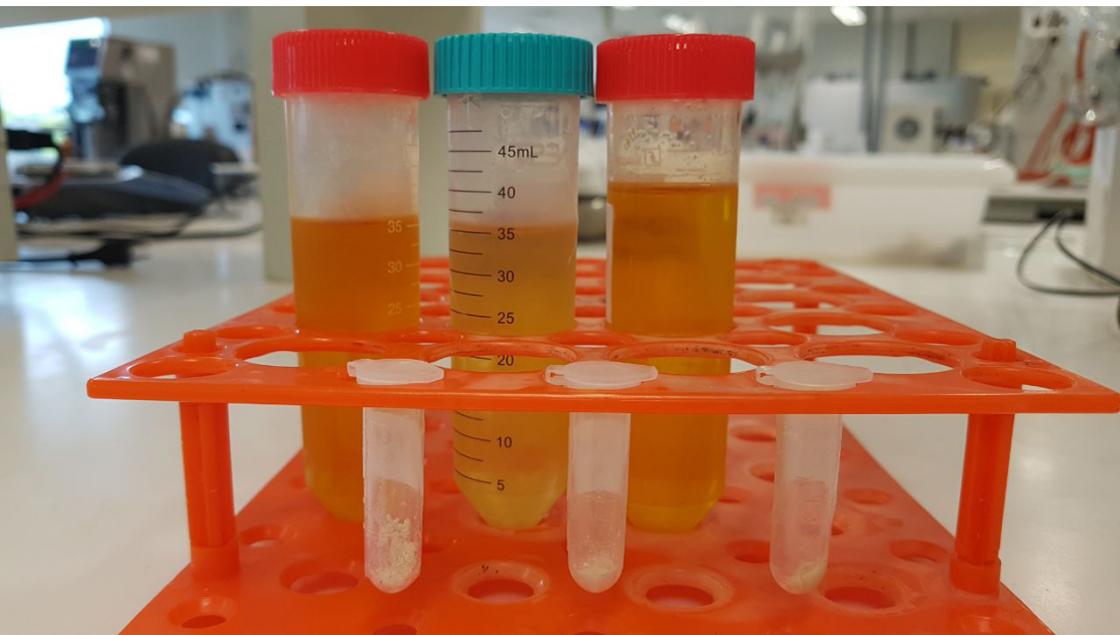


Investigação de Esteroides em Biodiesel



ISSN 2177-0395

Dezembro, 2017

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroenergia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 10

Investigação de Esteroides em Biodiesel

Itânia Pinheiro Soares
Patrícia Pinto Kalil Gonçalves Costa
José Antônio de Aquino Ribeiro
Waldemar Pacheco de Oliveira Filho

Embrapa Agroenergia
Brasília, DF
2017

Embrapa Agroenergia

Parque Estação Biológica (PqEB), s/nº.
Ed. Embrapa Agroenergia.
Caixa Postal 40315.
CEP 70770-901, Brasília, DF.
Fone: + 55 (61) 3448-158
Fax: + 55(61)3448-1589
www.embrapa.br
<https://www.embrapa.br/fale-conosco/sac/>

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Alexandre Alonso Alves*

Secretária-executiva: *Marcia Mitiko O. Esquiagola*

Membros: *André Pereira Leão*

Bruno Galvêas Laviola

Emerson Leo Schultz

Luciane Chedid Melo Borges

Maria Iara Pereira Machado

Rosana Falcão

Sílvia Belém Gonçalves

Supervisão editorial e revisão de texto

Luciane Chedid Melo Borges

Normalização bibliográfica

Maria Iara Pereira Machado

Editoração eletrônica

Maria Goreti Braga dos Santos

Foto da capa

Patrícia Pinto Kalil Gonçalves Costa

1ª edição

Publicação digitalizada (2017)

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroenergia

Investigação de esteroides em biodiesel / autores, Itânia Pinheiro Soares ... [et al.]. – Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2017.

19 p. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Agroenergia, INSS 2177-0395 ; 10)

Disponível no endereço eletrônico: www.embrapa.br/agroenergia/publicacoes

1. Contaminantes. 2. Impurezas. 3. Biodiesel. 4. Esteróides. I. Soares, Itânia Pinheiro. II. Série.

662.669 – CDD 22.

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Material e métodos	12
Resultados	14
Conclusão	17
Agradecimento	17
Referências	18

Investigação de Esteroides em Biodiesel

*Itânia Pinheiro Soares*¹

*Patrícia Pinto Kalil Gonçalves Costa*²

*José Antônio de Aquino Ribeiro*³

*Waldemar Pacheco de Oliveira Filho*⁴

Resumo

Um dos problemas observados durante a estocagem do biodiesel, especialmente em baixas temperaturas, é a formação de precipitado, que pode incorrer em problemas como o entupimento de bicos injetores de combustível. Como esses precipitados são relacionados na literatura à presença de esteroides, foram avaliadas amostras de biodiesel oriundas de diferentes usinas, bem como o precipitado formado a partir dessas amostras. E, diferentemente do que já havia sido descrito na literatura, não foram encontrados esteroides nas amostras de sólidos precipitados.

Termos para indexação: contaminantes, impurezas, biodiesel, esteroides.

¹ Química, doutora em Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

² Química, mestre em Química Orgânica, analista da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

³ Farmacêutico, mestre em Ciências Farmacêuticas, analista da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

⁴ Químico, doutor em Química Analítica, pesquisador da Agência Nacional do Petróleo (ANP), Brasília, DF.

Investigation of steroids in biodiesel

Abstract

One of the problems observed during biodiesel storage, especially under lower temperatures, is the precipitate formation, which can lead to problems such as the clogging fuel injectors. As these precipitates are related in the literature to the presence of steroids, biodiesel samples from different plants were evaluated, as well as the precipitate formed by these samples. Unlike what had already been described in the literature, no steroids were found in the samples of solid precipitated.

Index terms: contaminants, impurities, biodiesel, steroids.

Introdução

O biodiesel é constituído essencialmente de ésteres derivados de ácidos graxos de cadeias longas e, por essa razão, se assemelha ao diesel de petróleo, que, por sua vez, é composto majoritariamente de hidrocarbonetos com número semelhante de carbonos. Sendo assim, as propriedades físico-químicas do biodiesel são similares às do diesel.

Desde sua inserção na matriz energética no Brasil em 2005, o biodiesel tem sido alvo de críticas quanto ao impacto na qualidade da sua mistura com diesel, ainda que controlado com uma especificação de alto rigor (atualmente Resolução ANP N° 45/2014), (AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, 2014), semelhante ao que é praticado nos Estados Unidos e Europa.

A primeira resolução da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), que trata da qualidade do biodiesel (RANP N°42/2004), foi construída tomando como base os parâmetros de qualidade aplicados internacionalmente ao biodiesel. No entanto, em muitos desses parâmetros não foram fixados limites, devido ao desconhecimento do comportamento do biodiesel frente à realidade e variedade de matérias-primas passíveis de utilização no Brasil. A partir daí, três revisões da resolução foram publicadas, estando em vigor a Resolução RANP N° 45/2014. A Tabela 1 traz as especificações do biodiesel no Brasil, Estados Unidos e União Europeia.

Tabela 1. Especificação do biodiesel no Brasil e no mundo.

Instrumento normativo		EUROPA	EUA	Brasil
Parâmetro		EN 14214:2012	ASTM D 6751-15	Res. 45/2014
Densidade 15 °C	g (cm ³) ⁻¹	0.86-0.90		0.85-0.9 (20 °C)
Viscosidade 40 °C	mm ² s ⁻¹	3.5-5.0	1.9-6.0	3.0-6.0
Destilação	% / °C		90%,360 °C	
Ponto de entupimento de filtro a frio	°C	específico por país		específico por região
Ponto de fulgor (PF), mín.	°C	101	93	100
Ponto de névoa	°C		anotar	
Enxofre total, máx.	mg kg ⁻¹	10	15	10
Resíduo de carbono, máx.	%massa		0.05	
Cinzas sulfatadas, máx.	%massa	0.02	0.02	0.02
Teor de água, máx.	mg kg ⁻¹	500		200
Contaminação total, máx.	mg kg ⁻¹	24		
Corrosividade ao cobre, máx.	3h/50 °C	1	3	1
Estabilidade à oxidação, mín.	h;110 °C	8	3	8
Número cetano, mín.		51	47	anotar
Índice de acidez, máx.	mg KOH g ⁻¹	0.5	0.5	0.5
Metanol e/ou Etanol, máx.	% massa	0.20	0.2 ou PF < 130 °C	0.20
Teor de éster, mín.	% massa	96.5		96.5
Monoglicerídeo, máx.	% massa	0.7	0.4	0.7
Diglicerídeo, máx.	% massa	0.2		0.2
Triglicerídeo, máx.	% massa	0.2		0.2
Glicerol livre, máx.	% massa	0.02	0.02	0.02
Glicerol total, máx.	% massa	0.25	0.24	0.25
Índice de iodo, máx.		120	anotar	
E.M. ácido linolênico *, máx.	%massa	12		
Fósforo, máx.	mg kg ⁻¹	4	10	10
Sódio + Potássio, máx.	mg kg ⁻¹	5	5	5
Cálcio + Magnésio, máx.	mg kg ⁻¹	5	5	5

* E.M. metil éster

Pode-se observar na Tabela 1 que os limites para os parâmetros avaliados são semelhantes, guardadas as particularidades de cada país.

Apesar da semelhança com o diesel e da especificação criteriosa, o biodiesel é mais higroscópico que o diesel, além de possuir insaturações na sua cadeia carbônica e ser oxigenado. Esse conjunto de fatores favorece uma maior degradação desse combustível quando comparado ao diesel de petróleo. Dessa forma, tem sido comum associar ao biodiesel os problemas relacionados a entupimento de bicos, a formação de gomas e, conseqüentemente, a formação de depósitos nos tanques e filtros.

Para alguns casos, observa-se que, após certo tempo de estocagem, o biodiesel apresenta sólidos insolúveis. Esses sólidos têm sido atribuídos à presença de esteroides no combustível, provenientes de óleos e gorduras, tendo em vista que o procedimento convencional de produção de biodiesel não elimina os esteroides livres por completo. Segundo Pieber et al. (2010), os esteroides estariam presentes e solúveis tanto no óleo quanto no biodiesel, mas, quando o combustível é estocado a baixas temperaturas e por longos períodos, esses esteroides se aglomeram e precipitam. A Resolução ANP em vigor não prevê a realização de ensaios desses contaminantes.

Os esteroides são lipídeos que possuem um núcleo central policíclico, formado por quatro anéis em um total de dezessete átomos de carbono. Esses esteroides podem se ligar a moléculas de glicose formando esteroides conjugados, esteroides glicosídeos, que contribuiriam para o aumento da formação de material sólido. As plantas sintetizam uma mistura complexa de esteroides, sendo o β -sitosterol um dos mais comuns entre eles (BEZERRA; ANTONIOSI FILHO, 2015). A Figura 1 mostra a estrutura do β -sitosterol (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2017).

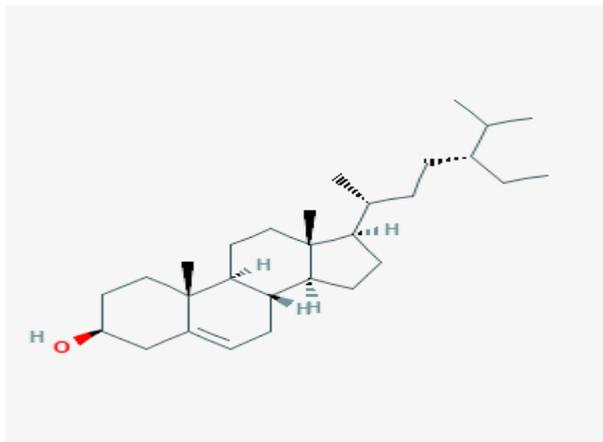


Figura 1. Estrutura química do esteroide β -sitosterol.

Sendo assim, o objetivo do estudo foi avaliar a presença de esteroides em amostras de biodiesel, utilizando a metodologia proposta por Bezerra e Antoniosi Filho (2014a, 2014b).

Material e métodos

Amostras

Foram coletadas amostras de diferentes usinas com diferentes composições, nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul. Essas amostras foram armazenadas a 4 °C, por um período de dois meses. Em seguida, foram filtradas, utilizando filtro de 0,45 μm , separando-se assim o material precipitado. A relação das amostras analisadas está descrita na Tabela 2.

Tabela 2. Amostras de biodiesel coletadas em usinas nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul.

Amostra	Descrição	Origem
1	Biodiesel de soja	Usina 1
2	Biodiesel de soja	Usina 2
3	Biodiesel de soja	Usina 3
4	Biodiesel de sebo bovino	Usina 4
5	Biodiesel de soja com sebo (60/40 % m/m)	Usina 5, lote 1
6	Biodiesel de soja com sebo (60/40 % m/m)	Usina 5, lote 2
Prep 1	Sólido proveniente da amostra 2	
Prep 2	Sólido proveniente da amostra 5	
Prep 3	Sólido proveniente da amostra 6	

Extração dos esteroides

Os esteroides livres foram extraídos da fração insaponificável das amostras de biodiesel e, em seguida, derivatizados utilizando MSTFA (N-metil-N-(trimetilsilil)trifluoracetamida), segundo Bezerra e Antoniosi Filho (2014a, 2014b). A derivatização também foi aplicada aos sólidos precipitados das amostras de biodiesel (Prep 1, 2 e 3).

Análise Cromatográfica

As amostras foram caracterizadas utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas modelo QP2010 da marca Shimadzu. A quantificação dos esteroides foi feita empregando-se um cromatógrafo gasoso equipado com um detector por ionização em chamas modelo 7890A da Agilent. Foi utilizada uma coluna capilar DB-17HT (30m x 250 μm x 0,15 μm), razão de *split* de 10, temperatura do injetor a 280 °C e interface de 250 °C. As análises foram feitas com duplicata de injeção, iniciando à temperatura de 200 °C, aumentando

para 330 °C, com taxa de aquecimento de 4 °C min⁻¹, permanecendo por mais 5 minutos. Para análise quantitativa, foi utilizado betulina como padrão interno.

Resultados

Inicialmente foi feita uma extração dos esteroides presentes no óleo de soja. Como não se dispunha de padrão de todos os esteroides, foi feita a identificação de alguns deles pelo perfil de fragmentação no espectrômetro de massas e comparação com dados da literatura (BEZERRA; ANTONIOSI FILHO, 2014a, 2014b). A Figura 2 mostra o cromatograma do óleo de soja e a identificação dos picos na Tabela 3.

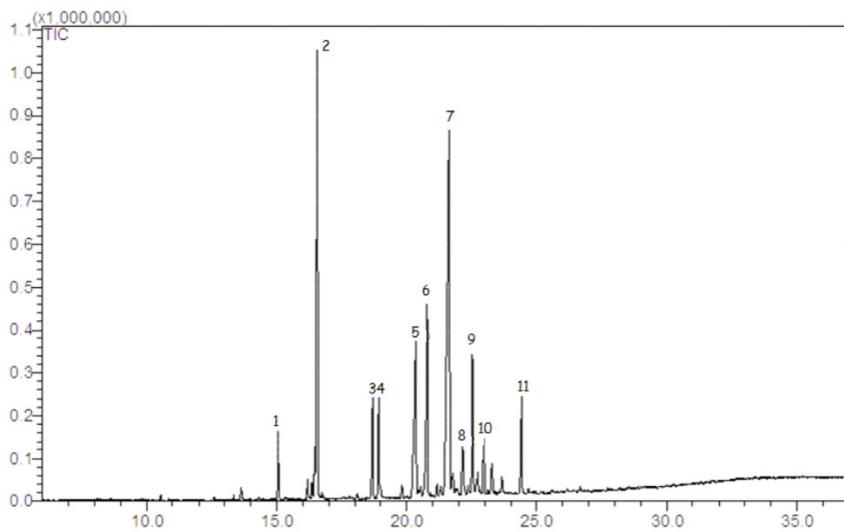


Figura 2. Cromatograma do óleo de soja.

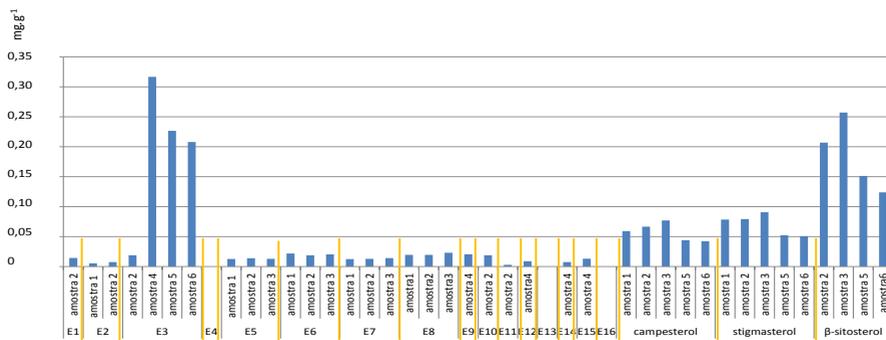
Tabela 3. Caracterização do óleo de soja quanto aos esteroides.

Pico	Esteróide	M ⁺	M ⁺ - 15
1	E1	474	459
2	E2	488	*
3	E3	458	443
4	E4	502	*
5	Campesterol	472	457
6	Stigmaterol	484	*
7	β -sitosterol	486	471
8	E5	498	483
9	E6	486	471
10	E7	498	483
11	E8	400	*

*não detectado

De acordo com o cromatograma da Figura 2, foram identificados 11 esteroides. Entre eles, alguns isômeros, como os esteroides E5 e E7, β -sitosterol e E6.

Na Figura 3, são apresentados os resultados da quantificação dos esteroides nas amostras de biodiesel.



*amostras 1, 2 e 3 - biodiesel de soja; amostra 4 - biodiesel de sebo bovino; amostras 5 e 6 - biodiesel soja/sebo.

Figura 3. Esteroides presentes em amostras de biodiesel.

Não foram identificados esteroides nas amostras Prep 1, 2 e 3 (sólidos precipitados). Observou-se que os esteroides E3 e o β -sitosterol estão presentes em maior quantidade nas amostras de biodiesel analisadas, e o primeiro está presente em maior quantidade no sebo bovino. As amostras de biodiesel de soja apresentam perfis de esteroides semelhantes, considerando também aquelas que são formadas da mistura soja/sebo bovino. A faixa de concentração dos esteroides nas amostras analisadas foi de 0,002 mg.g⁻¹ a 0,316 mg.g⁻¹. Os esteroides E4 e E16, embora identificados, não puderam ser quantificados, pois as concentrações estavam abaixo do limite de quantificação.

Oliveira Filho (2011) sugeriu que os maiores causadores da precipitação de biodiesel seriam os monoglicerídeos. Fernandes Junior et al. (2012) estudaram o resíduo sólido do biodiesel de gordura bovina. Concluíram no trabalho que o resíduo era constituído majoritariamente pelos monoglicerídeos monopalmitina e monoestearina.

Conclusão

Foi verificado que a metodologia, tanto para extração, quanto para identificação e quantificação dos esteroides, se mostrou eficiente, permitindo separação dos analitos com uma boa resolução.

Era esperado que fossem encontrados esteroides nos sólidos precipitados das amostras de biodiesel, no entanto, isso não aconteceu. Nesse sentido, pode-se inferir que os esteroides estão presentes e solubilizados no biodiesel, assim como estão presentes no óleo e gordura animal, e que, portanto, não seriam causadores dos problemas de precipitados no combustível, como descrito em alguns trabalhos na literatura. Sendo assim, o presente trabalho reforça a importância do controle e redução dos limites de teores de monoglicérides no biodiesel, estipulados pela agência reguladora.

Agradecimento

Ao CNPq, pela concessão de recursos.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO (Brasil). Resolução nº 45, de 2014. Dispõe sobre a especificação do biodiesel contida no Regulamento Técnico ANP nº 3 de 2014 e as obrigações quanto ao controle da qualidade a serem atendidas pelos diversos agentes econômicos que comercializam o produto em todo o território nacional. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 ago. 2014. Seção 1, p. 68.

BEZERRA, K. S.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Characterization and quantification by gas chromatography of free steroids in unsaponifiable matter of vegetable oils. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 238-245, 2014a.

BEZERRA, K. S.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Gas chromatographic analysis of free steroids in biodiesel. **Fuel**, Oxon, v 130, p. 149-153, 2014b.

BEZERRA, K.S.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Análise comparativa do conteúdo em esteroides livres de diferentes óleos e gorduras e biodiesel por cromatografia gasosa. **Química Nova**, São Paulo, v 38, n. 4, p. 498-505, 2015.

FERNANDES JÚNIOR, V. J.; ARAUJO, A. S.; VINHADO, F. S.; PIVESSO, P. R. Caracterização do resíduo sólido formado em biodiesel de sebo bovino. **Química Nova**, São Paulo, v 35, n. 10, p. 1901-1906, 2012.

GÓMEZ-COCA, R. B.; PÉREZ-CAMINO, M.C.; MOREDA, W. On the glucoside analysis: Simultaneous determination of free and esterified steryl glucosides in olive oil. Detailed analysis of standards as compulsory first step. **Food Chemistry**, Oxon, v. 141, n. 2, p. 1273–1280, 2013.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PubChem Compound Database**: Beta-Sitosterol. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/222284#section=Top>>. Acesso em: out. 2017.

OLIVEIRA FILHO, W. P. Estudo de composição de particulados em biodiesel de soja. In: ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 16., 2011, Campos do Jordão, SP. **Resumos...** São Paulo: USP, Instituto de Química, 2011.

PIEBER, B.; SCHOBBER, S.; GOEBL, C.; MITTELBAACH, M. Novel sensitive determination of steryl glycosides in biodiesel by gas chromatography–mass spectroscopy. **Journal of ChromatographyA**, Amsterdam, v. 1217, n. 42, p. 6555–6561, 2010.

Embrapa

Agroenergia

MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**



CGPE 14117