporte e por toda a torcida pelo meu sucesso. Serei eternamente grato!

Ao meu grande amor, Leonardo, agradeço o companheirismo, por me inspirar todos os dias, por sempre me colocar para cima e principalmente enxergar um potencial que muitas vezes eu não consigo ver em mim mesmo.

Ao meu querido orientador Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria, por todo o suporte, aprendizado, paciência e principalmente por toda a confiança e afeto que sempre demonstra por seus orientandos.

A todos os amigos do CT-Infra III, que transformaram todas as preocupações em momentos alegres de descontração.

Ao meu grupo de pesquisa CROMAT, em especial ao Allyson e a Laís, por estarem sempre dispostos a ajudar no que fosse necessário, pela atenção e cuidado e principalmente pela acolhida desde o primeiro dia de laboratório. Levarei todos os momentos e a amizade de vocês para o resto de minha vida; A querida Poly, pelos momentos eternizados e pela ajuda de sempre, no desenvolvimento dos monolitos e pela análise da microscopia eletrônica de varredura.

Aos professores e técnicos do Pontal por toda colaboração, em ênfase a Prof. Dra. Rosana Maria N. de Assunção, por toda as contribuições no entendimento das análises térmicas e todo carinho.

Aos meus amigos que o mestrado trouxe, Ludmila, Witter e Karolynne, por transformar os meus dias de ida ao laboratório mais alegres e, especialmente, por sempre me acalmar nas horas de desespero e afastar os pensamentos de desistência. Sem vocês, com certeza, não haveria o mesmo desfecho dessa história.

A equipe maravilhosa da Sucuri Tend Tudo, em particular ao Leandro, Líbia e Luciene pela compreensão e por tornar possível adaptar toda a rotina de trabalho com o presente estudo. Toda a minha gratidão!

Às agências de fomento que viabilizaram a realização desta pesquisa: à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento do projeto de pesquisa (APQ-1901-22); à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pela infraestrutura laboratorial (código: 01.11.0135.00) e equipamentos (código: 01.13.0371.00)

A todos que colaboraram de alguma forma, meu muito obrigado, de coração, por não desistirem e por fazerem com que eu não desistisse também e, principalmente, por estarem comigo em todos os momentos dessa jornada!

RESUMO

A transesterificação do óleo vegetal com álcoois de cadeia curta resulta na produção do biodiesel e do glicerol como co-produto. Após purificação, o teor máximo de glicerol livre no biodiesel não deve exceder 0,02 % (m/m), uma vez que sua presença pode entupir o bico de injeção, liberar vapores tóxicos durante a combustão e causar danos ao motor. O teor de glicerol é um parâmetro importante de qualidade do biocombustível. Os métodos oficiais para determinar o teor de glicerol livre no biodiesel empregam a cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama, requerendo o uso de derivatizante, padrões internos e condições instrumentais próximas ao limite dos equipamentos. Nesta proposta buscou-se desenvolver um método alternativo para determinação de glicerol livre em biodiesel mais simples, sustentável, econômico e acessível aos laboratórios de análise. O método foi baseado na extração do glicerol do biodiesel, empregando a extração sortiva em barra de agitação (SBSE), preparada em laboratório, e a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração como técnica de análise. A barra de agitação foi preparada pelo revestimento de ímãs de neodímio com celulose monolítica sintetizada pelo método de separação de fases induzida por um não-solvente. Os monolitos foram produzidos a partir do acetato de celulose comercial que foi posteriormente convertido em celulose por hidrólise alcalina. A confirmação da obtenção do monolito de celulose ocorreu pelo desaparecimento de sinais característicos dos grupos acetato por espectroscopia no infravermelho, e pela mudança de propriedades térmicas do material por calorimetria exploratória diferencial. Os monolitos apresentaram estrutura hierarquicamente porosa como observado por microscopia eletrônica de varredura. As barras de agitação de celulose monolítica foram empregadas na otimização da extração de glicerol do oleato de metila fortificado, obtendo tempo de adsorção de 60 min e de dessorção de 15 min, temperatura de 70 °C, água como solvente de dessorção e comprimento da barra de agitação de 10×5 mm, resultando em uma taxa de recuperação de $93,6 \pm 2,1$ % (m/m) de glicerol. A metodologia proposta foi validada, resultando em limites de detecção de $6,6 \times 10^{-5}$ % (m/m) e de quantificação de $2,9 \times 10^{-4}$ % (m/m), boa linearidade e alta sensibilidade de resposta analítica. Os resultados de determinação de glicerol livre no biodiesel foram comparáveis ao método AOCS ca. 14-56 com a vantagem de requerer poucas etapas, baixa manipulação do analista, baixo custo e não usar qualquer reagente químico prejudicial ao ambiente, sendo totalmente compatível com os princípios de sustentabilidade.

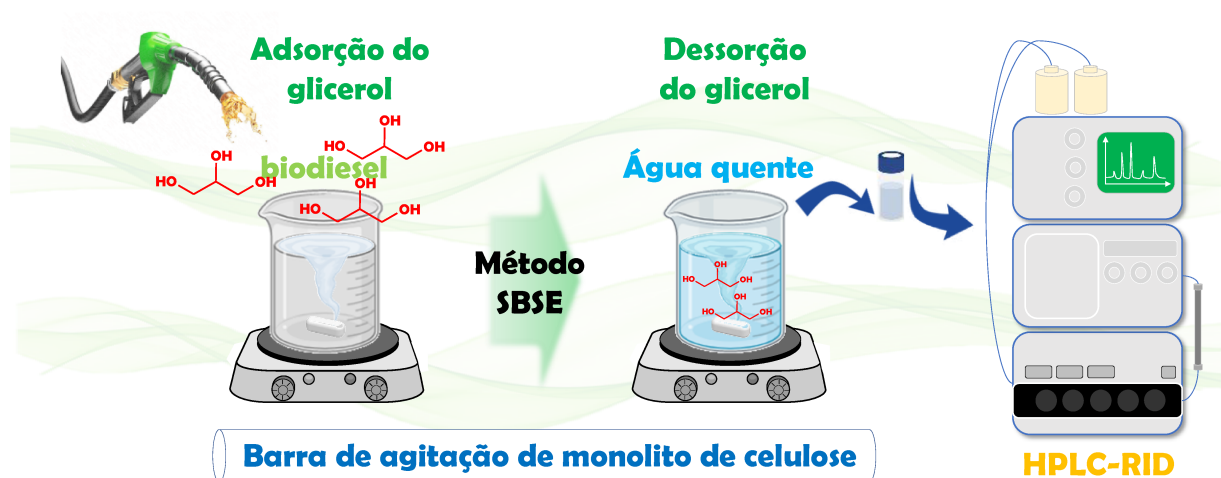
Palavras-Chaves: cromatografia líquida, índice de refração, barra de agitação sortiva, acetato de celulose, monolito.

ABSTRACT

The transesterification of vegetable oil with short-chain alcohols results in biodiesel and glycerol as a co-product. After purification, the maximum content of free glycerol in biodiesel must not exceed 0.02 % (m/m) since its presence can clog the injection nozzle, release toxic vapors during combustion and cause damage to the engine. The glycerol content is an essential biofuel quality parameter. The official methods to determine the free glycerol content in biodiesel employ gas chromatography with flame ionization detection, requiring derivatizing reagents, internal standards, and limited instrumental conditions. In this proposal, we developed an alternative method for determining free glycerol in biodiesel that is simpler, sustainable, economical, and accessible to analysis laboratories. The methodology was based on glycerol extraction from biodiesel using a lab-made stir bar sorptive extraction (SBSE) and high-performance liquid chromatography with refractive index detection as an analytical technique. The sorptive stir-bar was prepared by coating neodymium magnets with monolithic cellulose, synthesized by the non-solvent-induced phase separation method. We produced monoliths using commercial cellulose acetate, which was converted into cellulose by alkaline hydrolysis. The cellulose monolith was confirmed by the disappearance of acetate group signs in infrared spectroscopy and by the thermal properties of the monoliths by differential scanning calorimetry. The monoliths showed a hierarchically porous structure by scanning electron microscopy. Glycerol extraction from the fortified methyl oleate was optimized using the monolithic cellulose stir bars, obtaining an adsorption time of 60 min and a desorption time of 15 min, a temperature of 70 °C, water as a desorption solvent and bar length of stirring of 10×5 mm, resulting in a recovery rate of 93.6 ± 2.1 % (m/m) of glycerol. The proposed methodology was validated, resulting in limit of detection of 6.6×10^{-5} % (m/m) and limit of quantification of 2.9×10^{-4} % (m/m), good linearity, and high response sensitivity analytics. The results for determining free glycerol in biodiesel were comparable to the AOCS ca. 14-56 with the advantage of requiring few steps, low manipulation by the analyst, low cost, and not using any chemical reagent harmful to the environment, being fully compatible with the principles of sustainability.

Keywords: liquid chromatography, refractive index, sorptive stir bar, cellulose acetate, monolith.

RESUMO GRÁFICO



Neste trabalho, foi proposta um novo método de determinação de glicerol livre em biodiesel baseada na extração sortiva em barra de agitação seguida da análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração, sem o uso de qualquer reagente químico, solvente orgânico ou aparato/dispositivo sofisticado e de alto custo. Foram preparados monolitos de celulose como barras de agitação adsorventes, a qual resultou em um método com poucas etapas e baixa manipulação do analista e totalmente compatível com os Princípios da Química Verde, uma vez que a água foi o único solvente químico empregado no processo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reação de Transesterificação. _____	25
Figura 2. Representação da reação de derivatização do glicerol com MSTFA. _____	28
Figura 3. Representação de uma barra SBSE. 1- barra magnética; 2- revestimento de vidro; 3- fase polimérica. _____	32
Figura 4. Estrutura monomérica da celulose. _____	35
Figura 5. Fluxograma para produção do monolito de acetato de celulose. _____	38
Figura 6. Esquema de conversão dos monolitos de acetato em celulose em monolitos de celulose. _____	39
Figura 7. Ímãs de neodímio cilíndricos com 8 mm de comprimento por 3 mm de diâmetro. _____	39
Figura 8. Esquema de produção das barras magnéticas revestidas com monolito de celulose. _____	40
Figura 9. Fluxograma do estudo do grau de inchamento do monolito de celulose. _____	41
Figura 10. Esquema para medida da porosidade total dos monolitos de celulose. _____	42
Figura 11. Sistema de reação em refluxo para obtenção do oleato de metila. _____	44
Figura 12. Esquema empregado para a separação da fração do oleato de metila. _____	45
Figura 13. Ilustração para a caracterização cromatográfica do oleato de metila. _____	46
Figura 14. Fotografia de um monolito de acetato de celulose produzido neste trabalho com dimensões de aproximadamente 10 mm de comprimento por 5 mm de diâmetro. _____	50
Figura 15. Espectros FTIR dos monolitos de acetato de celulose e de celulose. _____	51
Figura 16. Fotografia de um monolito de celulose obtido após a desacetilação do monolito de acetato de celulose. _____	52
Figura 17. Curvas do TGA para os monolitos de (a) acetato de celulose e (b) celulose. _____	53
Figura 18. Curvas DSC para os monolitos de acetato de celulose e de celulose. _____	54
Figura 19. Curvas DSC de segunda varredura para os monolitos de celulose e de acetato de celulose. _____	55
Figura 20. Gráfico de inchamento dos monolitos de celulose. _____	56
Figura 21. Porosidade (%) do monolito de celulose obtido pelo método gravimétrico de saturação com n-butanol. _____	57
Figura 22. Micrografias eletrônicas de varredura dos monolitos de celulose: a) corte transversal (fratura) e b) superficial _____	58

- Figura 23. Cromatograma de frações do meio reacional de esterificação do ácido oleico a oleato de metila por catálise ácida obtida após (a) 60 min e (b) 120 min de reação. Condições de análise na seção experimental. Identificação dos picos: 1- solvente (tolueno); 2- heptadecanoato de metila (padrão interno); 3- oleato de metila; 4- ácido oleico; demais picos são impurezas e resíduos de reagentes. 60
- Figura 24. Imagem dos frascos contendo o oleato de metila obtido após o processo de purificação com lavagem com água e remoção de umidade. _____ 61
- Figura 25. Cromatograma de uma mistura de (1) glicerol a 0,02 % (m/m) e (2) oleato de metila a 0,02 % (m/m) em água. Condições de análise: coluna Aminex HPX-87H 300 × 7,8 mm, fase móvel sol. H₂SO₄ a 5 mmol L⁻¹, vazão de 0,6 mL min⁻¹, temperatura de 35 °C, detector RID a 35 °C. _____ 62
- Figura 26. Quantidade extraída de glicerol em função do tempo de contato da barra de agitação de celulose monolítica com a amostra de biodiesel. Velocidade de agitação magnética: 200 rpm, eluente: água, volume de eluente: 5 mL, tempo de dessorção: 15 min, temperatura: ~27 °C. _____ 63
- Figura 27. Taxas de extração de glicerol (%) em função do tempo de dessorção do glicerol da barra de agitação para o eluente. Velocidade de agitação magnética: 200 rpm, eluente: água, volume de eluente: 5 mL, tempo de adsorção: 60 min, temperatura: ~27 °C. _____ 64
- Figura 28. Taxas de extração de glicerol (%) em função do tipo de solvente para dessorção do glicerol da barra de agitação de celulose monolítica. Velocidade de agitação magnética: 200 rpm, volume de eluente: 5 mL, tempo de adsorção: 60 min, tempo de dessorção: 15 min, temperatura: ~27 °C. _____ 65
- Figura 29. Taxas de extração de glicerol (%) em função das dimensões da barra de agitação de celulose monolítica para extração do glicerol de biodiesel. Velocidade de agitação magnética: 200 rpm, eluente: água ultrapura, volume de eluente: 5 mL, tempo de adsorção: 60 min, tempo de dessorção: 15 min, temperatura: ~27 °C. _____ 66
- Figura 30. Taxas de extração de glicerol (%) em função da temperatura do processo de extração SBSE de glicerol de biodiesel. Velocidade de agitação magnética: 200 rpm, eluente: água ultrapura, volume de eluente: 5 mL, tempo de adsorção: 60 min, tempo de dessorção: 15 min. _____ 67
- Figura 31. Cromatogramas de (a) uma amostra de biodiesel e do (b) extrato de uma amostra fortificada com 0,02 % (m/m) de glicerol, empregando o método SBSE com barra de agitação de celulose monolítica. Fase móvel: sol. H₂SO₄ 5 mmol L⁻¹, vazão de 0,6 mL min⁻¹, temperatura 35 °C, detecção RID. _____ 68
- Figura 32. Curva analítica para soluções aquosas de glicerol, empregando o método SBSE-HPLC-RID. 70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Marco histórico do biodiesel no Brasil. _____	23
Tabela 2. Contaminantes no Biodiesel e suas implicações aos motores a combustão. _____	25
Tabela 3. Especificações para qualidade do biodiesel e os métodos de referência. _____	27
Tabela 4. Métodos de extração empregados na extração de glicerol de biodiesel. _____	31
Tabela 5. Condições cromatográficas para análise do oleato de metila. _____	45
Tabela 6. Condições cromatográficas para análise do glicerol por HPLC-RID. _____	46
Tabela 7. Condições experimentais avaliadas na otimização do método SBSE de glicerol de biodiesel, empregando barras de agitação revestidas com celulose monolítica. _____	48
Tabela 8. Principais atribuições de sinais registrados nos espectros FTIR dos monolitos CA e celulose. _____	51
Tabela 9. Grau de inchamento dos monolitos de celulose. _____	55
Tabela 10. Razão entre as áreas de pico do oleato de metila e do pico do padrão interno em função do tempo de reação de esterificação do ácido oleico com metanol. _____	59
Tabela 11. Parâmetros analíticos do método SBSE-HPLC-RID empregando barra de agitação de celulose monolítica. _____	70
Tabela 12. Concentrações de glicerol livre em biodiesel obtidas pelo método SBSE-HPLC-RID com barra de agitação revestida com celulose monolítica e pelo método AOCS Ca. 14-56. _____	71
Tabela 13. Comparação entre o método proposto e outros reportados na literatura. _____	72

LISTA DE ABREVIATURAS

ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis	
AOCS	Sociedade Americana dos Químicos de Óleos	<i>American Oil Chemist's Society</i>
ASTM	Sociedade americana para testagens e materiais	<i>American Society for Testing and Materials</i>
ATR	Reflectância total atenuada	<i>Attenuated total reflectance</i>
CA	Acetato de celulose	<i>Cellulose acetate</i>
CEN	Comitê europeu de padronização	<i>Comité Européen de Normalisation</i>
CMSB	Barra de agitação revestida com monolito de celulose	<i>Cellulose monolith stir bar</i>
DAD	Detector de arranjo de diodos	Diode array detector
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva	<i>Dispersive liquid-liquid microextraction</i>
DMF	Dimetilformamida	<i>Dimethylformamide</i>
DSC	Calorimetria exploratória diferencial	<i>Differential scanning calorimetry</i>
ELSD	Detector evaporativo por espalhamento de luz	<i>Evaporative light scattering detector</i>
FID	Detector de ionização em chama	<i>Flame ionization detector</i>
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier	<i>Fourier-transform infrared Spectroscopy</i>
GC	Cromatografia gasosa	<i>Gas chromatography</i>
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência	High-performance liquid chromatography
ISO	Organização internacional para padronização	<i>International Organization for Standardization</i>
LLE	Extração líquido-líquido	<i>Liquid-liquid extraction</i>
LOD	Limite de detecção	<i>Limit of detection</i>
LOQ	Limite de quantificação	<i>Limit of quantification</i>
MH	Heptadecanoato de metila	<i>Methyl heptadecanoate</i>
MIP	Polímero impresso molecularmente	<i>Molecularly imprinted polymer</i>
MO	Oleato de metila	<i>Methyl oleate</i>
MS	Espectrometria de massa	<i>Mass spectrometry</i>
MSTFA	N-metil-N-trimetilsilil trifluoroacetamida	<i>N-methyl-N-trimethylsilyl trifluoroacetamide</i>
NIPS	Separação de fases induzida por um não-solvente	<i>Nonsolvent-induced phase separation</i>
PA	Poli(acrilato)	<i>Poly(acrylate)</i>
PCL	Poli(caprolactona)	<i>Poly(caprolactone)</i>

PDMS	Poli(dimetilsiloxano)	<i>Poly(dimethylsiloxane)</i>
PEG	Poli(etilenoglicol)	<i>Poly(ethyleneglycol)</i>
PNPB	Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel	
PTV	Temperatura de vaporização programável	<i>Programmable temperature vaporization</i>
RAM	Material de acesso restrito	<i>Restricted access materials</i>
RID	Detector de índice de refração	<i>Refractive index detector</i>
RSD	Desvio padrão relativo	<i>Relative standard deviation</i>
SBSE	Extração sortiva em barra de agitaçãoq	<i>Stir bar sorptive extraction</i>
SEM	Microscopia eletrônica de varredura	<i>Scanning electron microscopy</i>
SPE	Extração em fase sólida	<i>Solid phase extraction</i>
TGA	Análise termogravimétrica	<i>Thermogravimetric analysis</i>
UV-vis	Ultravioleta-visível	<i>Ultraviolet-visible</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo geral	20
2.2 Objetivos específicos	20
3 JUSTIFICATIVA	21
4 REFERENCIAL TEÓRICO	22
4.1 Biodiesel: história, conceito e característica	22
4.2 Formas de obtenção do biodiesel	24
4.3 Contaminantes do biodiesel	25
4.4 Métodos de referência para quantificação de glicerol no biodiesel	26
4.4.1 Métodos alternativos para determinação de glicerol em biodiesel	28
4.5 Cromatografia líquida aplicada a análise de biodiesel	29
4.5.1 Métodos de preparação de amostras empregados na extração de glicerol em biodiesel	30
4.6 Extração sortiva em barra de agitação (SBSE): conceito e funcionamento	32
4.6.1 Revestimentos utilizados como fase extratoras seletivas	33
4.7 Celulose	34
4.7.1 Uso da celulose na purificação de biodiesel	35
5 MATERIAIS E MÉTODOS	37
5.1 Celulose	37
5.2 Preparação dos monolitos de celulose	37
5.2.1 Preparação dos monolitos de acetato de celulose	37
5.2.2 Hidrólise dos monolitos de acetato de celulose	38
5.2.3 Preparação das barras magnéticas monolíticas de celulose para extração sortiva	39
5.3 Caracterização físico-química e morfológica dos monolitos	40
5.3.1 Estudo do grau de inchamento dos monolitos	40
5.3.2 Estudo da porosidade total dos monolitos celulósicos	41

5.3.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier	42
5.3.4 Análise termogravimétrica	42
5.3.5 Calorimetria exploratória diferencial	43
5.3.6 Microscopia eletrônica de varredura	43
5.4 Extração de glicerol usando a barra de agitação revestida com o monolito de celulose	43
5.4.1 Esterificação de ácido oleico com metanol via catálise homogênea	44
5.4.1.1 Análise do produto reacional por cromatografia gasosa	45
5.5 Desenvolvimento de método de análise de glicerol por HPLC-RID	46
5.5.1 Preparação da curva analítica para o glicerol	47
5.6 Desenvolvimento de método SBSE para a extração de glicerol de biodiesel	47
5.6.1 Fortificação do oleato de metila com glicerol	47
5.6.2 Otimização da extração SBSE de glicerol de biodiesel	47
5.7 Validação do método SBSE para extração de glicerol de biodiesel	48
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
6.1 Obtenção dos monolitos de celulose	50
6.2 Caracterização físico-química e morfológica dos monolitos celulósicos	51
6.2.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier	51
6.2.2 Análise termogravimétrica	52
6.2.3 Calorimetria exploratória diferencial	53
6.2.4 Grau de inchamento dos monolitos de celulose	55
6.2.5 Porosidade total dos monolitos de celulose	56
6.2.6 Microscopia eletrônica de varredura	57
6.3 Desenvolvimento de método de análise de glicerol por HPLC-RID	59
6.3.1 Esterificação do ácido oleico	59
6.3.2 Otimização das condições de análise do glicerol por HPLC-RID	61
6.4 Otimização do método SBSE para extração de glicerol de biodiesel	62
6.4.1 Estudo do tempo de adsorção	63
6.4.2 Estudo do tempo de dessorção	64

6.4.3 Efeito do solvente de dessorção	65
6.4.4 Efeito do comprimento da barra de agitação	66
6.4.5 Efeito da temperatura na adsorção/dessorção do glicerol	67
6.5 Validação da metodologia SBSE-HPLC-RID	68
7 CONCLUSÕES	73
REFERÊNCIAS	74

1 INTRODUÇÃO

A demanda energética vem aumentando gradativamente nas últimas décadas em diversos setores e, atender esse consumo, vem se tornando um grande desafio para toda a sociedade. Como consequência do uso desenfreado dos combustíveis de origem fóssil, ocorre um aumento nos índices de emissão de gases do efeito estufa, extremamente prejudiciais ao meio ambiente, necessitando de combustíveis alternativos, renováveis e processos de descarbonização no setor de transporte (PETRACIC; SANDER; MAGIC, 2017).

O biodiesel é um combustível com potencial para ser utilizado como alternativa ao diesel de petróleo por aliar vantagens relacionadas a biodegradabilidade e a menor toxicidade, além de baixa emissão de CO₂ e hidrocarbonetos e ausência de enxofre. A sua produção se baseia na reação de transesterificação dos triglicerídeos de óleos vegetais e/ou gorduras animais com um álcool de cadeia curta, tendo como subprodutos uma mistura de ésteres de ácidos graxos e o glicerol, em duas fases imiscíveis entre si (BARROS; WUST; MEIER, 2008). Em relação a sua utilização, se destacam os países da União Europeia, Brasil, Estados Unidos e Argentina, tendo a comercialização centrada nas misturas compulsórias de porcentagens ao diesel de petróleo, atendendo as legislações locais vigentes (MAZIVILA *et al.*, 2015). Na França por exemplo, foi adotada a mistura de 30 % de biodiesel no diesel (B30); já nos Estados Unidos utiliza-se o diesel B20 (com adição de 20 % de biodiesel); e no Brasil, a partir de 1º de abril de 2023, a mistura de biodiesel no diesel foi ampliada de 10 % para 12 % (B12). Em 2024, o percentual subirá para 13 % e, em 2026, chegará aos 15 % (B15) (SIQUEIRA *et al.*, 2019; CNPE, 2023).

Atualmente, existe um conjunto de variáveis que impactam diretamente as características do biodiesel, como algumas impurezas que influenciam no desempenho do motor de modo geral, além de sua vida útil. Como uma garantia da qualidade e cumprimento das legislações vigentes, se torna necessária uma adequação de teores máximos de contaminantes existentes nesse biocombustível, como por exemplo os níveis de glicerol disperso na mistura de ésteres de ácidos graxos. O glicerol acarreta uma série de problemas que vão desde o entupimento do sistema de injeção até a emissão de acroleína, substância tóxica e extremamente prejudicial ao meio ambiente. Além disso, a presença do glicerol ocasiona o deslocamento do equilíbrio da reação de transesterificação de biodiesel no sentido inverso, tendo como resultado a obtenção de triglicerídeos e álcool, reduzindo drasticamente o rendimento do biodiesel (HO *et al.*, 2015).

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) determina uma quantidade máxima de glicerol livre presente no biodiesel de cerca de 0,020 % em massa e de glicerol total em 0,25 % em massa, requerendo processos eficazes de remoção deste contaminante,

bem como metodologias para monitorar o teor de glicerol no biodiesel (ANP, 2023). A remoção do glicerol do biodiesel normalmente é realizada por lavagens com água, removendo-o por partição devido à sua polaridade (PITT; DOMINGOS; BARROS, 2019). Para determinação do teor de glicerol no biodiesel, após a etapa de remoção, o método recomendado é baseado na análise de uma porção do biodiesel por cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama - métodos EN14105 ou ASTM D6585 (CEN, 2003; ASTM, 2003). Porém, estes métodos requerem a derivatização do glicerol com N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA, *N-methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide*), o uso de um padrão interno o 1,2,4-butanotriol, um sistema de injeção com vaporização em temperatura programável (PTV, *programmable temperature vaporization*) e temperatura final do forno da coluna de 370/380 °C e do detector de 380 °C. Essas condições tornam a determinação do teor de glicerol limitada, principalmente devido às condições instrumentais associada à cromatografia gasosa, já que a temperatura limite nos equipamentos convencionais é de 350 °C.

Assim, o desenvolvimento de novos métodos para a determinação de glicerol em biodiesel de forma eficiente e, principalmente, mais acessível aos laboratórios de análise tem sido impulsionado nos últimos anos. Dentro deste contexto, este trabalho visou desenvolver um método para determinação de glicerol livre em biodiesel empregando a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração (HPLC-RID, *high-performance liquid chromatography with refractive index detector*). Nesta proposta, o glicerol na amostra de biodiesel foi submetido à extração sortiva em barra de agitação (SBSE, *stir bar sorptive extraction*). A SBSE se baseia na partição de analitos para a camada sorvente, que reveste um ímã magnético, durante a agitação da amostra com a barra de agitação. A seletividade da barra de agitação pelo glicerol foi obtida a partir do revestimento com celulose monolítica. A SBSE vem sendo explorada nas extrações de fármacos, agrotóxicos, contaminantes emergentes, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos etc. em diferentes amostras (CHAVES; QUEIROZ, 2008; DAVID; OCHIAI; SANDRA, 2019), apresentando-se com bastante potencial para a extração do glicerol.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Esta proposta teve como objetivo principal desenvolver um método para a determinação de glicerol livre em biodiesel a partir da extração sortiva em barra de agitação revestida com celulose monolítica e posterior quantificação dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com detector de índice de refração.

2.2 Objetivos específicos

Para alcançar o objetivo geral, foram necessárias alcançar algumas etapas/objetivos específicos, tais como:

- Preparar os monolitos de celulose e produzir as barras sortivas de agitação;
- Caracterizar físico-química e morfológicamente os monolitos de celulose produzidos;
- Otimizar e validar as condições experimentais para a extração do glicerol de biodiesel, empregando o método SBSE com barra magnética revestida com a celulose monolítica.

3 JUSTIFICATIVA

O desenvolvimento de novas metodologias analíticas para determinação de glicerol no biodiesel, é uma alternativa aos métodos padrão que empregam (i) técnicas volumétricas com uso de vários reagentes químicos e alguns extremamente tóxicos (AOCS, 2017), ou; (ii) a técnica de cromatografia gasosa (GC, *gas chromatography*), que embora seja muito utilizada para quantificar o glicerol livre em biodiesel, apresenta alguns inconvenientes, como a necessidade da acetilação das hidroxilas livres ou derivatização do glicerol e acilgliceróis, visando torná-los mais voláteis e viabilizando suas análises por GC (COZENDEY *et al.*, 2021). Além disso, na determinação de glicerol em biodiesel por GC são registrados picos para a mistura de ésteres, que são os componentes majoritários do biodiesel (> 96 %), bem como picos para os resíduos da reação de transesterificação e da reação de derivatização, tornando o cromatograma mais ‘poluído’ e podendo, inclusive, comprometer a quantificação do glicerol. Assim, a extração eficiente e seletiva do glicerol das amostras de biodiesel, com posterior análise por um método cromatográfico, pode resultar em uma quantificação mais exata e precisa do contaminante, assegurando a qualidade do biodiesel produzido. No entanto, a etapa de extração do glicerol deve ser simples, rápida e de baixo custo para que o método de determinação do glicerol seja, de fato, uma solução atraente em contraposição à metodologia recomendada. A extração sortiva em barra de agitação (SBSE) se apresenta como um potencial método de preparação da amostra de biodiesel na determinação do glicerol livre. A SBSE baseia-se na extração dos compostos de interesse durante uma etapa de agitação da amostra com uma barra magnética revestida com um material adsorvente seletivo a esses compostos, seguida de uma etapa de dessorção, sob agitação da barra magnética, em um solvente puro e de alta solubilidade para os compostos (NOGUEIRA, 2012). A celulose tem se mostrado eficiente para a adsorção de glicerol (REIS *et al.*, 2020) podendo ser utilizada, portanto, como revestimento da barra de agitação no método SBSE. A análise do extrato por cromatografia líquida de alta eficiência também se apresenta como uma alternativa mais viável para a quantificação do glicerol uma vez que as condições operacionais da análise por GC requerem temperaturas de forno de coluna e de detector acima da temperatura limite dos equipamentos convencionais, > 350 °C.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Biodiesel: história, conceito e característica

O biodiesel é um combustível renovável obtido pela reação de transesterificação entre os triglicerídeos presentes no óleo vegetal e na gordura animal com um álcool de cadeia curta, metanol ou etanol, tendo como subprodutos os ésteres de ácidos graxos e o glicerol. Essa fração do éster é o biodiesel, que poderá ser destinado à comercialização desde que tenha garantida sua qualidade. Para isso, se torna necessário um conjunto de etapas de purificação que visam o atendimento às especificações definidas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e às normas internacionais como a *American Society for Testing and Materials* (ASTM), *International Organization for Standardization* (ISO) e *Comité Européen de Normalisation* (CEN) (ANP, 2023).

A utilização de óleos e gorduras como combustível foi pensada e testada pelo engenheiro alemão Rudolf Christian Karl Diesel, o inventor do motor que leva o seu nome. Diesel apresentou em uma feira internacional de Paris em 1900, um pequeno motor que tinha o seu funcionamento baseado no emprego do óleo de amendoim, abrindo um leque de possibilidades para a utilização de óleos e gorduras de diversas fontes como combustível, figurando-se como uma alternativa ao uso dos combustíveis derivados do petróleo (KNOTHE *et al.*, 2006).

Depois disso, a discussão sobre uso de óleos e gorduras só voltou a ter destaque com o aumento do preço dos combustíveis derivados de petróleo entre 1973 e 1979. A partir de 1990, a preocupação com as questões ambientais associadas ao uso de combustíveis fósseis ganha evidência, reforçando a necessidade de combustíveis alternativos que supririam a matriz energética mundial baseada somente em combustíveis fósseis. Com esse cenário, alguns países como Estados Unidos, Áustria, Alemanha e França intensificaram estudos para o desenvolvimento da utilização de óleos e gorduras como combustíveis líquidos, resultando na introdução de pequenas frações do biodiesel no diesel. Já no Brasil, como mostra a Tabela 1, houve uma evolução histórica com o decorrer dos tempos, o primeiro passo foi a criação do Programa Nacional do Álcool (Proálcool), que estimulou a substituição da gasolina por etanol em motores do ciclo Otto. Em seguida, foi proposta a modificação de óleos vegetais *in natura* para ésteres metílicos, o biodiesel, com a medida provisória lançada pela Presidência da República em 2004, definindo o Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel (PNPB), que marcou a introdução comercial desse biocombustível na matriz energética nacional (PINHO; SUAREZ, 2017).

Tabela 1. Marco histórico do biodiesel no Brasil.

Período	Marco histórico
1920	Experiências iniciais e pioneiras através do Instituto Nacional de Tecnologia;
1930	Implantação de políticas com foco em biocombustíveis;
1948	Criação de incentivos à produção de álcool;
1970	Pesquisas sobre geração de combustíveis a partir de óleos vegetais;
1979	Produção de álcool hidratado em substituição à gasolina e de veículos movidos exclusivamente a álcool (etanol hidratado);
1983	Programa de Óleos Vegetais;
2003	Lançamentos de veículos com motores <i>flexfuel</i> e aumento da produção e consumo do etanol hidratado;
2004	Criação do Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB);
2008	Início da obrigatoriedade do uso do B2;
2010	Início da obrigatoriedade do uso do B5;
2014	Início da obrigatoriedade do uso do B6 e B7;
2019	Início da obrigatoriedade do uso do B10;
2020	Início da obrigatoriedade do uso do B12;
2021	Início da obrigatoriedade do uso do B13;
2022	Redução da mistura mínima para 10% para redução do custo do diesel – obrigatoriedade do uso do B10.
2023	Ampliação da mistura de biodiesel no diesel: B12 (2023), B13 (2024), B14 (2025) e B15 (2026)

Fonte: Adaptado de (PINHO; SUAREZ, 2017).

O biodiesel tem em sua constituição uma mistura de ésteres monoalquílicos de ácidos graxos de cadeia longa, que ganhou notoriedade por desempenhar um papel de substituinte ao diesel do petróleo, sendo capaz de reduzir a emissão de vários gases poluentes, como o enxofre e o monóxido de carbono e, assim, colaborar para a redução da emissão de gases do efeito estufa. Quando se trata do desempenho, o biodiesel fornece nível comparável aos apresentados pelo diesel de origem fóssil, porém com vantagens como a alta biodegradabilidade sob condições aeróbicas e anaeróbicas, resultando em uma mineralização de cerca de 90-98 % de sua massa, entre 21 e 28 dias (MAHLIA *et al.*, 2020).

O biodiesel não ajuda apenas a reduzir a emissão de certos gases tóxicos no meio ambiente, mas também para melhorar a lubrificação e potência dos motores por ter em sua composição altos índices de cetano, além de um alto ponto de fulgor, favorecendo todo um manuseio e apresentando uma armazenagem mais segura. Em relação a sua característica fluidodinâmica, há uma grande semelhança entre o diesel mineral, desempenhando um papel determinante no seu emprego por não haver a necessidade de uma adaptação ou regulação no sistema de injeção do motor. Já o teor de enxofre presente em sua composição é considerado nulo, diminuindo os riscos ao meio

ambiente por emissão de vapores que favoreçam a chuva ácida, o que não ocorre com os compostos nitrogenados que possuem uma presença marcante na composição do biodiesel (DIB, 2010).

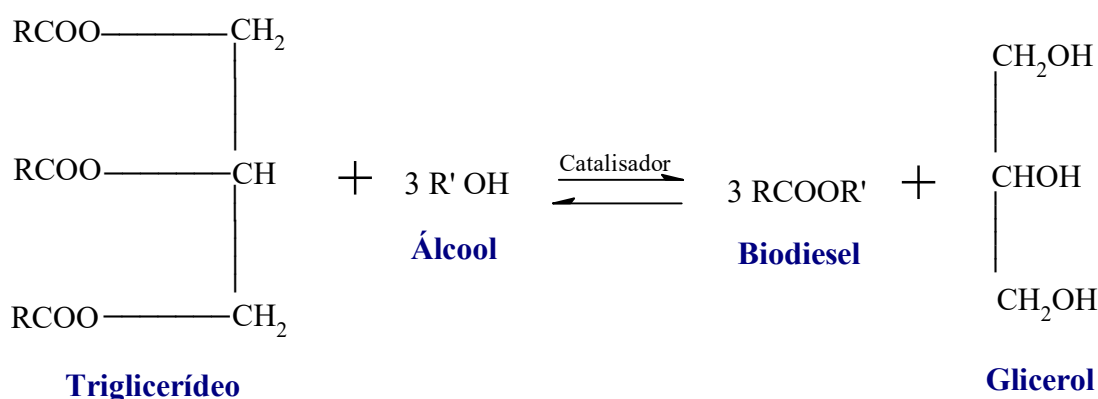
4.2 Formas de obtenção do biodiesel

Existem pelo menos 3 tipos de processos distintos para a produção de biodiesel:

- **Craqueamento:** consiste na quebra de moléculas de triglicerídeos e/ou ácidos graxos, resultando na formação de hidrocarbonetos bastante similares aos encontrados no óleo diesel. O processo envolve altas temperaturas (acima de 350 °C) e ausência de álcool, fator altamente positivo, porém apresenta altos custos no processo de pirólise (PINHO; SUAREZ, 2017);
- **Esterificação:** reação química direta entre os ácidos graxos e álcoois de cadeia curta para se obter monoésteres (KNOTHE *et al.*, 2006);
- **Transesterificação:** reação química entre um éster e um álcool, sendo a rota mais comumente utilizada para se obter o biodiesel. Baseia-se, portanto, na reação entre um triglicerídeo e álcoois de cadeia curta na presença de um catalisador. O catalisador alcalino é o mais empregado, sendo hidróxido de potássio e hidróxido de sódio os mais economicamente viáveis. Já o álcool mais utilizado é o metanol, por envolver maiores rendimentos, maior reatividade e custo mais baixo comparado ao etanol, apesar deste último apresentar toxicidade menor e ter uma produção acentuada no país. O etanol, no entanto, possui uma maior solubilidade para o glicerol, o que dificultaria a sua separação, acarretando diversos transtornos no motor dos veículos (ATADASHI *et al.*, 2015).

Como mencionada, a reação de transesterificação (Figura 1) é a rota mais utilizada para a produção de biodiesel e se trata de uma reação reversível, sendo afetada por fatores como: temperatura, agitação, álcool, razão molar óleo:álcool, que podem resultar em mudança no sentido da reação, favorecendo ou não a produção do biodiesel (ésteres de ácidos graxos) e glicerol. Toda a reação de transesterificação ocorre em baixas temperaturas, entre 25-85 °C, tendo uma separação de fases no seu fim devido à diferença de polaridade dos produtos, havendo a possibilidade de retirada das duas fases por simples decantação (GAIO, 2014).

Figura 1. Reação de Transesterificação.



Fonte: Próprio autor.

4.3 Contaminantes do biodiesel

Segundo a Resolução da ANP nº 45, de 25 de agosto de 2014, alterada pela Resolução da ANP nº 920, de 04 de abril de 2023, o biodiesel necessita de algumas especificações e obrigações quanto ao controle de qualidade, a serem atendidas pelos diversos agentes que comercializam o produto no Brasil (ANP, 2023). A Tabela 2 mostra as possíveis impurezas contidas no biodiesel comercial e suas consequências aos motores.

Tabela 2. Contaminantes no Biodiesel e suas implicações aos motores a combustão.

CONTAMINANTES	CONSEQUÊNCIAS
Metanol	Corrosão e alteração no ponto de fulgor;
Catalisador (Na^+ , K^-)	Produção de partículas sólidas;
Água	Formação de ácidos graxos, crescimento de bactérias, corrosão e aumento da condutividade térmica;
Glicerol	Corrosão de metais não ferrosos, entupimento de filtros e coqueificação nos injetores;
Ácidos graxos livres	Geração de calor excessivo e falhas nas bombas de combustível;
Agentes sólidos	Problemas de lubricidade;
Ácidos corrosivos	Corrosão de partes metálicas;
Produtos de polimerização	Formação de depósitos, ocasionando entupimento dos filtros.

Fonte: Adaptado de (LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009).

O biodiesel bruto passará por uma etapa de separação do glicerol, por decantação simples, que teoricamente arrastará consigo sabão, metanol e o catalisador utilizado. Normalmente, o biodiesel é purificado com sucessivas lavagens com água, removendo vestígios de contaminantes e subprodutos indesejados (HAYYAN *et al.*, 2010). Após a separação da fase, uma pequena fração

do glicerol livre permanece no biodiesel. A legislação permite até 0,25 % (m/m) de glicerol total e 0,02 % (m/m) de glicerol livre, que embora seja pouco solúvel, pode ser encontrado disperso no biodiesel, levando a sérios problemas na estocagem do biocombustível, ao entupimento do bico injetor e, até mesmo, promover a emissão de substâncias tóxicas em sua combustão, como a acroleína. A presença de sabões residuais é um outro fator que interfere na presença de glicerol no biodiesel, aumentando a concentração de glicerol devido à formação de emulsões. Assim, os processos desenvolvidos para a purificação do biodiesel têm um papel importante na garantia de qualidade do combustível, tendo em vista todos os problemas causados por contaminantes (ATADASHI, 2015). A determinação de glicerol livre, monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos, além de apontar a qualidade do biodiesel, pode trazer uma visão da eficácia do processo de produção, servindo como um parâmetro de avaliação da qualidade do biocombustível (SHARMA; SINGH; UPADHYAY, 2008).

4.4 Métodos de referência para quantificação de glicerol no biodiesel

As especificações brasileiras estabelecidas pela ANP foram constituídas pelo padrão de qualidade americano, elaborado pela ASTM, através da normativa ASTM D6751 e pela Comunidade Europeia, por meio da normativa EN14214 do Comitê Europeu de Normatização (ASTM, 2020; CEN, 2012). Essas normativas ajudam a estabelecer limites para alguns parâmetros de qualidade do biodiesel (Tabela 3), com o objetivo de garantir a pureza, a qualidade e, conseqüentemente, apontar a classe de compostos presentes no biodiesel (LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009).

Tabela 3. Especificações para qualidade do biodiesel e os métodos de referência.

Propriedade	ANP nº 920/2023	ASTM D6751	EN 14214
	Limites	Métodos	Métodos
Teor de Éster, mín	96,5 % (m/m)	-	EN 14103
MAG	0,50 % (m/m)	D6584	EN 14105
DAG	0,20 % (m/m)	D6584	EN 14105
TAG	0,20 % (m/m)	D6584	EN 14105
Glicerina livre	0,02 % (m/m)	D6584	EN 14105
Glicerina total	0,25 % (m/m)	D6584	EN 14105
Teor de água	200 mg kg ⁻¹	D6304	EN ISO 12937
Teor de metanol ou etanol, máx.	0,20 % (m/m)	-	EN 14110
Estabilidade à oxidação a 110 °C, mín.	13 h	-	EN 14112
Massa específica a 20 °C	850-900 kg m ⁻³	-	EN ISO 3675
Viscosidade cinemática a 40 °C	3,0-5,0 mm ² s ⁻¹	D 445	EN ISO 3104
Ponto de fulgor, mín.	100 °C	D 93	EN ISO 3679
Enxofre total, máx.	10,0 mg kg ⁻¹	D 5453	EN ISO 20864

MAG: monoacilglicerol; DAG: diacilglicerol; TAG: triacilglicerol.

Fonte: Adaptado de (ABNT, 2023).

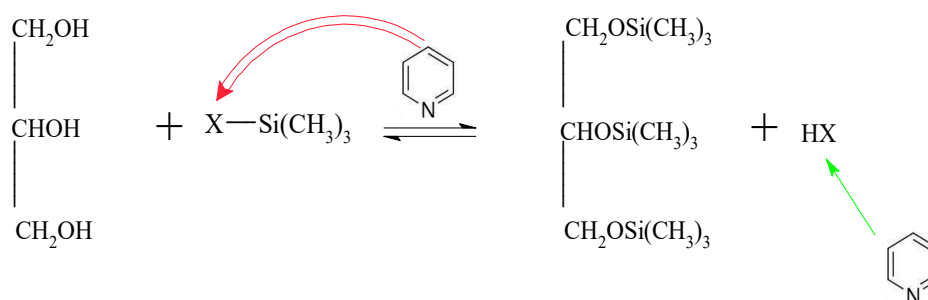
O controle de qualidade do biodiesel vem motivando pesquisadores ao redor do mundo em buscar métodos analíticos que sejam mais simples, rápidos, eficazes e de custo mais baixo aos já existentes. O controle de qualidade do biodiesel se dá pela quantificação, de maneira confiável, da mistura de ésteres de ácidos graxos e dos potenciais contaminantes para que haja um monitoramento das suas características físico-químicas, assegurando o cumprimento das normativas anteriormente citadas (ZHANG, 2012).

A técnica analítica mais utilizada na determinação de glicerol no biodiesel é a cromatografia gasosa, que demanda dois requisitos básicos para a análise de uma substância: ser volátil e termicamente estável. O glicerol se trata de um composto com elevada polaridade devido à presença de três grupos hidroxilas em sua molécula. Estes grupos formam ligações de hidrogênio, dificultando a sua volatilidade e, por apresentar fortes interações com a fase estacionária, apresenta alta retenção e baixa detectabilidade. Assim, a derivatização do glicerol se faz necessária para sua análise por GC. A sililação do glicerol é a metodologia mais costumeiramente utilizada para a análise por GC. As normas ASTM D6584 e EN14105 descrevem o método para quantificar o teor

de glicerol livre, baseando-se na análise por cromatografia gasosa a partir da sililação do glicerol e dos acilgliceróis (MARQUES *et al.*, 2011).

A derivatização é uma reação química que tem como objetivo a modificação de compostos para obtenção de uma molécula volátil e termicamente estável. No caso do glicerol, a derivatização visa a substituição das hidroxilas pelos grupos alquilsilila por ataque nucleofílico (Figura 2). O reagente utilizado por esse método é a N-metil-N-trimetilsililtri fluoroacetamida (MSTFA). Além disso, a GC requer também o uso de padrões internos para a determinação do glicerol, para eliminar a variação das respostas durante a etapa de injeção. Os padrões internos indicados pelas normativas são o 1,2,4-butanotriol para o glicerol e 1,2,3-tridecanolilglicerol para os acilgliceróis (PAULS, 2011).

Figura 2. Representação da reação de derivatização do glicerol com MSTFA.



Fonte: Próprio autor.

Apesar da metodologia de GC estar consolidada pela sua precisão e exatidão em quantificar o glicerol, algumas condições dificultam sua aplicação nesta determinação para a maioria dos laboratórios de análise, como o uso de temperaturas de seus componentes acima do limite dos equipamentos de GC convencionais (normalmente até 350 °C) (MONTEIRO *et al.*, 2008). Os métodos de referência para determinação do glicerol em biodiesel por GC requerem temperatura final do forno de coluna de 370 °C e temperatura do detector de ionização em chama (FID, *flame ionization detector*) de 380 °C (ASTM, 2003; CEN, 2003).

4.4.1 Métodos alternativos para determinação de glicerol em biodiesel

Vários métodos de determinação de glicerol em biodiesel vêm sendo estudados e testados com fim de minimizar alguns dos problemas decorrentes das metodologias de referência ASTM D6584 e EN14105. SHISHOV *et al.* (2019), trataram de uma técnica que utiliza a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, *dispersive liquid-liquid microextraction*) utilizando como detector um dispositivo analítico colorimétrico feito de papel para determinação de glicerol

presente no biodiesel. Os autores obtiveram um limite de detecção (LOD, *limit of detection*) de $3,0 \times 10^{-5}$ % m/m e taxas de recuperação de 90 % em média para as amostras de biodiesel. Como principal desvantagem, se tem a geração de resíduos orgânicos durante a etapa de extração.

MOREIRA *et al.* (2020), propuseram uma nova metodologia baseada na extração em fase sólida (SPE, *solid phase extraction*) com a molécula do glicerol impressa molecularmente em um sorvente polimérico (MIP, *molecularly imprinted polymer*) e subsequente determinação do extrato por ensaio enzimático espectrofotométrico. O método enzimático-espectrofotométrico apresentou bom desempenho analítico com LOD de $7,70 \times 10^{-6}$ % m/m e taxas de recuperação do glicerol em biodiesel na faixa de 99,4 % a 112,0 %. AHMED *et al.* (2015), desenvolveram um método de determinação de glicerol livre por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, *high-performance liquid chromatography*) com detecção por arranjo de diodos (DAD, *diode array detector*) após a derivatização do glicerol. Os autores fizeram uma série de reações de derivatização para o glicerol para possibilitar a sua quantificação por um detector de absorbância. Os autores obtiveram LOD de $2,3 \times 10^{-4}$ % m/m, com taxas de recuperação de 96,0 a 114,0 % pelo método HPLC-DAD desenvolvido. Como os autores não empregaram nenhuma etapa de extração do glicerol, as amostras de biodiesel apresentaram cromatogramas com diversos picos de saturação dos compostos, provavelmente associados aos ésteres de ácidos graxos e resíduos das reações de derivatização. Esta condição indica que o HPLC pode ser uma técnica alternativa ao GC para análise de glicerol, porém a preparação da amostra se torna necessária para que a vida útil da coluna e do sistema cromatográfico seja prolongada.

4.5 Cromatografia líquida aplicada a análise de biodiesel

Segundo NAKAI *et al.* (2022), a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) vem ganhando espaço na determinação de diversos compostos que são gerados durante o processo produtivo do biodiesel. Comparada à GC, a HPLC oferece como principal vantagem a análise direta de alguns desses compostos sem a necessidade de derivatização química, economizando reagentes de alto custo e de acesso mais restrito, bem como não requer condições instrumentais que inviabilizem o uso de instrumentação mais básica. A única necessidade da HPLC é que o detector seja capaz de detectar a substância a ser analisada. Assim, detectores como o de índice de refração (RID, *refractive index detector*), o de dispersão de luz por evaporação (ELSD, *evaporative light scattering detector*) ou o de espectrometria de massas (MS, *mass spectrometry*) podem ser usados para determinação do glicerol sem a necessidade de etapa de derivatização química. Outro detector utilizado é o de absorção na região do ultravioleta visível (UV-VIS,

ultraviolet-visible), porém por requerer a derivatização do glicerol para a detecção sua utilização se torna limitada. De forma geral, para análises de mais baixo custo, os detectores RID e ELSD são os mais recomendados.

O preparo de amostra também possui um grande impacto na determinação de glicerol em biodiesel, utilizando o HPLC como técnica analítica. A preparação da amostra tem por finalidade a compatibilização da amostra com a técnica analítica, de forma a isolar os compostos de interesse, eliminar potenciais substâncias interferentes e substituir a matriz da amostra por um solvente compatível com a técnica empregada. Adicionalmente, a preparação da amostra pode aumentar a concentração dos compostos de interesse no extrato quando comparado com sua concentração original na amostra, aumentando o poder de detecção da técnica analítica (WOJNOWSKI *et al.*, 2022).

4.5.1 Métodos de preparação de amostras empregados na extração de glicerol no biodiesel

Segundo KRUG; ROCHA (2019) e COZENDEY *et al.* (2021), diversos métodos de preparação de amostra estão disponíveis atualmente para os mais diferentes tipos de compostos e de matrizes. Dentre os mais relevantes e que podem ser empregados na extração de glicerol em biodiesel se destacam: a extração líquido-líquido (LLE, *liquid-liquid extraction*), extração em fase sólida (SPE), microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), (HÁJEK; SKOPAL; MACHEK, 2006; MERCER; HALAWEISH, 2011; PETRACIC; SANDER; MAGIC, 2017; HONÓRIO *et al.*, 2019; COZENDEY *et al.*, 2021; SHAHBAZ *et al.*, 2011; JESUS *et al.*, 2019; MOREIRA *et al.*, 2020; SHISHOV *et al.*, 2019).

A Tabela 4 resume os estudos recentes sobre a utilização dos mais variados tipos de extração de glicerol que foram empregados no preparo de amostras de biodiesel para uma análise posterior por técnicas cromatográficas. A Tabela 4 apresenta também as principais vantagens e desvantagens dos métodos de extração empregados, bem como os limites de detecção obtidos para o glicerol.

Tabela 4. Métodos de extração empregados na extração de glicerol de biodiesel.

Métodos	Material	Vantagens e desvantagens	Limite de detecção	REF
SPE - CV	Sílica	Recuperação do glicerol: 93 a 105 %. Desvantagens: uso de cartuchos SPE comerciais de custo elevado, uso de solventes como n-hexano, éter de petróleo, éter etílico etc.	$1,00 \times 10^{-6} \%$ (m/m)	HONÓRIO <i>et al.</i> (2019)
SPE – HPLC-RID	Cartucho de aminopropilsilano	Recuperação do glicerol: 99 a 107 %. Desvantagens: uso de diversos eluentes; cartuchos comerciais de alto custo.	$2,90 \times 10^{-4} \%$ (m/m)	COZENDEY <i>et al.</i> (2021)
SPE – UV - vis	Sílica	Recuperação do glicerol: 85 %. Desvantagens: uso de derivatizante para detecção de glicerol e de cartuchos comerciais SPE	$4,00 \times 10^{-3} \%$ (m/m)	MERCER; HALAWEISH (2011)
MIP-SPE – UV – vis - enzimático	poli(ácido metacrílico) impresso molecularmente com glicerol	Recuperação do glicerol: 99 a 112 %. Desvantagens: uso de diversos reagentes na preparação do adsorvente, uso de kit enzimático para detecção do glicerol.	$7,70 \times 10^{-6} \%$ (m/m)	MOREIRA <i>et al.</i> , 2019
LLE – HPLC - RID	água	Recuperação do glicerol: ~100 %. Desvantagens: uso de um aparato específico para extração.	$1,00 \times 10^{-4} \%$ (m/m)	HÁJEK; SKOPAL; MACHEK (2006)
RP – AA – DLLME - PAD	Sol. periodato de sódio	Recuperação do glicerol: 95 a 105 %. Desvantagens: uso de reagentes de derivatização, baixa detectabilidade do método.	$3,00 \times 10^{-3} \%$ (m/m)	SHISHOV <i>et al.</i> (2019)

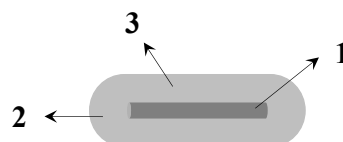
A extração sortiva em barra de agitação (SBSE, *stir bar sorptive extraction*) pode ser uma alternativa interessante na extração de glicerol de biodiesel, por envolver uma barra de agitação (de 1 a 4 cm) recoberta por um material adsorvente, com afinidade para o glicerol, podendo ser colocada em contato com a mistura em uma primeira etapa de agitação, sendo posteriormente dessorvido em um solvente puro de maior afinidade pelo glicerol que o material adsorvente. Esse

é um método que ainda não foi explorado na extração de glicerol de biodiesel, mas que tem apresentado resultados de sucesso na extração de diversas substâncias de diferentes amostras (SÁNCHEZ-ROJAS; BOSHC-OJEDA; CANO-PAVÓN, 2009; DAVID; OCHIAI; SANDRA, 2019; HE *et al.*, 2021; HASAN *et al.*, 2020). A possibilidade de uso de solventes aquosos, incluindo a água pura como dessorvente, torna a SBSE ainda mais atrativa, resultando em preparo de amostras eficientes, práticos, de baixos custos e, principalmente, que atenda aos Princípios da Química Verde (GALUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIESNIK, 2013).

4.6 Extração sortiva em barra de agitação (SBSE): conceito e funcionamento

A SBSE requer pequenas quantidades de amostras e menor volume de solvente para dessorção comparada com os demais métodos citados na Tabela 4 e não requer uso de nenhuma instrumentação, vidraria ou reagentes caros ou de difícil acesso para um laboratório de análise química. A introdução da SBSE foi realizada por BALTUSSEN *et al.* (1999) e, desde então, vem ampliando seu campo de aplicação devido a metodologia de fácil execução e mínima manipulação do analista, alta capacidade de sorção dos analitos e excelentes taxas de recuperação em diversos campos da ciência: alimentícios, biológicos, ambientais e energéticos (HASAN *et al.*, 2020). Na extração SBSE, ocorre o aproveitamento de uma barra de agitação, que se trata de um material magnético encapsulado com uma camada de vidro de 10 a 20 mm de comprimento e que, por sua vez, é revestida com um filme adsorvente. A camada de vidro tem por finalidade evitar que ocorra a decomposição do material adsorvente em contato com a barra magnética, enquanto o material adsorvente deve apresentar seletividade para os compostos a serem extraídos. A Figura 3 apresenta uma barra de agitação tipicamente empregada em SBSE.

Figura 3. Representação de uma barra SBSE. 1- barra magnética; 2- revestimento de vidro; 3- fase polimérica.



Fonte: Próprio autor.

A extração eficiente de um determinado composto pela barra de agitação em SBSE é dependente das características da sua camada adsorvente. O material mais comumente empregado e disponível comercialmente é o poli(dimetilsiloxano) (PDMS, *poly(dimethylsiloxane)*), que se

trata de um sorvente polimérico com características hidrofóbicas, adequado para a extração de compostos mais hidrofóbicos (DAVID; OCHIAI; SANDRA, 2019; HE *et al.*, 2021; HASAN *et al.*, 2020). Para compostos polares, no entanto, camadas adsorventes mais polares são mais adequadas. Assim, para a extração do glicerol uma barra de agitação com camada sorvente mais polar será mais eficiente na remoção do composto do biodiesel. Além do material adsorvente, as condições de extração também devem ser otimizadas para uma extração eficiente dos compostos de interesse. As principais condições avaliadas na SBSE são o tempo e a velocidade de agitação; força iônica da amostra; volume de amostra; temperatura de extração; pH da amostra e o tipo de solvente de dessorção do composto da barra de agitação (SARGAZI; BUCKING; KAYKHAI, 2020).

O processo de extração SBSE consiste em algumas etapas. Inicialmente realiza-se o condicionamento do material adsorvente da barra de agitação em um solvente adequado para remover quaisquer impurezas presentes. Em seguida, a barra de agitação é disposta diretamente na amostra sob agitação controlada para retenção do composto de interesse de acordo com a sua polaridade. Após essa etapa, a barra de agitação é retirada da amostra com o auxílio de uma pinça ou uma haste magnética e lavada com solvente adequado para a eliminação da matriz da amostra. É realizada uma secagem da barra de agitação com papel toalha ou um fluxo de nitrogênio. E, por fim, o composto retido no material adsorvente é dessorvido colocando a barra de agitação em um solvente de maior afinidade pelo analito sob agitação. O eluente de dessorção, contendo o analito, é então analisado por uma técnica analítica apropriada (QUEIROZ, 2009; DAVID; OCHAI; SANDRA, 2019).

4.6.1 Revestimentos utilizados como fase extratoras seletivas

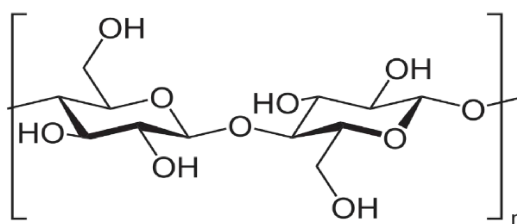
A extração seletiva de um determinado composto de uma amostra é o foco principal dos pesquisadores no desenvolvimento de novos materiais adsorventes ou no aprimoramento dos adsorventes existentes. Diversas estratégias têm sido propostas para obter materiais adsorventes com seletividade para um determinado composto ou grupo de compostos, tais como polímeros de impressão molecular (MIP), material de acesso restrito (RAM, *restricted access materials*) entre outros (MACIEL *et al.*, 2019) (MOEIN; REHIM; REHIM, 2020). Para a SBSE, três revestimentos têm sido empregados como sorventes extratores nas barras de agitação de forma mais contínua: o polietilenoglicol (PEG, *poly(ethyleneglycol)*), o poliacrilato (PA, *poly(acrylate)*) e o PDMS (HASAN *et al.*, 2020).

CHENG *et al.* (2017), sintetizaram nanocompósitos de grafeno linear modificados com aminoácidos derivados de casca de sementes de chia como material adsorvente para barra de agitação e empregaram para a extração SBSE de aminoácidos da *Camelia nitidissima*, uma planta natural da China. Os autores alcançaram extrações de aminoácidos três vezes maiores com o material adsorvente produzido quando comparado com a barra de agitação revestida com PDMS. AYAZI; JAAFARZADEH; MATIN (2013), produziram um nanocompósito à base de montmorilonita/polianilina/poliamida para separação de agrotóxicos organofosforados em sucos de frutas e vegetais. A barra de agitação foi imersa em 10 mL de água destilada e deixada por um certo tempo com agitação de 1600 rpm. Após essa etapa de extração, ocorreu a remoção da estrutura por uma pinça e seca com um tecido. A dessorção foi realizada com uma mistura metanol:água. Os autores obtiveram resultados eficientes para a extração dos agrotóxicos das amostras na faixa de 80,0 a 99,7 % de recuperação. ALAMDARI *et al.* (2019), sintetizaram um sorvente para SBSE à base de poli(caprolactona) (PCL, *poly(caprolactone)*) para extrair a carbamazepina de amostras de soro. O PCL foi escolhido por não necessitar de agente reticulante, agente iniciador e, principalmente, por ser polimerizado rapidamente. O método SBSE desenvolvido foi eficiente e apresentou parâmetros analíticos de desempenho muito similares a um método SPE já otimizado na extração do fármaco de soro humano.

4.7 Celulose

A celulose é o polímero mais abundante do planeta uma vez que é a substância predominante nas paredes celulares dos vegetais. A celulose representa cerca de 40 a 45 % do peso seco da madeira e é localizada principalmente na sua parede celular secundária (HUBER *et al.*, 2012). A celulose é um homopolímero, isto é, formada por unidades idênticas de monômeros, possui regiões cristalinas e amorfas que fornecem propriedades físicas e químicas diversas. A sua estrutura é formada por monômeros de glicose, ligados por ligações do tipo β -1,4 (Figura 4) e apresenta regiões altamente ordenadas, estabilizadas por ligações de hidrogênio intramoleculares e intermoleculares. Também apresenta regiões amorfas, nas quais as cadeias se apresentam em uma orientação desordenada (KLEM *et al.*, 2005).

Figura 4. Estrutura monomérica da celulose.



Fonte: Próprio autor.

Com muitas hidroxilas presentes em sua estrutura monomérica, a celulose é uma substância polimérica hidrofílica, mas sem ser solúvel em água. Essa característica está associada com a organização molecular e os tipos de ligações químicas envolvidas no polímero. O grau de polimerização da celulose varia de 1.000 a 15.000 unidades monoméricas e a sua massa molecular de 162.000 a 2.430.000, esses valores são influenciados pela origem da amostra, degradação de sua estrutura e parâmetros operacionais do processo (HUBER *et al.*, 2012).

O Brasil é o segundo maior produtor de celulose, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. Toda essa produção é impulsionada pelas exportações para a Europa e para a China, contribuindo assim, para a economia brasileira e a geração de emprego em diversas regiões do país. As duas principais fontes de madeiras utilizadas para essa cadeia produtiva são: as florestas plantadas de eucalipto e pinus, totalizando juntas quase 98 % de todo o volume de celulose produzido no Brasil para fins comerciais (IBÁ, 2021).

4.7.1 Uso da celulose na purificação de biodiesel

A purificação do biodiesel é normalmente efetuada de duas formas: purificação úmida ou purificação a seco. A purificação úmida normalmente é realizada com a lavagem do biodiesel com água. A purificação a seco faz uso de algum material ou substância sólida para a remoção de impurezas do biodiesel. O silicato, resinas de troca iônica, carvão ativado e membranas têm sido os principais materiais empregados por apresentarem sítios que interagem fortemente com as moléculas polares das impurezas presentes no biodiesel, como o metanol, etanol e o glicerol (SQUISSATO *et al.*, 2015).

Segundo AVINASH; MURUGESAN (2019), a separação adsorviva é um processo em que átomos, íons ou moléculas de uma substância se adere a uma superfície sólida de um adsorvente, sendo separada das demais substâncias que não se aderem a esta superfície. A celulose apresenta potencial para ser empregada como adsorvente para remoção de impurezas polares do biodiesel, como ácidos graxos, glicerol livre, sódio e água residual. GOMES *et al.* (2015) realizaram a

purificação do biodiesel a seco empregando a celulose como um adsorvente natural, comparando os resultados obtidos com a purificação convencional com água. Os estudos indicaram que a celulose foi altamente eficaz na remoção de um conjunto de contaminantes polares do biodiesel, havendo uma diminuição nos índices de acidez, alcalinidade, glicerol livre e turbidez, quando se realizou uma comparação entre esses mesmos parâmetros com o biodiesel bruto e purificado com lavagem com água. SQUISSATO *et al.* (2015), empregaram a polpa de eucalipto como adsorvente para remoção de glicerol livre, metanol, metais alcalinos e água do biodiesel. Na pesquisa, a polpa foi caracterizada e assim houve uma otimização do tamanho da fibra utilizada dentro do processo de purificação. Também houve uma avaliação da adsorção de glicerol livre e metanol em função do tempo, tendo-se como resultado que o glicerol permaneceu abaixo dos limites estabelecidos pelo padrão Europeu no decorrer do experimento. Além disso, os resultados mostraram que as concentrações de glicerol livre, metanol e água foram inferiores às obtidas pela purificação com água deionizada, sendo um indicativo do potencial da celulose na adsorção dessas substâncias do biodiesel.

XIN *et al.* (2016) mostraram a facilidade de obtenção de materiais porosos advindos da celulose, como aerogéis e monolitos, tendo uma possibilidade de serem utilizados como matriz de separação em diversas áreas, incluindo setores da medicina e de biocombustíveis. Os autores propuseram uma nova rota de preparação de monolitos de celulose, com estrutura altamente porosa, utilizando o acetato de celulose (CA, *celulose acetate*) como material de partida. A estrutura monolítica altamente porosa do CA, solúvel em solventes mais comuns e de custos mais baixos que aqueles que solubilizam a celulose, se mantém inalterada a partir do processo de desacetilação para produzir o monolito de celulose. Um monolito é uma estrutura única, como se fosse uma única partícula, com estrutura altamente porosa e com área superficial elevada possibilitando uma alta capacidade de adsorção de compostos. O monolito do acetato de celulose e, conseqüentemente, da celulose após processo de desacetilação, pode ser produzido no formato desejado, bastando para isso um molde apropriado para receber a solução polimérica solubilizada em um solvente adequado (SUN *et al.*, 2017; YAO *et al.*, 2023). Essa condição despertou o interesse em desenvolver um método de determinação de glicerol em biodiesel, empregando a SBSE e celulose monolítica como adsorvente. A celulose foi escolhida por se tratar de um polímero natural biodegradável, de custo relativamente baixo, alta hidrofiliçidade, resistência a solventes e força mecânica adequada para aplicação como revestimento da barra magnética, além da sua aplicação bem-sucedida na remoção de glicerol do biodiesel em outras aplicações.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Reagentes

Para a produção dos monolitos foram utilizados acetato de celulose (Rhodia Solvay, Santo André, Brasil), N,N-dimetilformamida 99,9 % (Synth, Diadema, Brasil), álcool n-octílico P.A, etanol P.A. 99,5 %, n-heptano P.A. e hidróxido de sódio em micropérolas foram adquiridos da Dinâmica (Indaiatuba, Brasil). Para a etapa de esterificação do ácido oleico via catálise homogênea foram empregados os seguintes reagentes: ácido oleico (Synth); metanol (JT Baker, Xalostoc, México), sílica em gel (Quimisul, Aparecida de Goiânia, Brasil) e ácido sulfúrico 96 % (Synth). Para determinação da macroporosidade das barras de agitação celulósicas, foi utilizado o n-butanol (Dinâmica). Para o desenvolvimento do método de extração sortiva em barra de agitação foi empregada a glicerina P.A., ácido nítrico e álcool metílico (Êxodo Científica, Sumaré, Brasil). Para a preparação das fases móveis foram empregados ácido sulfúrico 96 % (Synth) e acetonitrila HPLC (JT Baker). Para validação do método foram empregados periodato de potássio, iodeto de potássio e arsenito de sódio (Dinâmica); bicarbonato de sódio e amido solúvel P.A. (Synth).

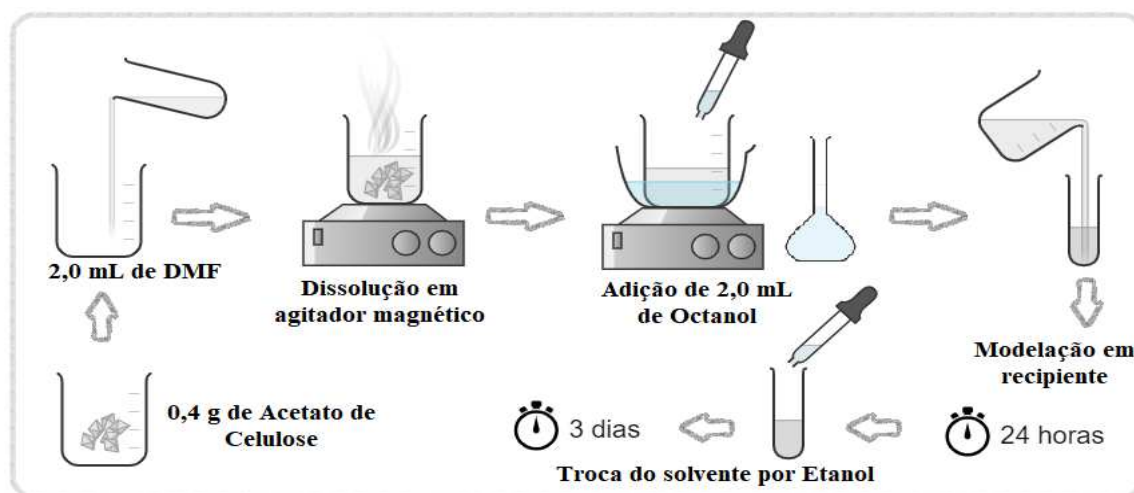
5.2 Preparação dos monolitos de celulose

5.2.1 Preparação dos monolitos de acetato de celulose

Para a preparação da estrutura monolítica, foi empregado o método baseado na separação de fases induzida por não-solvente (NIPS, *nonsolvent-induced phase separation*) (YAO *et al.*, 2023; SUN *et al.*, 2017), usando o acetato de celulose (CA, *cellulose acetate*) como material de partida devido às suas características de boa solubilidade em solventes mais comumente disponíveis em laboratório. Inicialmente, pesou-se cerca de 400 mg (0,400 g) do acetato de celulose em um béquer de 10 mL e, em seguida, foram adicionados 2,0 mL de N,N-dimetilformamida (DMF, *dimethylformamide*) sob agitação magnética lenta, até a completa dissolução do acetato de celulose em temperatura ambiente (27 °C). Após esse processo, foram adicionados 2,0 mL de n-octanol, gota-a-gota à solução, sob agitação constante com o auxílio de uma espátula e aquecimento em banho-maria a 70 °C. A solução foi agitada e aquecida até que se tornasse transparente. A solução foi disposta em um recipiente adequado para modelagem do monolito e, em seguida, deixada em repouso à temperatura ambiente (27 °C) por 24 h até a completa separação de fase. O solvente utilizado (n-octanol) foi trocado por etanol durante três

vezes ao dia por 3 dias consecutivos. Logo após, os monolitos foram retirados dos moldes e imersos em etanol por 24 h, sendo posteriormente imersos em água ultrapura até o momento do uso. A Figura 5 apresenta um fluxograma do preparo dos monolitos de acetato de celulose.

Figura 5. Fluxograma para produção do monolito de acetato de celulose.



Fonte: Próprio autor.

5.2.2 Hidrólise dos monolitos de acetato de celulose

O monolito de celulose foi obtido a partir do monolito de acetato de celulose preparado anteriormente por um processo de desacetilação em meio alcalino. Os monolitos de CA foram imersos em 10 mL de etanol em um béquer de 50 mL. Em seguida, a suspensão foi desgaseificada por 5 min sob fluxo brando de argônio. Adicionaram-se, logo depois, 10 mL de uma solução 2,0 mol L⁻¹ de NaOH em etanol para dar início à reação de hidrólise à temperatura ambiente (~27 °C). Após 24 h, os monolitos foram retirados da mistura reacional e enxaguados com água, sendo, subsequentemente, deixados em solução aquosa para neutralização (Figura 6). Após a verificação do pH da água contendo os monolitos de celulose, estes foram transferidos para um béquer contendo heptano até o momento de sua utilização.

Figura 6. Esquema de conversão dos monolitos de acetato em celulose em monolitos de celulose.



Fonte: Próprio autor.

5.2.3 Preparação das barras magnéticas monolíticas de celulose para extração sortiva

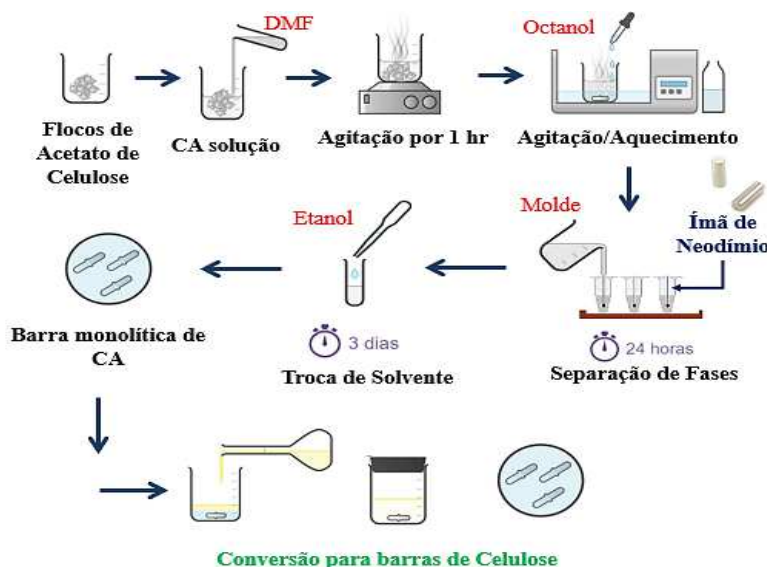
Para a preparação das barras de agitação revestidas com a celulose monolítica, ímãs de neodímio, Figura 7, foram centralizados dentro do molde contendo a solução polimérica de acetato de celulose. O molde utilizado foi um tubo eppendorf cilíndrico de 2,5 mL. Ao tubo foram adicionados 1,5 mL da solução polimérica de CA, de forma a obter uma barra de agitação adsorvente revestida com o monolito celulosico, com diâmetro de aproximadamente 5 mm e 20 mm de comprimento, Figura 8. Os monolitos de celulose obtidos, contendo o ímã de neodímio internamente, foram submetidos aos processos de trocas de solventes e hidrólise conforme descritos nas seções 5.2.1 e 5.2.2 para a obtenção das barras de agitação revestidas com celulose monolítica. As barras foram armazenadas em frascos contendo água, para manutenção da estrutura porosa, até o momento do uso.

Figura 7. Ímãs de neodímio cilíndricos com 8 mm de comprimento por 3 mm de diâmetro.



Fonte: Próprio autor.

Figura 8. Esquema de produção das barras magnéticas revestidas com monolito de celulose.



Fonte: Próprio autor.

5.3 Caracterização físico-química e morfológica dos monolitos

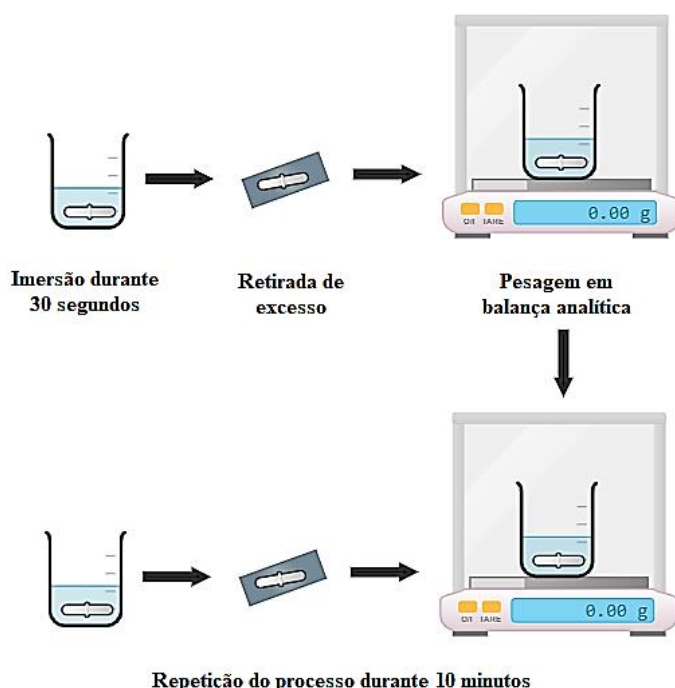
5.3.1 Estudo do grau de inchamento dos monolitos

O inchamento dos monolitos foi medido a partir da determinação das suas taxas de absorção de água. O procedimento realizado foi baseado no descrito por OMIDIAN *et al.* (1998). Resumidamente, uma pequena quantidade do monolito de celulose seco foi pesada em balança com precisão de 0,01 mg e, em seguida, imerso em 20 mL de água ultrapura à temperatura ambiente (27 °C). Os monolitos eram deixados por 30 segundos no banho e novamente pesados, Figura 9. Este procedimento foi realizado de 30 em 30 segundos por 10 min, anotando-se a variação da massa dos monolitos celulósicos. O grau de inchamento (S_w , *swelling degree*) da estrutura monolítica celulósica foi determinado a partir da Equação 1.

$$S_w(\%) = \frac{\left[\left(\frac{\sum m_F}{3}\right) - m_i\right]}{m_i} * 100 \quad \text{Equação 1}$$

Em que: S_w = grau de inchamento do monolito; $\sum m_F$ = média aritmética das três últimas massas dos monolitos umedecidos (inchamento máximo); m_i = massa inicial (monolito seco).

Figura 9. Fluxograma do estudo do grau de inchamento do monolito de celulose.



Fonte: Próprio autor.

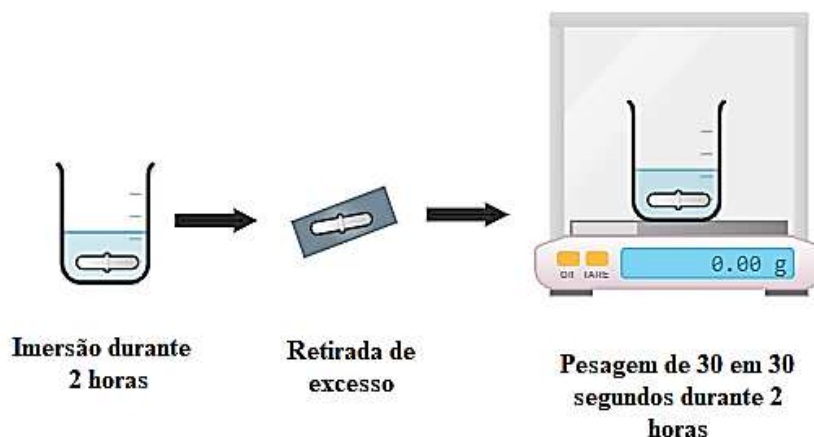
5.3.2 Estudo da porosidade total dos monolitos celulósicos

A determinação da porosidade nos monolitos celulósicos foi baseada na metodologia de saturação de fluidos, que alia vantagens como baixo custo, simplicidade e, principalmente, não requer imposições dos materiais analisados como regularidade, uniformidade de tamanho e forma, natureza de sua morfologia e distribuição uniforme dos poros (HOSSEN *et al.*, 2020). A porosidade foi determinada de acordo com o método proposto por LU; LI (2009). O teste de porosidade (ε) dos monolitos celulósicos foi realizado através de medidas gravimétricas e a porosidade total foi definida pela razão entre os volumes dos poros e o volume total dos monolitos, conforme a Equação 2. O procedimento ilustrado na Figura 10, consistiu em pesar uma pequena quantidade de monolitos celulósicos secos e, em seguida, imergi-los em 20 mL de n-butanol, deixando-os por 10 min à temperatura ambiente (27 °C). A cada 10 min os monolitos eram retirados e o excesso de solvente removido com papel toalha, medindo novamente sua massa em uma balança analítica de precisão de 0,01 mg. As medidas foram realizadas por 2 h, anotando-se a variação da massa dos monolitos celulósicos.

$$\varepsilon = \left(\frac{(m_{MS} - m_M) / \rho_S}{\left(\frac{(m_{MS} - m_M)}{\rho_S} \right) + \left(\frac{m_M}{\rho_{cel}} \right)} \right) \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Em que: m_{MS} = massa de monolito com solvente, m_M = massa monolito seco, ρ_s = densidade do solvente e ρ_{cel} = densidade da celulose.

Figura 10. Esquema para medida da porosidade total dos monolitos de celulose.



Fonte: Próprio autor.

5.3.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

Os monolitos celulósicos de acetato de celulose e de celulose, após o processo de hidrólise alcalina, foram submetidos a caracterização de grupos funcionais por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR, *Fourier-transform infrared spectroscopy*). O objetivo dessa caracterização foi avaliar a eficiência do processo de hidrólise do monolito de acetato de celulose. As amostras foram analisadas em porções de cerca de 20 mg na região de 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras por espectro em um espectrofotômetro FTIR Agilent Technologies®, modelo Cary 630. As medidas foram realizadas empregando o módulo ATR (*attenuated total reflectance*) com cristal de diamante no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal (LEMUP) da Universidade Federal de Uberlândia, *campus* Pontal.

5.3.4 Análise termogravimétrica

Os monolitos celulósicos foram caracterizados por análise termogravimétrica (TGA, *thermogravimetric analysis*), na qual cerca de 7 mg de cada amostra foram colocados em uma microbalança no analisador térmico e submetidos a um aquecimento na faixa de temperatura de 25 °C a 600 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1} sob atmosfera inerte. Foi empregado o analisador termogravimétrico da TA Instruments®, modelo TGA 55, localizado no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal da UFU, *campus* Pontal.

5.3.5 Calorimetria exploratória diferencial

As propriedades térmicas dos monolitos celulósicos foram avaliadas por calorimetria exploratória diferencial (DSC, *differential scanning calorimetry*), empregando um equipamento DSC da TA Instruments®, modelo DSC-25. Cerca de 5 mg de amostra foram submetidos a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ de -90 a 300 °C sob atmosfera inerte. Esta medida foi realizada no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal da UFU, *campus* Pontal.

5.3.6 Microscopia eletrônica de varredura

Foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura (SEM, *scanning electron microscopy*) para examinar a morfologia dos monólitos de celulose. Através de micrografias, é possível observar as características morfológicas dos materiais, que têm um impacto significativo no desempenho da extração sortiva em barra de agitação. Um pequeno pedaço do monolito foi fixado em um porta-amostras usando uma fita dupla face de carbono. Em seguida, uma fina camada de ouro é aplicada sobre o pedaço do monolito, utilizando bombardeamento de átomos de argônio sob alto vácuo por 120 s. Essa etapa visa criar uma camada de ouro com aproximadamente 10 nm de espessura para fornecer uma melhor condutividade elétrica do material durante a análise.

Os porta-amostras foram inseridos em um microscópio eletrônico de varredura TESCAN®, modelo VEGA3 (Tóquio, Japão). As amostras foram analisadas em termos de sua superfície e seção transversal (corte). Diversas imagens foram capturadas com diferentes níveis de ampliação. A medida foi realizada no Laboratório Multiusuários do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (IQ/UFU).

5.4 Extração de glicerol usando a barra de agitação revestida com o monolito de celulose

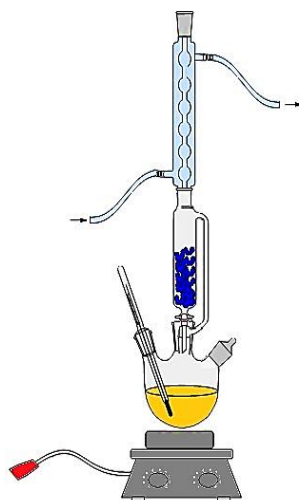
Com o objetivo de avaliar a eficiência de extração das barras de agitação revestidas com celulose monolítica na extração de glicerol em biodiesel, foi realizada inicialmente a preparação de uma amostra sintética de biodiesel isenta de glicerol. A amostra isenta de glicerol foi obtida pelo uso de oleato de metila como biodiesel. O oleato de metila foi escolhido por não apresentar qualquer traço de glicerol em sua composição e por ser o principal éster do biodiesel para diversas fontes vegetais, considerado como uma matriz padrão de biodiesel (FERREIRA; COSTA; BARBEIRA, 2015). A presença de glicerol nesta etapa poderia diminuir a confiabilidade na avaliação da exatidão do método SBSE com barra de agitação revestida com celulose monolítica.

Assim, inicialmente o oleato de metila foi obtido pela esterificação de ácido oleico seguida da fortificação com padrão de glicerol de forma a obter uma concentração de 0,02 % (m/m) de glicerol livre no oleato de metila, conforme limite máximo previsto pela ANP (ANP, 2023).

5.4.1 Esterificação de ácido oleico com metanol via catálise homogênea

Para a simulação do biodiesel isento de glicerol foi utilizado um sistema de reação em refluxo para conversão de ácido oleico em oleato de metila (MO, *methyl oleate*), conforme ilustração apresentada na Figura 11. A um balão de duas bocas foram adicionados 100 g de ácido oleico e 86 mL de metanol na razão molar 6:1 e 1,0 % (m/m) de ácido sulfúrico concentrado, como catalisador. Ao sistema em refluxo foi conectado um corpo extrator Soxhlet preenchido com sílica gel em esferas para retenção de água, um dos subprodutos da reação. Posteriormente, ajustou-se a temperatura do sistema para 110 °C. A reação ocorreu por 90 min, e a cada 15 min retirou-se uma alíquota de 1 mL do meio reacional, reservando-as em tubos de ensaios para análise posterior da taxa de conversão por cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama (GC-FID).

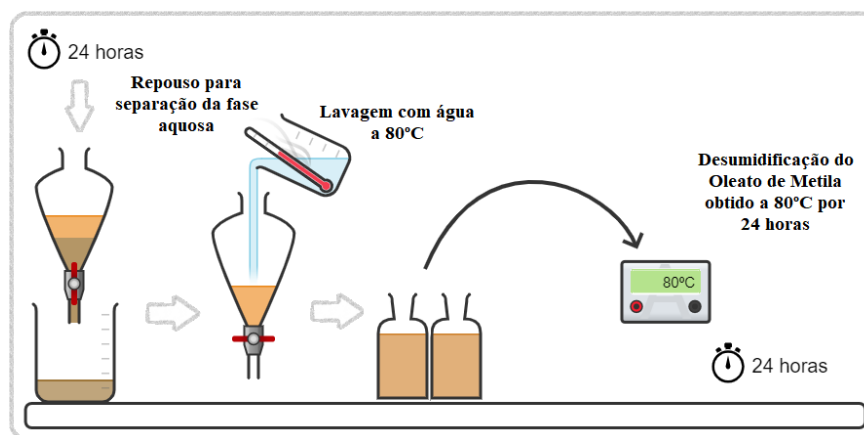
Figura 11. Sistema de reação em refluxo para obtenção do oleato de metila.



Fonte: Próprio autor.

Posteriormente, a mistura reacional foi adicionada a um funil de decantação, permanecendo em repouso por 24 h para separação de fases. Após a separação, ocorreu o descarte da fase aquosa e o óleo foi lavado com água a 80 °C para remoção de impurezas indesejadas, sendo a fase aquosa descartada após a separação de fases. Finalmente, o produto obtido foi desumidificado em estufa por 24 h a 80 °C, como ilustrado na Figura 12.

Figura 12. Esquema empregado para a separação da fração do oleato de metila.



Fonte: Próprio autor.

5.4.1.1 Análise do produto reacional por cromatografia gasosa

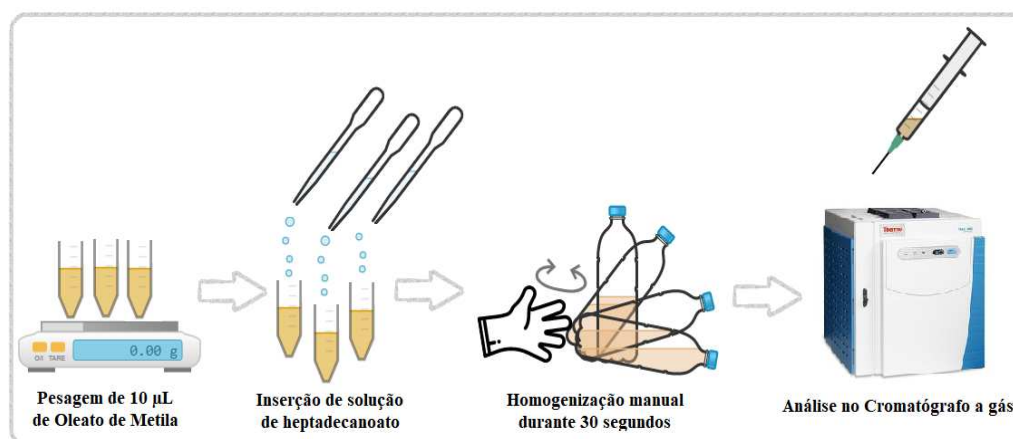
Para análise do produto obtido pela reação de esterificação do ácido oleico empregou-se a GC-FID, na qual aproximadamente 10 μL de cada fração do meio reacional, recolhida a cada 15 min, foi diluída em 490 μL de solução padrão de heptadecanoato de metila (MH, *methyl heptadecanoate*) a 0,550 mg mL^{-1} preparada em n-heptano. A solução resultante foi homogeneizada em agitador vórtex por 30 s. Uma alíquota de 1,0 μL da amostra diluída do oleato de metila foi injetada no GC-FID, como ilustra a Figura 13. As condições de análise no cromatógrafo estão descritas na Tabela 5.

Tabela 5. Condições cromatográficas para análise do oleato de metila.

Método GC-FID	
Detector	Ionização em chama
Equipamento	Focus GC (Thermo Fisher Scientific) (Waltham, Massachusetts, EUA)
Injeção	Injeção <i>split</i> com divisão de fluxo 1:30
Temperatura do injetor e do detector	250 °C
Temperatura do forno da coluna	110 °C com aquecimento de 20 °C/min até 190 °C (2 min)
Coluna Cromatográfica	Coluna Carboxen (polietilenoglicol) 20M, dimensões: 30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,25 μm

Fonte: Próprio autor.

Figura 13. Ilustração para a caracterização cromatográfica do oleato de metila.



Fonte: Próprio autor.

5.5 Desenvolvimento de método de análise de glicerol por HPLC-RID

Para analisar os extratos de glicerol que foram obtidos pelo método SBSE com a barra de agitação revestida com celulose monolítica, primeiramente foi verificado o tempo de retenção do oleato de metila e do glicerol (o pico de interesse), através de análises por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração (HPLC-RID) de duas soluções: (1) 10 mL de solução de glicerol a 0,02 % (m/m) em metanol e (2) 10 mL de solução de oleato de metila a 0,02 % (m/m) em metanol. O método cromatográfico de análise foi desenvolvido otimizando as condições instrumentais, tais como a vazão e a composição da fase móvel, coluna cromatográfica, temperatura de forno de coluna e de detecção, Tabela 6. O equipamento utilizado foi o Waters® Alliance (Waters, Milford, MA) equipado com sistema quaternário de bombeamento e2695, forno, injetor automático e detector de índice de refração modelo 2414 RID, localizado no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal da UFU, *campus* Pontal.

Tabela 6. Condições cromatográficas para análise do glicerol por HPLC-RID.

Método HPLC-RID	
Coluna	Aminoquaternário, Aminex HPX-87H Bio-Rad®, 300 mm × 7,8 mm, partículas de 9 µm, 8 % ligação cruzada
Modalidade	Troca iônica
Fase Móvel	Solução de H ₂ SO ₄ a 0,005 mol L ⁻¹
Vazão	0,6 mL min ⁻¹
Temperatura da Coluna	35 °C
Temperatura do detector	35 °C
Tempo de Análise	20 min

Fonte: Próprio autor.

5.5.1 Preparação da curva analítica para o glicerol

Preparou-se uma solução estoque de glicerol em metanol a 0,20 % (m/m) e, em seguida, foram realizadas diluições de forma a obter 5 mL de soluções de glicerol nas concentrações de 0,04 %; 0,02 %; 0,01 %; 0,005 %; 0,001 %; 0,0005 % e 0,00025 % (m/m). Com a solução de menor concentração foi determinado o limite de quantificação do glicerol nas condições de análise definidas. Para isso, foram realizadas diluições sucessivas da solução até que o sinal não fosse mais detectável no sistema cromatográfico, registrando a menor concentração que resultou em um sinal distinguível do ruído da linha de base. Essa concentração foi analisada em 5 preparações distintas e o desvio padrão das áreas do pico do glicerol calculado para avaliar a repetibilidade de resposta do equipamento.

5.6 Desenvolvimento de método SBSE para a extração de glicerol de biodiesel

5.6.1 Fortificação do oleato de metila com glicerol

Para a verificação da capacidade de extração de glicerol pelas barras de agitação monolíticas de celulose, inicialmente foi preparada uma solução de oleato de metila como matriz de biodiesel. A matriz de biodiesel foi fortificada com concentração de 0,02 % (m/m) de glicerol. A solução foi homogeneizada em agitador magnético por 10 min. Em seguida, a solução foi reservada até o momento de uso.

5.6.2 Otimização da extração SBSE de glicerol de biodiesel

A extração do glicerol de biodiesel, empregando a barra de agitação com revestimento de celulose monolítica, foi otimizada a partir de um estudo univariado. Foram avaliados o tempo de sorção, tempo de dessorção, solvente de dessorção, temperatura de adsorção/dessorção, diluição da amostra de biodiesel e comprimento da barra de agitação. Todas as medidas foram realizadas em triplicatas, registrando a taxa de recuperação de glicerol como resposta.

O procedimento geral de extração consistiu no uso de 5 mL de amostra de biodiesel fortificada com 0,02 % (m/m) de glicerol em um béquer, em que fora adicionada a barra de agitação revestida com celulose monolítica (CMSB, *cellulose monolith stir bar*). A etapa de extração consistiu na agitação magnética, a 200 rpm, com a CMSB controlando o tempo e a temperatura. Em seguida, a CMSB foi retirada da amostra de biodiesel, removendo a umidade excedente com

papel toalha e colocando a CMSB em outro béquer contendo 5 mL de eluente para dessorção do glicerol. Após determinado período de tempo, a CMSB foi retirada e uma alíquota de 1,5 mL do extrato foi analisado por HPLC-RID nas condições otimizadas.

Os fatores e seus níveis avaliados no estudo da otimização do processo de extração SBSE de glicerol de biodiesel empregando a CMSB estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Condições experimentais avaliadas na otimização do método SBSE de glicerol de biodiesel, empregando barras de agitação revestidas com celulose monolítica.

Fatores	Níveis					
Tempo de adsorção (min)	30	60	90	120	240	2880
Tempo de dessorção (min)	15		30		60	
Solvente de dessorção (tipo)	Água	Sol. NaOH 0,02 mol L ⁻¹		Sol. HNO ₃ 0,02 mol L ⁻¹		Metanol
Dimensões da CMSB (mm × mm)	10 × 5			20 × 10		
Temperatura (°C)	27	40		60		70
Diluição da amostra (vezes)	sem diluição				5	

Fonte: Próprio autor.

5.7 Validação do método SBSE para extração de glicerol de biodiesel

Para verificar a confiabilidade dos resultados obtidos na determinação de glicerol livre pelo método proposto neste trabalho, foi realizado um estudo para validação parcial da metodologia SBSE-HPLC-RID. Foram avaliados os parâmetros: seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção e limite de quantificação, exatidão e precisão. A seletividade foi obtida pela comparação dos cromatogramas dos extratos de uma amostra em branco e de uma amostra de biodiesel fortificada com glicerol. A linearidade e a faixa de trabalho foram avaliadas a partir da construção de uma curva analítica para o glicerol em solvente. Os limites de detecção (LOD, *limit of detection*) e quantificação (LOQ, *limit of quantification*) foram determinados a partir da injeção consecutiva de soluções em concentrações decrescentes de glicerol até o registro do menor sinal repetível e distinguível do nível do ruído da linha de base no cromatograma.

Para estudo de exatidão e precisão foi realizada a determinação do glicerol em uma amostra de biodiesel fortificada com 0,02 % (m/m) de glicerol pelo método SBSE-HPLC-RID otimizado e comparada com a determinação de glicerol na mesma amostra pela metodologia padrão oficial

AOCS ca. 14-56 da *American Oil Chemist's Society* (AOCS, 2017). Para o método AOCS ca. 14-56, transferiram-se 1,5 g de oleato de metila fortificado com glicerol a 0,02 % (m/m), para um funil de separação e adicionaram-se 20 mL de água destilada e 0,5 mL de ácido sulfúrico (na proporção 1:4, v/v). A mistura foi agitada por 2 min e deixada em repouso até que ocorresse a separação de fases. A fase mais densa foi transferida para um erlenmeyer, adicionando 25 mL de periodato de potássio a uma concentração de 5,4 g L⁻¹, deixando-a em repouso por 10 min. Em seguida, foram adicionados 2,0 g de NaHCO₃ e 0,75 g de KI, agitando o erlenmeyer para homogeneizar a solução. A solução foi então titulada com arsenito de sódio padronizado a uma concentração de 0,0985 mol L⁻¹ até que a coloração se tornasse amarela transparente. Por fim, acrescentaram-se 3 gotas de solução aquosa de amido a 1,0 % (m/v) e continuou-se a titulação até que a coloração desaparecesse. O teor de glicerol livre foi calculado empregado a Equação 3.

$$\%GL = \frac{(V_b - V_B) * C * 0,0985}{m} \quad \text{Equação 3}$$

Em que: GL = glicerol livre; V_b = volume de arsenito de sódio gasto na primeira titulação de um branco; V_B = volume de arsenito de sódio gasto na titulação do biodiesel; C = concentração padronizada da solução de arsenito de sódio; m = massa de biodiesel.

O teste *t* foi utilizado para avaliar se houve diferença estatística entre as médias do teor de glicerol em biodiesel determinados pelos métodos SBSE-HPLC-RID e AOCS ca. 14-56. A hipótese nula assume que não há diferenças significativas entre as médias das duas medidas, enquanto a hipótese alternativa considera que existe diferença nas determinações (ACHI, 2019). Para o cálculo do teste *t* foi empregada a Equação 4.

$$t = \frac{\bar{x}_{SBSE} - \bar{x}_{AOCS}}{\sqrt{\left(\frac{s_{SBSE}^2}{n_{SBSE}} + \frac{s_{AOCS}^2}{n_{AOCS}} \right)}} \quad \text{Equação 4}$$

Em que: *t* = teste estatístico a um nível de 95 % de confiança, $\bar{x}_{SBSE}$ = porcentagem média de glicerol obtida pelo método SBSE-HPLC-RID, $\bar{x}_{AOCS}$ = porcentagem média de glicerol obtida pelo método AOCS ca. 14-56, s_{AOCS}^2 = variância (desvio padrão ao quadrado) das medidas obtidas pelo método AOCS ca. 14-56, s_{SBSE}^2 = variância (desvio padrão ao quadrado) das medidas obtidas pelo método SBSE-HPLC-RID, *n*_{SBSE} e *n*_{AOCS} são os números de replicatas empregadas nos métodos SBSE-HPLC-RID e AOCS ca. 14-56.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Obtenção dos monolitos de celulose

A preparação de monolitos celulósicos tem atraído atenção para aplicações como meios de separação em virtude destes materiais apresentarem uma estrutura porosa hierárquica controlada durante a separação de fase induzida por um não-solvente (SUN *et al.*, 2017; YAO *et al.*, 2023). Além disso, monolitos de celulose possuem excelentes propriedades, tais como facilidade de modificação química, desempenho rápido de transferência de massa e baixa contrapressão (baixa resistência à passagem de fluidos) que favorecem o seu uso em processo de extração (YAO *et al.*, 2023). Um fator chave para a produção de monolitos celulósicos com estrutura porosa hierárquica bem-sucedida é a escolha do solvente de dissolução do material celulósico. Diante disso, neste trabalho, o acetato de celulose foi utilizado como material de partida devido a pouca solubilidade da celulose em solventes orgânicos comuns. O solvente escolhido para a dissolução do acetato de celulose comercial foi a dimetilformamida, como não solvente foi empregado o n-octanol responsável pela morfologia porosa da estrutura monolítica.

A hidrólise do monolito de acetato de celulose foi realizada com hidróxido de sódio e etanol com o objetivo de desacetilá-lo, formando o produto desejado neste trabalho, o monolito de celulose. O monolito de celulose, obtido após o processo de hidrólise e de lavagens sucessivas com água, apresentou um pH igual a ~ 7 para uma solução aquosa no qual ficou armazenado, comprovando a remoção completa de resíduos da hidrólise. Além disso, o material resultante apresentou-se: insolúvel em água e em vários outros solventes orgânicos (etanol, metanol, butanol, heptano e entre outros). O monolito de celulose apresentou uma coloração branca, estrutura maleável e não quebradiça, Figura 14, contendo uma massa média de $0,66 \pm 0,12$ g a unidade.

Figura 14. Fotografia de um monolito de acetato de celulose produzido neste trabalho com dimensões de aproximadamente 10 mm de comprimento por 5 mm de diâmetro.



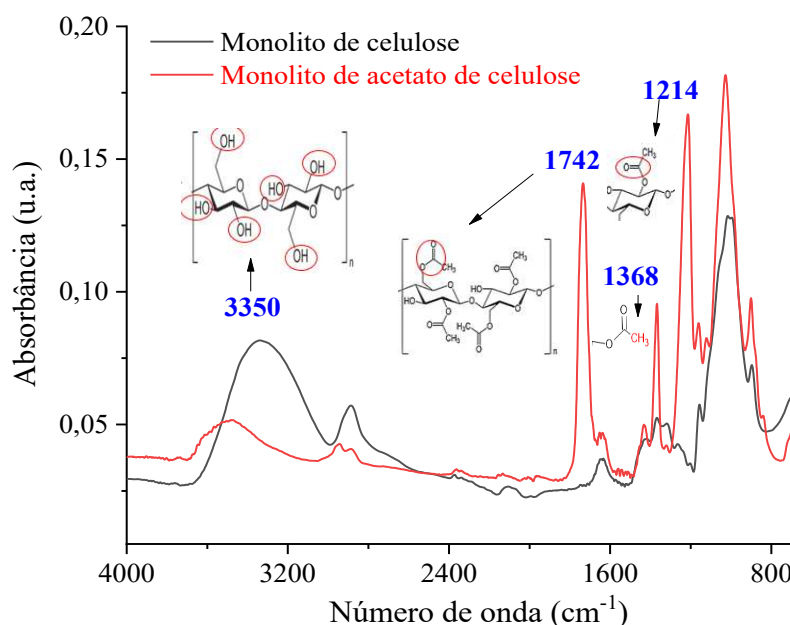
Fonte: Próprio autor.

6.2 Caracterização físico-química e morfológica dos monolitos celulósicos

6.2.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

Os monolitos de celulose e de acetato de celulose foram caracterizados por espectroscopia de absorção na região do infravermelho para identificação dos principais sinais característicos de seus grupos funcionais, avaliando assim a eficiência de conversão ao monolito de celulose. A Figura 15 apresenta os espectros FTIR para os monolitos de acetato de celulose (CA) e de celulose e a Tabela 8 mostra as principais atribuições de sinais.

Figura 15. Espectros FTIR dos monolitos de acetato de celulose e de celulose.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 8. Principais atribuições de sinais registrados nos espectros FTIR dos monolitos CA e celulose.

Sinais (cm ⁻¹)	Atribuições
3.350	Estiramento O-H
2.942	Estiramento assimétrico C-H de CH ₃
2.889	Estiramento simétrico C-H de CH ₂
1.742	Estiramento C=O de éster
1.368	Deformação simétrica de CH ₃ do acetato
1.214	Estiramento C-O de acetato
1.026	Estiramento C-O-C

Fonte: Próprio autor.

Como pode ser observado na Figura 15, os sinais em 1742 cm^{-1} (estiramento C=O de carbonila de éster), 1368 cm^{-1} (deformação simétrica de CH_3 de acetato) e 1214 cm^{-1} (estiramento C-O de grupos acetatos) caracterizam o monolito de acetato de celulose obtido. Estes sinais não são observados no monolito de celulose, além de ser registrado um aumento da intensidade e largura da banda em 3350 cm^{-1} (estiramento O-H) com uma redução do sinal em 1026 cm^{-1} devido a desacetilação do acetato de celulose, reduzindo o número de vibrações C-O-C no monolito desacetilado. Segundo SILVA (2014), as principais evidências da desacetilação efetiva do acetato de celulose é a diminuição da banda referente aos grupos acetila na cadeia carbônica e consequentemente o aumento dos grupos hidroxílicos, bem como o desaparecimento dos sinais em 1742 , 1368 e 1214 cm^{-1} , o que ficou evidente na comparação dos espectros FTIR de celulose e acetato de celulose da Figura 15. Além disso, o espectro FTIR para o monolito de celulose apresenta os sinais característicos de materiais à base de celulose (YU *et al.*, 2021) indicando que o processo de desacetilação do CA foi eficiente sem afetar fisicamente a estrutura monolítica macroporosa, Figura 16.

Figura 16. Fotografia de um monolito de celulose obtido após a desacetilação do monolito de acetato de celulose.



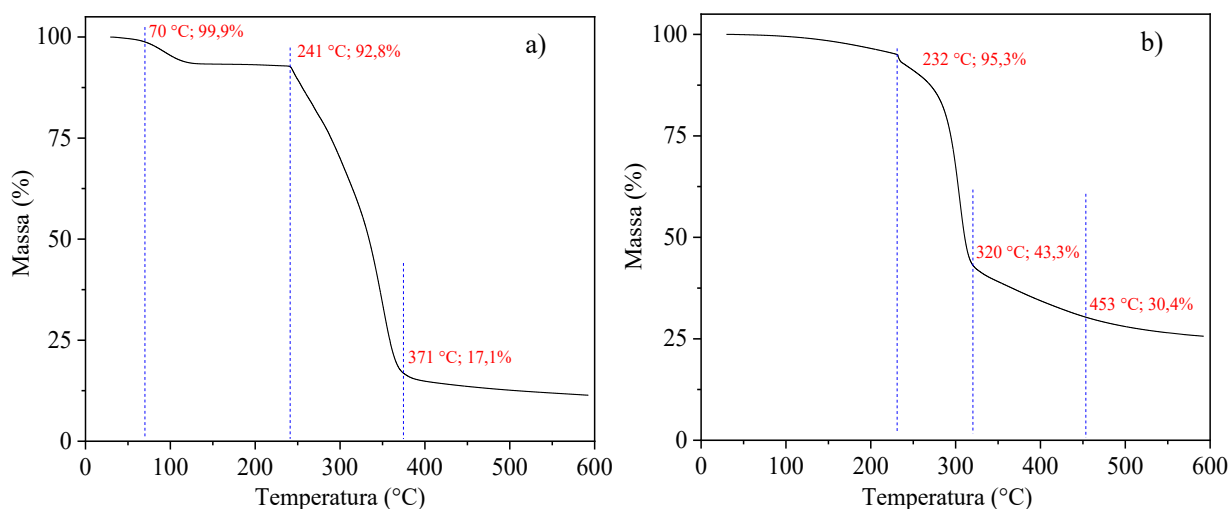
Fonte: Próprio autor.

6.2.2 Análise termogravimétrica

Segundo SOUZA *et al.* (2015), estruturas poliméricas quando expostas a uma análise térmica podem apresentar mudanças estruturais ocasionadas pela ruptura de suas ligações químicas em suas cadeias principais em função da temperatura. Nesse sentido, a análise termogravimétrica permitiu caracterizar os monolitos celulósicos produzidos neste trabalho. A Figura 17 apresenta as curvas TG (*thermogravimetric analysis*) dos monolitos de acetato de celulose e de celulose. Observam-se nas curvas TG pelo menos três eventos térmicos para os monolitos de acetato de celulose e de celulose. O primeiro evento térmico ocorre na faixa de 25 - $240\text{ }^{\circ}\text{C}$, em que se observa uma perda de massa de $\sim 7\%$ para o monolito de acetato de celulose e

de ~5 % para o de celulose, que estão associadas às perdas de moléculas de água adsorvidas e outras substâncias voláteis, como solventes de preparação. O segundo evento térmico ocorre na faixa de 240-370 °C para o monolito de acetato de celulose e corresponde à decomposição das cadeias de acetato de celulose, representando uma perda de ~76 % da massa inicial. Para o monolito de celulose, o segundo evento ocorre na faixa de 230 a 320 °C e corresponde a desidratação e decomposição da celulose. A temperatura *onset* de decomposição, temperatura na qual inicia o processo de oxidação do material, foi de 245 °C. Esse valor é inferior à temperatura de início de decomposição da celulose normalmente e pode estar associada à estrutura expandida do monolito que facilita e acelera o processo de degradação interna do monolito, tornando-o também mais rápido que materiais celulósicos convencionais (YENG; WAHIT; OTHMAN, 2015; REIS *et al.*, 2019; KLAAI *et al.*, 2022). Após a etapa de degradação térmica dos monolitos, o monolito de celulose apresentou uma carbonização mais lenta e mais residual que o monolito de acetato de celulose, provavelmente associada à presença de resíduos inorgânicos do processo de desacetilação, resultando no dobro da massa residual em 600 °C, ~25 % e ~12 % para os monolitos de celulose e acetato de celulose, respectivamente.

Figura 17. Curvas do TGA para os monolitos de (a) acetato de celulose e (b) celulose.



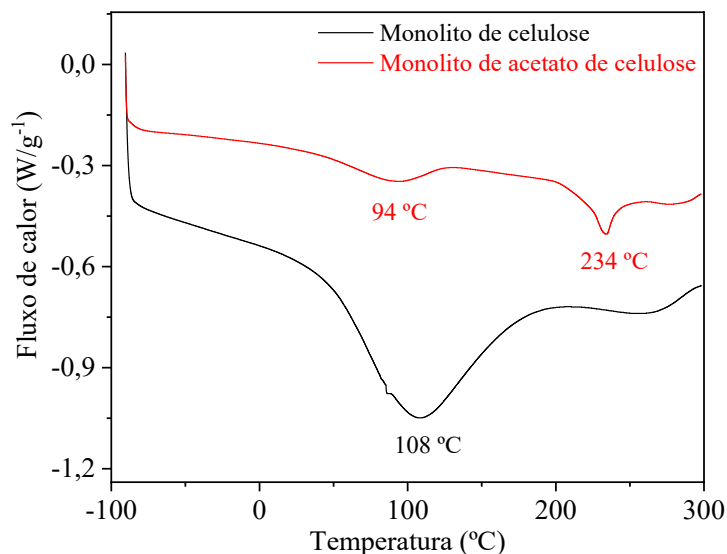
Fonte: Próprio autor.

6.2.3 Calorimetria exploratória diferencial

A calorimetria exploratória diferencial (DSC, *differential scanning calorimetry*) foi empregada para caracterizar os monolitos celulósicos uma vez que é possível observar, através do fluxo de calor nos materiais analisados, as suas transições de fases, mudanças físico-químicas de

suas propriedades, bem como sua degradação (CHAKRABORTY *et al.*, 2021). A Figura 18 apresenta as curvas de DSC para os monolitos de acetato de celulose e de celulose.

Figura 18. Curvas DSC para os monolitos de acetato de celulose e de celulose.

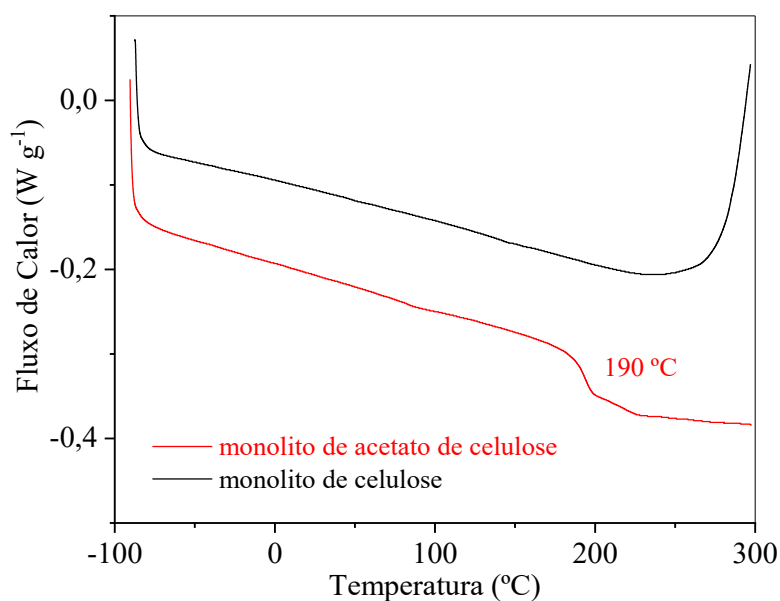


Fonte: Próprio autor.

Como pode-se observar na Figura 18, ambas as curvas apresentam um evento térmico primário, relacionado à saída de água dos materiais, registrado em ~ 94 °C para o monolito de acetato de celulose e em ~ 108 °C para o monolito de celulose. É possível perceber um segundo evento na curva DSC para o monolito de CA e está associado à fusão do material, um pico endotérmico em 234 °C. Este mesmo pico endotérmico não é observado na curva DSC para o monolito de celulose, evidenciando a desacetilação efetiva do monolito de acetato em celulose. PANIZ *et al.* (2018) e CHAKRABORTY *et al.* (2021) mostraram que materiais a base de acetato de celulose resultam em um pico endotérmico nas curvas DSC entre as temperaturas de 230 e 250 °C, referente à sua temperatura de fusão.

A Figura 19 traz as curvas DSC obtidas para a segunda varredura dos monolitos celulósicos. Pode-se perceber um evento térmico para o monolito de CA em ~ 190 °C, correspondente à sua temperatura de transição vítrea. ERDMANN; KABASCI; HEIM (2021) relataram que materiais à base de acetato de celulose apresentam uma alta temperatura de transição vítrea, próxima à temperatura de fusão, entre 190-240 °C, semelhante aos resultados obtidos para o monolito de acetato de celulose produzido neste trabalho. Para a curva DSC do monolito de celulose não se observa tal evento na segunda varredura. Isso se deve às diferenças de temperatura de fusão e de transição vítrea das amostras analisadas, corroborando com os demais resultados que indicaram a desacetilação eficiente do monolito de acetato de celulose.

Figura 19. Curvas DSC de segunda varredura para os monolitos de celulose e de acetato de celulose.



Fonte: Próprio autor.

6.2.4 Grau de inchamento dos monolitos de celulose

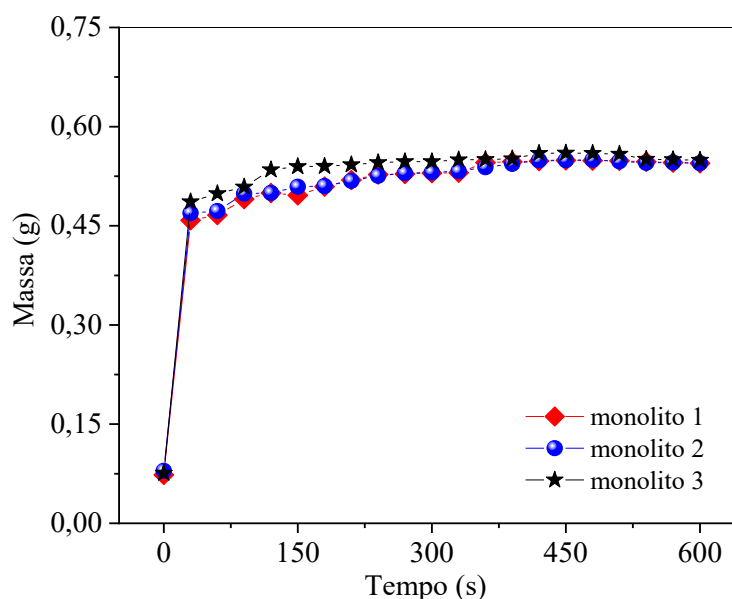
O grau de inchamento é uma característica importante dos materiais poliméricos, pois informa sobre a capacidade de armazenamento de moléculas de alguns solventes internamente em suas estruturas, além de indicar a mobilidade das suas cadeias e definir os níveis de conformação assumidos pelos materiais poliméricos (SILVA, 2020). Assim, o grau de inchamento do monolito de celulose foi determinado visando a possível retenção de solvente polar em seu interior. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 9 e na Figura 20.

Tabela 9. Grau de inchamento dos monolitos de celulose.

Solventes	Grau de inchamento (%)	Massa inicial (g)	Massa final (g)
Monolito 1	645	0,07314	0,54460
Monolito 2	586	0,07943	0,54482
Monolito 3	626	0,07568	0,54921
S_w (%) ± s	619 ± 30		

Fonte: Próprio autor.

Figura 20. Gráfico de inchamento dos monolitos de celulose.



Fonte: Próprio autor.

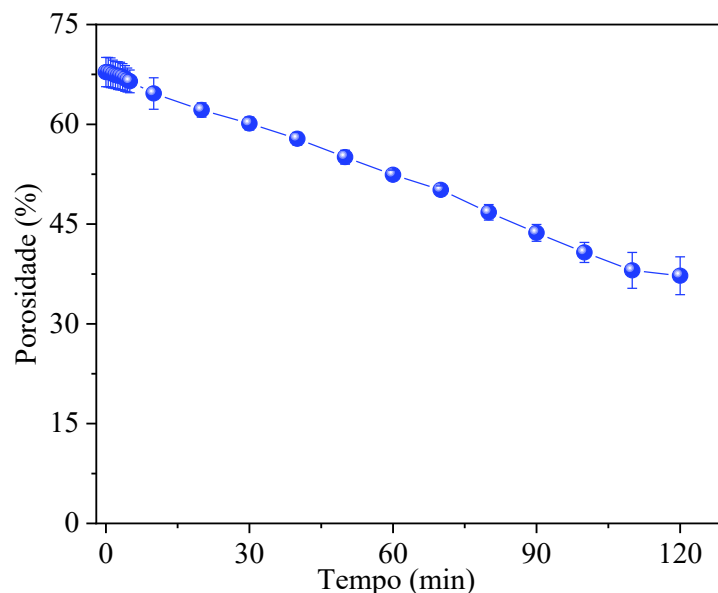
Como observado na Tabela 9, a imersão da barra de celulose em água resultou em um ganho de massa de mais de 7 vezes em média em comparação à massa do monolito seco, o que correspondeu a um grau de inchamento de $619 \pm 30 \%$. Esses resultados são muitos superiores aos materiais celulósicos particulados ou fibrilares (150-300 %) sugerindo que a estrutura expandida do monolito celulósico possibilita maior acomodação das moléculas de água (BOTARO; SANTOS; OLIVEIRA, 2009; UDOETOK *et al.*, 2016). O aumento de massa se deve a grande porosidade dos monolitos de celulose, possibilitando a migração do solvente para o seu interior. Como se observa, os monolitos de celulose entram no equilíbrio rapidamente em contato com a água, não participando do modelo viscoelástico (rearranjo molecular não instantâneo, no qual as moléculas poliméricas tendem a voltar a uma conformação de equilíbrio), assim não apresentando resistência à permeação de solventes polares. Segundo BEHRENS; FERREIRA (2006) e OTTESEN; SYVERUD (2021), o inchaço de materiais advindos da celulose pela imersão em água, se deve também à alguns fatores como a densidade da rede, a capacidade de hidratação, a característica polar da água, a presença de regiões amorfas e de ligações de hidrogênio entre as moléculas da água e grupos hidroxilas da celulose.

6.2.5 Porosidade total dos monolitos de celulose

A porosidade dos monolitos de celulose foi definida pelo método de saturação de fluidos (LU; LI, 2009), no qual o n-butanol foi empregado como solvente, por não mudar a estrutura

monolítica de forma significativa durante o estudo, pois como foi visto a água expande a estrutura monolítica da celulose de forma acentuada. A Figura 21 apresenta a variação da porosidade do monolito de celulose ao longo do tempo, empregando o n-butanol com solvente teste.

Figura 21. Porosidade (%) do monolito de celulose obtido pelo método gravimétrico de saturação com n-butanol.



Fonte: Próprio autor.

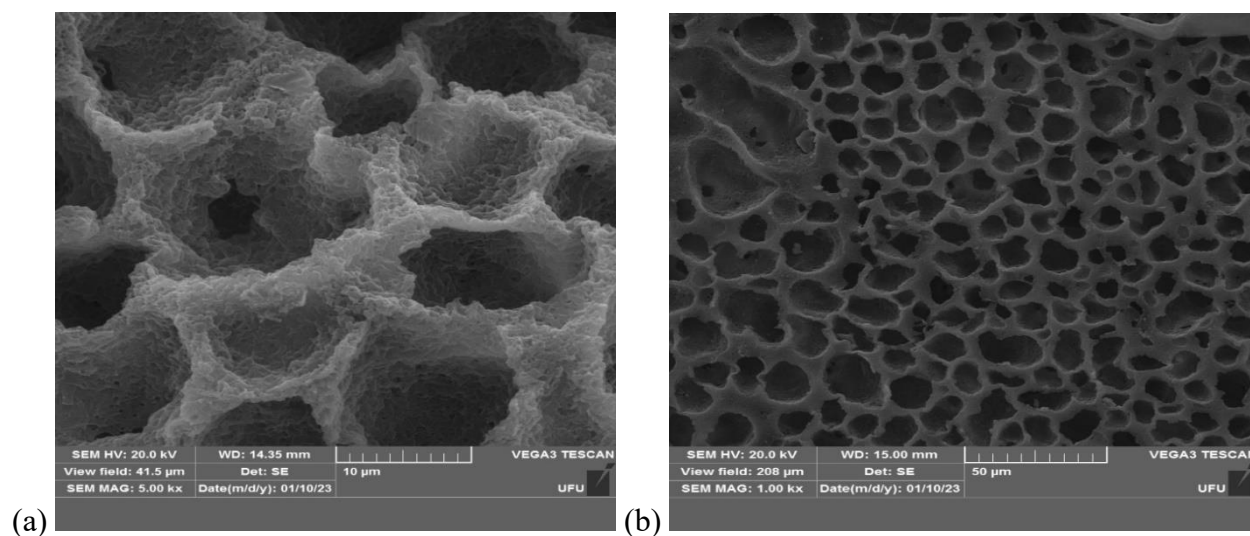
Como mostra a Figura 21, a porosidade total (ϵ) dos monolitos de celulose foi medida em triplicata, alcançando uma porosidade máxima de 68 ± 2 % e que foi reduzindo ao longo do tempo devido à compressão da estrutura macroporosa. O perfil obtido é compatível com aqueles para materiais poliméricos, empregando o método gravimétrico de saturação de fluidos com água. Este resultado indica uma alta porosidade da estrutura monolítica, praticamente dois terços do volume total ocupado pelo monolito é vazio, ou seja, com alta capacidade de acomodar líquidos internamente. A porosidade de 68 % é similar à obtida por outros materiais a base de celulose medidas pelo mesmo método empregando outros solventes (SONG *et al.*, 2022).

6.2.6 Microscopia eletrônica de varredura

A caracterização da morfologia dos monolitos utilizados como barras de agitação sortivas e empregados para a extração é de suma importância, pois está diretamente relacionada ao desempenho ao processo de adsorção do glicerol. As micrografias de SEM (*scanning electron microscopy*) possibilitam avaliar a forma, tamanho e estrutura morfológica dos monolitos de

celulose. Essas características determinam os espaços disponíveis para interações com as substâncias alvo durante o processo de extração. Uma morfologia adequada, altamente porosa e com poros interconectados, pode aumentar a eficiência da extração, permitindo uma maior interação entre o material de celulose e o glicerol, bem como possibilitar o fluxo do líquido da amostra em seu interior. As micrografias dos monolitos de celulose estão apresentadas na Figura 22.

Figura 22. Micrografias eletrônicas de varredura dos monolitos de celulose: a) corte transversal (fratura) e b) superficial



Fonte: Próprio autor.

Pelas micrografias da Figura 22, observa-se que ocorreu a formação de uma estrutura altamente porosa devido ao processo de produção dos monolitos, indicando que o método NIPS é eficiente na preparação de estruturas hierarquicamente porosas para a celulose monolítica. É importante ressaltar que, o não-solvente possui um papel fundamental na formação dos poros, em virtude, de deixar os espaços vazios na estrutura polimérica sólida após a separação de fases. A quantidade e a estrutura molecular do não solvente são fundamentais para alcançar essa estrutura e pode influenciar ainda no tamanho, na distribuição, na forma e na conectividade dos poros. Essas alterações podem ter impacto nas propriedades dos materiais, como sua área superficial, capacidade de absorção, permeabilidade, entre outras características (XIN *et al.*, 2016; SUN *et al.*, 2017; YAO *et al.*, 2023).

6.3 Desenvolvimento de método de análise de glicerol por HPLC-RID

6.3.1 Esterificação do ácido oleico

Para preparação de um biodiesel isento de glicerol foi realizada a reação de esterificação de ácido oleico a oleato de metila por catálise ácida. A GC-FID foi empregada para monitoramento do produto da reação de esterificação. Empregou-se o heptadecanoato de metila como padrão interno para correção de problemas de injeção no modo *split*. A Tabela 10 apresenta os resultados da análise cromatográfica, razão entre as áreas do pico do oleato de metila e do padrão interno ao longo de 2 h de monitoramento da reação.

Tabela 10. Razão entre as áreas de pico do oleato de metila e do pico do padrão interno em função do tempo de reação de esterificação do ácido oleico com metanol.

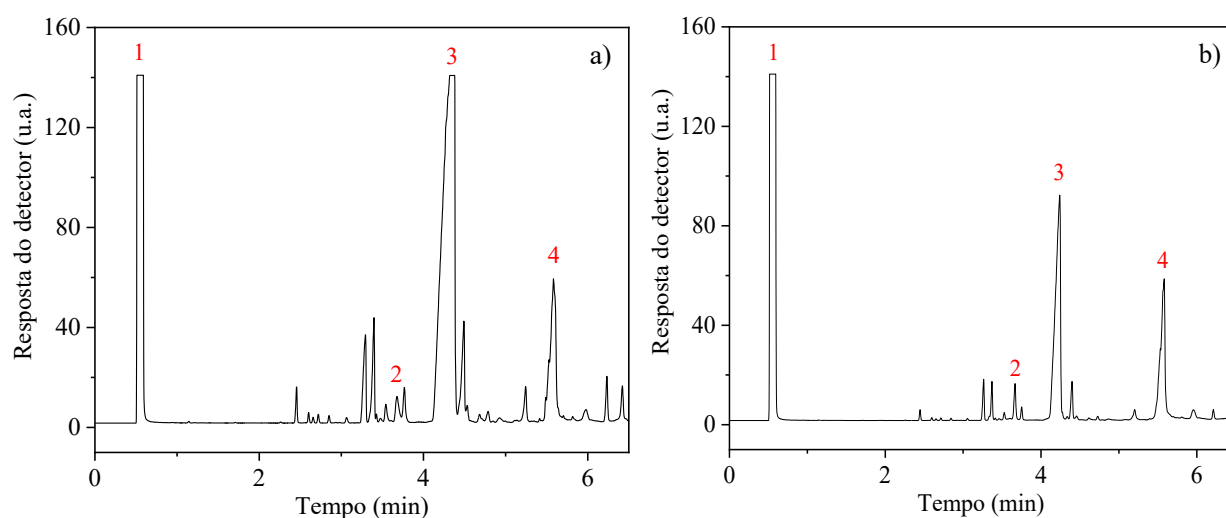
Frações	Tempo (min)	Razão de Áreas
1	15	22,0
2	30	25,4
3	45	44,6
4	60	65,6
5	90	37,0
6	120	18,0

Fonte: Próprio autor.

Como mostrado na Tabela 10, a fração 4 que foi retirada com 60 minutos de reação foi a que apresentou uma maior quantidade de oleato de metila, isto é, foram observados maiores rendimentos da reação, e após este tempo houve um decaimento nos níveis reacionais para a produção do oleato de metila. Esta condição pode estar relacionada a reação reversa que foi se tornando mais efetiva à medida que o tempo aumentava. FURUSAWA *et al.* (2022) em seus estudos de produção de oleato de metila por catalisador ácido, também notaram que depois de um certo tempo de meio reacional ocorre a diminuição da formação do produto. Um dos motivos relatados é a presença de água em maior quantidade no meio reacional levando à reação inversa para formação novamente do ácido oleico. DOURADO (2019) também relatou em seu estudo que quedas em taxas de conversão nesse tipo de reação é causada pela formação de água no meio reacional, sendo prejudicial em etapas em que a concentração de álcool está baixa, assim ocorrendo o deslocamento do equilíbrio químico para o consumo do éster e formação novamente dos ácidos graxos por hidrólise. Os cromatogramas do meio reacional confirmam essas hipóteses como

podem ser observados na Figura 23. O cromatograma do meio reacional na fração 6 registra o pico largo do ácido oleico, o que não se observa no cromatograma da fração 4. Assim, foi definido o tempo de 60 min como o tempo de reação adequado para a obtenção máxima de oleato de metila pela esterificação do ácido oleico.

Figura 23. Cromatograma de frações do meio reacional de esterificação do ácido oleico a oleato de metila por catálise ácida obtida após (a) 60 min e (b) 120 min de reação. Condições de análise na seção experimental. Identificação dos picos: 1- solvente (tolueno); 2- heptadecanoato de metila (padrão interno); 3- oleato de metila; 4- ácido oleico; demais picos são impurezas e resíduos de reagentes.



Fonte: Próprio autor.

De modo geral, a reação resultou em uma conversão de 86,3 % a oleato de metila, Figura 24. Para esse cálculo, determinou-se uma porcentagem em massa de produto obtido após 60 min de reação, conforme a Equação 5.

$$x = \frac{m_{OM}}{m_{AO}} \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

Em que: m_{OM} = massa do oleato de metila e m_{AO} = massa do ácido oleico.

Figura 24. Imagem dos frascos contendo o oleato de metila obtido após o processo de purificação com lavagem com água e remoção de umidade.



Fonte: Próprio autor.

O oleato de metila será empregado como biodiesel neste trabalho, pois é considerada a matriz ideal do biodiesel por ser o principal éster na mistura do biodiesel de várias fontes vegetais (FERREIRA; COSTA; BARBEIRA, 2015).

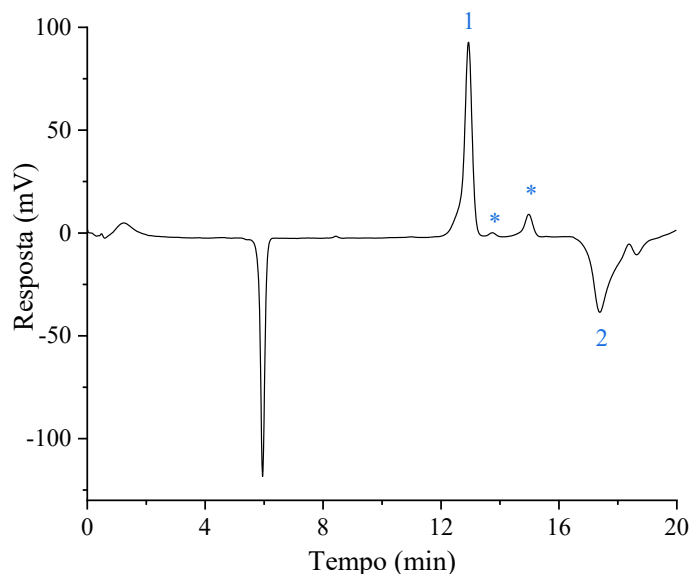
6.3.2 Otimização das condições de análise do glicerol por HPLC-RID

Para a quantificação do glicerol nas amostras de biodiesel foi desenvolvido e otimizado um método por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração (HPLC-RID). A escolha do detector por índice de refração se deve a análise direta do glicerol sem a necessidade de etapa de derivatização para detecção do analito, tornando o processo de análise mais simples, mais rápido e mais acessível economicamente. Inicialmente foram avaliadas as modalidades do HPLC para melhor separação do glicerol, testando colunas cromatográficas e fase móvel. na coluna C18 foi dispensada por não reter adequadamente o glicerol, sendo eluído rapidamente. Foram avaliados dois tipos de fases estacionárias em colunas cromatográficas: (1) octadecilsilano, C18 (modalidade de fase reversa), e; (2) aminoquaternário, Aminex HPX-87H (modalidade de troca-iônica). A análise da coluna, e coeluir com outros componentes do biodiesel que poderiam ser coextraídos na etapa de extração. Além disso, a análise pela modalidade de fase reversa demandaria acetonitrila na fase móvel, tornando o método mais caro e mais poluente.

Assim, os esforços foram direcionados para o desenvolvimento do método na modalidade de troca-iônica, empregando uma coluna Aminex HPX-87H (Bio-Rad Laboratories®) com grupos aminoquaternários positivamente carregados e fases móveis de ácido diluído. Uma mistura de glicerol e oleato de metila a 0,02 % (m/m) cada foi preparada em água e analisada no sistema HPLC-RID, Figura 25. Nas condições de análise otimizadas, observou-se que não ocorreu

coeluição de compostos com o glicerol, sendo registrados os tempos de retenção do glicerol em 12,92 min, do oleato de metila em 17,45 min e resultando em boa seletividade do método de análise.

Figura 25. Cromatograma de uma mistura de (1) glicerol a 0,02 % (m/m) e (2) oleato de metila a 0,02 % (m/m) em água. Condições de análise: coluna Aminex HPX-87H 300 × 7,8 mm, fase móvel sol. H_2SO_4 a 5 mmol L^{-1} , vazão de 0,6 mL min^{-1} , temperatura de 35 °C, detector RID a 35 °C.



Fonte: Próprio autor.

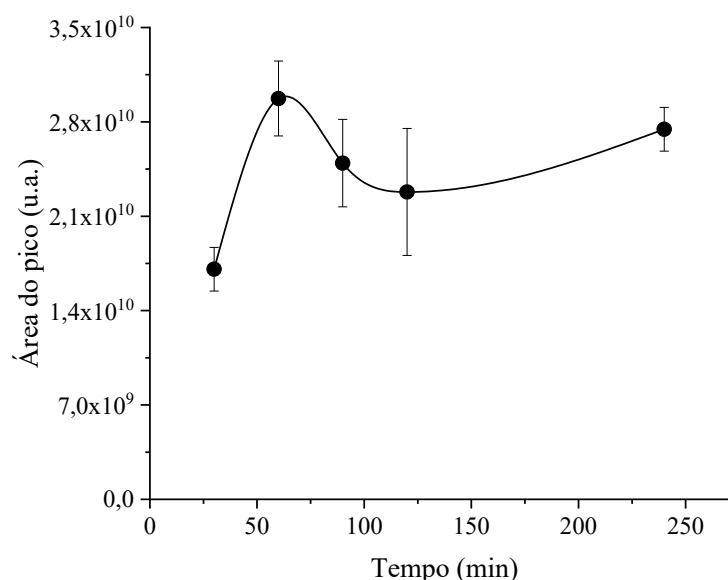
6.4 Otimização do método SBSE para extração de glicerol de biodiesel

São vários os parâmetros que afetam um processo de extração. A quantidade de moléculas de um analito que migra para uma fase extratora, por exemplo, é determinada pelas condições do método, sendo necessário um processo de otimização dessas condições para que o processo seja eficiente, rápido de fácil execução. Para a otimização da extração SBSE empregando a barra de agitação revestida com celulose monolítica (CMSB, *cellulose monolith stir bar*) do glicerol de biodiesel, algumas condições foram fixadas, tais como o volume de 5 mL de amostra, 200 rpm de velocidade de agitação magnética. A condição de agitação foi estabelecida como uma média empregada na SBSE para diferentes tipos de amostras e solutos (ALAMDARI *et al.*, 2019; DAVID; OCHIAI; SANDRA, 2019; SARGAZI; BUCKING; KAYKHAIL, 2020; HE *et al.*, 2021). Quanto ao volume do solvente de dessorção, foi também fixado em 5 mL, quantidade suficiente para recobrir a barra de agitação dentro do béquer. No entanto, a redução desse volume é facilmente obtida, utilizando outro tipo de frasco, por exemplo. O volume foi escolhido para garantir que a amostra esteja em contato com toda a extensão da superfície da CMSB.

6.4.1 Estudo do tempo de adsorção

Segundo DAVID; SANDRA (2007) em extrações que envolvam o método SBSE, o tempo de contato da amostra com a barra monolítica é algo determinante para a eficiência de extração, sendo observada a máxima extração na condição de equilíbrio. Assim, inicialmente foram estudados tempos de 30 a 240 min para contato da barra de agitação revestida com celulose monolítica e a amostra de biodiesel fortificada com glicerol. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 26.

Figura 26. Quantidade extraída de glicerol em função do tempo de contato da barra de agitação de celulose monolítica com a amostra de biodiesel. Velocidade de agitação magnética: 200 rpm, eluente: água, volume de eluente: 5 mL, tempo de dessorção: 15 min, temperatura: $\sim 27^{\circ}\text{C}$.



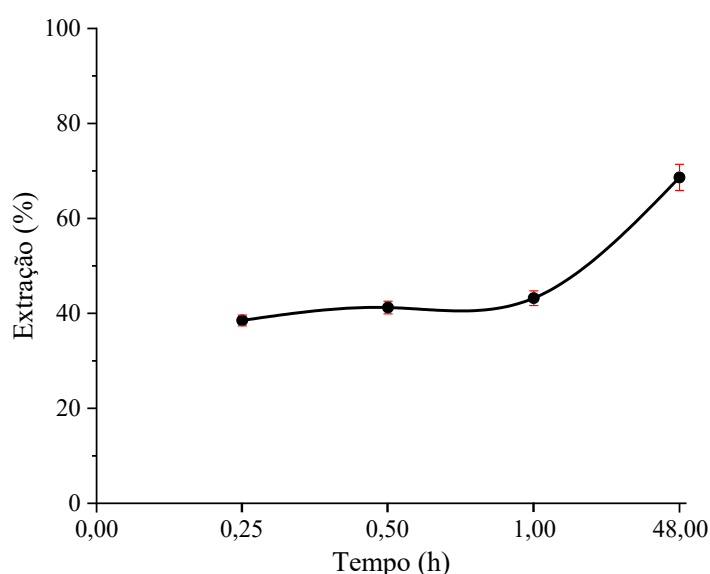
Fonte: Próprio autor.

Como apresentado na Figura 26, a partir de 60 min de contato entre a barra sortiva e a amostra de biodiesel (tempo de adsorção) foi alcançado as maiores taxas de extração do glicerol. A partir de 60 min, ocorre uma oscilação da resposta, representada pelas barras de dispersão no gráfico, mas estatisticamente os resultados estiveram dentro de um intervalo de confiança que indica similaridade de resposta a partir desse tempo. Esta variação pode estar relacionada às condições iniciais do estudo, que ainda não haviam sido devidamente fixadas e controladas. Logo, o equilíbrio entre o glicerol e a celulose deve ter sido alcançado a partir dos 60 min de contato da barra de agitação com a amostra de biodiesel. Assim, o tempo de adsorção na primeira etapa do método SBSE, tempo necessário para a adsorção do glicerol na CMSB, foi definido como 60 min.

6.4.2 Estudo do tempo de dessorção

O tempo de dessorção também foi investigado, com o intuito de se estabelecer o máximo de remoção do glicerol da CMSB, representando a eficiência da extração do glicerol do biodiesel pelo método SBSE proposto. Foram estudados os tempos de dessorção de 15, 30, 60 e 2880 min (48 h). Os resultados são apresentados na Figura 27.

Figura 27. Taxas de extração de glicerol (%) em função do tempo de dessorção do glicerol da barra de agitação para o eluente. Velocidade de agitação magnética: 200 rpm, eluente: água, volume de eluente: 5 mL, tempo de adsorção: 60 min, temperatura: ~27 °C.

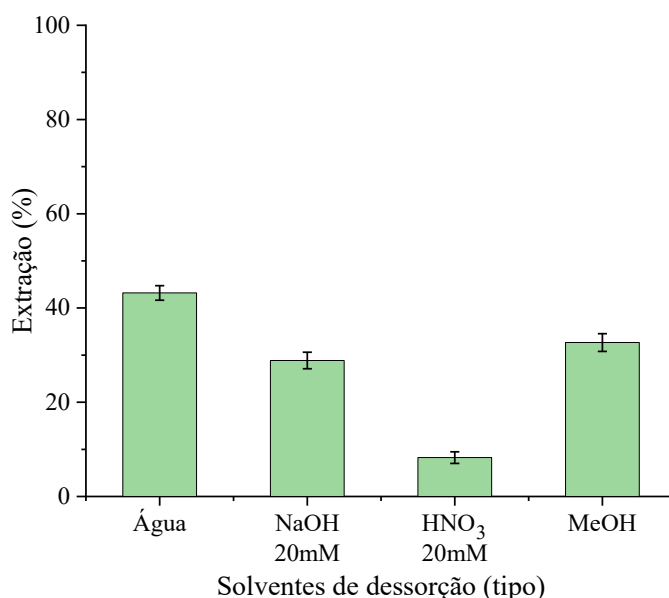


Na Figura 27 é observado que as taxas de extração do glicerol aumentaram brandamente até a condição de 60 minutos, resultando em cerca de 43,2 % de glicerol, indicando uma quase estabilidade entre 15 e 60 min. No entanto, como a taxa de extração estava relativamente baixa, sugerindo que a taxa de transferência de glicerol da barra de agitação para a água, eluente, é lenta. Assim, para avaliar se um aumento mais expressivo de tempo poderia indicar a taxa de lenta de transferência do glicerol para o solvente de dessorção, a CMSB após a adsorção do glicerol do biodiesel foi deixada em contato com água ultrapura sob agitação por 48 h, Figura 27. Podemos observar que a taxa de dessorção do glicerol foi de 68,5 %, um aumento de 25 % de extração. Considerando que este tempo no preparo de amostra é inviável e que a taxa de recuperação ainda é relativamente baixa, comparada com outros métodos de extração de glicerol de biodiesel (Tabela 4), outros estudos foram realizados para otimização do método SBSE. Foi fixado nesta etapa o tempo de 15 min para dessorção do glicerol da CMSB.

6.4.3 Efeito do solvente de dessorção

O solvente de dessorção possui um efeito significativo na seletividade e eficiência da extração do glicerol da CMSB. O princípio básico de escolha do solvente está relacionado à sua capacidade de solubilizar o glicerol, favorecendo sua transferência da barra de agitação de celulose, devido à maior afinidade pelo solvente de dessorção. Outro fator de interesse no solvente de dessorção é a sua compatibilidade da fase móvel. Assim, foram avaliados quatro solventes de dessorção: água ultrapura, solução de hidróxido de sódio a $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, solução de ácido nítrico a $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e metanol. Os resultados estão apresentados na Figura 28.

Figura 28. Taxas de extração de glicerol (%) em função do tipo de solvente para dessorção do glicerol da barra de agitação de celulose monolítica. Velocidade de agitação magnética: 200 rpm, volume de eluente: 5 mL, tempo de adsorção: 60 min, tempo de dessorção: 15 min, temperatura: $\sim 27^\circ\text{C}$.



Fonte: Próprio autor.

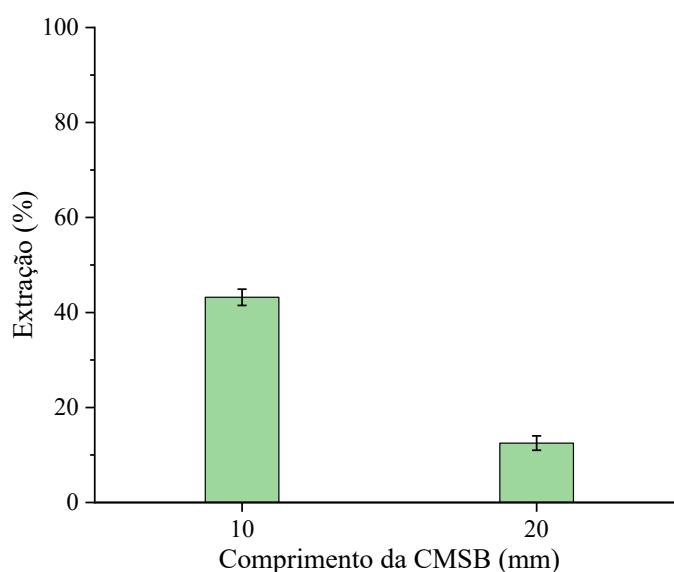
Como mostra a Figura 28, a utilização de solução aquosa de HNO_3 representou uma queda brusca de quase 35 % de recuperação do glicerol, comparado à extração com água ultrapura, sendo o pior dos eluentes avaliados. Quanto a utilização do NaOH e do MeOH, podemos notar que não houve diferenças significativas na taxa de extração do glicerol da CMSB entre estes eluentes, porém com taxas próximas a 30 %. Como o glicerol não é ionizado na faixa de pH 0-14 (PUBCHEM, 2023), a extração com soluções ácida ou básica da CMSB, de fato, são menos eficientes que a água ultrapura. A polaridade do solvente também desempenha um papel importante na dessorção do glicerol da barra de agitação de celulose, assim, a água ultrapura

apresentou a polaridade mais próxima do glicerol, resultando na maior taxa de extração entre os solventes testados, ~43 %. Assim, o solvente selecionado para dessorção do glicerol da barra de agitação de celulose foi a água ultrapura.

6.4.4 Efeito do comprimento da barra de agitação

O efeito das dimensões da barra de agitação da celulose monolítica na extração do glicerol do biodiesel também foi avaliada. Uma maior CMSB poderia aumentar o número de sítios ativos do adsorvente, aumentando a interação com as moléculas do glicerol e, consequentemente, a taxa de extração no método SBSE proposto. Foram avaliadas duas dimensões das barras de agitação de celulose, de 10×5 mm e de 20×10 mm, e as taxas de extração alcançadas estão apresentadas graficamente na Figura 29.

Figura 29. Taxas de extração de glicerol (%) em função das dimensões da barra de agitação de celulose monolítica para extração do glicerol de biodiesel. Velocidade de agitação magnética: 200 rpm, eluente: água ultrapura, volume de eluente: 5 mL, tempo de adsorção: 60 min, tempo de dessorção: 15 min, temperatura: ~27 °C.



Fonte: Próprio autor.

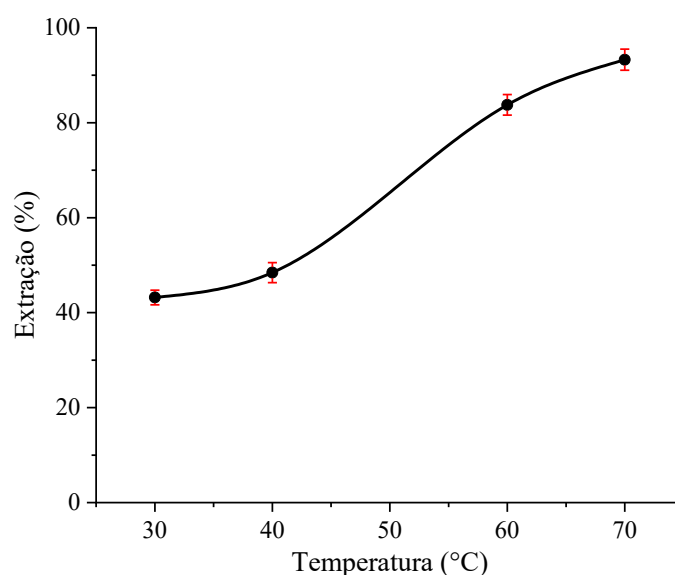
De acordo com a Figura 30, o aumento do comprimento e diâmetro da barra de agitação de celulose monolítica reduz a taxa de extração do glicerol da amostra de biodiesel para apenas 12,5 %, um decréscimo de mais de 30 % da eficiência da extração quando se compara com as CMSB de 10×5 mm. Provavelmente a estrutura mais expandida do monolito apresentou maior retenção do glicerol nos sítios ativos internos, dentro dos poros e, como visto, a taxa de

transferência de massa lenta do glicerol para o eluente necessitaria de um maior tempo para dessorção, tornando o tempo total de preparação de amostra inviável para o processo SBSE proposto. Assim, a barra de agitação com dimensões de 10 mm de comprimento $\times$ 5 mm de diâmetro foi mantida como adsorvente para extração do glicerol do biodiesel.

6.4.5 Efeito da temperatura na adsorção/dessorção do glicerol

O efeito da temperatura dos frascos contendo a amostra na etapa de adsorção e o eluente na etapa de dessorção foi avaliado para a recuperação do glicerol adicionado à amostra de biodiesel pelo método SBSE, mantendo constante todas as demais condições otimizadas. O estudo da temperatura visou a diminuição da viscosidade dos líquidos e o consequente aumento da taxa de transferência de massa do glicerol da CMSB para a água ultrapura. Foram avaliadas as temperaturas de 40, 60 e 70 °C e os resultados estão apresentados na Figura 30.

Figura 30. Taxas de extração de glicerol (%) em função da temperatura do processo de extração SBSE de glicerol de biodiesel. Velocidade de agitação magnética: 200 rpm, eluente: água ultrapura, volume de eluente: 5 mL, tempo de adsorção: 60 min, tempo de dessorção: 15 min.



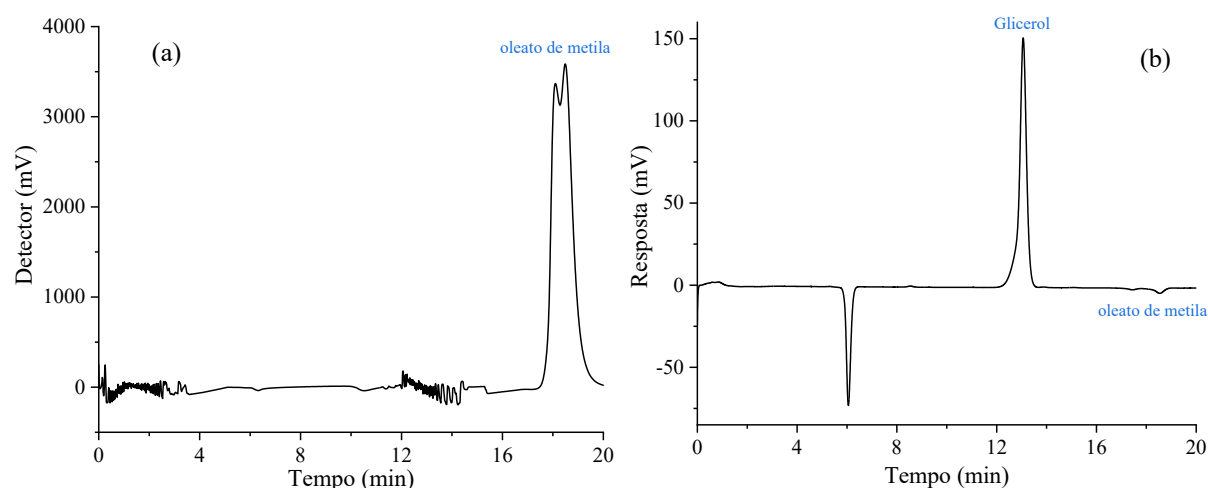
Como pode ser observado na Figura 30 o aumento da temperatura do processo de extração apresentou o efeito mais significativo na recuperação do glicerol das amostras de biodiesel. À medida que ocorreu o aumento da temperatura houve aumento na taxa de extração do glicerol, alcançando $83,8 \pm 2,2$ % a 60 °C e $93,6 \pm 2,1$ % a 70 °C. A diminuição das viscosidades dos líquidos favoreceu uma taxa de transferência de massa mais rápida e efetiva do glicerol para o

eluente, resultando em taxas de recuperação comparáveis com outros trabalhos na literatura, porém com a vantagem de empregar apenas água como único insumo químico no processo de extração (HONÓRIO *et al.*, 2019; COZENDEY *et al.*, 2021; MERCER; HALAWEISH, 2011; MOREIRA *et al.*, 2019; SHISHOV *et al.*, 2019). Assim, a temperatura de 70 °C foi definida como condição experimental para a extração SBSE de glicerol de biodiesel, empregando a CMSB.

6.5 Validação da metodologia SBSE-HPLC-RID

Foi realizada uma validação parcial da metodologia SBSE-HPLC-RID, empregando a barra de agitação de celulose monolítica (CMSB), para verificar sua qualidade na determinação de glicerol em amostras de biodiesel. O primeiro parâmetro avaliado foi a seletividade da metodologia otimizada. Esta avaliação foi realizada pela comparação dos cromatogramas da análise da amostra do biodiesel (oleato de metila) e de um extrato SBSE de uma amostra fortificada com 0,02 % de glicerol livre, Figuras 31a e 31b.

Figura 31. Cromatogramas de (a) uma amostra de biodiesel e do (b) extrato de uma amostra fortificada com 0,02 % (m/m) de glicerol, empregando o método SBSE com barra de agitação de celulose monolítica. Fase móvel: sol. H_2SO_4 5 mmol L^{-1} , vazão de 0,6 mL min^{-1} , temperatura 35 °C, detecção RID.



Fonte: Próprio autor.

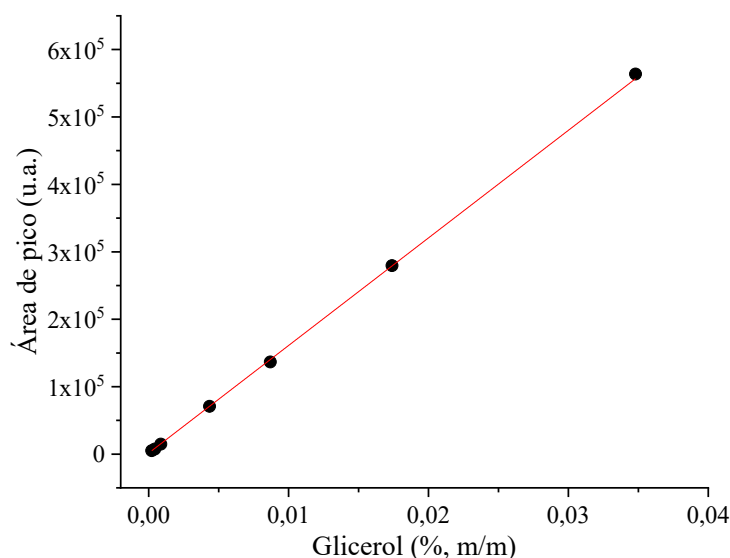
Como observado na Figura 31, o pico do glicerol é registrado em 12,9 min enquanto o pico para o oleato de metila e ácido oleico aparecem sobrepostos em ~17,5 min. O surgimento do pico do ácido oleico deve estar relacionado à reversão da esterificação em função das condições de análise por HPLC-RID, com relação à fase móvel e temperatura. Nenhum pico é eluído nas proximidades do pico do glicerol, indicando que a quantificação do glicerol livre não é afetada por

coextrativos do processo SBSE com a barra de agitação de celulose monolítica. Assim, o método se mostrou seletivo para determinação de glicerol livre, sugerindo inclusive que caso o biodiesel seja obtido de fontes vegetais contendo diferentes composições ácidos graxos, os ésteres devem coeluir no entorno de 17,5 min e não afetarão a quantificação do glicerol. A instabilidade na linha de base do cromatograma da Figura 31a está associada com a baixa miscibilidade da amostra de biodiesel na fase móvel.

A linearidade e a faixa de trabalho do método SBSE-HPLC-RID também foram avaliadas a partir da construção de curvas analíticas para o glicerol em água. As curvas foram preparadas a partir da concentração no limite de quantificação (LOQ) até 0,0350 % (m/m). O limite de quantificação foi inicialmente determinado a partir das injeções consecutivas de soluções em concentrações decrescentes de glicerol até a obtenção do menor sinal repetitivo e distinguível do ruído da linha de base. A concentração registrada como LOQ do método foi $2,18 \times 10^{-4}$ % (m/m), a área obtida para o pico do glicerol nessa concentração apresentou variação, medida pelo RSD de cinco injeções de soluções nesta concentração, de 1,12 %. O LOD para o método foi de $6,6 \times 10^{-5}$ % (m/m). Estes valores são inferiores às concentrações de referência para o glicerol em biodiesel e também inferiores aos métodos recomendados por GC-FID, que são de $2,0 \times 10^{-3}$ % (m/m) (ASTM, 2003; CEN, 2003). É importante mencionar que esses valores de LOD e LOQ podem ser reduzidos com a redução do volume do eluente, resultando em uma maior concentração do glicerol no extrato, pois esta é uma característica intrínseca do método SBSE (DAVID; OCHIAI; SANDRA, 2019).

Assim, as curvas analíticas para o glicerol foram construídas entre as concentrações de $2,18 \times 10^{-4}$ % (m/m) a $3,5 \times 10^{-2}$ % (m/m). Um curva analítica típica para o glicerol está ilustrada na Figura 32.

Figura 32. Curva analítica para soluções aquosas de glicerol, empregando o método SBSE-HPLC-RID.



Fonte: Próprio autor.

Os parâmetros analíticos de linearidade, faixa de trabalho e sensibilidade foram obtidos a partir da curva analítica para o glicerol da Figura 32 e estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Parâmetros analíticos do método SBSE-HPLC-RID empregando barra de agitação de celulose monolítica.

Parâmetros	Valores
Faixa de trabalho (% m/m)	0,00022 a 0,03500
Linearidade (r)	0,99969
Equação da reta	$A_{\text{pico}} = 1,595 \times 10^7 C_{\text{glicerol}} + 1,550 \times 10^3$
Sensibilidade (% m/m)	$1,595 \times 10^7$

Fonte: Próprio autor.

De acordo com os dados da Tabela 11, o método responde de forma linear à concentração do glicerol dentro da faixa de trabalho, permitindo a determinação do teor de glicerol livre em amostras de biodiesel dentro dos limites recomendados de 0,02 % (m/m), ou acima deste limite, indicando potencial contaminação do biodiesel (ANP, 2023). A sensibilidade do método também foi expressiva, indicando que pequenas variações na concentração extraída de glicerol do biodiesel, resultarão em diferenças de áreas de pico significativas nos cromatogramas e serão facilmente determinadas pela técnica HPLC-RID.

A exatidão e a precisão do método SBSE-HPLC-RID foram avaliadas a partir de um estudo de adição e recuperação de glicerol em amostra de oleato de metila na concentração limite recomendada pelas legislações vigentes, de 0,02 % (m/m). Para efeitos de comparação e

comprovação da exatidão, a amostra de biodiesel fortificada foi também avaliada pelo método oficial padrão AOCS ca. 14-56. Foram realizadas medidas em triplicada e os resultados são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Concentrações de glicerol livre em biodiesel obtidas pelo método SBSE-HPLC-RID com barra de agitação revestida com celulose monolítica e pelo método AOCS ca. 14-56.

Métodos	Glicerol (% m/m)	Recuperação (%)	RSD (%)
SBSE-HPLC-RID	0,0188	94,0	2,1
Padrão AOCS 14-56	0,0191	95,5	3,6

Fonte: Próprio autor.

Pode ser observado na Tabela 12 que a recuperação do glicerol da amostra de biodiesel fortificada foi de $94 \pm 2\%$ pelo método SBSE-HPLC-RID usando a CMSB. Este resultado não mostrou diferença estatística para aquele obtido pelo método padrão AOCS ao nível de 95 % de confiança pelo teste-*t*. Desta forma, o método proposto pode ser considerado de boa exatidão na determinação de glicerol livre de biodiesel. Além disso, as medidas realizadas para a extração do glicerol sempre apresentaram baixa dispersão entre os resultados experimentais obtidos sob as mesmas condições, o RSD sempre ficou abaixo de 2,5 % como neste estudo, indicando que o método SBSE-HPLC-RID é também preciso. Os resultados obtidos para o método proposto estão de acordo com aqueles obtidos por outros métodos, porém com a vantagem da simplicidade, o uso de água como solvente extrator e baixa manipulação do analista. A Tabela 13 traz um resumo comparativo dos principais métodos baseados em extração do glicerol da amostra de biodiesel com o método proposto neste trabalho.

Tabela 13. Comparação entre o método proposto e outros reportados na literatura.

Métodos	Reagentes / solventes	Recuperação (%)	LOD (% m/m)	Referência
GC-FID	MSTFA 1,2,4 – butanotriol 1,2,3 - tridecanolilglicerol	100	$2,0 \times 10^{-3}$	ASTM
SBSE-HPLC-RID	Água quente	94	$6,6 \times 10^{-5}$	Este trabalho
RP-AA-DLLME-PAD	NaIO ₄ Tampão NH ₄ OH/HAc Acetilacetona	96	$3,0 \times 10^{-3}$	SHISHOV <i>et al.</i> (2019)
DLLME-UV-vis	NaIO ₄ Tampão NH ₄ OH/HAc Acetilacetona	86-101	$2,0 \times 10^{-4}$	MARINGOLO; CARVALHO; ROCHA (2023)
SPE-HPLC-RID	n-hexano metanol etanol H ₂ SO ₄	99-107	$2,9 \times 10^{-4}$	COZENDEY <i>et al.</i> (2021)
MIP-SPE-UV-vis-Enzimático	n-hexano metanol etanol	91-105	$7,7 \times 10^{-6}$	MOREIRA <i>et al.</i> (2020)
SPE-UV-vis-Enzimático	n-hexano metanol clorofórmio	97-100	$9,8 \times 10^{-4}$	MUNIZ <i>et al.</i> (2019)
SPE-CV	n-hexano etanol	96-101	$1,0 \times 10^{-6}$	HONÓRIO <i>et al.</i> (2019)
SPE-UV-vis	metanol hexano antrona	85	$1,0 \times 10^{-3}$	MERCER; HALAWEISH (2011)
LLE-UV-vis	hexano NaIO ₄ acetilacetona Tampão NH ₄ OH/HAc etanol	89-100	-	BONDIOLI; DELLA BELLA (2005)

RP: reversed-phase; AA: air-assisted; DLLME: dispersive liquid-liquid microextraction; PAD: paper-based analytical advice; SPE: solid-phase extraction; MIP: molecularly imprinted polymer; CV: cyclic voltammetry; LLE: liquid-liquid extraction.

Fonte: Próprio autor.

A concentração limite de glicerol livre no biodiesel é de 0,02 % (m/m) de acordo com as agências regulatórias brasileira, norte americana e da comunidade europeia (ANP, 2023; ASTM, 2020; CEN, 2012) e o método AOCS ca. 14-56 é reconhecido como um protocolo padrão oficial para determinação de glicerol livre em biodiesel uma vez que as medidas obtidas por ele são confiáveis para esta finalidade. Assim, o método desenvolvido neste trabalho apresenta resultados, pelo menos, similares na determinação de glicerol livre em amostras de biodiesel.

7 CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos foi possível concluir que a estratégia de preparação dos monolitos de celulose a partir do acetato de celulose foi bem-sucedida. A conversão dos monolitos de acetato em monolitos de celulose, posteriormente, por um processo de hidrólise alcalina resultou em conversão praticamente completa em monolito de celulose, confirmada por diferentes técnicas de caracterização. Nos espectros de FTIR foram evidentes o desaparecimento dos sinais característicos do acetato de celulose após o processo de desacetilação, tais como os picos nas regiões de 1742 cm^{-1} (atribuído ao estiramento C=O da carbonila de éster), 1368 cm^{-1} (atribuído a vibração de grupo CH_3 de acetato) e em 1214 cm^{-1} (estiramento C-O de acetato). Além disso, foram observados aumento de sinal na região de 3337 cm^{-1} (estiramento O-H), caracterizando a substituição dos grupos acetil por hidroxilas da celulose. Nas curvas DSC foi possível confirmar o ponto de fusão do acetato de celulose na temperatura de $234\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a ausência desse evento térmico na varredura do monolito de celulose, corroborando a mudança estrutural desses materiais. Os monolitos de celulose apresentaram alta porosidade, cerca de 67 % em média de todo o seu volume, bem como um grau de inchamento elevado, cerca de 620 %, na presença de água.

Para as análises cromatográficas no HPLC-RID dos extratos obtidos da extração do glicerol de biodiesel pelo método SBSE com a barra de agitação revestida com celulose monolítica, foi utilizada a modalidade de troca-iônica, empregando uma coluna trocadora de ânions, com grupos aminoquaternários, e fase móvel ácida, resultando em uma boa seletividade e adequada separação dos picos do glicerol para os picos dos ésteres de ácidos graxos. De forma geral, a metodologia desenvolvida, SBSE-HPLC-RID, foi capaz de extrair cerca de $93,6 \pm 2,1\%$ de glicerol presente na amostra do biodiesel, empregando as condições otimizadas de tempo de adsorção e de dessorção, temperatura de $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ e água como eluente. Além disso, comparada à precisão e exatidão do método oficial padrão AOCS ca. 14-56, estatisticamente pelo test-*t* ao nível de 95 % de confiança, não há diferença na confiabilidade da determinação do glicerol em biodiesel pela metodologia proposta. No entanto, o método SBSE-HPLC-RID com barras de agitação de celulose monolítica requer poucas etapas, baixa manipulação do analista e não usa qualquer reagente químico prejudicial ao ambiente, sendo totalmente compatível com os princípios de sustentabilidade, podendo ser considerado um método ambientalmente amigável, como nenhum outro disponível na literatura para esta finalidade.

REFERÊNCIAS

- AHMED, M.A.; KHAN, I.; HASHIM, J.; MUSHARRAF, S.G. Sensitive determination of glycerol by derivatization using a HPLC-DAD method in biodiesel samples. *Analytical Methods*, v. 7, p. 7805-7810, **2015**. <https://doi.org/10.1039/C5AY01761K>
- AL-ACHI, A. The student's *t*-Test: A brief description. *Research & Reviews: Journal of Hospital and Clinical Pharmacy*, v. 5, p. 1-3, **2019**.
- ALAMDARI, S.A.; JOUYBAN, A.; KHOUBNASABJAFARI, M.; NOKHODCHI, A.; RAHIMPOUR, E. Efficiency comparison of nylon-6-based solid-phase and stir bar sorptive extractors for carbamazepine extraction. *Bioanalysis*, v. 11, p. 899-911, **2019**. <https://doi.org/10.4155/bio-2018-0321>
- ANP, Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução ANP nº 920, de 04 de abril de 2023 - Estabelece a especificação do biodiesel e as obrigações quanto ao controle da qualidade a serem atendidas pelos agentes econômicos que comercializem o produto em território nacional. **2023**. Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=443945>, Acesso em: junho, 2023.
- AOCS, American Oil Chemists' Society. Standard Official Method ca. 14-56, Total, free and combined glycerol iodometric-periodic acid method. American Oil Chemists' Society, Urbana, **2017** (revised). Disponível em: <https://www.aocs.org/>, Acesso em: junho, 2021.
- ASTM, American Society for Testing and Materials. D6585 - Test method for determination of free and total glycerine in B-100 biodiesel methyl esters by gas chromatography. *ASTM International*, **2003**. Disponível em: <https://www.astm.org/>, Acesso em: junho, 2021.
- ASTM, American Society for Testing and Materials. D6751 - Standard specification for biodiesel fuel blend stock (B100) for middle distillate fuels. *ASTM International*, **2020**. Disponível em: <https://www.astm.org/>, Acesso em: junho, 2021.
- ATADASHI, I.M. Purification of crude biodiesel using dry washing and membrane. *Alexandria Engineering Journal*, v. 54, p. 1265-1272, **2015**. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2015.08.005>
- ATADASHI, I.M.; AROUA, M.K.; ABDUL AZIZ, A.R.; SULAIMAN, N.M.N. Crude biodiesel refining using membrane ultra-filtration process: An environmentally benign process. *Egyptian Journal of Petroleum*, v. 24, p. 383-396, **2015**. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.10.001>
- AVINASH, A.; MURUGESAN, A. Judicious recycling of biobased adsorbents for biodiesel purification: A critical review. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, v. 38, e13077, **2019**. <https://doi.org/10.1002/ep.13077>
- AYAZI, Z.; JAAFARZADEH, R.; MATIN, A.A. Montmorillonite/polyaniline/polyamide nanocomposite as a novel stir bar coating for sorptive extraction of organophosphorous pesticides in fruit juices and vegetables applying response surface methodology. *Analytical Methods*, v. 31, p. 4547-4557, **2013**. <https://doi.org/10.1039/C7AY00579B>
- BALTUSSEN, E.; SANDRA, P.; DAVID, F.; CRAMERS, C. Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles. *Journal of Microcolumn Separations*, v. 11, p. 737-747, **1999**. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-667X\(1999\)11:10<737::AID-MCS7>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-667X(1999)11:10<737::AID-MCS7>3.0.CO;2-4)
- BARROS, A.A.C.; WUST, E.; MEIER, H.F. Evaluate the waste fatty acid by scientific and technical study to obtain biodiesel. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 13, p. 255-262, **2008**. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522008000300003>

BEHRENS, M.D.; NETTO-FERREIRA, J.C. Fotoquímica de α,α -dimetilvalerofenona adsorvida em celulose microcristalina. *Química Nova*, v. 29, p. 5-10, **2006**. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000100002>

BONDIOLLI, P.; BELLA, L.D. An alternative spectrophotometric method for the determination of free glycerol in biodiesel. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 107, p. 153-157, **2005**. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200401054>

BOTARO, V.R.; SANTOS, C.G.; OLIVEIRA, V.A. Hidrogéis superabsorventes a base de acetato de celulose modificado por dianidrido-3,3',4-4'-benzofenona tetracarboxílico (BTDA): Síntese, caracterização e estudos físico-químicos de absorção. *Polímero: Ciências e Tecnologia*, v. 19, p. 278-284, **2009**. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282009000400006>

CEN, European Committee for Standardization. EN14105 Fat and oil derivatives - fatty acid methyl esters (FAME) - Determination of free and total glycerol and mono-, di- and triglyceride content, **2003**. Disponível em: <https://www.en-standard.eu>, Acesso em: agosto, 2021.

CEN, European Committee for Standardization. EN 14214:2012+A2:2019 Liquid petroleum products. Fatty acid methyl esters (FAME) for use in diesel engines and heating applications. Requirements and test methods, **2012**. Disponível em: <https://www.en-standard.eu>, Acesso em: agosto, 2021.

CHAKRABORTY, I.; RONGPIPI, S.; GOVINDARAJU, I.; B, R.; MAL, S.S.; GOMEZ, E.W.; GOMEZ, E.D.; KALITA, R.D.; NATH, Y.; MAZUMDER, N. An insight into microscopy and analytical techniques for morphological, structural, chemical, and thermal characterization of cellulose. *Microscopy Research and Technique*, v. 85, p. 1990-2015, **2021**. <https://doi.org/10.1002/jemt.24057>

CHAVES, A.R.; QUEIROZ, M.E.C. Extração sortiva em barra de agitação para análise de fármacos em fluidos biológicos. *Química Nova*, v. 31, p. 1814-1819, **2008**. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700037>

CHENG, J.; ZHONG, R.; LIN, J.; ZHU, J.; WAN, W.; CHEN, X. Linear graphene nanocomposite synthesis and an analytical application for the amino acid detection of *Camellia nitidissima* chi seeds. *Materials*, v. 10, 443, **2017**. <https://doi.org/10.3390/ma10040443>

CNPE, Conselho Nacional de Política Energética. Ministério de Minas e Energia. Resolução nº 3, de 20 de março de 2023. Evolução da adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel vendido ao consumidor final, em qualquer parte do território nacional. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/despacho-do-presidente-da-republica-473383252>. Acesso em: maio, **2023**.

COZENDEY, D.D.A.; MUNIZ, R.O.; SANTOS, R.C.; SOUZA, C.G.; ANDRADE, D.F.; D'ÁVILA, L.A. Quantitative analysis of free glycerol in biodiesel using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *Microchemical Journal*, v. 168, 106347, **2021**. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106347>

DAVID, F.; OCHIAI, N.; SANDRA, P. Two decades of stir bar sorptive extraction: A retrospective and future outlook. *TrAC-Trends in Analytical Chemistry*, v. 112, p. 102-111, **2019**. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.006>

DIB, F.H. Produção de biodiesel a partir de óleo residual reciclado e realização de testes comparativos com outros tipos de biodiesel e proporções de misturas em um moto-gerador. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Ilha Solteira - SP, **2010**. <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/88869>

ERDMANN, R.; KABASCI, S.; HEIM, H.P. Thermal properties of plasticized cellulose acetate and its β -relaxation phenomenon. *Polymers*, v. 13, 1356, **2021**. <https://doi.org/10.3390/polym13091356>

FERREIRA, C.C.; COSTA, L.M.; BARBEIRA, P.J.S. Methyl oleate as matrix simulacrum for the simultaneous determination of metals in biodiesel samples by flame atomic emission spectroscopy. *Talanta*, v. 138, p. 8-14, **2015**. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.02.006>

GAIO, L.M. Preparação, caracterização e uso de dolomita mineral como catalisador heterogêneo na produção de biodiesel via reação de transesterificação de óleo de fritura. 2014. 61f., Dissertação (Mestrado em Tecnologias Química e Biológica) - Universidade de Brasília, Brasília, **2014**.
<https://repositorio.unb.br/handle/10482/17826>

GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIESNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *TrAC-Trends in Analytical Chemistry*, v. 50, p. 78-84, **2013**. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010>

GOMES, M.G.; SANTOS, D.Q.; MORAIS, L.C.; PASQUINI, D. Purification of biodiesel by dry washing, employing starch and cellulose as natural adsorbents. *Fuel*, v. 155, p. 1-6, **2015**.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.04.012>

HÁKEK, M.; SKOPAL, F.; MACHEK, J. Determination of free glycerol in biodiesel. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 108, p. 666-669, **2006**. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600004>

HASAN, C.K.; GHIASVAND, A.; LEWIS, T.W.; NESTERENKO, P.N.; PAULL, B. Recent advances in stir-bar sorptive extraction: Coatings, technical improvements, and applications. *Analytica Chimica Acta*, v. 1139, p. 222-240, **2020**. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.08.021>

HAYYAN, M.; MJALLI, F.S.; HASHIM, M.A.; ALNASHEF, I.M. A novel technique for separating glycerine from palm oil-based biodiesel using ionic liquids, *Fuel Processing Technology*, v. 91, p. 116-120, **2010**. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2009.09.002>

HE, M.; WANG, Y.; ZHANG, Q.; ZANG, L.; CHEN, B.; HU, B. Stir bar sorptive extraction and its application. *Journal of Chromatography A*, v. 1637, 461810, **2021**.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461810>

HO, K.C.; SHAHBAZ, K.; RASHMI, W.; MJALLI, F.S.; HASHIM, M.A.; ALNASHEF, I.M. Removal of glycerol from palm oil-based biodiesel using new ionic liquids analogues. *Journal of Engineering Science and Technology*, v. 10, p. 98-111, **2015**.

HONÓRIO, G.G.; CUNHA, J.N.; ASSIS, K.L.S.C.; AGUIAR, P.F.; ANDRADE, D.F.; SOUZA, C.G.; D'AVILA, L.A.; ARCHANJO, B.S.; ACHETE, C.A.; PRADELLE, R.N.C.; TURKOVICS, F.; SERRALVO NETO, R.; D'ELIA, E. Free glycerol determination in biodiesel samples using palladium nanoparticles modified glassy carbon electrode associated with solid phase extraction. *Journal of Solid State Electrochemistry*, v. 23, p. 3057-3066, **2019**. <https://doi.org/10.1007/s10008-019-04387-2>

HOSSEN, M.R.; TALBOT, M.W.; KENNARD, R.; BOUSFIELD, D.W.; MASON, M.D. A comparative study of methods for porosity determination of cellulose based porous materials. *Cellulose*, v. 27, p. 6849-6860, **2020**. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03257-9>

HUBER, T.; MUSSIG, J.; CURNOW, O.; PANG, S.; BICKERTON, S.; STAIGER, M.P. A critical review of all-cellulose composites. *Journal of Materials Science*, v. 47, p. 1171-1186, **2012**.
<https://doi.org/10.1007/s10853-011-5774-3>

IBÁ, Industria Brasileira de Árvores. Celulose, São Paulo, **2021**. Disponível em:
<https://www.iba.org/celulose-2>, Acesso em: dezembro, 2021.

JESUS, S.S.; FERREIRA, G.F.; MACIEL, M.R.W.; MACIEL FILHO, R. Biodiesel purification by column chromatography and liquid-liquid extraction using green solvents. *Fuel*, v. 235, p. 1123-1130, **2019**. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.08.107>

KLAAI, L.; HAMMICHE, D.; BOUKERROU, A.; PANDIT, V. Thermal and structural analyses of extracted cellulose from olive husk. *Materials Today: Proceedings*, v. 52, p. 104-107, **2022**.
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.10.498>

KLEM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H.P.; BOHN, A. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable raw material. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 44, p. 3358-3393, **2005**.
<https://doi.org/10.1002/anie.200460587>

- KNOTHE, G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J.; RAMOS, L.P. Manual do Biodiesel. São Paulo: Blucher, **2006**. 352p. Disponível em: https://www.blucher.com.br/manual-de-biodiesel_9788521204053, Acesso em: março, 2022.
- KRUG, F.J.; ROCHA, F.R.P. Métodos de preparo de amostras para análise elementar. 2º ed. São Paulo: SBQ Editora, v. 2, **2019**.
- LÔBO, I.P.; FERREIRA, S.L.C.; CRUZ, R.S.D. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Química Nova*, v. 32, p. 1596-1608, **2009**. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000600044>
- LU, X.; LI, X. Preparation of polyvinylidene fluoride membrane via a thermally induced phase separation using a mixed diluent. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 114, p. 1213-1219, **2009**. <https://doi.org/10.1002/app.30184>
- MACIEL, E.V.S.; TOFFOLI, A.L.; SOBIESKI NETO, E.; NAZARIO, C.E.D.; LANÇAS, F.M. New materials in sample preparation: Recent advances and future trends. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 119, 115633, **2019**. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115633>
- MAHLIA, T.M.I.; SYAZMI, Z.A.H.S.; MOFIJUR, M.; ABAS, A.E.P.; BILAD, M.R.; ONG, H.C.; SILITONGA, A.S. Patent landscape review on biodiesel production: Technology updates. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 118, 109526, **2020**. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109526>
- MARINGOLO, V.; CARVALHO, A.Z.; ROCHA, D.L. A novel online dispersive liquid-liquid microextraction for the spectrophotometric determination of free glycerol in biodiesel. *Analytical Methods*, v. 15, p. 2997-3004, **2023**. <https://doi.org/10.1039/D3AY00366C>
- MARQUES, E.P.; SILVA, V.D.; ALMEIDA, J.M.S.; COSTA, H.D.; CAVALCANTE, G.H.R.; MARQUES, A.L.B. Analytical methodology for glycerol in biodiesel: current scenario. *Caderno de Pesquisa*, v. 18, p. 70-79, **2011**. Disponível em: <https://periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/cadernosdepesquisa/article/view/744>
- MAZIVILA, S.J.; SANTANA, F.B.; MITSUTAKE, H.; GONTIJO, L.C.; SANTOS, D.Q.; BORGES NETO, W. Discrimination of the type of biodiesel/diesel blend (B5) using mid-infrared spectroscopy and PLS-DA. *Fuel*, v. 142, p. 222-226, **2015**. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.11.014>
- MERCER, E.J.; HALAWEISH, F. Determination of free glycerol in biodiesel via solid-phase extraction and spectrophotometric analysis. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 88, p. 655-659, **2011**. <https://doi.org/10.1007/s11746-010-1707-6>
- MOEIN, M.M.; REHIM, A.A.; REHIM, M.A. Nanomaterials for microextraction techniques in bioanalysis. *IN: Handbook of Nanomaterials in Analytical Chemistry: Modern Trends in Analysis*, Manchester: Elsevier, **2020**. p. 43-56. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816699-4.00003-7>
- MONTEIRO, M.R.; AMBROZIN, A.R.P.; LIÃO, L.M.; FERREIRA, A.G. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. *Talanta*, v. 77, p. 593-605, **2008**. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.07.001>
- MOREIRA, B.M.; CUNHA, J.N.; PAIVA, V.M.; HONÓRIO, G.G.; TARLEY, R.T.; D'ELIA, E. Determination of free glycerol in biodiesel by molecularly imprinted polymer - based solid-phase extraction (SPE) using an enzymatic spectrophotometric assay. *Analytical Letters*, v. 54, p. 1654-1667, **2020**. <https://doi.org/10.1080/00032719.2020.1821040>
- MUNIZ, R.O.; MARTINS, S.B.; HONÓRIO, G.G.; CUNHA, J.N.; SOUZA, C.G.; ANDRADE, D.F.; PRADELLE, R.N.C.; TURKOVICS, F.; SERRALVO NETO, R.; D'AVILA, L.A.; D'ELIA, E. Total glycerol analysis in biodiesel samples using solid phase extraction coupled with enzymatic-spectrophotometric determination. *Analytical Methods*, v. 11, p. 767-773, **2019**. <https://doi.org/10.1039/C8AY02736F>
- NAKAI, D.K.; RIBEIRO, J.A.A.; MARTINS, P.A.; SOARES, I.P.; SALUM, T.F.C.; COSTA, P.P.K.G. Evaporative light scattering detection based reversed-phase ultra-high-performance liquid

chromatography method to quantify intermediates and end products of biodiesel production. *Journal of Chromatography A*, v. 1663, 462726, **2022**. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462726>

NOGUEIRA, J.M.F. Extração sortiva em barra de agitação (SBSE): Fundamentos teóricos e fases seletivas. *Scientia Chromatographica*, v. 4, p. 259-269, **2012**. <https://doi.org/10.4322/sc.2012.019>

OMIDIAN, H.; HASHEMI, S.A.; SAMMES, P.G.; MELDRUM, I. A model for the swelling of superabsorbent polymers. *Polymer*, v. 39, p. 6697-6704, **1998**. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(98\)00095-0](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(98)00095-0)

OTTESEN, V.; SYVERUD, K. Swelling of individual cellulose nanofibrils in water, role of crystallinity: an AFM study. *Cellulose*, v. 28, p. 19-29, **2021**. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03517-8>

PANIZ, O.G.; SCHEIK, L.K.; SILVA, G.E.H.; GONÇALVES, M.R.F.; OLIVEIRA, A.D.; ARAÚJO, E.M.; CARREÑO, N.L.V. Cellulose acetate and silver particles composite synthesis to antimicrobial applications. *Matéria*, v. 23, e-12244, **2018**. <https://doi.org/10.1590/S1517-707620180004.0578>

PETRACIC, A.; SANDER, A.; MAGIC, L. Separation of free glycerol and glycerides from biodiesel. *Science Journal of Energy Engineering*, v. 5, p. 87-94, **2017**. <https://doi.org/10.11648/j.sjee.20170504.12>

PINHO, D.M.M.; SUAREZ, P.A.Z. Do óleo de amendoim ao biodiesel - histórico e política brasileira para o uso energético de óleos e gorduras. *Revista Virtual de Química*, v. 9, p. 39-51, **2017**. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170006>

PITT, F.D.; DOMINGOS, A.M.; BARROS, A.A.C. Purification of residual glycerol recovered from biodiesel production. *South African Journal of Chemical Engineering*, v. 29, p. 42-51, **2019**. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2019.06.001>

PUBCHEM, National Library of Medicine, National Institutes of Health. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glycerin>, Acesso em: junho, **2023**.

QUEIROZ, M.E.C. Extração sortiva em barra de agitação (SBSE): Fundamentos teóricos e fases seletivas. *Scientia Chromatographica*, v. 1, p. 21-29, **2009**.

REIS, A.M.S.; VIEIRA, A.T.; SANTOS, A.L.R.; FERREIRA, M.V.; BATISTA, A.C.F.; ASSUNÇÃO, R.M.N.; RODRIGUES FILHO, G.; RIBEIRO, E.A.M.; FARIA, A.M. Regenerated Cellulose Membrane from Peanut Shell for Biodiesel Purification. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 31, p. 1011-1020, **2020**. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190267>

SÁNCHEZ-ROJAS, F.; BOSCH-OJEDA, C.; CANO-PAVÓN, J.M. A Review of stir bar sorptive extraction. *Chromatographia*, v. 69, p. 79-94, **2009**. <https://doi.org/10.1365/s10337-008-0687-2>

SARGAZI, M.; BUCKING, M.; KAYKHAI, M. Development of a solventless stir bar sorptive extraction/thermal desorption large volume injection capillary gas chromatographic-mass spectrometric method for ultra-trace determination of pyrethroids pesticides in river and tap water samples. *Open Chemistry*, v. 18, p. 1339-1348, **2020**. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0176>

SHARMA, Y.C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S.N. Advancements in development and characterization of biodiesel: A review. *Fuel*, v. 87, p. 2355-2373, **2008**. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2008.01.014>

SHISHOV, A.; TRUFANOV, I.; NECHAEVA, D.; BULATOV, A. A reversed-phase air-assisted dispersive liquid-liquid microextraction coupled with colorimetric paper-based analytical device for the determination of glycerol, calcium and magnesium in biodiesel samples. *Microchemical Journal*, v. 150, 104134, **2019**. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104134>

SILVA, A.J.J. Variable analysis and determination of the die swell during the processing of an industrial polypropylene grade. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, v. 7, p. 3-22, **2020**. Disponível em: <https://teste-periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/3437>, Acesso em: janeiro, **2023**.

SILVA, V.L. Aproveitamento sustentável do bagaço de cana de açúcar para obtenção do acetato de celulose. 2014. 90f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, **2014**.
<https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/19598>

SIQUEIRA, L.Q.; GONÇALVES, L.A.S.; FERRÃO-GONZALES, A.D.; BASTOS, E.M.S. Busca de informações tecnológicas com base em dados de patentes: um estudo prospectivo após a implementação do Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel. *Revista de Desenvolvimento Econômico*, v. 2, p. 182-200, **2019**. <https://doi.org/10.36810/rde.v2i43.6017>

SONG, H.; YANG, J.; YANG, Y.; YANG, Q.; HU, J. Characterization of cellulose-nanofiber-modified fibrillated lyocell fiber separator. *BioResources*, v. 17, p. 4689-4704, **2022**.
<https://doi.org/10.15376/biores.17.3.4689-4704>

SQUISSATO, A.L.; FERNANDES, D.M.; SOUSA, R.M.F.; CUNHA, R.R.; SERQUEIRA, D.S.; RICHTER, E.M.; PASQUINI, D.; MUÑOZ, R.A.A. Eucalyptus pulp as an adsorbent for biodiesel purification. *Industrial Crops and Products*, v. 22, p. 1263-1274, **2015**. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0557-7>

SUN, X.; WANG, K.; ZHANG, B.; ZOU, F.; SUN, G.; HAN, W.; WANG, X. Hierarchically porous cellulose monolith prepared by combination of ice-template method and non-solvent-induced phase separation method. *Chemistry Letters*, v. 46, p. 792-794, **2017**. <https://doi.org/10.1246/cl.170155>

UDOETOK, I. A.; DIMMICK, R.M.; WILSON, L.D.; HEADLEY, J.V. Adsorption properties of cross-linked cellulose-epichlorohydrin polymers in aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, v. 136, p. 329-340, **2016**. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.032>

WOJNOWSKI, W.; TOBISZEWSKI, M.; PENA-PEREIRA, F.; PSILLAKIS, E. AGREEprep - Analytical greenness metric for sample preparation. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 149, 116553, **2022**.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116553>

XIN, Y.; XIONG, Q.; BAI, Q.; MIYAMOTO, M.; LI, C.; SHEN, Y.; UYAMA, H. A hierarchically porous cellulose monolith: A template-free fabricated, morphology-tunable, and easily functionalizable platform. *Carbohydrate Polymers*, v. 157, p. 429-437, **2016**. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.006>

YAO, T.; SONG, J.; HONG, Y.; GAN, Y.; REN, X.; DU, K. Application of cellulose to chromatographic media: Cellulose dissolution, and media fabrication and derivatization. *Journal of Chromatography A*, v. 1705, 464202, **2023**. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464202>

YENG, L.C.; WAHIT, M.U.; OTHMAN, N. Thermal and flexural properties of regenerated cellulose (RC)/poly (3-hydroxybutyrate) (PHB) biocomposites. *Jurnal Teknologi*, v. 75, p. 107-112, **2015**.
<https://doi.org/10.11113/jt.v75.5338>

YU, B.; ZHAO, S.; LU, Y.; HE, Q.; CHENG, Q.; YAN, J.; CHAI, B.; SONG, G. Simultaneous isolation of cellulose and lignin from wheat straw and catalytic conversion to valuable chemical products. *Applied Biological Chemistry*, v. 64, 15, **2021**. <https://doi.org/10.1186/s13765-020-00579-x>

ZHANG, W.B. Review on analysis of biodiesel with infrared spectroscopy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 16, p. 6048-6058, **2012**. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.07.003>