



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA – UFBA
INSTITUTO DE QUÍMICA – IQ
Programa de Pós-Graduação em Química



EMPREGO DE FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS NA
CROMATOGRAFIA A GÁS PARA DETERMINAR A ORIGEM DO
BIODIESEL

VANJOALDO DOS REIS LOPES NETO

Salvador, BA
2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA – UFBA
INSTITUTO DE QUÍMICA – IQ
Programa de Pós-Graduação em Química



EMPREGO DE FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS NA
CROMATOGRAFIA A GÁS PARA DETERMINAR A ORIGEM DO
BIODIESEL

VANJOALDO DOS REIS LOPES NETO
Doutorando

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira

Tese apresentada ao Instituto de
Química da Universidade Federal da
Bahia para obtenção de título de Doutor
em Ciências Naturais - Química.

Salvador, BA
2012

Sistema de Bibliotecas/IQ - UFBA

Lopes Neto, Vanjoaldo dos Reis .

Emprego de ferramentas quimiométricas na cromatografia a gás para determinar a origem do biodiesel / Vanjoaldo dos Reis Lopes Neto. - 2013.
134 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Salvador, 2012.

1. Biodiesel. 2. Cromatografia de gás. 3. Quimiometria. I. Teixeira, Leonardo Sena Gomes. II. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. III. Título.

CDD – 338.47

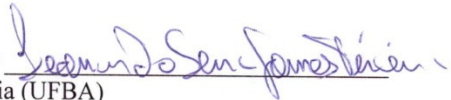
CDU – 543.544.3:662.7

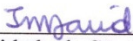
TERMO DE APROVAÇÃO

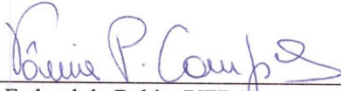
VANJOALDO DOS REIS LOPES NETO


EMPREGO DE FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS NA CROMATOGRAFIA A GÁS
PARA DETERMINAR A ORIGEM DO BIODIESEL


Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química,
Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira - Orientador 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Jorge Mauricio David 
Doutorado em Química Orgânica, Universidade de São Paulo (USP)
Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Vânia Palmeira Campos 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Marta Valéria Almeida Santana de Andrade 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade do Estado da Bahia

FLORIVAL RODRIGUES DE CARVALHO 
Doutorado em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Campinas
Universidade Federal de Pernambuco

Salvador, 24 de agosto de 2012.

DEDICATÓRIA

Poxa, foram cinco anos de loucura! Na verdade, para ser bem sincero, toda a minha vida sempre foi muito corrida, sempre fazendo duas, três, quatro coisas simultaneamente. Consequentemente, as pessoas que sempre estiveram próximas a mim tinham de fazer parte, querendo ou não, das minhas atividades. Portanto, vocês são coautores e essa conquista é de vocês! Eu apenas fui levado (ou empurrado) por vocês a caminhar este caminho. Assim, este trabalho é dedicado a estas pessoas que me empurraram (e ainda vão me empurrar!):

Minha futura esposa, Karina Santana: “... Hoje sou feliz e canto Só por causa de você. Hoje sou feliz, feliz e canto só porque amo, Amor, você...” Meu Bem, valeu por estar ao meu lado, fazendo nossa família ser feliz, sólida e abençoada. VAnjo e Karina *Omnia Vivent*.

Minhas filhas, Lisa e Bianca, e também aos que ainda virão: Lisa foi meu guia, meu rumo, minha força durante os momentos difíceis; quando eu pensava em largar tudo, Lisa era minha inspiração. Bianca, além de ser minha nova inspiração, representa a concretização de um sonho, a esperança de dias melhores. São os “Amores de Pai”.

Meus Irmãos Nayara, Ulisses e Shylaira: Nayara é mais que minha irmã, é minha amiga, comadre, confidente e mãe; quando eu morei em outros lugares, também foi mãe de Lisa. Ulisses não é meu cunhado; é meu irmão de atitude e de alma! Shylaira, além de minha amiga, foi minha *Office Girl*, meus pés e mãos. Não sei o faria sem vocês.

Meu Pai, Atanael Pinto de Rezende: Meu pai é um exemplo de tenacidade, ética e retidão; criou e educou sete filhos honestos. Além de uma vida digna, meu pai nos ensinou a sermos honestos e íntegros de caráter. Apenas busco honrar seus esforços.

Meus irmãos, Beatriz, Adroaldo, Atanael Júnior, Isabela: Podemos passar tempos longe, sem nos vermos, mas estamos sempre juntos. Além do incentivo e do apoio irrestrito, todas as vezes que precisei, vocês nunca me decepcionaram.

Meu avô, Vanjoaldo Lopes (*In Memoriam*) e minha Mãe, Regina Lopes (*In Memoriam*): “Voa minha ave, Voa sem parar. Viaja pra longe, Te encontrarei em algum lugar. Permaneço em ti, Como sempre foi, Mais perfeito e mais fiel. Mesmo sozinho, eu sei Que estas perto de mim, e Quando triste, eu olho pro céu...”

Se eu pudesse nascer de novo, mudaria algumas poucas coisas, mas eu queria todos vocês ao meu lado novamente. Acho que escolheria ser menos mandão, ouvir mais e conhecer Karina mais cedo. Vocês são parte da minha força.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Mauro Korn: No final da minha graduação, Mauro me convidou para fazer mestrado. Eu achei graça, pensava que aquilo não era pra mim: um MBA até podia ser, mas um mestrado? Ele insistiu e eu topei o desafio. Uma semana após a defesa do mestrado, o mundo caiu na minha cabeça: eu fui demitido. Eu tinha 34 anos e uma filha para prover. Mauro, quando soube, deu um leve sorriso, me apoiou, deletou meu plano louco de abrir um negócio e me convidou para fazer doutorado: “Você tem potencial, você é capaz, seu lugar é na academia...”. Estendeu-me a mão! No meio do doutorado, tivemos de nos separar, ele passou minha orientação para Leonardo Teixeira (Léo), mas ficou a gratidão. Um dos mantras de Mauro é: “Eu não tenho função de educar os alunos; minha função é cooptar os alunos para a pesquisa, para o SONOFIA”; Bem, no meu caso o tiro saiu pela culatra, pois embora Mauro seja um dos melhores professores que conheci na minha vida, o maior aprendizado que tive com ele não foi sobre química ou pesquisa; foi sobre a vida: eu aprendi a ter disciplina e a correr atrás dos meus objetivos. Só posso dizer, obrigado Mauro! Valeram as broncas, as explicações químicas e, acima de tudo, os longos bate papos sobre a vida, o Corinthians, o Baêêaaa, família, disciplina, etc...

Leonardo Sena Gomes Teixeira: Quando eu voltei do Rio de Janeiro para Salvador, em 2010, eu havia passado 3 anos morando fora (foram 4 cidades de 3 estados diferentes), tinha de fazer minha imagem profissional na ANP/BA, refazer minha vida pessoal, dar atenção a Lisa,... Ah, eu também tinha que concluir o Doutorado. Eu estava no 3º ano do doutorado, com o trabalho de pesquisa parado e, o pior, com exceção de uns 3 meses na UNIFACS, eu estava há uns 5 anos longe de laboratórios químicos. Eu tinha um gigantesco trabalho prático a ser feito, sem erros, tudo de uma só tacada, e não sabíamos se eu havia perdido meu maior trunfo, o “*feelling*” da prática cromatográfica. Lembro que quando apresentei o projeto de pesquisa, num seminário, alguém perguntou: “Você vai conseguir fazer tudo isso nesse tempo (dois anos)?” Pra ser sincero, até eu tinha dúvidas. Mas Léo confiou em mim, assumiu minha orientação e me disponibilizou um cromatografo novo. Passei a trabalhar naquele equipamento, apanhei do software, pedia sempre ajuda a Iran (UNIFACS), outros trabalhos foram interrompidos... Mas eu sentia que tinha a confiança de Léo, ele sempre apoiava meu trabalho e minha intuição. Então, Léo, muito obrigado, valeu por ter apostado alto.

AGRADECIMENTOS

“... Um sonho que se sonha só, é apenas um sonho que foi sonhado sozinho. Mas um sonho compartilhado, que é sonhado em conjunto, se torna realidade...” (Miguel de Cervantes *apud* Raul Seixas). Algumas pessoas e instituições, direta ou indiretamente, colaboram com este trabalho, as quais eu gostaria de agradecer.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Deus, nosso Criador, nossa fonte de energia e inteligência. E acima de tudo porque “O Senhor é o Pastor e nada me faltará...” (Salmo 23 de David). Bem, Ele nunca me deixou faltar nada; sempre que uma porta se fechava, uma janela se abria no eu horizonte.

A minha nova família (S. Romualdo e D. Mércia Regina, Tatiane e Fábio, e Júnior), a qual estou me inserindo e que está me acolhendo.

A todos meus familiares pelo apoio, ajuda e incentivo. Em particular tia Ivone e tio Linaldo, que desde sempre estiveram presentes em minha vida.

A banca examinadora, Dra. Marta Valéria, Dra. Vânia Palmeira, Dr. Florival Carvalho e Dr. Jorge David, pelas correções que vão melhorar e engrandecer o trabalho final.

Aos meus amigos de sempre Gibson de Jesus e Júnior Lopes, e aos novos grandes amigos Rafael Moreno, Mateus Marques, Jomery Souza e George Hilton.

Minha gratidão aos integrantes do Grupo IDEIA/UFBA, que me acolheu de forma carinhosa, em particular Carina e Victória.

A ANP pelo apoio dos meus colegas, em particular aos meus amigos da SFI/RJ e SFI/BA.

Aos meus amigos, que “suportaram” minhas ausências nos bares, festas e eventos nestes três anos e, ainda assim, me consideram amigo.

A UFBA pela oportunidade de fazer parte do seu copo discente, especificamente ao PPG em Química e a Cristovão.

A UNIFACS (Iran, Selmo Fernando e Eliane) pelo aprendizado em análise de combustíveis e ao Laboratório de Combustíveis – LAC da UFPE (Profa. Maria Fernanda e Simone) pelo aprendizado em Calibração multivariada

A UNI-SEAL (Petrobras) pelos seis meses calmos e gratificantes de aprendizados.

A CAPES, FAPESB, CNPQ, e outros. Fui bolsista por um tempo e muitos de meus colegas o são. É necessário valorizar estas instituições que apostam em nossos pesquisadores e, com isso, fazem nosso país se desenvolver e crescer.

A todos meus professores de todas as épocas, em particular os do Ensino Fundamental e os da Escola Técnica Federal da Bahia – ETFBA (o começo de tudo).

Finalmente, a Jack Kerouac, o pai legítimo de Dean Moriarty e Sal Paradise e o pai bastardo dos meus heróis (Led Zeppelin, Raul Seixas, Pink Floyd, Legião Urbana, Rolling Stones, Beatles, etc.). As canções destes heróis não embalaram apenas esta tese; elas vêm me acompanhado por toda a minha vida.

Vanjoaldo Lopes
Inverno de 2012

RESUMO

Buscando minimizar a dependência dos combustíveis fósseis, fontes energéticas alternativas e renováveis estão em franco desenvolvimento, ganhando cada vez mais espaço na matriz energética mundial e levando à diminuição dos impactos ambientais. Neste contexto, muitas pesquisas são realizadas, buscando o aumento da produção de biodiesel e a garantia da sua qualidade. Em um país como Brasil, que possui vasto território, onde muitas oleaginosas e gorduras animais podem ser usadas para produzir biodiesel, investigar a origem do biodiesel é uma necessidade, uma vez que a qualidade do biodiesel está relacionada às matérias-primas que o produziu. Neste trabalho, determinou-se a composição de amostras de biodiesel em relação aos tipos de matéria-prima através da cromatografia a gás associada à calibração multivariada. Para tal, foram desenvolvidas três modelagens por PLS, a partir de cromatogramas de amostras de biodiesel obtidos empregando a norma EN 14103, onde foi possível identificar, com segurança estatística, a composição das matérias-primas de amostras de B100. As duas primeiras modelagens foram realizadas com as áreas dos picos cromatográficos e com as áreas normalizadas, respectivamente; nestas duas modelagens, os picos foram integrados manualmente. Na terceira modelagem, os cromatogramas foram previamente alinhados usando o algoritmo COW, e todo o cromatograma foi explorado pelo PLS. Os procedimentos foram aplicados a misturas de biodiesel quaternárias (soja, sebo bovino, girassol e dendê), sendo alcançados parâmetros similares para as duas primeiras modelagens na determinação da composição do biodiesel quanto as suas matérias-primas. Na modelagem das áreas não normalizadas, nos conjuntos de calibração encontraram-se valores de RMSEC < 4,40%; RMSECV < 5,36%; R^2 (calibração) > 0,973 e R^2 (Validação Cruzada) > 0,962; o conjunto de previsão apresentou correlação > 0,992 e RMSEP < 3,57%. Para a modelagem das áreas normalizadas, encontraram-se valores: RMSEC < 4,70%; RMSECV < 5,34%; R^2 (calibração) > 0,985; R^2 (Validação Cruzada) > 0,963; correlação > 0,989 e RMSEP < 3,43%. A terceira modelagem, com os cromatogramas totais alinhados, encontraram-se valores: RMSEC < 5,35%; RMSECV < 9,14%; R^2 (calibração) > 0,955 e R^2 (Validação Cruzada) > 0,875; Correlação > 0,966 e RMSEP < 7,19%. As duas primeiras modelagens estabeleceram parâmetros análogos, exatos e seguros para avaliar o teor de cada tipo de biodiesel na composição da mistura B100. A terceira modelagem apresentou parâmetros inferiores aos das duas primeiras modelagens; este fato pode ser explicado porque, nesta modelagem, a altura (sinal) foi a variável avaliada, e por sua vez a altura é um dado cromatográfico de menor confiabilidade que a área dos picos.

Palavras chaves: Biodiesel, Cromatografia a Gás, Quimiometria, Alinhamento de Picos, COW, PLS.

ABSTRACT

In order to minimize dependence on fossil fuels, alternative and renewable energy sources are in full development, gaining more space in the global energy matrix and leading to a reduction of environmental impacts. In this context, many researches are conducted, seeking an increase in biodiesel production and the guarantee of its quality. In a country like Brazil, which has vast territory, where many oilseeds and animal fats can be used to produce biodiesel, investigate the origin of biodiesel is a necessity, since the quality of biodiesel is related to the feedstocks which produced it. In this work, it was determined the composition of samples of biodiesel relative to the feedstocks through gas chromatography combined with multivariate calibration. To this end, were developed three models by PLS, from chromatograms of biodiesel samples obtained using standard EN 14103, where it was possible to identify with certainty statistics, the composition of the feedstocks of samples of B100. The first two models were performed using chromatographic peak areas and normalized areas, respectively; in these two models, the peaks were integrated manually. In the third modeling, the chromatograms were previously aligned using the COW algorithm and the whole chromatogram was explored by the PLS. The procedures were applied to blends of quaternaries biodiesel (soy, beef tallow, sunflower and palm), and achieving similar parameters for the first two models in determining the composition of biodiesel in relation to its feedstocks. In the modeling of the not normalized areas, in the sets of calibration were found values of RMSEC < 4.40%; RMSECV < 5.36%, R^2 (calibration) > 0.973 and R^2 (Cross Validation) > 0.962; the set of forecast presented correlation > 0.992 and RMSEP < 3.57%. For the modeling of the normalized areas, were found values: RMSEC < 4.70%, RMSECV < 5.34%, R^2 (calibration) > 0.985, R^2 (Cross Validation) > 0.963, correlation > 0.989 and RMSEP < 3.43 %. The third model, with the total aligned chromatograms, were found values: RMSEC < 5.35%, RMSECV < 9.14%, R^2 (calibration) > 0.955 and R^2 (Cross Validation) > 0.875, correlation > 0.966 and RMSEP < 7.19%. The first two models have established similar, accurate and safe parameters to evaluate the content of each type of biodiesel in the composition of the B100 mixture. The third modeling presented parameters below of the first two models; this fact can be explained because, in this modeling, the height (signal) was measured variable, being that the height is a lower reliability chromatographic datum than the area of the peaks.

Keywords: Biodiesel, Gas Chromatography, Chemometrics, Peak Alignment, COW, PLS.

SUMÁRIO

	Pág.	
1.0	INTRODUÇÃO	1
1.1	Importância do Biodiesel	1
1.1.1	Produção de Biodiesel	4
1.1.2	Biodiesel no Brasil	11
1.1.3	Parâmetros para Avaliação da Qualidade do Biodiesel	13
1.2	Cromatografia gasosa	19
1.3	Aplicação da Cromatografia Gasosa em Amostras de Biodiesel	21
1.3.1	Determinação de glicerina total	22
1.3.2	Determinação do teor de biodiesel na blenda biodiesel/diesel e da composição dos ésteres do biodiesel	27
1.4	Aspectos Quimiométricos	34
1.4.1	Alinhamento dos Cromatogramas	37
1.4.2	Método de alinhamento COW	41
1.5	Motivação	44
2.0	OBJETIVOS	47
2.1	Geral	47
2.2	Específicos	47
3.0	MATERIAIS E MÉTODOS	49
3.1	Reagentes	49
3.2.	Preparação das Amostras Biodiesel	49
3.3	Análises Cromatográficas	51

3.4	Tratamento Quimiométrico	52
4.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1	Amostras e Cromatogramas	54
4.2	Modelagem por PLS	72
4.2.1	Pré-Modelagem por PLS2 para identificação de outliers nas áreas cromatográficas e não normalizadas.	73
4.2.2	Pré-Modelagem por PLS1 para identificação de outliers nas áreas normalizadas e não normalizadas	76
4.2.3	Pré-Modelagem: seleção do conjunto de calibração usando algoritmo KsXY	78
4.2.4	Modelagem dos sistemas de áreas normalizadas e não normalizadas	80
4.3	Modelagem dos Cromatogramas Completos.	84
5.0	CONCLUSÕES	101
6.0	PERSPECTIVAS FUTURAS	103
7.0	BLIBLIOGRAFIA	107

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
1	Fontes energéticas mundiais (2008) e Brasileiras (2010) (MME, 2011).	1
2	Triglicerídeo genérico.	6
3	Reação de transesterificação de triglicerídeos com metanol.	8
4	Fluxograma da reação de transesterificação.	9
5	Princípio de funcionamento do Iatroscan. Adaptado de IATRON LABORATORIES INC, 2009.	23
6	Cromatograma característico para determinação de glicerina total, empregado o método de referencia americano (ASTM D 6584).	26
7	Esquema de operacionalização do COW.	43
8	Cromatogramas típicos dos tipos de petróleo 1 e 3 (PAES e SERRA, 2005).	45
9	Cromatogramas de biodiesel de palma (superior) e sebo (inferior) obtidos de acordo com norma EN 14.103.	55
10	Cromatogramas das 4 amostras individuais de biodiesel.	57
11	Cromatogramas ampliados das 4 amostras individuais de biodiesel.	59
12	Cromatogramas sobrepostos, da região de 5,00 à 5,80 minutos, das amostras A04, A27 e A64.	65
13	Tela do Unscrambler do PLS2 para verificação geral de outliers.	75
14	Tela do Unscrambler apresentando os resultados do conjunto de previsão das para as áreas não normalizadas de soja.	81
15	Gráficos das amostras de previsão dos modelos com áreas normalizadas e não normalizadas.	83
16	Cromatogramas sobrepostos, da região de 5,00 à 5,80 minutos, das amostras A04, A27 e A64.	85
17	Cromatogramas sobrepostos e alinhados, da região de 5,00 à 5,80 minutos, das amostras A04, A27	89
18	Cromatogramas de 15 amostras sobrepostas.	91

19	99 cromatogramas das amostras de biodiesel alinhados.	92
20	Gráficos das amostras de previsão dos modelos com cromatogramas totais.	96
21	Cromatogramas palma, soja e licuri obtidos com programação de temperatura do forno.	104
22	Cromatogramas de extrato polietileno de alta densidade (PEAD) em clorofórmio	105
23	Cromatogramas sobrepostos de B5 de três origens diferentes: palma, soja e sebo.	106

LISTA DE TABELAS

	Pág.
1	Nomes sistemáticos, triviais e as abreviações dos principais ésteres de metila. 10
2	Especificação de combustíveis empregados em motores ciclo diesel. 15
3	Concentração das oleaginosas nas amostras submetidas a análise cromatográfica. 50
4	Área dos picos de todos os cromatogramas. 61
5	Tratamento estatístico das áreas obtidas do padrão interno. 66
6	Percentual de cada pico em relação a área total do cromatograma. 68
7	Parâmetros e resultados da construção do PLS2. 76
8	Parâmetros e resultados da construção do PLS1. 77
9	Parâmetros e resultados da modelagem para áreas normalizadas e não normalizadas. 80
10	Parâmetros do conjunto previsão para áreas normalizadas e não normalizadas. 82
11	Parâmetros e resultados da construção do PLS2. 93
12	Parâmetros e resultados da construção do PLS1. 94
13	Parâmetros e resultados da modelagem para cromatogramas totais. 95
14	Parâmetros do conjunto previsão para cromatogramas totais 95

ABREVIATURAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas.
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis.
ASTM	Sociedade Americana para Testes e Materiais, do inglês <i>American Society for Testing and Materials</i> .
BSTFA	N,O- bis (trimetilsilil) trifluoracetamida.
CNPE	Conselho Nacional de Política Energética do Brasil.
CPT	Centro de Pesquisas e Análises Tecnológicas da ANP.
COW	Alinhamento por Correlação Otimizada, do inglês <i>Correlation Optimized Warping</i> .
DTW	Alinhamento por Tempo Dinâmico, do inglês <i>Dynamic Time Warping</i> .
EN	Normalização Europeia, do inglês <i>European Normalization</i> .
EU	União Européia, do inglês <i>European Union</i> .
EUA	Estados Unidos da América.
FID	Detector de Ionização de Chama, do inglês <i>Flame Ionization Detector</i> .
GC	Cromatografia a Gás, do inglês <i>Gas Chromatography</i> .
HTGC	Cromatografia a Gás em Alta Temperatura, do inglês, <i>High Temperature Gas Chromatography</i> .
LII	Límpido e Isento de Impurezas.
MME	Ministério das Minas e Energias do Brasil.
MS	Espectrometria de Massas, do inglês <i>Mass Spectrometry</i> .
MSTFA	N-metil, N-trifluoracetamida.
NBR	Norma Brasileira.
OPEP	Organização dos Países Exportadores de Petróleo.
PAGA	Alinhamento de Pico por um Algoritmo Genético, do inglês <i>Peak Alignment by a Genetic Algorithm</i> .

PEAD	Polietileno de alta densidade.
PLS	Mínimos Quadrados Parciais, do inglês <i>Partial Least Squares</i> .
PCA	Análise por Componente Principal, do inglês <i>Principal Component Analysis</i> .
PTW	Alinhamento por Tempo Paramétrico, do inglês <i>Parametric Time Warping</i> .
SPE	Extração em Fase Sólida, do inglês <i>Solid Phase Extraction</i> .
RMSEC	Raiz Quadrada do Erro Médio da Calibração, do inglês <i>Root Mean Square Error of Calibration</i> .
RMSECV	Raiz Quadrada do Erro Médio da Validação Cruzada, do inglês <i>Root Mean-Square Error of Cross Validation</i> .
RMSEP	Raiz Quadrada do Erro Médio da Predição, do inglês <i>Root Mean-Square Error of Prediction</i> .
TLC	Cromatografia em Camada Delgada, do inglês, <i>Thin Layer Chromatography</i> .
TR	Tempo de Retenção Cromatográfico.
TOF	Tempo de voo, do inglês <i>Time-of-Flight</i> .
VL	Variáveis Latentes.

1.0 INTRODUÇÃO

1.1 Importância do Biodiesel

Desde a Revolução Industrial, na metade do Século XVII, a humanidade passou a viver a era dos combustíveis fósseis, onde o carvão, o gás natural e o petróleo passaram a ser empregados como os principais recursos energéticos do planeta. Na Figura 1 são mostradas as principais fontes de energia empregadas no mundo (2008) e no Brasil (2010).

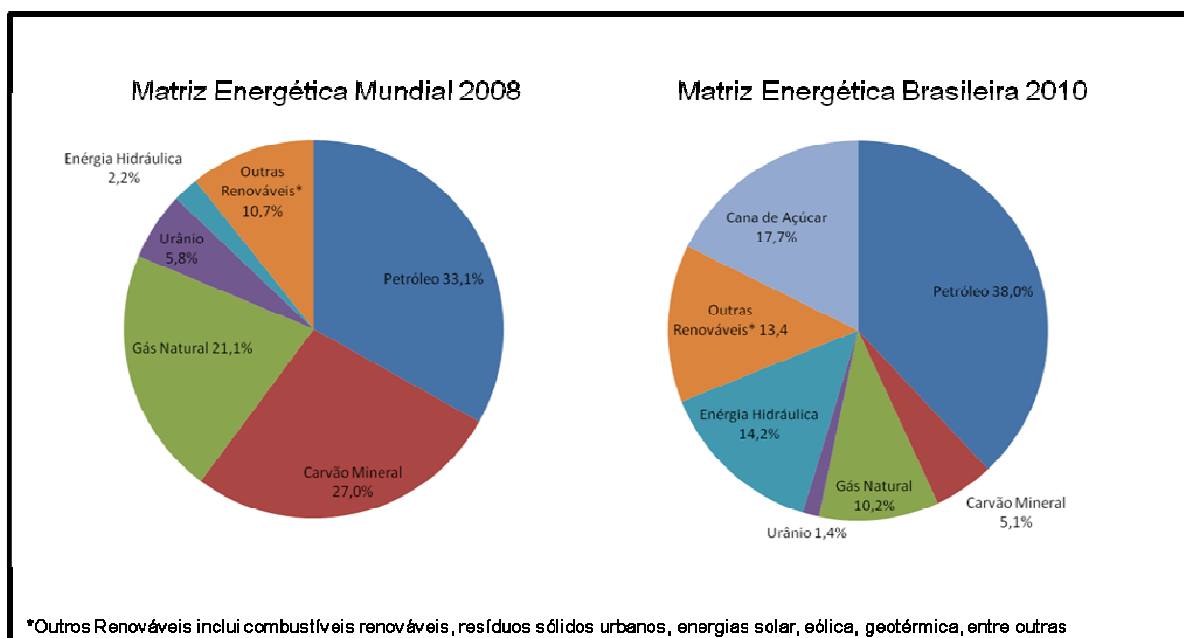


Figura 1: Fontes energéticas mundiais (2008) e Brasileiras (2010) (MME, 2011).

Pelo exposto (Figura 1), 80,9% da oferta de energia do planeta provem de fontes fósseis. A ocorrência destas fontes é desigual, com poucos países dispendo de muitas reservas e outros com nenhuma. O Brasil apresenta alta proporção de energia renovável na matriz energética, atingindo 45,4% em 2010. Vale salientar o alto percentual da energia proveniente das hidroelétricas e a elevada

renovabilidade da matriz nacional do setor transportes, que apresentou 17,5% em 2010, contra 3,0% da matriz mundial do mesmo segmento (MME, 2011).

Os poucos países produtores de petróleo formaram, no início da década de 1970, um cartel, denominado como Organização dos Países Exportadores de Petróleo (OPEP), com a finalidade de unificar e controlar o preço do petróleo no mercado internacional. Esse cartel levou a economia mundial a três grandes choques, devido à elevação dos preços do barril de petróleo. Os primeiros choques ocorreram em 1973 e 1980. Porém, no início de 2008 houve o ápice do terceiro choque, quando o preço do barril de petróleo atingiu a U\$ 150,00. Contudo, desde 2009, devido à recessão econômica mundial, o preço do barril vem diminuindo, e hoje encontra-se na em valores próximos de U\$ 85,00. Porém, o retorno do crescimento da economia mundial levará ao aumento do consumo e dos preços do petróleo, afetando os países dependentes de sua importação, principalmente os que estão em fase de desenvolvimento. Estes países terão suas balanças comerciais fortemente afetadas. Uma das saídas para diminuir esta dependência à importação de petróleo é o uso de fontes energéticas alternativas e renováveis, as quais levam à diminuição dos impactos ambientais (HAMELINCKA e FAAIJ, 2006; KAMMEN, 2006).

Dentre as fontes energéticas renováveis, deve ser destacado o uso dos biocombustíveis. Nos últimos trinta anos, o emprego de biocombustíveis na matriz energética apresentou um crescimento vertiginoso, passando do quase zero para aproximadamente 30×10^9 litros em 2003 (VERA e LANGLOIS, 2007) e de 79×10^9 litros em 2008 (12×10^9 de biodiesel e 57×10^9 de etanol) (FERRÉS, 2010).

Basicamente dois componentes contribuíram para este desempenho: o etanol, empregado como substituto da gasolina nos motores de ciclo Otto; e, o biodiesel, empregado como substituto do diesel nos motores de ciclo diesel. A tecnologia para produção de álcool combustível a partir da fermentação do açúcar proveniente da cana-de-açúcar (pioneirismo brasileiro) data de 1975 e está consolidada, passando, atualmente, por uma fase que busca o aumento da produtividade pelo incremento da mecanização agrícola, por exemplo. Atualmente, o etanol produzido a partir do milho vem sendo empregado como combustível nos EUA e na Suécia (VERA e LANGLOIS, 2007; FURTADO e SCANDIFFIO, 2006). Já, o emprego do biodiesel, como alternativa ao diesel é um procedimento relativamente novo, tendo a produção mundial partindo de praticamente zero, em 1995, alcançado 1,5 bilhões de litros em 2003 (DEMIBRAS e BALAT, 2006) e em 2008 atingindo a produção de 14 bilhões de litros (GOES *et al*, 2012). Em setembro de 2011, o Brasil conquistou a posição de maior consumidor de biodiesel do mundo e, atualmente, o país é o segundo maior produtor mundial, com a produção anual de 2,4 bilhões de metros cúbicos. A Alemanha é o maior produtor mundial de biodiesel (TAGUCHI, 2012).

Grande parcela do diesel é usada em atividades que provocam impactos diversificados e acumulativos sobre a economia: transporte de cargas e pessoas, geração de energia e na agricultura (MME, 2011). Assim, é natural que países dependentes de petróleo busquem saídas alternativas ao diesel convencional. Essa é a justificativa para o crescimento das pesquisas e da produção de biodiesel, já que ele pode substituir parcial (pela mistura ao diesel convencional) ou integralmente o diesel de petróleo.

Existem varias vantagens no emprego do biodiesel em substituição ao diesel, tais como: (i) o produto não é tóxico; (ii) é originário de fonte renovável; e, (iii) leva à diminuição drástica nas emissões de CO, SO_x, de materiais particulados (KNOTHE et al, 2006; OLIVEIRA et al, 2006; LOTERO et al, 2005) e de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (CORRÊA e ARBILLA, 2006). Além disso, por ser um combustível renovável, o biodiesel, quando comparado ao diesel convencional, possui menor contribuição para o aumento do efeito estufa. Ainda, o biodiesel leva à redução no desgaste de peças do motor, devido à maior lubricidade quando comparado ao diesel convencional (KNOTHE et al, 2006). Como desvantagens devem ser destacados o aumento na emissão de NO_x e o menor fornecimento de energia (~ 10%), embora a potência e o torque do motor permaneçam inalterados (LOTERO et al, 2005).

1.1.1 Produção de Biodiesel

O emprego de óleos vegetais como combustível para motores com ciclo diesel data dos primórdios desta tecnologia, quando foram empregados, além do diesel de petróleo, óleos de amendoim e mamona, com desempenho do motor semelhante ao obtido com o uso do diesel convencional (KNOTHE et al, 2006). Estes testes levaram Rudolf Diesel, criador do motor com ciclo diesel, a fazer a seguinte afirmação no início do século XX: “O fato dos óleos vegetais poderem ser utilizados com facilidade parece ser relativamente insignificante para os dias de hoje, mas estes óleos podem talvez se tornar importantes no futuro. De qualquer forma eles permitiram demonstrar a que a energia dos motores poderá ser

produzida com o calor do Sol, que sempre estará disponível para fins agrícolas, mesmo quando todos os estoques de combustíveis sólidos e líquidos estiverem exauridos (KNOTHE *et al*, 2006).”

Contudo, a crescente oferta de petróleo, seu baixo preço (na época), a facilidade de transporte, o desenvolvimento da indústria de refino e, conseqüentemente, de novos derivados, levaram à escolha do diesel mineral como combustível, ficando os óleos vegetais esquecidos desde então. A crise no preço do petróleo aliada à preocupação ambiental trouxeram os óleos vegetais de volta à cena da matriz energética.

A pergunta que se pode fazer é a seguinte: Por que não usar os óleos vegetais “*in natura*” nos motores de ciclo diesel, uma vez que eles já foram empregados no início do século passado? Ocorre que a utilização de óleos vegetais por longos períodos leva à formação de goma nos tanques (fosfolípidios de alta massa molecular originados de reação polimerização e/ou oxidação dos combustíveis) e de depósitos de carbono nas partes internas dos motores. A poli-insaturação, baixa volatilidade, elevada viscosidade e, principalmente, a elevada massa molecular (em torno do tripulo do diesel convencional) dos óleos vegetais contribuem para esses problemas. (LEUNG *et al*, 2006 e FERRARI *et al*, 2005).

Os óleos vegetais ou gorduras animais são produtos naturais constituídos por uma mistura de ésteres derivados do glicerol (triacilgliceróis ou triglicerídeos), cujos ácidos graxos correspondentes contêm cadeias de 4 a 24 átomos de carbono, com diferentes graus de insaturação. Na Figura 2, tem-se a

representação de um triglicerídeo genérico, onde os grupos R^1 , R^2 e R^3 (correspondentes aos ácidos graxos) podem ser iguais ou diferentes, têm cadeias alquílicas com 4 a 24 átomos de carbono (é mais comum grupos com 12 a 18 átomos de carbono, cadeia linear e com número par de átomos de carbono na cadeia) e com graus de insaturação variáveis (RAMOS *et al*, 2000).

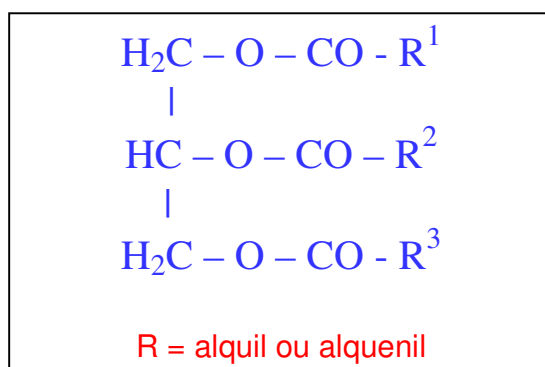


Figura 2: Triglicerídeo genérico.

Assim, podem existir diferenças entre as moléculas dos triglicerídeos e do diesel convencional. Enquanto o diesel convencional é formado, em grande maioria, por moléculas de hidrocarbonetos lineares, com cadeias carbônicas contendo 12 a 18 átomos de carbono, os óleos vegetais são ésteres com cadeias ramificadas e com o triplo, ou mais, de átomos de carbono. Assim, as propriedades físicas e químicas (acidez, reatividade, viscosidade, densidade, entre outras) destes produtos são diferentes, o que explica os problemas do emprego dos óleos vegetais “*in natura*” nos motores de ciclo diesel.

Portanto, torna-se necessário hidrolisar (quebrar) os triglicerídeos, de forma a obter moléculas menores, com número de átomos de carbono próximos ao diesel convencional. Vários processos podem ser empregados nesta tarefa, dentre eles

podemos citar a transesterificação dos triglicerídeos de óleos vegetais, hidrólise dos triglicerídeos em ácidos graxos e sua posterior esterificação e craqueamento catalítico ou térmico (RIBEIRO, 2006). O processo mais usado atualmente é o da transesterificação dos óleos vegetais com alcoóis de cadeia curta (como metanol, etanol e isopropanol) na presença de catalisador (ácido, básico ou enzimático), tendo como produtos finais uma mistura de ésteres alquílicos de cadeia curta dos ácidos graxos que esterificavam o glicerol (glicerina) (VEIGA JUNIOR, et al 2008; RIBEIRO, 2006; FOGLIA *et al*, 2005; FOGLIA *et al*, 2004).

Vale salientar que a glicerina (glicerol ou 1,2,3 propanotriol) é um produto que agrega valor ao processo, pois pode ser vendida (purificada, ou não) para produção de fármacos, tintas, cosméticos, detergentes, resinas, alimentos e bebidas, poliglicerois, tabaco, filmes de celulose, ésteres, indústria de papel, dentre outros. (MOTA *et al*, 2009 e LOPES *et al*, 2012).

Contudo, com o aumento da produção de biodiesel, a oferta de glicerina pode se tornar maior que a demanda. Pesquisas estão sendo feitas visando transformações e novas aplicações para a glicerina (MOTA *et al*, 2009), como por exemplo na substituição da glicose pela glicerina no cultivo de microalgas produtoras de ácidos graxos ômega-3 (VOEGELE, 2010), como combustível para abastecer geradores movidos a diesel, como substituto ao diesel convencional em geradores de eletricidade ligeiramente alterados para rodar em um novo ciclo de produção (VOEGELE, 2010), como insumo na produção de gás hidrogênio (VALLIYAPPAN *et al*, 2008) e na produção de ácido acrílico (MOTA *et al*, 2009).

De acordo com a Figura 3, o biodiesel é produzido pela hidrólise e posterior esterificação do triglicerídeo, a qual origina três moléculas de ésteres com cadeias carbônicas menores. Tecnicamente, o biodiesel pode ser definido como os alquilésteres originados de ácidos graxos de cadeias longas ligados aos triglicerídeos de óleos vegetais, gorduras animais e óleos reciclado de frituras, quando usados como combustíveis para motores diesel, puros ou misturado com diesel de petróleo (KNOTHE *et al*, 2006; FOGLIA *et al*, 2005; ANP, 2004; FOGLIA *et al*, 2004; RAMOS *et al*, 2000; ASTM D 6584). Gordura animal (sebo bovino, sebo de frango, etc.) e óleos vegetais podem ser usados como matéria-prima para a produção de biodiesel, tais como soja, colza, dendê, mamona, pinhão manso, côco, amendoim, algodão, etc. (RIBEIRO, 2006).

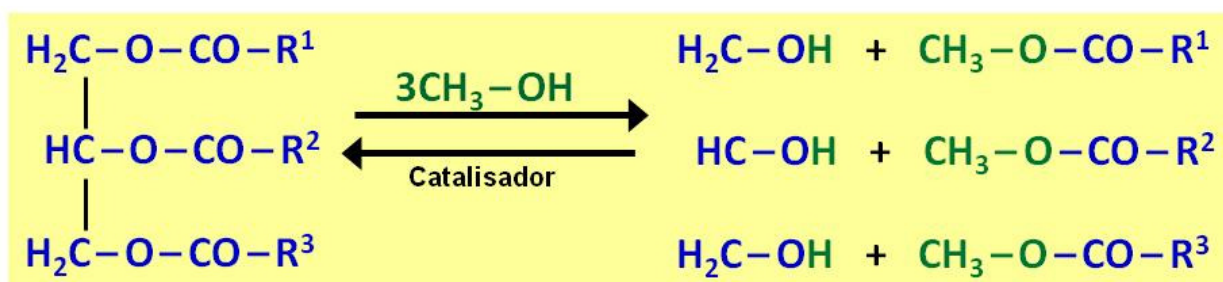


Figura 3: Reação de transesterificação de triglicerídeos com metanol.

Como indicado na Figura 3, a transesterificação é uma reação reversível. Assim, é necessária a utilização de um excesso de álcool para maximização do rendimento. Essa quantidade extra de reagente deve ser separada do biodiesel, pois é indesejada no produto final. Segue, abaixo, um fluxograma resumido do processo de transesterificação (Figura 4).

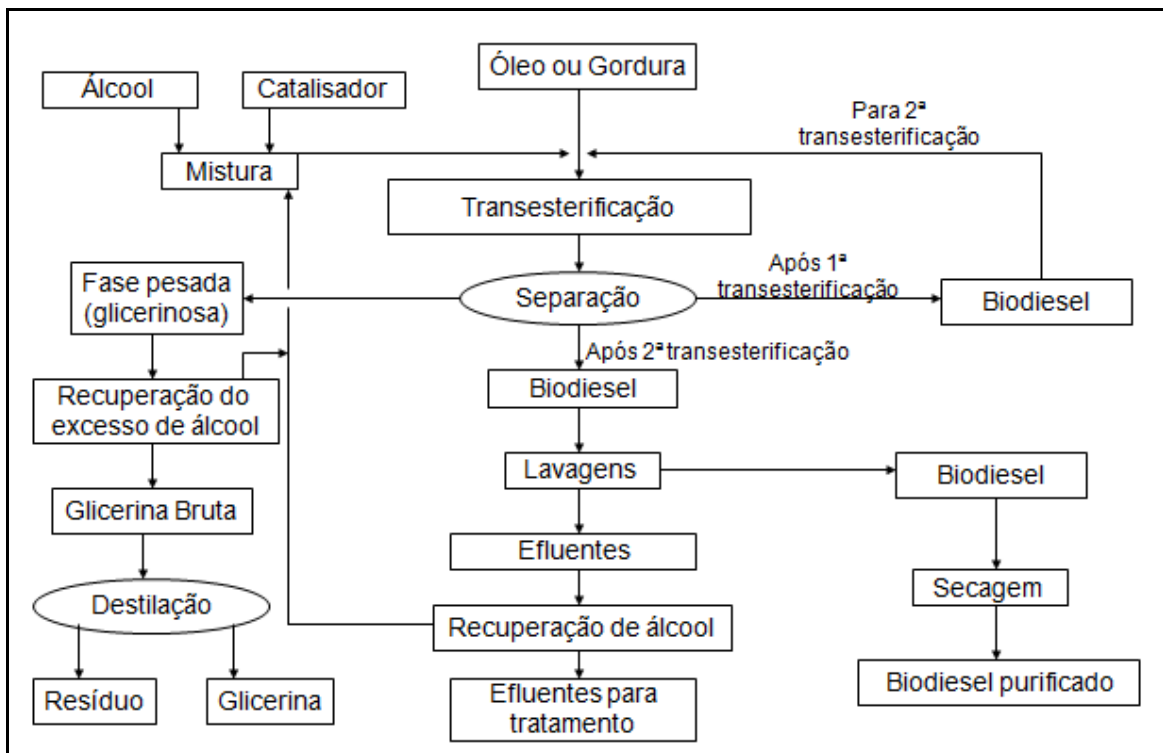


Figura 4: Fluxograma da reação de transesterificação.

Ao observar o fluxograma da Figura 4, pode ser notada a necessidade de duas reações de transesterificação consecutivas. Esta segunda reação é necessária, pois esta reação ocorre em três etapas, com cada um dos ácidos graxos sendo substituídos de forma independente. Assim, na primeira reação ocorre um grande índice de quebra parcial das moléculas de triglicerídeo, gerando compostos intermediários, conhecidos como monoglicerídeos e diglicerídeos. Com a segunda transesterificação, ocorrem as quebras restantes, levando o sistema a ter máximo rendimento, com conversão máxima na formação de biodiesel. Caso o processo seja ineficiente, mais transesterificações são necessárias para aumentar o rendimento. Quanto maior a massa molar do álcool usado, menor o rendimento do processo e mais transesterificações são requeridas.

Dado o elevado conjunto de possibilidades no que se refere ao número total de átomos de carbono, grau de insaturação, geometria e posição das ligações duplas, ocorrência de grupos substituintes e suas respectivas posições na cadeia carbônica, existe uma grande diversidade de ácidos graxos na natureza; consequentemente o número de ésteres derivados dos triglicerídeos também é elevado. A nomenclatura dos principais ésteres derivados ácidos graxos são sujeitas a regras recomendadas pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), onde a cadeia é numerada a partir do carbono do grupo carbonila (ou carboxílico do ácido graxo correspondente), a posição das insaturações devem ser indicadas e deve ser indicada a configuração cis-trans das insaturações (ou Z – E, respectivamente). Na Tabela 1, abaixo, estão representados os nomes triviais e sistemáticos e as abreviações sistemáticas dos principais ésteres de metila derivados de ácidos graxos naturais (COSTA, 2008).

Tabela 1: Nomes sistemáticos, triviais e as abreviações dos principais ésteres de metila (adaptado de COSTA, 2008):

Abreviação	Nome Sistemático	Nome trivial
C6:0	Hexanoato de metila	Caproato de metila
C8:0	Octanoato de metila	Caprilato de metila
C10:0	Decanoato de metila	Caprato de metila
C12:0	Dodecanoato de metila	Laurato de metila
C12:1n3	cis-9-Dodecenoato de metila	Lauroleato de metila
C14:0	Tetradecanoato de metila	Miristato de metila
C14:1n5	9c-Tetradecenoato de metila	Miristoleato de metila
C16:0	Hexadecanoato de metila	Palmitato de metila
C16:1n7	cis-9-Hexadecenoato de metila	Palmitoleato de metila
C17:0	Heptadecanoato de metila	Margarato de metila
C18:0	Octadecanoato de metila	Estearato de metila
C18:1n9	cis-9-Octadecenoato de metila	Oleato de metila
C18:2n6	cis-9,12-Octadecadienoato de metila	Linoleato de metila
C18:3n3	cis-9,12,15-Octadecatrienoato de metila	Linolenato de metila
C20:0	Eicosanoato de metila	Araquídato de metila
C22:0	Docosanoato de metila	Behénato de metila
C22:1n9	13c-Docosenoato de metila	Erucato de metila
C24:0	Tetracosanoato de metila	Lignocerato de metila

Vários países vêm adotando o biodiesel em sua matriz energética, sempre o adicionando ao diesel convencional. Uma nomenclatura própria vem sendo adotada para designar o percentual de biodiesel na mistura: a letra “B” seguida do percentual de biodiesel na mistura. Assim o B15 indica que é uma mistura constituída de 15% de biodiesel e 85% de diesel convencional; o B4 possui 4% de biodiesel diluído diesel; o B100 é o biodiesel puro.

1.1.2 Biodiesel no Brasil

Apesar da auto-suficiência brasileira na produção de petróleo, o Brasil ainda importa parte do óleo diesel que consome. Assim, o governo brasileiro, através do Conselho Nacional de Política Energética – CNPE –, instituiu em 2004 o Programa Brasileiro de Produção e Uso do Biodiesel, que indica a quantidade de biodiesel adicionada ao diesel convencional: B2 (2% de biodiesel e 98% de diesel) autorizada até 2008; B2 obrigatório a partir de 2008; e B5 obrigatório a partir de 2013 (RIBEIRO, 2006; ANP, 2004). Devido ao aumento da oferta nacional de biodiesel e visando a diminuição da dependência de diesel externo, essa norma foi revisada três vezes, estabelecendo a obrigatoriedade do B3 a partir de 01/07/2008, do B4 a partir de 01/07/2009 e do B5 a partir de 01/01/2010.

Esses percentuais não foram definidos aleatoriamente, são quantidades que não afetam o desempenho dos motores feitos para trabalhar exclusivamente com diesel. Estudos mostram que, para o biodiesel de soja, na mistura B10, o desempenho do motor atinge o ápice das suas características operacionais, superando o diesel puro. A partir do emprego da mistura B15 o desempenho do

motor passa a ser levemente alterado. Mesmo numa mistura B20, há redução na emissão de material particulado e consumo de combustível, contudo, também há redução na potência do motor (RIBEIRO, 2006).

A matéria-prima para a produção de biodiesel em larga escala, depende, por um lado, da disponibilidade de alcoóis de cadeia curta e, por outro, de óleos vegetais (ou gorduras animais) produzidos também em larga escala. Os alcoóis mais prováveis para produção de biodiesel no Brasil atualmente são o metanol, obtido como derivado do gás natural, e o etanol, obtido da fermentação e posterior destilação do caldo da cana de açúcar, já utilizado na indústria de combustíveis brasileira há várias décadas (VEIGA JUNIOR, *et al* 2008). Já entre os óleos vegetais, o Brasil, por ser um país de dimensões continentais, compreendendo um vasto e diversificado território, dispõe de fauna e flora variando de região para região. Condições climáticas, agrárias, custo de produção e políticas governamentais vão indicar que tipo de matéria-prima vai ser usada em determinada região (RIBEIRO, 2006).

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Bicomcombustíveis – ANP – é o órgão do governo federal que regulamenta a produção e o uso do biodiesel. Além disso, a ANP também estabelece os parâmetros de controle de qualidade e as metodologias para obter estes parâmetros, que devem ser adotados por produtores e distribuidoras para a comercialização do produto (ANP, 2004). Contudo, dois fatores devem ser levados em conta:

I) dada a imensa diversidade da flora brasileira, o país apresenta uma grande variedade de matéria-prima para obtenção do óleo que irá sofrer a transesterificação, diferente do que ocorre em outros países que têm apenas uma ou duas fontes diferentes;

II) a política adotada pelo Brasil, em relação ao biodiesel, de favorecer a agricultura familiar, tem a vantagem de fixar o homem dignamente no campo, porém essa medida levará a processos artesanais de produção, que terão de atender as normas impostas pela ANP, e um aumento na quantidade de matérias-primas usadas na obtenção de biodiesel;

1.1.3 Parâmetros para Avaliação da Qualidade do Biodiesel

Os parâmetros de qualidade de um determinado produto estão intimamente relacionados com a destinação (o uso) que aquele produto terá. Assim, é normal que o etanol empregado como combustível automotivo tenha especificações totalmente distintas do etanol que será empregado para fins medicinais. A substância é a mesma, mas, por terem usos diferentes, são produtos distintos e, conseqüentemente, terão um conjunto de normas de especificação díspares.

No caso do biodiesel, deve ser levado em conta a existência de uma cadeia automotiva estabelecida, que utiliza o diesel de petróleo. Assim posto, um combustível que venha a substituí-lo deverá ter suas características o mais próximo possível do diesel, para gerar o mínimo possível de mudanças na sua cadeia. Em outras palavras: é mais fácil (e barato!) buscar um combustível

alternativo com características físicas e químicas semelhantes ao diesel convencional, em vez de realizar troca de peças e/ou mudar o modo operacional dos motores de todos os veículos que já estão nas ruas, adaptados ao diesel. A qualidade do combustível vai estar intimamente relacionada ao bom funcionamento do motor, à qualidade das emissões, à durabilidade das peças do motor, etc. Portanto, a primeira motivação das autoridades, ao determinar os parâmetros de qualidade do biodiesel, foi verificar se havia semelhança com o diesel de petróleo.

Na Tabela 2, são apresentadas as especificações do biodiesel adotadas pelo Brasil (ANP, 2012), Estados Unidos (ASTM D6751) e União Européia (EN 14214), além da especificação brasileira para o óleo diesel metropolitano, com 50 ppm de enxofre, S50 (ANP, 2011).

Ao observar os valores da Tabela 2, verifica-se claramente que vários parâmetros de qualidade do biodiesel são oriundos do diesel de petróleo. Outro dado relevante encontrado na Tabela 1 é a semelhança entre as especificações do biodiesel adotadas por nações diferentes. No caso explícito do Brasil, a primeira normatização do biodiesel data de 2004 (ANP, 2004) e era derivada das normas européia e americana, inclusive com a adoção de métodos analíticos destas normas estrangeiras. Com a evolução, o padrão brasileiro de biodiesel está mais próximo do europeu, fixando limites para quase todos os parâmetros. Contudo alguns parâmetros são exigidos determinações, mas não são especificados; são os parâmetros que estão fixados como “anotar” na Tabela 2.

Tabela 2: Especificação de combustíveis empregados em motores ciclo diesel:

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	Biodiesel Brasil	Biodiesel EU	Biodiesel EUA	Diesel Brasil
Aspecto	----	LII*	----	----	LII
Número de Cetano, mín.	----	Anotar	51	47	46
Massa específica a 20° C	Kg m ⁻³	850-900	860-900	----	820-850
Viscosidade Cinemática a 40°C	mm ² s ⁻¹	3,0-6,0	3,5 a 5	1,9 a 6,0	2 a 5
Ponto de fulgor, mín.	°C	100,0	120	130	38
Resíduo de carbono, max.	% massa	0,050	0,3	0,05	0,25
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.	°C	19	-----	Varia c/ a região	Varia c/ a região
Teor de Água, máx.	mg kg ⁻¹	380	----	500	Anotar
Contaminação Total, máx.	mg kg ⁻¹	24	24	----	Anotar
Água e sedimentos, Max	% volume	-----	-----	-----	0,05
Enxofre total, máx.	mg kg ⁻¹	10	10	15	50
Cinzas sulfatadas, máx.	% massa	0,020	0,02	----	0,010
Destilação, 90% vol (Max)	°C	----	----	360	360
Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx.	----	1	3	1	1
Teor de biodiesel	% massa	----	----	----	5
Fósforo, máx.	mg kg ⁻¹	10	10	10	----
Índice de acidez, máx.	mg KOH g ⁻¹	0,50	0,50	0,50	Anotar
Cálcio + Magnésio, máx.	mg kg ⁻¹	5	5	----	----
Sódio + Potássio, máx.	Mg /kg ⁻¹	5	5	----	----
Teor de éster, mín	% massa	96,5	96,5	----	----
Glicerol livre, máx.	% massa	0,02	0,02	0,02	----
Glicerol total, máx.	% massa	0,25	0,25	0,24	----
Mono, di, triacilglicerol	% massa	M 0,8 D 0,2 T 0,2	M 0,8 D 0,2 T 0,2	----	----
Metanol ou Etanol, máx.	% massa	0,20	0,20	-----	----
Índice de Iodo	g 100g ⁻¹	Anotar	120	-----	----
Estabilidade à oxidação a 110°C, mín.	h	6	6	----	2,5
Acido Linolênico, máx.	% massa	----	12	----	----
Ésteres > 4 instaurações, máx.	% massa	----	1	----	-----
Lubricidade, Max	µm	----	----	----	460
Condutividade elétrica, mín	pS m ⁻¹	----	----	----	25
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	% massa	----	----	----	Anotar

*LII, Límpido e isento de impurezas.

Uma vez que biodiesel é uma mistura de ésteres e que o tipo e a quantidade destes ésteres são funções das matérias-primas usadas na produção, os dois fatores citados acima geram um sério problema: biodiesel de diferentes fontes tem características diferentes. Assim, parâmetros controlados, como massa específica, estabilidade à oxidação, índice de iodo, ponto de entupimento de filtro a frio, viscosidade cinemática dependem da origem do biodiesel. Por este motivo é importante conhecer as matérias-primas que originaram a amostra de biodiesel.

Apesar de não fazer parte de forma direta das especificações do biodiesel, é clara a importância que a matéria-prima exercerá sobre o produto final. A estrutura química e os teores de cada uma das substâncias presentes na matéria-prima terão grande reflexo, não só nas propriedades físico-químicas do biocombustível, mas poderão afetar a queima no motor, a formação de depósitos no sistema de injeção e ainda o tipo e a quantidade de substâncias ou gases poluentes emitidos. A composição química de alguns óleos tem sido objeto de revisões na literatura (KNOTHE et al, 2006) podendo servir de base para uma análise preliminar sobre a viabilidade ou não do seu uso como matéria-prima para a produção de um biodiesel que atenda completamente as especificações de qualidade (DABDOUB et al, 2009).

Alguns óleos vegetais apresentam teores não desprezíveis de ácidos graxos de cadeia longa (acima de 22 átomos de carbono). No óleo de arroz pode ser encontrado o lignocerato derivado do ácido lignocérico (C24:0), com percentuais entre 0,35 e 0,55%; no caso do biodiesel metílico de amendoim, observou-se a presença de 4% do ácido behénico (C22:0) e lignocérico (C24:0) em 3% na sua

composição; no óleo de jojoba é muito comum encontrar ésteres com cadeias carbônicas com 38 e 44 átomos (de C38:2 a C44:2). Esses ésteres de cadeias longas não são regulados nas especificações de qualidade e podem influenciar na formação de precipitados e sobrenadantes, além de influenciar a temperatura do ponto de entupimento a frio (DABDOUB et al, 2009).

Outra classe de compostos que merece destaque são os fosfolipídios, comumente chamados de gomas. Esses compostos devem ser removidos antes da transesterificação, pois podem consumir o catalisador e, conseqüentemente, afetar no rendimento da reação, além de promover a formação de emulsões comprometendo a separação de fases ésteres/glicerina e, principalmente, ésteres/água. O emprego de maiores quantidades de catalisador permite a transesterificação completa; mas, se as gomas estiverem presentes no biodiesel, as fases sofrerão emulsificação durante a lavagem, o que forçaria a realização de degomagem do biodiesel. Além disso, de acordo as especificações, o teor de fósforo no biodiesel, por razões ambientais, para evitar a formação de fosfolipídios nos tanques de combustível e para evitar envenamento do catalisador do motor, deve ser inferior a 10 mg kg^{-1} (MEHER et al, 2006; DABDOUB et al, 2009).

Matérias- primas ricas em enxofre são indesejadas, pois impactam sobre o meio ambiente (geram chuva ácida e aumento da emissão de material particulado), além de provocar corrosão do motor, associada à formação de ácido sulfúrico e sulfônico durante a queima do combustível.

Assim, é importante ter prévio conhecimento do perfil dos ácidos graxos e a presença de outras substâncias na composição química de uma determinada matéria-prima que seja candidata a produzir biodiesel. De posse destes dados pode-se prever as características do biodiesel a ser produzido, prever as necessidades operacionais à sua produção e o seu desempenho nos motores. Em suma, com a relação das substâncias componentes de uma determinada matéria-prima, pode-se aferir a viabilidade do seu emprego em determinado processo produtivo (DABDOUB *et al*, 2009).

No Brasil, dada a diversidade de sua flora, a falta de controle das matérias-primas produtoras de biodiesel, aliada a uma política governamental de inclusão social, tornar-se um problema sob a ótica da qualidade dos produtos. Por exemplo, estudos mostram que o aumento do índice de insaturação provoca a redução no período de indução (FERRARI e SOUZA, 2009). Ora, o índice de insaturação está diretamente relacionado à composição dos ácidos graxos na matéria-prima. Ocorre que a ANP não especifica o tipo de matéria-prima e nem as variáveis que podem controlar o índice de insaturação (índice de iodo e teor de ésteres com quatro ou mais insaturações).

Outro fato que merece destaque e que agrava esta situação, é que não há qualquer impedimento legal para que exista biodiesel originado de misturas de matérias-primas diferentes. Mesmo porque, não há metodologias disponíveis para avaliar se há misturas e o nível destas mistura.

Conforme a oleaginosa empregada na produção, são esperadas variações na composição química do óleo vegetal. Estas são expressas por variações na relação molar entre os diferentes ácidos graxos presentes na estrutura. Portanto, a análise da composição de ácidos graxos constitui o primeiro processo para a avaliação preliminar da qualidade do óleo bruto e/ou de seus produtos de transformação. Estas análises podem ser executadas explorando diversos métodos analíticos baseados na cromatografia líquida de alta eficiência, a cromatografia em fase gasosa e a espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RAMOS *et al*, 2000).

Devido a sua robustez e uso difundido, a cromatografia gasosa, com detecção por ionização de chama, foi a metodologia escolhida para examinar a distribuição dos ésteres nas amostras de biodiesel. A norma europeia EN 14.103, empregada para determinar o teor dos ésteres em biodiesel, emprega cromatografia à gás. Por este motivo, neste trabalho dar-se-á maior ênfase ao estudo e definições desta técnica, principalmente à sua aplicação em amostras de biodiesel, o que não invalida a aplicação do conceito de impressão digital cromatográfica a outras técnicas, tais como a cromatografia líquida, por exemplo

1.2 Cromatografia Gasosa

Entre os métodos modernos de análise a cromatografia ocupa um lugar de destaque graças à incorporação prévia da etapa de separação, mesmo para matrizes complexas, junto à etapa de identificação e/ou medida das espécies químicas de interesse (COLLINS *et al*, 2006; LANÇAS, 1993). A técnica se baseia

na passagem de um fluído (líquido, gás ou fluído supercrítico) através de uma fase estacionária (líquido de alta viscosidade ou sólido); o fluído transporta a amostra (mistura) pela fase estacionária. Os diferentes tipos de interação e/ou a força desta interação entre os componentes da mistura e a as fases estacionária e móvel (fluído) vão garantir a separação entre os componentes da amostra. Assim, por exemplo, se um componente tem maior interação com a fase móvel, ele será eluído mais rapidamente, ficando menos tempo na a fase estacionária. Quando o contrário ocorre, maior interação com a fase estacionária, o componente é eluído vagorosamente, ficando mais tempo na fase estacionária.

As metodologias cromatográficas podem ser classificadas de vários modos diferentes. Um dos modos de classificação apóia-se nos tipos de fase móvel usada. Assim, temos a cromatografia líquida, cromatografia a gás e cromatografia em fluído supercrítico.

Atualmente, a cromatografia gasosa é uma técnica indispensável à pesquisa, desenvolvimento de produtos, controle de qualidade de processos, etc. em uma grande variedade de áreas da Ciência, como a Química, a Medicina, a Arqueologia, a extração e prospecção de petróleo, o monitoramento de pesticidas e agrotóxicos, entre outras. A importância e popularização da técnica podem ser explicadas, entre outros fatores, pela aplicabilidade a um grande número de situações e substratos, aliada a uma notável capacidade de separação, particularmente útil na abordagem de misturas complexas (PEREIRA e AQUINO NETO, 2000; LANÇAS, 1993). Assim, ao longo dos anos, várias metodologias vêm sendo empregadas em detectores acoplados a sistemas de cromatografia a gás.

Os detectores mais empregados são o de ionização de chama (do inglês, Flame Ionization Detection – FID) e o de condutividade térmica (do inglês, Thermal Conductivity Detection – TCD). O FID, devido à sua robustez, estabilidade, exatidão, seletividade (capaz de detectar compostos contendo ligações C–H), sensibilidade e linearidade, é o detector mais empregado para determinações de compostos orgânicos em cromatografia gasosa.

Outro fator que deve ser levado em conta é o avanço tecnológico na confecção da instrumentação (válvulas, reguladores de fluxo, aquecedores, etc.) para cromatografia. Este avanço aferiu estabilidade à técnica, de modo que grandezas como tempo de retenção relativo, altura e área de picos, proporção entre áreas/alturas de picos, etc. são facilmente reprodutíveis a uma observação do cromatograma a olho nu. Logicamente sempre vão existir pequenas variações, que são inerentes à dinâmica do sistema cromatográfico.

1.3 Aplicação da Cromatografia Gasosa em Amostras de Biodiesel

Durante a revisão bibliográfica deste trabalho, foi observado que os métodos cromatográficos em fase gasosa são empregados nas determinações de glicerina (livre e ligada), teor de éster, teor de biodiesel na mistura biodiesel/diesel, determinação dos ésteres contidos no biodiesel e, conseqüentemente, a matéria-prima que originou o biodiesel.

Para facilitar o estudo, dividiu-se os trabalhos revisados em dois grandes grupos: 'determinação de glicerina em biodiesel' e 'determinação do teor de biodiesel na blenda biodiesel/diesel e da composição dos ésteres do biodiesel'.

1.3.1 Determinação de glicerina total

Os métodos iniciais para a análise de biodiesel empregaram cromatografia de camada delgada (do inglês, *Thin Layer Chromatography* – TLC) com FID como detector. O procedimento foi realizado em um analisador Iatroscan, onde a amostra foi diluída em clorofórmio, colocada diretamente (não houve pré-tratamento) sobre um bastão de sílica; a fase móvel foi uma mistura de éter de petróleo, éter dietílico e ácido acético (90:10:1); após a separação, foi realizada a secagem no bastão, para total evaporação do solvente. O bastão, com a amostra eluída e sem solvente, foi movimentado sobre o FID, onde foi gerado um sinal elétrico específico para cada posição do bastão, correspondente ao tempo de retenção relativo, (do inglês, Relative Retention Times – RT) como mostra a Figura 5 (FREEDMAN *et al*, 1984).

O procedimento permitia determinar ésteres de metila, mono, di e triglicerídeos com boa produtividade (possível analisar 30 amostras em aproximadamente 2,5 horas), para estudar as variáveis que afetavam o rendimento da reação de transesterificação. Contudo, este procedimento, embora quantitativo, apresenta problemas, tais como: baixa precisão para os componentes minoritários, alto custo do equipamento (à época) e alta sensibilidade à umidade (variação de umidade afetava o desempenho do bastão). Além disso, este procedimento não

permitia a determinação da glicerina livre e, conseqüentemente, a glicerina total. (FREEDMAN *et al*, 1984).

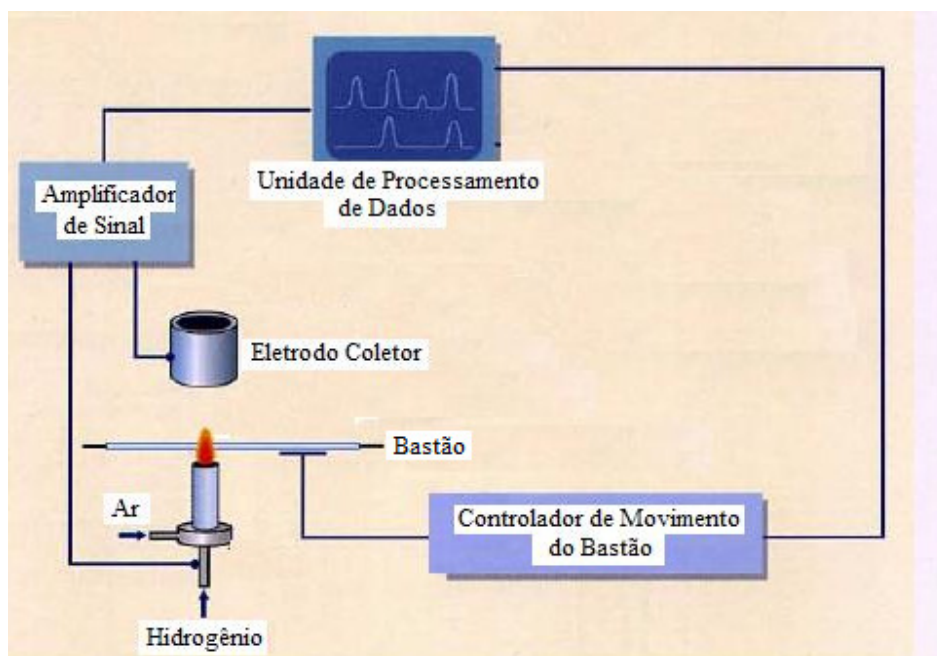


Figura 5: Princípio de funcionamento do latroscan. Adaptado de IATRON LABORATORIES INC, 2009.

No início da década de 1980, houve um significativo desenvolvimento da instrumentação para cromatografia a gás, que garantia exatidão e precisão aos parâmetros experimentais, principalmente nos controladores de temperatura e de fluxo (LANÇAS e MÜHLER, 2004; SKOOG *et al*, 2002; LANÇAS, 1993). Vale salientar que, apesar de Golay ter realizado o primeiro estudo empregando colunas capilares de metal em 1957, ampliando os poderes analíticos da cromatografia a gás (ACCORSI *et al*, 2005; PEREIRA e AQUINO NETO, 2000), e Desty e Grob (independentemente) terem iniciado o desenvolvimento das colunas capilares de vidro no início dos anos de 1960, só em meados da década de 1980 é que iniciou a substituição das colunas empacotadas pelas colunas capilares, mais resistentes à

temperaturas altas (aproximadamente 350 °C). Isso ocorreu devido ao grande avanço, a partir do final da década anterior, no desenvolvimento e fabricação comercial de colunas capilares de alto desempenho (PEREIRA e AQUINO NETO, 2000).

Assim, foi desenvolvido, também por FRIEDMAN (1986), um procedimento de análise de biodiesel baseado em GC-FID, em que as amostras de biodiesel eram previamente tratadas, para derivatização dos grupamentos hidroxila (-OH) livres dos mono e diglicerídeos que eram silanizados com N,O- bis (trimetilsilil) trifluoracetamida (BSTFA). O tempo de análise, com a completa separação dos ésteres e componentes intermediários da reação foi de 12 minutos tendo sido observado aumento da precisão para todos os componentes (FREEDMAN *et al*, 1986). Assim, as figuras de mérito deste método GC-FID superaram as obtidas com o procedimento TLC/FID. Porém, este método GC-FID não permitia a quantificação de baixos níveis de mono, di e triglicerídeos (limite de quantificação alto, próximo de 1%). Além disto, o método não comportava a determinação simultânea da glicerina livre, indispensável para a determinação do glicerol total no biodiesel (soma dos mono, di e triglicerídeos mais a glicerina livre). Portanto, o alcance do procedimento era limitado, pois havia a necessidade do emprego de outro procedimento para a determinação da glicerina livre.

Os métodos cromatográficos iniciais para determinação de glicerol livre envolviam GC-FID, não era necessária derivatização das hidroxilas livres e era satisfatório para determinações de amostras com quantidade de glicerina superior a 0,02%. Este procedimento foi aperfeiçoado, com emprego de derivatização

(usando BSTFA). Este aprimoramento levou a melhor sensibilidade (menor limite de quantificação) e menor tempo de análise (MONTEIRO *et al*, 2008).

Assim, com o desenvolvimento da cromatografia gasosa capilar de alta temperatura (do inglês, *High Temperature Gas Chromatography* – HTGC) e o emprego de colunas capilares maiores, foi desenvolvida uma técnica, onde os produtos da reação de transesterificação, inclusive a glicerina livre, eram analisados em uma única corrida cromatográfica. A substituição feita neste método, do BSTFA pelo MSTFA (N-metil, N-trifluoracetamida) como agente derivatizante, proporcionou maior eficiência analítica. Este procedimento representou um avanço, pois, apesar de ser mais lento (a corrida cromatográfica dura aproximadamente 30 min.), apresenta limite de quantificação menor (0,005 % para glicerina livre e 0,05% para glicerina ligada), maiores precisão e exatidão e permite a detecção e quantificação, em uma única corrida cromatográfica da glicerina total. Este método para determinar glicerol total em biodiesel, geralmente denominado como “Método Plank”, forma a base para os procedimentos americanos, europeus e brasileiros de determinação do teor de glicerina total em biodiesel (FOGLIA *et al*, 2004).

Estes procedimentos apresentam dois inconvenientes. O primeiro é que, pelo emprego de derivatizante e de padrões internos para glicerídeos (tricaprina) e glicerol (1, 2, 4-butanotriol), a intervenção humana no método aumentou e este tornou-se mais laborioso. Este fato, aliado ao tempo da corrida cromatográfica, torna o método lento, limitando seu emprego para o monitoramento do processo de transesterificação. O outro problema é a necessidade de padrões específicos para cada tipo de biodiesel, originado de fontes diferentes, uma vez que cada

oleaginosa apresenta diferentes composições de ácidos graxos, que vão originar ésteres, mono e diglicerídeos diferentes. A seguir, na Figura 6, apresenta-se um cromatograma típico desta determinação (ASTM D 6584).

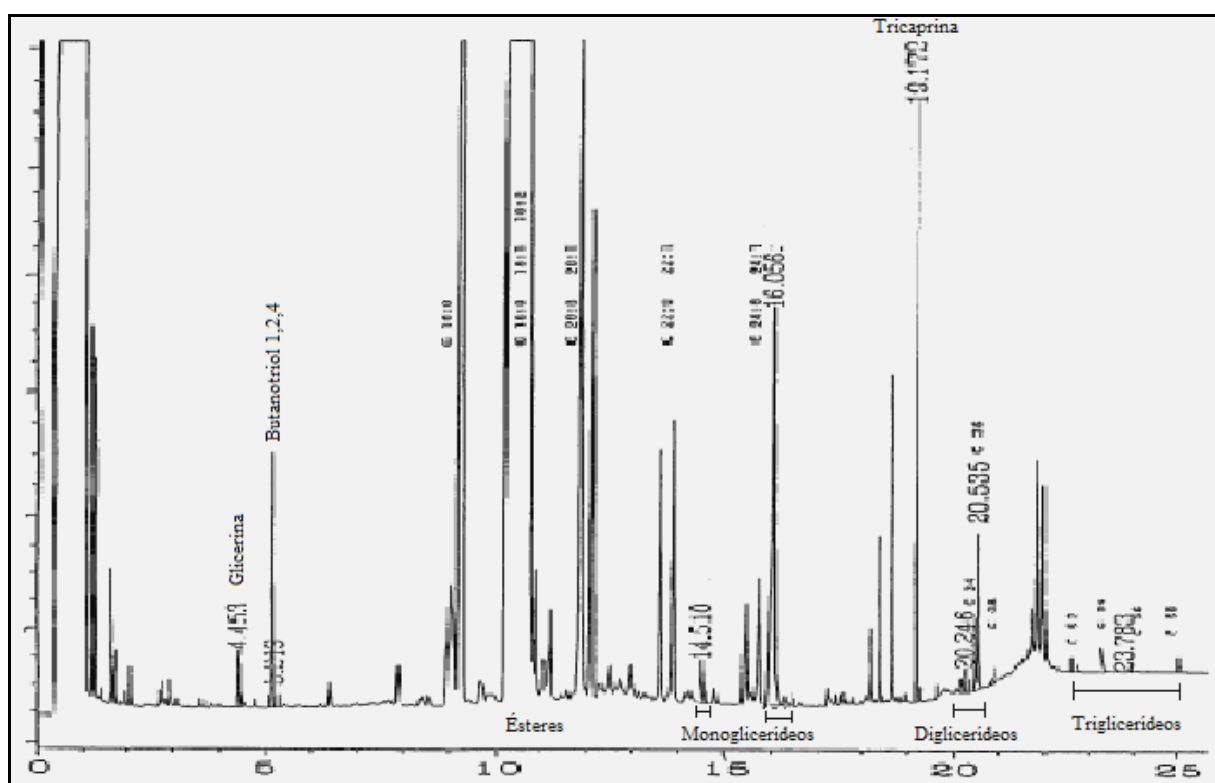


Figura 6: Cromatograma característico para determinação de glicerina total, empregado o método de referencia americano (ASTM D 6584).

A Associação Brasileira de Normas Técnica (ABNT) desenvolveu um método específico para determinação de mono e diglicerídeos e de ésteres totais em biodiesel de mamona, que possui uma particularidade: a presença de ricinoleína, que é o componente do ácido ricinoléico e tem um grupamento hidroxila (-OH) ligado ao carbono 1. A padronização é externa, com três padrões: ricinoelato de etila (monoricinoleína e ricinoelato de etila), estearato de etila (outros ésteres) e tricaprina (outros monoglicerídeos e diglicerídeos). Neste procedimento, não foi empregada a derivatização, contudo ele não foi capaz de determinar

triglicerídeos e glicerina livre, que devem ser determinadas por outro método (ABNT NBR 15342).

Uma otimização dos métodos ASTM D6584 e EN 14105 foi proposta com objetivo de realizar determinação simultânea de mono, di, triacilglicerol, glicerol livre e total em ésteres de etila de biodiesel de óleo de mamona usando cromatografia a gás. A principal mudança estudada foi na reação de silanização (derivatização), onde foi verificado que a quantidade de MSTFA foi aumentada de 100 para 250 μ L. Figuras de mérito, como linearidade, sensibilidade, precisão e exatidão foram avaliadas. Esta nova metodologia era até mesmo robusta quando havia variações na matriz, biodiesel de mamona misturado com outros biodieseis de diferentes origens. A principal contribuição deste estudo é o uso de só um método para determinar mono, di, triacilglicerol, glicerol livre e total em biodiesel de mamona, enquanto a ANP recomenda o uso de três métodos diferentes para estas determinações (DIAS *et al*, 2012).

1.3.2 Determinação do teor de biodiesel na blenda biodiesel/diesel e da composição dos ésteres do biodiesel

A quantificação de biodiesel na blenda biodiesel/diesel é de vital importância para dar segurança aos consumidores sobre o produto que está sendo adicionado em seus veículos. Os métodos de cromatografia a gás desenvolvidos para esta determinação, também citam a identificação dos ésteres que compõem o biodiesel. Por isso, apresentam-se os dois problemas juntos. Para o controle de qualidade e também por razões forenses, é importante o monitoramento da origem do biodiesel

(a distribuição dos ésteres de ácido graxo) e sua quantidade na mistura com diesel de petróleo.

A norma europeia EN14.103, adotada como técnica quantitativa para determinação do teor de ésteres em biodiesel, apresenta um inconveniente: heptadecanoato de metila, usado como padrão interno, é pouco comum em triglicerídeos de origem natural, mas o ácido heptadecanóico encontra-se livre ou ligado à glicerina no sebo bovino e em outras matérias-primas de biodiesel. Assim, foi desenvolvido um método alternativo, com condições cromatográficas idênticas a da norma europeia EN14.103, que usa oleato de etila como padrão interno. Nestas condições experimentais, o pico do oleato de etila encontra-se suficientemente resolvido dos picos produzidos pelos componentes da mistura que forma o biodiesel (ésteres de metila), tendo o método apresentado figuras de mérito (exatidão e precisão) similares às da norma europeia (MARQUES *et al*, 2010).

Na literatura existem poucos trabalhos dedicados a avaliar a determinação de biodiesel em diesel, empregando GC. O motivo reside na alta complexidade do cromatograma gerado (MONTEIRO *et al*, 2008; FOGLIA *et al*, 2005). O método europeu EN 14331, normalmente usado para esta finalidade, consiste no procedimento de extração em fase sólida (do inglês, Solid Phase Extraction – SPE) dos ésteres de ácido graxo e a subsequente análise de fração de biodiesel através de cromatografia a gás. Contudo, este método é vagaroso, e não permite nenhuma avaliação na distribuição dos ésteres.

Um método baseado na hifenização de extração em fase sólida (SPE) com cromatografia a gás com detecção de espectrometria de massas (GCxMS) foi desenvolvido para avaliar a impressão digital química de misturas de biodiesel/diesel. A extração em fase sólida permitia o fracionamento da amostra em 4 partes diferentes: hidrocarbonetos alifáticos, hidrocarbonetos aromáticos, ésteres metílicos (biodiesel) e componentes polares (triacilglicerois). Assim, cada uma das 4 fases eram analisadas separadamente no sistema cromatográfico (GCxMS). O método permite determinar o teor da mistura biodiesel/diesel, avaliar a distribuição dos componentes da mistura (ésteres, aromáticos e alifáticos) de modo independente, bem como identificar possíveis fraudes, como a adição de óleos vegetais *in natura* ao diesel convencional. Contudo, este método é bastante laborioso e necessita de muitos reagentes (solventes) (YANG et al, 2011).

Um método cromatográfico a gás bidimensional (GCxGC) foi desenvolvido para permitir a separação dos grupos de hidrocarbonetos contidos no diesel e a identificação e quantificação dos ésteres de ácido graxo oriundos do biodiesel. O procedimento empregava duas colunas capilares. A primeira polar, com polietilenoglicol como fase estacionária e 30 m de comprimento, garantia a separação entre alcanos e ésteres, além de realizar, parcialmente, a separação dos ésteres. A segunda coluna capilar era apolar, com poli-dimetilsiloxano como fase estacionária e 1,0 m de comprimento, e realizava a separação entre os aromáticos e os ésteres, e finalizava a separação dos ésteres. (BERTONCINI *et al*, 2008). Vale salientar que, com a distribuição quantitativa dos ésteres (biodiesel),

abre-se a possibilidade de possível identificação da matéria-prima originária; mas o autor não atentou para este tema em seu trabalho.

É importante destacar que a introdução de sistemas multidimensionais na cromatografia (múltiplas colunas com pressão estável) tem sido desenvolvida para aumentar o poder de resolução cromatográfico em amostras que contém vários componentes (misturas complexas) a serem detectados (BERTONCINI *et al*, 2007; SYNOVEC *et al*, 2003; FRAGA *et al*, 2000). Existem trabalhos na literatura que citam os benefícios de GC×GC em termos de capacidade resolução de picos (DAVIS e GIDDINGS, 1983), aumento de sensibilidade (LEWIS *et al*, 2001), caracterização de derivados de petróleo, como a gasolina (GORECKI e HARYNUK, 2003), o querosene (BERTONCINI *et al*, 2008) e cortes de diesel, bem como para o controle de processos petroquímicos (BERTONCINI *et al*, 2004). Porém, o tempo de análise é maior que os sistemas cromatográficos tradicionais (SYNOVEC *et al*, 2003).

Outro estudo que merece destaque foi o realizado por Veiga Júnior e colaboradores (2008), onde foi relatado um método para determinação do teor de biodiesel em blendas biodiesel/diesel baseado na técnica de espectrometria de massas (do inglês, Mass Spectrometry – MS) acoplada à cromatografia gasosa (GC-MS). Contudo, o espectrômetro de massas não realizou a análise por varredura (modo *Scan*), que fornece o espectro de massa de todos os fragmentos obtidos de uma determinada “molécula”, (ou grupo de moléculas, se houver coeluição de espécies) e sim o monitoramento seletivo de íons (MSI), uma ferramenta da espectrometria de massas que consiste na análise de fragmentos

específicos (por isso também é chamada de fragmentografia), pré-determinados. Logicamente, os fragmentos escolhidos irão depender das características da molécula de interesse (VEIGA JÚNIOR, *et al* 2008).

Foi relatado um método de alta sensibilidade e seletividade para a identificação dos ésteres metílicos e/ou etílicos de ácidos graxos, componentes do biodiesel, na matriz complexa do diesel mineral, cuja principal vantagem é a identificação rápida e precisa destes componentes minoritários. O método também permite a identificação da origem do biodiesel. Assim, amostras comerciais de B2, escolhidas aleatoriamente em postos revendedores de combustíveis, foram analisadas pelo método proposto, sendo possível identificar a oleaginosa que originou o biodiesel da blenda e a rota da transesterificação, se metílica ou etílica. Verificação de adulteração e a possibilidade de identificar marcadores, como os empregados anteriormente pela ANP, são outros benefícios do método (VEIGA JÚNIOR, *et al* 2008).

O emprego da ferramenta monitoramento seletivo de íons faz com que o MS transforme-se de um detector seletivo (capaz de detectar substâncias com determinadas propriedades físico-químicas) em um detector específico (capaz de detectar substâncias que possuam determinado elemento ou grupo funcional em suas estruturas). Assim, pôde-se negligenciar a total separação das espécies, originando um cromatograma com melhor resolução e mais simples. Analisando o trabalho de Veiga Júnior e colaboradores (2008), é possível verificar que existe uma estreita relação entre a seletividade cromatográfica e o detector empregado na determinação. Quanto mais específico for o detector empregado em

determinada análise cromatográfica, melhor será a seletividade do cromatograma gerado, independente da complexidade da mistura a ser analisada. Com um detector específico, em caso de coeluição de espécies, apenas a(s) espécie(s) detectável(is) estarão presentes no cromatograma. Deste modo, a quantidade de picos presentes no cromatograma será menor e a probabilidade de picos sobrepostos também será menor, mesmo em caso de coeluição.

Um estudo para avaliar a composição percentual da mistura biodiesel/diesel foi apresentado por Pierce e Schale (2011). Neste, foi realizada uma comparação entre cromatografia a gás convencional e a bidimensional; em todos os casos foi usado detecção por espectrometria de massas e os cromatogramas foram modelados por PLS. Foi verificado que os cromatogramas bidimensionais contêm maiores quantidades de informação química; o erro associado a este método foi menor que 6,12%

Moraes *et al* (2011) também empregaram GCxGC para determinação de biodiesel em misturas biodiesel/diesel, contudo eles empregaram o FID como sistema de detecção. Neste trabalho, foi usado um conjunto de colunas convencional (DB-5 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm e DB-17ms 1,2 m x 0,18 mm x 0,18 µm) e os resultados foram satisfatórios, com boas linearidade e repetibilidade, podendo ser utilizado na análise tanto de misturas biodiesel/diesel como na determinação qualitativa e quantitativa da composição dos ésteres do biodiesel (B100). A principal vantagem desta metodologia é o custo inferior por análise, quando comparada ao GCxGCxMS.

Um trabalho pioneiro foi apresentado por Schale e colaboradores (2012) para tratamento de misturas biodiesel/diesel; neste artigo descreve-se um método de GCxMS, com modelagens por PCA e PLS. Na modelagem por PCA foi possível identificar o tipo de matéria-prima do biodiesel e o tipo de diesel usado na mistura; foram estudadas 5 matérias-primas e 5 de tipos de diesel. Os cromatogramas foram pré-tratados (ajuste da linha de base e alinhados) antes dos tratamentos quimiométricos. No tratamento por PLS foi avaliado o teor da mistura, que variava de 0 a 30% (v/v). As predições por PLS tiveram RMSEC inferiores a 0,6, RMSECV inferiores a 1,2 e RMSEP inferiores a 1,4; O erro relativo comum em teste predito de amostra foi de 5%. Avaliando-se criticamente este método, chega-se a duas conclusões: I) o detector empregado gera muito mais informação química que o FID; essa quantidade de informações auxilia o tratamento quimiométrico. E, II) este método não informa nenhum procedimento para avaliar a composição do biodiesel, quando este for obtido por duas ou mais matérias-primas diferentes.

Um método que combina cromatografia gasosa bidimensional com espectroscopia de massa com varredura foi empregado para analisar misturas de ésteres de metila de ácidos graxos (biodiesel) e óleos “*in natura*”. Esta ferramenta permitiu classificar o éster e triglicérido por tamanho de cadeia, grau de insaturação, posição das duplas ligações. O método foi aplicado a três amostras (óleo de peixe, óleo de canola e biodiesel de canola) e duas misturas padrões de biodiesel, com resultados satisfatórios (EBRAHIMI *et al*, 2009). Embora não citado pelos autores, esta ferramenta analítica pode ser muito útil para investigação da origem do biodiesel.

Apesar de não constar nos parâmetros de qualidade do diesel, é significativo salientar um tipo importante de adulteração: adição óleo vegetal *in natura* ao diesel. O método ASTM D 6584 é capaz de determinar, no biodiesel puro, o teor de óleo vegetal. Avaliando os teores de triglicerídeos e ésteres de alquila, pode-se avaliar se o distribuidor está adicionando óleo vegetal *in natura* ao diesel ou se adicionou os produtos especificados da transesterificação.

Existem estudos, em amostras de biodiesel, que utilizam métodos de GC com detecção de espectrometria de massas empregando calibração multivariada para avaliação dos dados obtidos (sinal vs. tempo). No entanto, existem poucos trabalhos publicados com estas amostras que empregam modelagem quimiométrica na detecção por FID. Esta incorporação poderia ser uma alternativa interessante, haja visto que o FID, além de detectar menor número de informações químicas que o MS, estas informações estão menos visíveis nos cromatogramas. A modelagem quimiométrica auxilia na descoberta destas informações ocultas a olho nu.

1.4 Aspectos Quimiométricos

O termo Quimiometria foi proposto há mais de quarenta anos para descrever as técnicas associadas às manipulações matemáticas, lógicas e estatísticas utilizadas para extrair informações químicas a partir da análise de dados analíticos. Uma definição para quimiometria, proposta por D. L. Massart (1997), diz que é “a disciplina química que utiliza Matemática, Estatística e/ou Lógica para desenhar ou selecionar procedimentos experimentais ótimos, proporcionar a máxima informação

química relevante a partir da análise de dados químicos, e obter informações (conhecimentos) a partir de sistemas químicos”. Após a obtenção dos dados, o tratamento dos mesmos, empregando técnicas quimiométricas, permite aumentar a qualidade dos resultados, facilitando sua interpretação e fundamentando as conclusões com rigor. A quimiometria melhora o rendimento do processo analítico (RAMOS e ÁLVAREZ-COQUE, 2001).

A quimiometria causou maior impacto na Química Analítica que em outras áreas da química pelo seu poder de identificar relações escondidas em dados complexos (técnicas que geram grande número de informações) de forma correta e rápida e, principalmente, pela proposição de novas metodologias (MORRIS *et al*, 2004). Como exemplo, pode-se apresentar o uso da quimiometria para viabilizar as determinações em condições de baixa resolução e interferência de outras espécies químicas (POPPI, 2005). A técnica quimiométrica empregada para estas determinações é conhecida como calibração multivariada. Os vários métodos espectroscópicos vêm empregando os métodos quimiométricos, pois as dificuldades inerentes à etapa de preparo de amostra, visando a separação de interferentes, pode, em certas condições, ser negligenciada. A calibração multivariada permite a modelagem dos interferentes junto ao(s) analito(s), substituindo a separação física ou química, por uma medida direta (DINÇ, 2001). Baixo custo, redução do uso de reagentes, simplificação no preparo de amostras, diminuição da probabilidade de erros causados por manipulação e, principalmente, rapidez na execução das análises são algumas das vantagens da aplicação de técnicas quimiométricas (POPPI *et al*, 2005).

Contudo, o que é a cromatografia, senão a separação física dos componentes de uma mistura, para posterior geração de sinais individuais para cada componente da mistura? (LOPES NETO, 2006). A partir do instante em que esta premissa virou realidade, os especialistas vêm publicando trabalhos onde o cromatograma é considerado um gráfico que possui relações químicas; a calibração multivariada é utilizada para desvendar estas relações.

A regressão pelos mínimos quadrados parciais (PLS) destaca-se como um dos mais importantes e aplicados métodos de calibração multivariada, sendo empregado na manipulação matemática da matriz de dados com o intuito de representar a grande quantidade de variáveis (tempo de retenção) em um número menor de fatores. Com isso, um novo sistema de eixos é construído através da combinação linear das variáveis originais, comumente chamada de variáveis latentes (VLs) ou fatores. Desta forma, os dados de natureza multivariada podem ser visualizados em poucas dimensões.

Inicialmente, o maior problema para o uso de ferramentas quimiométricas era a necessidade de exatidão e repetibilidade para os tempos de retenção e nas áreas dos picos. Flutuações instrumentais podem levar a desvios nos tempos de retenção e nas áreas dos picos, acarretando em erros (SYNOVEC *et al*, 2000). Uma das maneiras para superar esta limitação é a integração manual de todos os picos, bem como sua tabulação correta, para posterior tratamento quimiométrico. Para sistemas com poucos picos e amostras, este artifício é adequado. Mas para sistemas com muitas amostras e picos, esta intervenção humana pode gerar muitos erros.

Contudo, como discutido antes, devido a modernização na instrumentação cromatográfica, estas anomalias vêm diminuindo ao longo dos últimos anos. Uma saída é o prévio tratamento quimiométrico, para alinhar os picos cromatográficos de todas as amostras, de modo que todos os picos cromatográficos tenham o mesmo início, máximo e fim; assim, o cromatograma por inteiro pode ser tratado por outro artifício quimiométrico.

1.4.1 Alinhamento dos Cromatogramas

Na técnica cromatográfica, os compostos presentes numa mistura são separados pelas diferentes propriedades físicas deles; estas propriedades estão relacionadas com o tempo de permanência de cada composto na coluna cromatográfica. Portanto, espera-se que componentes iguais, em amostras diferentes, tenham exatamente o mesmo tempo de retenção em determinada condição cromatográfica. Contudo, no dia a dia de um especialista em cromatografia a realidade é diferente. Diversos parâmetros colaboram para que existam pequenas variações nos tempo de retenção de determinado componente, entre as injeções. Podemos citar entre estes parâmetros a degeneração de fase estacionária, efeitos de matriz, micro variações nas temperaturas do forno, conseqüentemente, da coluna, variação na composição de fase móvel (cromatografia líquida), flutuações instrumentais, injeções irreprodutíveis, interação entre analitos, flutuações na pressão e no fluxo da fase móvel, etc.

Também podemos avaliar a própria dinâmica do sistema cromatográfico, que colabora para estas variações. O movimento das moléculas no interior da fase

estacionária, apesar de sempre seguir uma única direção, é totalmente aleatório, com quantidades de moléculas diferentes interagindo com a fase estacionária em tempos diferentes, pois nem todas as moléculas interagem durante tudo o tempo com a fase estacionária. Nos sistemas com rampa de temperatura, esse fator ganha um peso ainda maior, pois com variação de temperatura, a força das interações físicas entre o analito e fase estacionária são alteradas. Assim, mesmo se injetarmos a mesma amostra, no mesmo sistema cromatográfico, e em sequência, haverá pequenas variações nos tempos de retenção dos componentes.

Em sistemas univariados, mais simples, onde o especialista busca apenas a integração de determinado(s) analito(s), para relacionar estes valor(es) com seus respectivos padrões (internos ou externos) para mensurar a concentração desta(s) espécie(s), este problema é facilmente contornado. O especialista usa sua experiência para, ele mesmo, corrigir estas imperfeições. Os softwares de cromatografia também possuem opções para minimizar estas imperfeições, onde cada pico cromatográfico é determinado com algum tipo de aproximação em relação ao tempo de retenção de padrão (por exemplo, $\pm 2\%$).

Em sistemas de modelagem multivariada, onde todo o gráfico (cromatograma, espectro, etc.) é comparado com outros gráficos, a minimização destas variações é uma premissa fundamental. Pois assim as variáveis das amostras (posição e altura do sinal) estarão representando os mesmos fenômenos (tempos de retenção e alturas dos picos). Caso as informações espectrais (ou cromatogramas) não estejam corretamente alinhadas haverá imperfeições estatísticas e matemáticas no modelo, provocado por número de componentes

principais falsas. O sucesso do alinhamento de cromatogramas é corrigir as variações nos tempos de retenção, colocar as linhas de base na mesma altura e, ainda assim, manter as diferenças entre os cromatogramas intactos; logicamente que diferenças falsas não devem ser criadas por alinhamentos errôneos (JELLEMA *et al*, 2009).

Na literatura existem vários algoritmos disponíveis para alinhamento de cromatogramas. A maioria deles usa um sinal (cromatograma) de referência para emparelhar os sinais das outras amostras. Por este motivo, a escolha do cromatograma de referência é um procedimento importante, pois vai influenciar o resultado do alinhamento. Uma amostra de referência adequada deve ser representativa em relação ao conjunto de amostras a ser alinhadas. Contudo, essa amostra referência não necessita possuir todos os picos ou mesmo o formato destes picos. O mais importante é ela possuir variação do tempo de retenção dos picos intermediários em relação às outras amostras. Um bom procedimento é preparar uma amostra referência usando o maior número possível de amostras testes e cromatografá-la entre as demais (JELLEMA *et al*, 2009).

A maioria dos algoritmos para alinhamento emprega técnica de programação dinâmica, onde os caminhos (decisões) para emparelhar os dados em uma matriz são realizados em diferentes e independentes estágios. Ou seja, a forma de alinhar um determinado segmento (pedaço) do cromatograma não causará interferência nas decisões para o alinhamento de outro segmento deste mesmo cromatograma (DASZYKOWSKI *et al*, 2007; JELLEMA *et al*, 2009).

Dentre os algoritmos de alinhamento, podemos citar e comentar alguns deles:

Dynamic Time Warping (DTW): este método foi criado originalmente para reconhecer a voz de determinada pessoa, a partir da frequência das palavras pronunciadas. Posteriormente foi adaptado para alinhamentos de sinais cromatográficos. Esta técnica é flexível e emprega programação dinâmica, pois pode alongar ou comprimir diferentes partes de um mesmo cromatograma. O algoritmo busca emparelhar ponto a ponto os sinais de um cromatograma (NIELSEN *et al*, 1998; PRAVDOVA *et al*, 2002).

Correlation Optimized Warping (COW): o algoritmo de correlação da deformação aperfeiçoada (em português) é um avanço do DTW, visto que trabalha com segmentos de dados (pedaços de cromatogramas) individualmente. Assim, COW possui menor flexibilidade que DTW, contudo essa aparente desvantagem é sua maior virtude, pois deste modo ele vai buscar emparelhar regiões de cromatogramas (picos, ombros, linha de base, etc.) e não sinais. Neste trabalho, empregou-se este algoritmo para alinhar os cromatogramas. Portanto, na próxima seção ele será discutido com mais detalhes (NIELSEN *et al*, 1998; SKOV *et al*, 2006; TOMASI *et al*, 2004).

Parametric Time Warping (PTW): quando as variações no tempo de retenção ocorrem por uma causa específica (por exemplo, envelhecimento da coluna) uma mudança gradual e sistemática é esperada. Esta variação no comportamento do tempo de retenção pode ser modelada como uma função e, neste caso podemos empregar PTW para alinhar estes cromatogramas. Esta é a condição fundamental para o emprego desta técnica. Portanto, ela não pode ser usada para alinhamentos causados por problemas aleatórios, como por exemplo, problemas de injeção, variação de fluxo de gás de arraste, efeitos de matriz, etc. (EILERS, 2004).

Peak Alignment by a Genetic Algorithm (PAGA): Este método foi desenvolvido originalmente para NMR, mas pode ser útil para outros sinais que possuam picos e cumes definidos, como cromatogramas. A condição fundamental para o uso deste algoritmo é a existência de áreas sem picos (linha de base) nas amostras e na referência. Este algoritmo não é indicado para cromatogramas complexos, com ombros e/ou picos com má resolução cromatográfica (FORSHEED *et al*, 2005; LEE *et al*, 2004).

1.4.2 Método de alinhamento COW.

O algoritmo para alinhamento COW, introduzido por Nielsen *et al* (1998), é a técnica mais popular, robusta e eficiente para processar o alinhamento de picos cromatográficos, espectroscópicos e de ressonância magnética nuclear (DASZYKOWSK e WALCZAC, 2007). O algoritmo proporciona a possibilidade de dois modos para a escolha da referência: o cálculo do cromatograma médio, tomando-se como média as colunas (sinais) de todos os cromatogramas que serão alinhados; ou a escolha convencional, onde o operador escolhe a amostra mais representativa entre as cromatografadas. Neste trabalho, convencionou-se chamar de X_d os cromatogramas das amostras (desalinhados) e X_r o cromatograma de referência.

Considera-se X_d e X_r como vetores contendo, respectivamente, J e J' coordenadas (J e J' são as leituras do detector, variáveis, para os tempos de retenção). Assim, o alinhamento de X_d a X_r ocorrerá por meio de compressões e estiramentos (deformações) em cada uma das seções antecipadamente definidas do cromatograma. Vale salientar que cada secção (segmento ou parte do

cromatograma) sofrerá deformações que independem das demais secções. O cromatograma final alinhado será a combinação de cada secção deformada, de modo que obtém-se uma correlação entre X_d e X_r , com a melhor justaposição plausível do vetor desalinhado do vetor de referência (JELLEMA *et al*, 2009).

Em primeiro lugar, tanto nos cromatogramas desalinhados quanto no de referência, dois parâmetros devem ser fixados: o número de secções (N) que o cromatograma será dividido (e que determinará o tamanho de segmento) e tamanho dos “nós” (s) ou amplitude dos deslocamentos das deformações (s); bem, como $M=J/N$, cada secção terá comprimento M e M' em X_d e X_r , respectivamente, o que neste contexto significa o número de variáveis das secções, aqui denominadas, g e g' (NIESEN *et al*, 1998; JELLEMA *et al*, 2009; RIBEIRO *et al*, 2010).

Após a determinação da quantidade de segmentos, cada segmento será comprimido e estirado de -s a +s. Após este processo, o algoritmo escolhe as melhores deformações para cada secção independentemente, de modo a obter a melhor interpolação entre os cromatogramas desalinhados e a referência. Logicamente, quanto maior o número de s, melhor, pois o programa executará mais deformações; contudo, este aperfeiçoamento levará indubitavelmente a um aumento considerável no tempo de avaliação, bem como a necessidade de um computador mais potente (NIESEN *et al*, 1998; JELLEMA *et al*, 2009; RIBEIRO *et al*, 2010).

Na Figura 7, é mostrada, de modo simplório, a operacionalização do COW na busca por um alinhamento perfeito entre dois cromatogramas

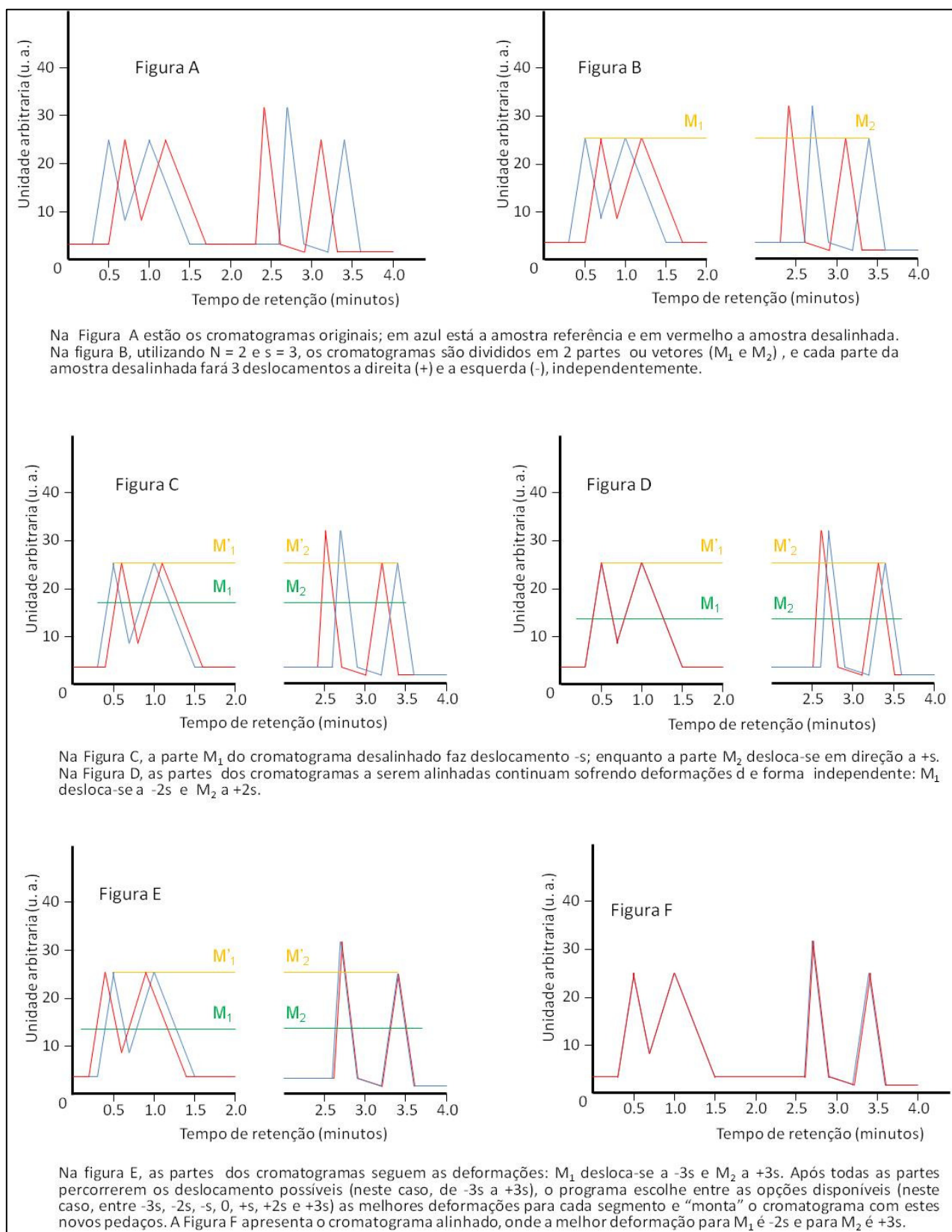


Figura 7: Esquema de operacionalização do COW.

1.5 Motivação

Em toda a literatura pesquisada, não existem relatos trabalhos em que a impressão digital cromatográfica determine a composição de uma amostra de diferentes origens. Existem trabalhos em que, com auxílio de ferramentas quiméricas, a impressão digital cromatográfica permite a classificação da origem de uma amostra (BOMBARDA *et al*, 2008; ALIFERIS *et al*, 2010; CAJKA *et al*, 2010, LIN *et al*, 2010; SUN *et al*, 2011; SÂRBU *et al*, 2012); a qualificação da conformidade de uma amostra em relação a um padrão pré-definido (FLUMIGNAN *et al*, 2007; PEDROSO *et al*, 2008; GODOY *et al*, 2011; WANG *et al*, 2011) e a classificação amostra em faixas pré-determinadas (PAES e SERRA, 2005; PIERCE *et al*, 2005; RIBEIRO *et al*, 2009; AMIGO *et al*, 2010; RIBEIRO *et al*, 2010)

Contudo, não encontramos publicações que relatem a avaliação da composição (qualitativa e quantitativa) de uma amostra, por impressão cromatográfica, quando esta é uma mistura (blenda) de duas ou mais origens diferentes.

Por exemplo, CAJKA e colaboradores (2010) relataram o reconhecimento de marcas de cervejas baseado na análise de multivariada do perfil (impressão digital) cromatográfico (GC–TOFMS) dos voláteis da bebida. Assim, o procedimento permite descrever se a cerveja contida em um copo é do tipo A, B ou C, por exemplo; mas não permite avaliar se um copo contém uma mistura das cervejas A e B (ou A e C, ou B e C, ou A e B e C) e qual a proporção de cada componente nesta mistura.

Pelo estudo quimiométrico (redes neurais) dos perfis de distribuição dos n-alcenos em cromatogramas gasosos, PAES e SERRA (2005) relataram a possibilidade de classificação de diferentes tipos de petróleo; foram estabelecidos seis tipos diferentes de petróleo. Essa classificação é tem grande importância, pois permite avaliar as frações existentes, o processamento e o preço do petróleo. Na Figura 8 estão os cromatogramas, nas mesmas condições cromatográficas, de dois tipos diferentes de petróleo. Em uma análise preliminar destes cromatogramas (mesmo tendo escalas de abscissa e ordenada diferentes) pode-se inferir que o petróleo tipo 1 possui maior percentual de hidrocarbonetos leves médios; já o petróleo tipo 1 possui maior percentual de hidrocarbonetos leves e médios; já o petróleo tipo 3 cotem maior percentual de hidrocarbonetos médios e pesados. Ambos terão preços, teor de derivados e processos de refinis diferentes. Contudo, se um petroleiro for carregado com dois tipos diferentes de petróleo, o procedimento descrito não permite avaliar se é uma mistura de 2 e 4 (ou 3, 5 e 6 ou outra qualquer) e qual a proporção dos constituintes.

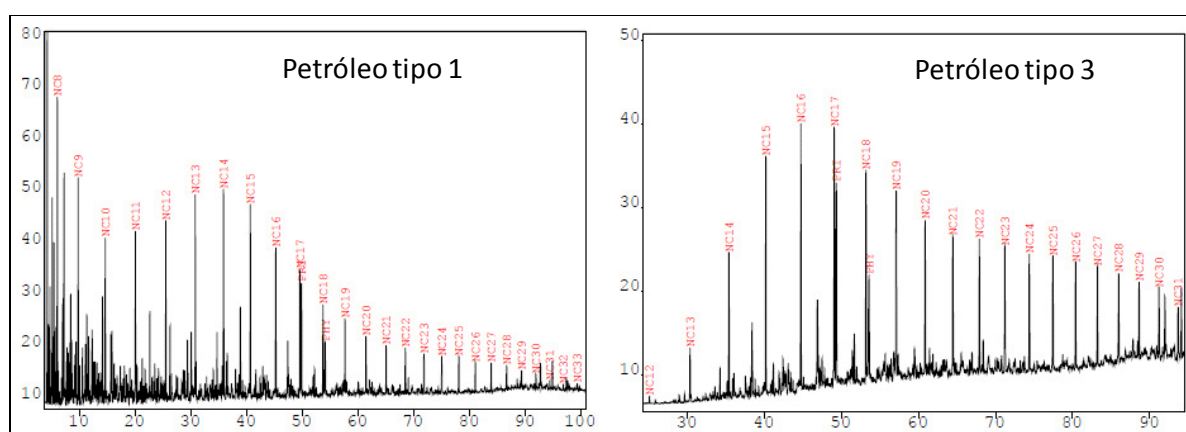


Figura 8: Cromatogramas típicos dos tipos de petróleo 1 e 3 (PAES e SERRA, 2005).

Portanto, este trabalho busca-se relacionar a impressão digital cromatográfica com a composição qualitativa e quantitativa de uma mistura constituída de amostra de diferentes origens.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Geral

Determinar a composição em relação a matéria-prima de amostras de biodiesel através da cromatografia em fase gasosa associada a calibração multivariada.

2.2 Específicos

- Verificar o perfil cromatográfico de amostras biodiesel de origens diferentes e conhecidas empregando a norma Europeia EN 14.103, usada para determinar o teor dos ésteres em biodiesel (B100);
- Preparar misturas binárias, ternárias e quaternárias de biodiesel (de diferentes origens) em proporções definidas, cromatografá-las e examinar seus respectivos perfis cromatográficos;
- De posse dos cromatogramas, empregar calibração multivariada, utilizando regressão pelos Mínimos Quadrados Parciais – PLS (do inglês, *Partial Least Squares*), a partir de misturas com proporções conhecidas das diferentes matérias-primas que compõem a amostra (quando o biodiesel for obtido através da mistura de duas ou mais oleaginosas), validando com amostras e corroborando o conceito de impressão digital cromatográfica;

- Desenvolver e validar o conceito de impressão digital cromatográfica, empregando cromatografia à gás para mensurar a origem do biodiesel, uma vez que o Brasil dispõe de diversas matrizes animais e vegetais (soja, dendê, sebo de boi, babaçu, girassol, gordura de galinha, mamona, algodão, etc.) para a produção de biodiesel;
- Com os dados dos cromatogramas, estabelecer parâmetros seguros para avaliar a matéria-prima (oleaginosa) do biodiesel em B100.

3.0 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Foram utilizados os seguintes reagentes:

- n-heptano, fornecido pela Merck (Alemanha) com pureza > 99,0 %.
- heptadecanoato de metila (C_{17:0}), fornecido pela Sigma Aldrich (Fluka), com pureza de 99,0%.

3.2 Preparação das Amostras Biodiesel

Neste estudo foram escolhidas quatro amostras de biodiesel de diferentes origens: soja, sebo bovino, girassol e dendê (palma). Soja e sebo bovino foram escolhidos por serem as principais matérias-primas para produção do biodiesel no Brasil (ANP, 2012). O governo brasileiro, através do Decreto nº 5.658, de 02/01/2006, adota recomendação da organização mundial de Saúde e vêm estimulando a redução da plantação de tabaco; com este incentivo, a cultura tabaco vem sendo substituída pela do girassol, para fins de produção de biodiesel (PORTE *et al*, 2010); por este motivo escolheu-se amostra de biodiesel de girassol para compor este trabalho. O óleo de palma é mais produzido no mundo, com a produção estimada em 51 milhões de toneladas no ano de 2012 (LUMPUR, 2012). A produção brasileira é pequena, beirando 200 mil toneladas/ano. O país é o 11º produtor do mundo e importa o mesmo volume que produz para suprir a demanda interna. Contudo, o governo brasileiro lançou em maio de 2012 o Programa

Nacional de Óleo de Palma, que visa tornar o país o maior produtor mundial desse vegetal nos próximos anos (MARTINS, 2012).

As amostras de biodiesel dessas quatro matérias-primas foram fornecidas pelo laboratório da ANP (Centro de Pesquisas e Análises Tecnológicas – CPT) e 99 misturas (com concentrações diferentes dos componentes) foram preparadas com estas amostras. Na mistura central (25 % de cada componente) foram preparadas 9 amostras diferentes. Na Tabela 3 são mostradas as fontes de biodiesel e as concentrações escolhidas para este trabalho.

O preparo das amostras seguiu rigorosamente as determinações da norma EN 14.103: preparo de solução 10 mg mL⁻¹ de heptadecanoato de metila (padrão interno, C17:0) em heptano. Em seguida, aproximadamente 250 mg da amostra era transferida para um balão volumétrico de 10 mL, e o volume era ajustado com a solução do padrão interno.

Tabela 3: Concentração das oleaginosas nas amostras submetidas a análise cromatográfica.

Amostra	Concentração (% massa)			
	Palma	Soja	Sebo	Girassol
A01	100	0	0	0
A02	0	100	0	0
A03	0	0	100	0
A04	0	0	0	100
A05	0	11.0	0	89.0
A06	0	25.8	0	74.2
A07	0	50.6	0	49.4
A08	0	76.0	0	24.0
A09	0	90.0	0	10.0
A10	89.6	10.4	0	0
A11	74.7	25.3	0	0
A12	49.9	50.1	0	0
A13	24.2	75.8	0	0
A14	10.4	89.6	0	0
A15	0	10.4	89.6	0
A16	0	26.5	73.5	0

Amostra	Concentração (% massa)			
	Palma	Soja	Sebo	Girassol
A51	0	30.0	10.3	59.7
A52	0	59.7	10.1	30.3
A53	0	59.3	30.2	10.5
A54	0	34.0	32.8	33.3
A55	10.1	10.5	79.3	0
A56	80.0	10.0	10.0	0
A57	10.2	79.9	9.9	0
A58	30.3	10.0	59.7	0
A59	10.2	30.1	59.7	0
A60	59.0	10.4	30.6	0
A61	59.4	30.6	10.0	0
A62	29.4	60.9	9.7	0
A63	11.3	58.5	30.2	0
A64	33.6	33.6	32.8	0
A65	10.0	0	80.0	9.9
A66	80.4	0	9.9	9.8

Tabela 3: Concentração das oleaginosas nas amostras submetidas a análise cromatográfica (Continuação):

A17	0	51.2	48.8	0	A67	9.5	0	9.7	80.8
A18	0	76.8	23.2	0	A68	29.2	0	60.5	10.3
A19	0	89.8	10.2	0	A69	10.4	0	59.6	29.9
A20	89.8	0	0	10.2	A70	58.5	0	31.1	10.3
A21	74.7	0	0	25.3	A71	60.8	0	10.0	29.2
A22	49.4	0	0	50.6	A72	30.7	0	10.2	59.1
A23	24.4	0	0	75.6	A73	9.9	0	30.0	60.2
A24	10.8	0	0	89.2	A74	33.2	0	32.8	34.0
A25	0	0	90.1	9.9	A75	10.5	68.6	10.6	10.4
A26	0	0	74.5	25.5	A76	9.9	11.0	68.7	10.3
A27	0	0	49.4	50.6	A77	69.1	10.6	10.0	10.3
A28	0	0	25.2	74.8	A78	10.4	10.5	10.0	69.1
A29	0	0	10.5	89.5	A79	9.9	50.0	30.2	9.8
A30	10.2	0	89.8	0	A80	30.5	49.6	10.2	9.7
A31	24.7	0	75.3	0	A81	10.2	50.2	10.0	29.6
A32	50.1	0	49.9	0	A82	10.1	30.8	9.9	49.2
A33	74.5	0	25.5	0	A83	10.3	10.0	29.9	49.8
A34	89.7	0	10.3	0	A84	31.1	9.9	9.5	49.4
A35	79.5	10.1	0	10.4	A85	50.4	9.9	10.2	29.5
A36	10.1	10.0	0	79.9	A86	50.6	9.9	29.7	9.8
A37	10.0	80.1	0	9.9	A87	50.9	29.7	9.7	9.7
A38	60.5	10.0	0	29.5	A88	10.2	30.3	49.7	9.8
A39	59.5	30.1	0	10.4	A89	30.3	10.2	49.6	10.0
A40	30.1	10.2	0	59.7	A90	10.3	10.0	49.7	30.1
A41	10.6	30.3	0	59.0	A91	25.4	25.4	24.8	24.4
A42	10.0	60.1	0	29.9	A92	25.2	25.2	24.8	24.8
A43	30.4	59.8	0	9.8	A93	25.1	24.7	25.0	25.2
A44	32.4	34.2	0	33.4	A94	25.2	25.1	24.9	24.9
A45	0	10.1	80.0	10.0	A95	24.9	24.7	24.4	25.9
A46	0	10.4	10.1	79.5	A96	25.2	16.6	33.4	24.8
A47	0	79.5	9.9	10.6	A97	25.1	25.3	24.8	24.8
A48	0	10.1	60.7	29.2	A98	25.2	24.9	24.9	25.1
A49	0	29.2	58.6	12.1	A99	25.0	25.1	24.9	24.9
A50	0	10.0	29.7	60.3	-----	-----	-----	-----	-----

3.3. Análises Cromatográficas

O modelo de cromatógrafo utilizado para as análises das amostras de biodiesel foi o Varian 450 GC, equipado com software cromatográfico GALAX, detector FID, injetor com divisor/sem divisor de fluxo e amostrador automático

Varian CP 8410. As condições cromatográficas seguiram a norma EN 14.103. A coluna cromatográfica utilizada foi a DB wax (com 30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e espessura da fase estacionária de 0,25 μm); hélio foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 1 mL min^{-1} . O injetor foi equipado com um *liner* de diâmetro interno de 0,75 μm e mantido a 250 °C no modo com divisor de fluxo (1:20), temperatura do forno igual a 200 °C (isoterma), temperatura do detector de 250 °C, utilizando hidrogênio (30 mL min^{-1}), ar sintético (300 mL min^{-1}) e hélio (*mack-up*) (40 mL min^{-1}).

3.4. Tratamento Quimiométrico

A amostra A29 foi excluída, pois apresentava anomalias (picos anômalos, coeluições e excesso de ruído na linha de base), características típicas de contaminação ocorrida durante seu preparo. Assim, em todo tratamento quimiométrico foram considerados 98 cromatogramas.

Foram realizadas três análises multivariadas distintas dos cromatogramas. No primeiro estudo todos os 98 cromatogramas foram integrados manualmente, do mesmo modo e pelo mesmo operador. As áreas de todos os picos foram tabuladas em planilha Excel (Microsoft), conforme apresentadas na Tabela 3, mostrada no item 4.0 deste trabalho. Esta Tabela foi exportada, na forma de matrizes X (I x J) contendo I linhas (amostras) e J colunas (variáveis, áreas dos picos) para o Unscrambler (versão 9.0 de CAMO A/S), onde foram realizadas as análises multivariadas, por PLS1, destes dados.

Outro estudo envolveu as áreas dos picos normalizadas (relação proporcional destas áreas). Estes dados foram trabalhados conforme a descrição acima.

Finalmente, os 98 cromatogramas foram alinhados (pré-tratados), para dirimir as variações nos tempos de retenção e alinhar as linhas de base, com o algoritmo COW (do inglês, *Correlation Optimized Warping*). Os dados cromatográficos (tempo, em décimos de segundos e x intensidade do sinal, em picoampère – pA) foram armazenados no software GALAX e puderam ser transpostos para versões do Excel (Microsoft) posterior a 95. Estes dados cromatográficos foram organizados no software Matlab 9.0 (A Cia. de MathWorks, Natick, MA, o EUA.), na forma de matrizes X (I x J) contendo I linhas (amostras) e J colunas (variáveis). As J variáveis foram as leituras realizadas pelo detector utilizado (FID) a cada 0,1 s de corrida cromatográfica. Após o alinhamento, a nova matriz, de tamanho semelhante a original, era exportada para o Unscrambler, onde era realizada a modelagem por PLS.

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Amostras e Cromatogramas

Como foi visto anteriormente, na introdução deste trabalho, nos últimos anos houve um grande avanço tecnológico na instrumentação dos acessórios dos sistemas cromatográficos a gás; esta modernização auferiu estabilidade a técnica. Deste modo, se mantendo constantes as variáveis cromatográficas (relação do *split*, tipo de coluna, temperaturas do forno, injetor e detector, fluxo de gás de arraste, fluxos do detector, etc.), obtém-se um cromatograma semelhante ao obtido por outro equipamento com as mesmas variáveis (logicamente, a amostra analisada deve ser a mesma!).

Esta estabilidade permite que um operador experiente, e com prévio conhecimento nos tipos de amostras, possa predizer, apenas olhando um determinado cromatograma (sem se preocupar em saber quem são os componentes e em que quantidade eles estão presentes na mistura), se a amostra analisada é do tipo A, B ou C. Daí nasce o conceito de impressão digital cromatográfica: quando uma amostra é analisada em cromatógrafo, conseguindo-se reproduzir e manter constante todas as variáveis do equipamento, obtém-se cromatogramas similares.

Na Figura 9, são apresentados dois cromatogramas (biodiesel de palma e sebo de boi) obtidos com as condições cromatográficas apresentadas na parte experimental e com as prováveis identificações dos ésteres presentes nas

respectivas amostras. O C17:0 é o padrão interno (PI) empregado na análise (heptadecanoato de metila).

Uma rápida análise, a olho nu, nestes cromatogramas permite notar diferenças significativas nos mesmos (importante salientar que na análise a olho nu, recomenda-se que as escalas dos cromatogramas sejam as mesmas). Deve ser observado que a correta identificação dos componentes (picos) não é essencial, o que importa é: (I) se há ou não pico naquele determinado tempo de retenção e (II) qual a proporção da área de cada pico em função dos demais.

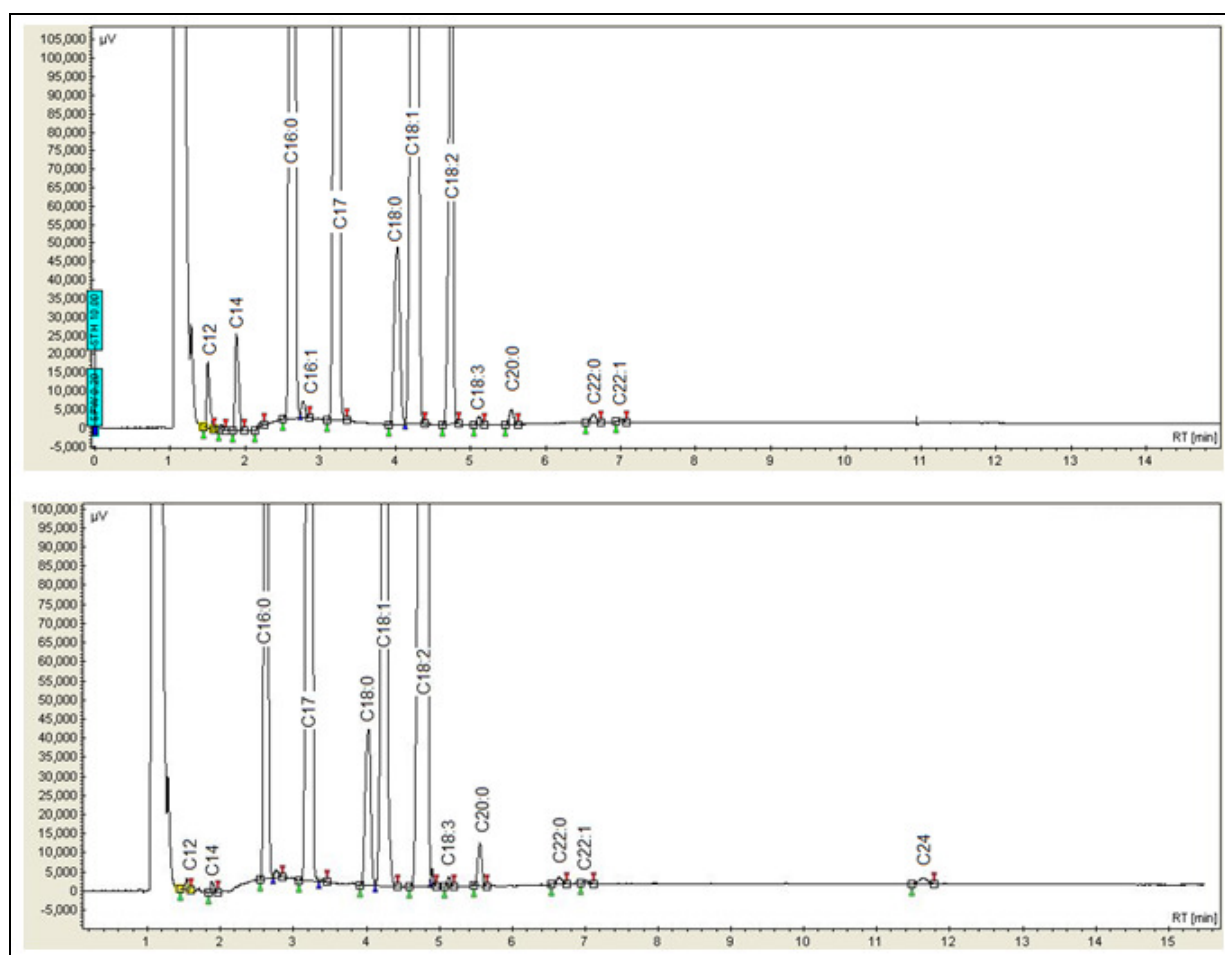


Figura 9: Cromatogramas de biodiesel de palma (superior) e sebo (inferior) obtidos de acordo com a norma EN 14.103

Pelo exposto acima, quando o biodiesel for originado de uma única fonte, uma simples inspeção visual do cromatograma pode auxiliar na identificação da matéria-prima utilizada na produção do biodiesel analisado. Entretanto, devido a complexidade do cromatograma, o uso da quimiometria pode ser uma saída para identificar amostras de biodiesel obtidas por misturas de matérias-primas.

O presente trabalho não se restringe apenas na análise de amostras de biodiesel de uma única matéria-prima. Deseja-se investigar também as diferenças que ocorrem entre cromatogramas quando temos mistura (binária, ternária ou quaternária) de amostras biodiesel de diferentes origens em proporções diferentes. Neste caso, a análise deve ser minuciosa e levar em conta as várias relações entre os picos dos componentes. Devido à complexidade desta análise (ruídos, coeluições e possibilidade de não linearidade nos componentes), foram empregadas ferramentas quimiométricas para auxiliar na identificação de padrões, visando estimar a origem do biodiesel e/ou as proporções das diferentes matérias-primas que compõem a amostra (quando o biodiesel for obtido através da mistura de duas ou mais fontes diferentes).

Na Figura 10 é mostrada, em mesma escala, os cromatogramas individuais das amostras de biodiesel obtidos de cada matéria-prima (palma, soja, girassol e sebo). Todas as integrações foram realizadas manualmente, pelo mesmo analista e do mesmo modo. Uma observação rápida e despretensiosa, mesmo por alguém que não seja especialista na área, demonstrará que existem diferenças significativas entre o tamanho dos picos (Figura 9).

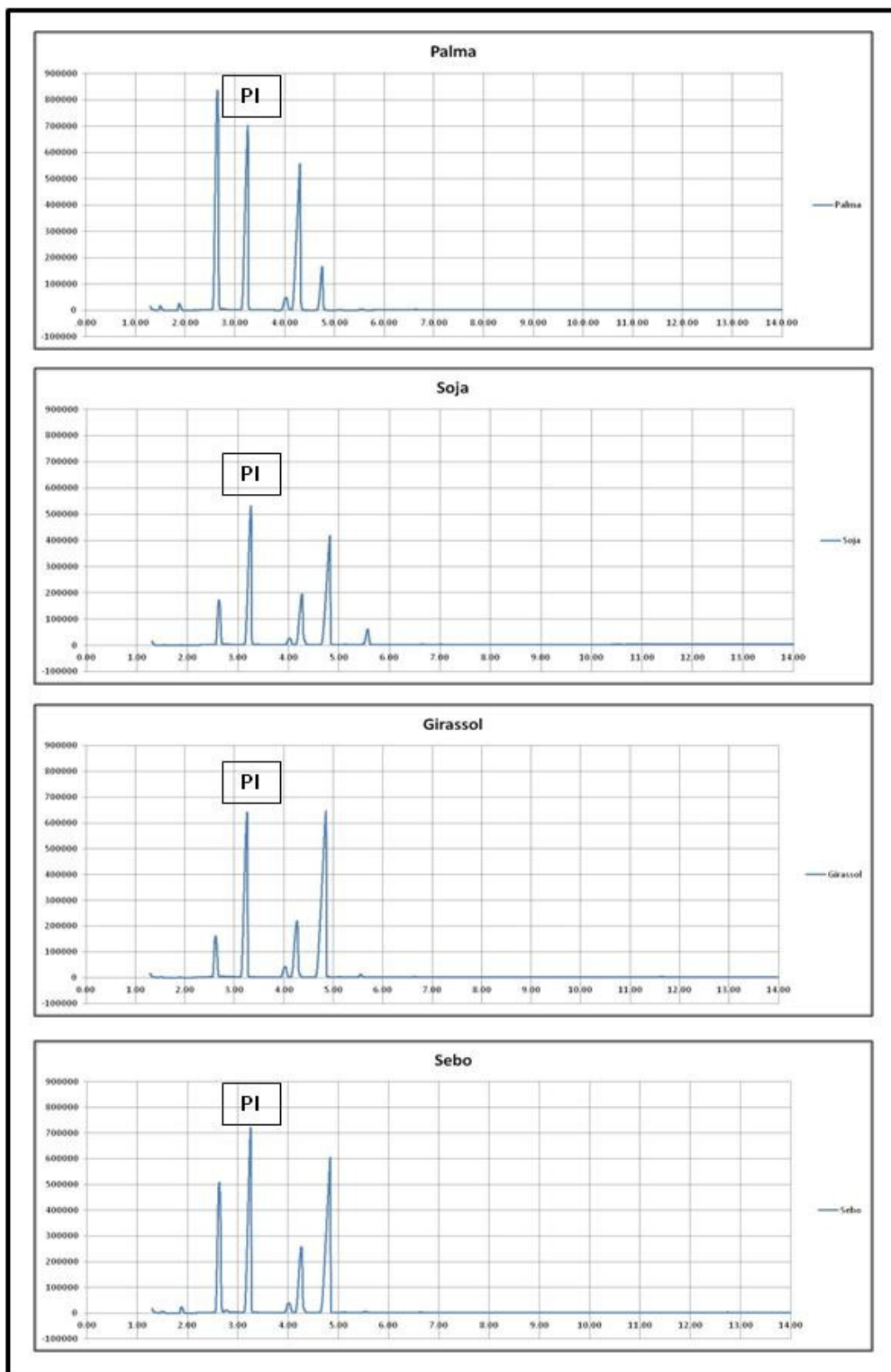


Figura 10: Cromatogramas das 4 amostras individuais de biodiesel.

Por exemplo, é possível notar na Figura 9 que o pico com tempo de retenção (TR) em 2,8 minutos é muito maior em biodiesel de palma que nos demais. A amostra de biodiesel, cuja matéria-prima é soja, possui um pico pequeno, mas destacado e quase específico (biodiesel de girassol apresenta traços deste componente), em TR 5,7 minutos. O desenho do cromatograma do biodiesel originado de girassol é parecido com o de soja, com exceção do componente com TR 5,7 minutos. O biocombustível obtido de sebo apresenta como particularidade a quase equivalência entre os compostos eluídos em TR 2,8 e 4,9 minutos. Outras particularidades poderiam ser notadas por outros especialistas em cromatografia.

Uma ampliação do eixo das ordenadas (sinal) trará outra observação, mais rigorosa, que evidencia a existência de detalhes (picos pequenos e/ou ombros) característicos de cada oleaginosa. A Figura 11 apresenta esta ampliação. Nesse destaque, é possível observar que apenas os biodiesel originados de palma e sebo possuem um componente com TR 1,9 minutos em quantidade significativa. Entretanto, apenas o biodiesel de palma possui um éster com TR 1,5 minutos. O biodiesel de sebo é o único que possui em sua composição um componente com TR 12,8 minutos. O biodiesel de soja, além de possuir sinal intenso em TR 5,7 minutos, ainda tem a especificidade de ter em sua composição traços de uma espécie com TR 5,8 minutos, que é um ombro do éster TR 5,7 minutos. Em relação ao biodiesel de girassol, pode-se afirmar que o componente-ombro com TR 4,9 minutos é característico desta oleaginosa. Contudo, este componente, embora em menor quantidade, também é observado nos cromatogramas de soja e sebo.

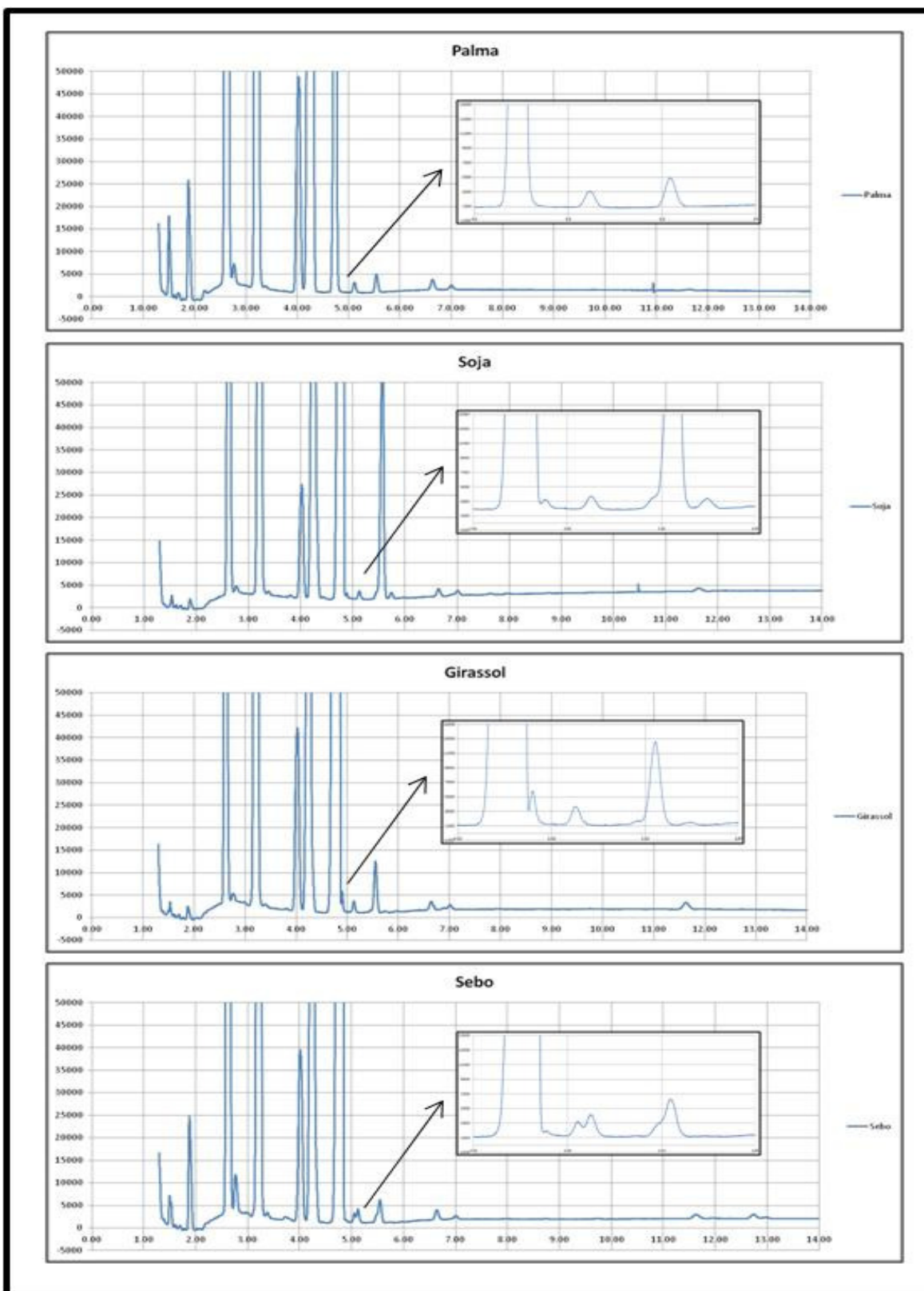


Figura 11: Cromatogramas ampliados das 4 amostras individuais de biodiesel

Outras particularidades poderiam ser observadas e são essas diferenças e detalhes (Variáveis Latentes) que a ferramenta PLS pode identificar, associar a cada matéria-prima de biodiesel e, posteriormente, determinar o percentual destas em uma amostra desconhecida cromatografada nas mesmas condições.

Na Tabela 4 estão apresentadas as áreas de todos os picos. Grifado em verde, estão as áreas do padrão interno nas amostras. Um fator que merece destaque (mencionado no início deste tópico) é que a integração de todos os cromatogramas deve ser realizada da mesma forma. Nos picos bem definidos e com áreas grandes, essa observação fica relegada em um segundo plano. Mas, nos picos menos intensos (áreas menores que podem ser confundidas com ruídos da linha de base) e onde há pequena coeluição (ombros), onde é necessário fazer manualmente a divisão dos picos, a forma de integração destas espécies influenciam a calibração multivariada. Picos integrados de modo diferente geram áreas e relações percentuais (proporção) diferentes. Por exemplo, em picos pequenos (área total de 50 unidades), uma variação de 5 unidades equivale a um erro relativo de 10%. Em picos médios (área total de 5.000 unidades) e variação de 5 unidades, esse erro já passa a ser de 0,1%.

Tabela 4: Área dos picos de todos os cromatogramas

	Amostra	A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08	A09	A10	A11	A12	A13
T E O R	% Soja	0	100	0	0	11.0	25.8	50.6	76.0	90.0	10.4	25.3	50.1	75.8
	% Girassol	0	0	0	100	89.0	74.2	49.4	24.0	10.0	0	0	0	0
	% Palma	100	0	0	0	0	0	0	0	0	89.6	74.7	49.9	24.2
	% Sebo	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T E M P O D E R E T E N Ç Ã O	1.5	809	99	126	341	325	303	234	165	130	676	539	416	259
	1.61	14	20	7	19	20	19	21	24	20	15	16	17	21
	1.68	75	22	34	27	32	32	31	32	27	75	60	56	51
	1.88	1.471	110	153	1.397	1.304	1.093	813	462	293	1.356	1.135	850	495
	2.18	73	0	0	0	0	0	0	0	0	68	56	31	20
	2.63	58.251	11.325	10.682	35.472	34.010	28.148	32.746	21.320	18.463	51.981	58.327	39.803	25.879
	2.77	290	109	132	593	587	461	472	257	234	313	311	244	181
	3.26	48.735	36.860	46.725	50.603	50.111	44.465	68.606	57.099	53.640	55.232	67.179	55.832	49.190
	3.38	45	60	41	69	70	76	128	74	77	80	92	65	66
	4.03	4.264	2.016	3.511	3.348	3.088	2.701	4.566	3.697	2.894	4.487	5.799	4.428	2.945
	4.29	46.095	15.811	18.428	21.148	20.406	18.350	31.183	26.395	22.856	43.974	57.791	41.632	26.904
	4.44	0	28	0	0	0	0	0	0	26	11	34	20	27
	4.82	10.099	35.607	65.018	55.541	52.717	45.223	73.293	60.059	51.724	28.209	29.315	33.196	37.613
	4.89	0	53	160	26	19	32	68	71	77	44	36	51	60
	5.05	0	0	0	89	81	62	76	35	8	0	0	0	0
	5.12	132	97	131	161	136	121	230	207	144	157	216	189	112
	5.45	0	79	24	74	57	47	83	101	96	72	40	55	78
5.55	268	4.094	739	318	841	1.329	3.352	4.514	5.147	2.105	2.203	3.103	3.967	
5.72	0	94	24	0	12	27	62	93	125	39	37	70	91	
6.63	185	110	163	172	131	132	270	263	138	204	287	266	130	
7.01	62	70	63	50	51	39	107	121	85	91	109	129	66	
11.63	32	87	198	123	81	68	190	199	120	97	73	127	67	
12.73	0	0	0	114	83	56	90	52	3	0	0	0	0	

	Amostra	A14	A15	A16	A17	A18	A19	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26
T E O R	% Soja	89.6	10.4	26.5	51.2	76.8	89.8	0	0	0	0	0	0	0
	% Girassol	0	0	0	0	0	0	10.2	25.3	50.6	75.6	89.2	9.9	25.5
	% Palma	10.4	0	0	0	0	0	89.8	74.7	49.4	24.4	10.8	0	0
	% Sebo	0	89.6	73.5	48.8	23.2	10.2	0	0	0	0	0	90.1	74.5
T E M P O D E R E T E N Ç Ã O	1.5	182	123	107	102	98	100	758	709	581	450	344	142	183
	1.61	20	14	18	18	21	19	15	13	23	21	20	17	17
	1.68	36	35	37	37	41	35	69	66	57	45	38	35	35
	1.88	296	144	160	156	148	157	1.467	1.539	1.454	1.397	1.424	264	464
	2.18	9	0	0	0	0	0	69	65	56	33	26	0	0
	2.63	21.002	14.387	12.078	13.768	14.240	15.532	56.180	51.783	58.029	40.836	37.746	14.791	16.098
	2.77	164	167	125	177	141	207	360	354	487	613	518	187	214
	3.26	53.482	56.670	47.779	55.566	50.126	55.694	53.587	46.427	66.526	52.372	48.947	54.976	45.026
	3.38	71	92	56	77	72	90	60	59	98	79	56	66	53
	4.03	3.044	4.685	3.204	4.017	2.882	3.428	4.776	3.639	5.662	4.205	3.268	4.922	3.235
	4.29	26.065	28.391	18.969	24.841	20.861	24.939	46.675	36.439	50.474	32.254	23.075	27.997	17.869
	4.44	33	0	0	0	0	34	0	0	15	0	0	0	0
	4.82	47.007	72.273	59.834	68.407	52.824	58.833	23.478	19.788	41.547	45.320	47.757	73.836	58.856
	4.89	69	163	135	142	100	100	27	25	22	24	8	149	118
	5.05	0	0	0	0	0	0	10	20	44	63	74	24	17
	5.12	131	192	123	188	130	181	194	130	222	196	133	222	126
	5.45	0	45	37	74	82	103	26	10	41	57	62	58	0
5.55	5.217	1.788	1.782	3.347	4.075	5.396	900	306	614	408	280	750	577	
5.72	107	37	44	73	83	126	0	0	0	0	0	19	0	
6.63	157	244	120	251	134	229	261	147	275	261	138	274	129	
7.01	84	109	55	112	69	111	118	58	116	81	56	108	55	
11.63	105	225	120	247	135	210	113	55	118	122	68	275	150	
12.73	0	0	0	0	0	0	19	26	65	84	77	41	19	

Tabela 4: Área dos picos de todos os cromatogramas (Continuação)

	Amostra	A27	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	A35	A36	A37	A38	A39
T E O R	% Soja	0	0	0	0	0	0	0	0	10.1	10.0	80.1	10.0	30.1
	% Girassol	50.6	74.8	89.5	0	0	0	0	0	10.4	79.9	9.9	29.5	10.4
	% Palma	0	0	0	10.2	24.7	50.1	74.5	89.7	79.5	10.1	10.0	60.5	59.5
	% Sebo	49.4	25.2	10.5	89.8	75.3	49.9	25.5	10.3	0	0	0	0	0
T E M P O D E R E T E N Ç Ã O	1.5	212	290		222	281	467	653	724	709	399	212	633	594
	1.61	20	19		14	18	13	13	13	16	19	20	18	19
	1.68	35	36		46	48	52	71	71	67	42	40	59	64
	1.88	787	1.164		309	477	832	1.195	1.371	1.416	1.320	408	1.355	1.161
	2.18	0	0		17	25	48	57	76	69	19	9	51	52
	2.63	22.787	29.439		15.754	25.500	34.349	45.207	62.571	52.440	33.534	21.348	46.549	46.449
	2.77	354	491		167	207	204	278	380	354	484	193	367	307
	3.26	47.515	47.469		45.790	64.780	51.869	45.815	66.113	48.215	44.229	49.841	47.484	51.851
	3.38	58	92		69	76	47	57	98	51	59	55	49	63
	4.03	3.252	3.041		3.355	5.583	4.716	3.724	6.325	3.923	2.682	2.820	3.674	3.844
	4.29	18.947	18.687		20.081	34.773	35.410	35.619	59.704	40.050	19.427	23.325	34.698	38.154
	4.44	0	0		0	0	0	0	0	0	0	28	0	0
	4.82	58.316	53.462		57.058	79.693	48.059	23.920	30.439	18.273	41.161	43.133	26.367	26.890
	4.89	87	63		137	201	114	59	83	19	18	48	21	35
	5.05	42	59		0	0	0	0	0	6	56	8	21	7
	5.12	135	119		115	214	193	126	241	143	124	143	151	143
	5.45	36	49		20	31	21	0	0	16	45	80	24	34
	5.55	492	388		617	889	598	358	492	732	651	4.014	755	1.748
	5.72	0	6		15	33	15	6	3	10	10	81	10	31
	6.63	129	119		118	260	270	145	333	179	108	148	176	175
7.01	52	40		55	112	108	52	131	77	43	72	67	73	
11.63	127	104		144	309	303	81	148	61	61	88	72	58	
12.73	62	63		0	0	0	0	0	15	69	16	30	15	
	Amostra	A40	A41	A42	A43	A44	A45	A46	A47	A48	A49	A50	A51	A52
T E O R	% Soja	10.2	30.3	60.1	59.8	34.2	10.1	10.4	79.5	10.1	29.2	10.0	30.0	59.7
	% Girassol	59.7	59.0	29.9	9.8	33.4	10.0	79.5	10.6	29.2	12.1	60.3	59.7	30.3
	% Palma	30.1	10.6	10.0	30.4	32.4	0	0	0	0	0	0	0	0
	% Sebo	0	0	0	0	0	80.0	10.1	9.9	60.7	58.6	29.7	10.3	10.1
T E M P O D E R E T E N Ç Ã O	1.5	448	331	277	331	443	134	287	138	156	116	245	250	167
	1.61	20	23	23	21	18	16	21	21	18	15	17	17	19
	1.68	46	39	43	46	49	34	29	35	29	33	31	34	34
	1.88	1.346	1.086	705	707	1.088	281	1.155	297	505	310	899	924	529
	2.18	28	12	15	28	33	0	0	5	0	0	0	0	0
	2.63	41.128	40.929	27.241	30.962	37.770	13.834	30.445	17.790	17.800	15.719	25.810	25.618	25.304
	2.77	466	474	314	249	357	184	483	194	259	238	394	404	343
	3.26	50.098	67.788	53.989	50.621	48.797	47.944	48.889	54.071	47.490	50.873	49.342	45.645	66.325
	3.38	73	108	82	67	58	59	67	73	51	72	63	82	111
	4.03	3.549	4.921	3.512	3.292	3.154	3.421	3.073	2.996	3.359	3.376	3.303	2.658	4.344
	4.29	28.923	36.996	27.166	29.496	28.070	19.140	19.797	22.579	19.481	20.576	20.178	18.043	29.367
	4.44	0	37	0	30	0	0	0	35	0	0	0	0	42
	4.82	40.153	63.155	49.450	37.309	35.271	63.280	53.002	53.864	59.977	62.294	57.373	47.083	72.817
	4.89	27	48	50	65	34	132	38	75	110	127	69	53	98
	5.05	48	72	34	9	31	7	66	8	23	8	47	39	43
	5.12	162	232	185	145	123	149	152	158	163	150	160	128	235
	5.45	53	52	77	51	43	33	53	87	46	50	46	51	78
	5.55	796	2.027	3.188	3.169	1.851	1.108	838	4.549	1.171	2.032	958	1.587	3.964
	5.72	18	36	71	74	30	27	14	101	25	42	18	27	77
	6.63	174	253	207	165	116	137	128	145	168	147	154	117	235
7.01	66	95	75	87	48	62	47	70	70	62	63	51	108	
11.63	71	134	155	85	63	167	74	99	165	155	149	61	191	
12.73	66	100	48	17	26	18	72	18	30	15	56	50	70	

Tabela 4: Área dos picos de todos os cromatogramas (Continuação)

		Amostra	A53	A54	A55	A56	A57	A58	A59	A60	A61	A62	A63	A64	A65
T E O R	% Soja	59.3	34.0	10.5	10.0	79.9	10.0	30.1	10.4	30.6	60.9	58.5	33.6	0	
	% Girassol	10.5	33.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9.9	
	% Palma	0	0	10.1	80.0	10.2	30.3	10.2	59.0	59.4	29.4	11.3	33.6	10.0	
	% Sebo	30.2	32.8	79.3	10.0	9.9	59.7	59.7	30.6	10.0	9.7	30.2	32.8	80.0	
T E M P O D E R E T E N Ç Ã O	1.5	128	199	207	694	184	310	181	526	525	317	189	351	216	
	1.61	19	16	14	15	18	15	16	15	15	17	19	17	16	
	1.68	35	36	37	59	38	45	40	57	57	44	42	44	39	
	1.88	280	580	318	1.254	297	552	320	977	979	558	309	607	411	
	2.18	0	0	18	64	9	27	13	37	49	20	14	27	17	
	2.63	16.377	22.232	16.957	49.183	19.753	25.603	18.899	41.738	42.661	28.578	18.995	28.935	17.567	
	2.77	184	310	165	258	150	188	167	247	265	185	169	204	196	
	3.26	53.898	61.690	46.474	48.621	52.088	47.744	52.724	50.945	50.870	51.511	49.536	50.305	45.155	
	3.38	59	114	61	45	65	42	67	46	54	47	54	52	64	
	4.03	3.560	4.199	3.318	4.053	3.065	3.708	3.752	4.055	3.804	3.390	3.098	3.652	3.301	
	4.29	23.483	27.437	21.048	40.332	24.969	27.389	25.412	36.949	37.036	29.913	23.517	29.935	20.005	
	4.44	0	33	0	0	31	0	12	0	18	23	0	0	0	
	4.82	61.312	72.146	55.281	21.769	47.251	47.758	59.332	33.191	28.104	39.733	48.776	43.030	55.340	
	4.89	102	142	130	33	77	107	124	66	47	58	81	83	123	
	5.05	16	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	
	5.12	199	189	132	142	154	147	173	141	150	149	127	152	133	
	5.45	79	0	26	14	76	31	54	18	32	63	72	46	17	
5.55	3.606	3.736	1.094	810	4.335	1.054	2.353	956	1.839	3.372	3.195	2.055	574		
5.72	80	87	16	12	92	21	49	17	38	72	70	47	20		
6.63	215	226	126	181	151	160	188	166	163	162	137	160	124		
7.01	102	95	59	79	84	65	85	73	74	71	68	72	49		
11.63	198	180	149	92	120	142	184	79	63	108	112	123	131		
12.73	32	44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16		

		Amostra	A66	A67	A68	A69	A70	A71	A72	A73	A74	A75	A76	A77	A78
T E O R	% Soja	0	0	0	0	0	0	0	0	0	68.6	11.0	10.6	10.5	
	% Girassol	9.8	80.8	10.3	29.9	10.3	29.2	59.1	60.2	34.0	10.4	10.3	10.3	69.1	
	% Palma	80.4	9.5	29.2	10.4	58.5	60.8	30.7	9.9	33.2	10.5	9.9	69.1	10.4	
	% Sebo	9.9	9.7	60.5	59.6	31.1	10.0	10.2	30.0	32.8	10.6	68.7	10.0	10.0	
T E M P O D E R E T E N Ç Ã O	1.5	713	368	355	252	543	599	425	324	442	220	167	609	331	
	1.61	16	18	17	15	15	17	18	20	20	22	19	17	20	
	1.68	60	38	47	35	53	54	41	37	51	40	36	65	35	
	1.88	1.357	1.342	702	679	1.084	1.307	1.175	1.048	1.081	425	408	1.183	1.134	
	2.18	64	28	33	21	52	50	25	26	37	9	19	58	26	
	2.63	50.905	35.287	28.134	23.370	41.618	45.625	41.054	28.936	35.078	26.130	18.440	45.611	32.991	
	2.77	302	498	244	281	270	356	404	440	346	283	189	277	443	
	3.26	47.337	47.825	49.700	48.082	48.243	46.020	50.951	44.624	47.711	65.940	48.112	48.398	49.438	
	3.38	45	71	56	42	46	45	53	61	74	99	56	52	69	
	4.03	3.910	3.068	3.954	0	3.906	3.586	3.735	2.957	3.501	4.545	3.640	4.088	3.249	
	4.29	39.476	21.327	28.050	25.270	34.499	33.562	29.680	19.740	27.100	33.074	22.628	38.335	22.918	
	4.44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	4.82	19.546	47.508	51.573	56.264	32.584	26.714	43.426	47.177	42.245	67.239	58.275	27.045	49.259	
	4.89	24	29	0	104	58	36	26	63	67	96	125	40	43	
	5.05	8	62	13	24	6	21	65	39	30	28	17	6	62	
	5.12	138	130	164	145	140	124	129	122	138	225	159	156	148	
	5.45	6	66	25	29	9	0	0	0	25	81	43	23	44	
5.55	311	309	553	532	419	301	384	405	407	3.844	1.177	879	850		
5.72	0	0	14	15	8	0	0	9	10	85	30	14	13		
6.63	157	119	181	132	157	139	171	119	135	242	186	200	146		
7.01	65	43	75	52	64	52	61	53	51	107	68	88	52		
11.63	49	65	175	130	96	47	58	89	90	206	171	93	78		
12.73	6	69	23	31	18	29	61	42	45	53	30	19	73		

Tabela 4: Área dos picos de todos os cromatogramas (Continuação)

	Amostra	A79	A80	A81	A82	A83	A84	A85	A86	A87	A88	A89	A90	A91
T E O R	% Soja	50.0	49.6	50.2	30.8	10.0	9.9	9.9	9.9	29.7	30.3	10.2	10.0	25.4
	% Girassol	9.8	9.7	29.6	49.2	49.8	49.4	29.5	9.8	9.7	9.8	10.0	30.1	24.4
	% Palma	9.9	30.5	10.2	10.1	10.3	31.1	50.4	50.6	50.9	10.2	30.3	10.3	25.4
	% Sebo	30.2	10.2	10.0	9.9	29.9	9.5	10.2	29.7	9.7	49.7	49.6	49.7	24.8
T E M P O D E R E T E N Ç Ã O	1.5	199	359	268	298	314	463	529	496	510	219	353	240	371
	1.61	18	22	24	28	20	24	19	21	19	20	19	17	16
	1.68	38	49	42	40	36	51	51	57	51	40	46	40	42
	1.88	378	695	723	897	927	1.301	1.216	1.029	1.010	453	658	660	815
	2.18	9	17	13	9	19	32	44	52	43	18	23	19	23
	2.63	19.099	31.208	26.751	29.981	28.807	43.547	44.096	42.976	41.162	21.181	28.950	23.368	30.789
	2.77	193	227	310	368	370	442	357	317	277	221	239	286	299
	3.26	46.851	52.175	50.839	56.140	49.502	57.930	50.459	56.684	51.336	52.154	55.819	49.159	50.671
	3.38	53	60	72	64	69	69	66	60	50	59	50	54	56
	4.03	3.054	3.549	2.934	3.969	3.398	4.384	3.861	4.747	3.791	3.577	4.674	3.605	3.599
	4.29	22.137	30.583	22.788	28.036	22.877	34.555	34.602	39.992	35.371	24.116	33.130	23.170	27.869
	4.44	0	24	0	16	0	0	0	11	0	0	16	0	0
	4.82	48.707	40.980	46.387	57.349	52.991	49.741	33.750	43.182	32.285	57.681	59.196	56.909	46.203
	4.89	85	57	64	65	62	44	38	74	45	109	127	101	70
	5.05	6	8	22	49	43	55	21	15	8	9	9	25	21
	5.12	143	153	128	200	148	206	144	190	143	155	204	145	162
	5.45	57	53	52	60	53	56	31	32	36	51	43	45	43
	5.55	2.709	2.869	2.679	2.347	923	988	823	1.053	1.785	2.005	1.439	1.013	1.621
	5.72	55	61	51	44	18	19	15	23	33	44	31	24	32
	6.63	144	172	119	224	148	241	173	246	162	163	238	161	164
7.01	67	73	55	90	59	89	70	100	75	69	109	68	72	
11.63	121	94	50	139	124	145	71	164	79	163	181	154	115	
12.73	16	15	17	67	45	69	35	26	15	17	16	30	26	

	Amostra	A92	A93	A94	A95	A96	A97	A98	A99
T E O R	% Soja	25.2	24.7	25.1	24.7	24.9	25.3	24.9	25.1
	% Girassol	24.8	25.2	24.9	25.9	24.8	24.8	25.1	24.9
	% Palma	25.2	25.1	25.2	24.9	25.2	25.1	25.2	25.0
	% Sebo	24.8	25.0	24.9	24.4	25.1	24.8	24.9	24.9
T E M P O D E R E T E N Ç Ã O	1.5	344	360	343	351	357	337	340	333
	1.61	17	18	19	17	21	20	19	18
	1.68	46	43	41	45	47	47	43	45
	1.88	834	804	821	807	865	811	845	816
	2.18	29	37	21	25	26	28	23	19
	2.63	31.180	30.700	29.928	30.356	34.312	31.085	29.832	37.616
	2.77	277	291	296	250	316	309	302	375
	3.26	50.878	50.081	49.163	49.362	57.276	50.830	47.251	68.134
	3.38	54	61	56	63	77	58	65	122
	4.03	3.524	3.530	3.526	3.442	4.124	3.611	3.253	5.168
	4.29	27.577	27.394	27.152	26.888	31.762	27.972	25.382	39.284
	4.44	0	14	15	12	0	0	0	0
	4.82	45.979	45.886	45.354	44.813	53.068	46.421	42.592	65.002
	4.89	65	62	67	66	73	64	74	111
	5.05	19	18	23	17	23	23	14	24
	5.12	152	146	152	136	180	151	141	227
	5.45	44	44	45	33	47	48	47	49
	5.55	1.580	1.599	1.583	1.576	1.868	1.659	1.488	2.330
	5.72	32	37	34	31	39	30	28	53
	6.63	149	158	165	145	196	170	149	254
7.01	63	74	69	66	86	74	64	112	
11.63	101	110	133	101	134	126	99	169	
12.73	28	29	28	30	40	32	24	40	

A importância da correta integração dos picos cromatográficos está relacionada com os dados ilustrados na Figura 12. Pode-se observar em t_1 e t_2 (na Tabela 4, equivalem aos tempos 5,05 e 5,12 minutos, respectivamente) dois picos coeluidos que necessitam ser integrados juntos e depois separados. O correto local do início e final da integração, bem como o local exato da separação, vai influenciar a área e, conseqüentemente, sua relação percentual. Essa operação adquire um papel fundamental a partir da observação de que apenas as amostras que contem biodiesel de girassol (como é o caso, por exemplo, das amostras A04 e A27) possuem o componente eluído em TR 5,05 minutos.

Também existe coeluição nos picos em t_3 e t_4 (na Tabela 4 equivale aos tempos 5,45 e 5,55 minutos, respectivamente), onde é possível perceber que o componente eluído em 5,55 minutos está em quantidade maior quando a amostra contém biodiesel de soja (por exemplo, amostra A64).

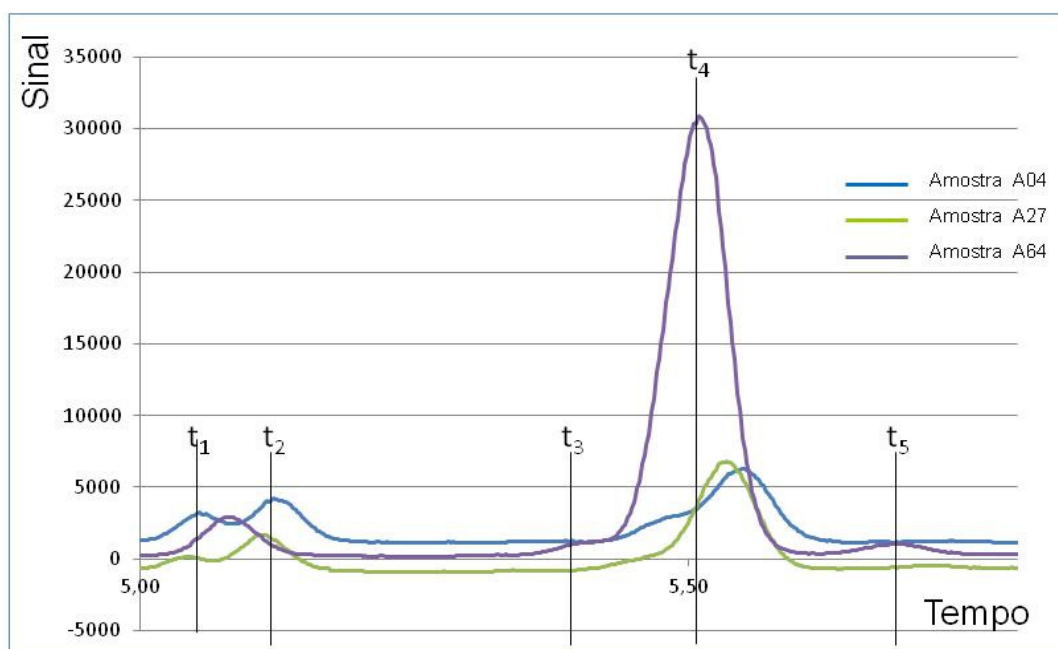


Figura 12: Cromatogramas sobrepostos, da região de 5,00 à 5,80 minutos, das amostras A04, A27 e A64.

Outro problema resolvido pelo analista foi a variação de tempo de retenção entre as amostras. Por exemplo, o cromatograma da amostra A64 apresenta apenas um pico entre os tempos t_1 e t_2 . O analista levou a correta identificação que este componente relaciona-se cromatograficamente com o tempo t_2 (5,12 minutos). Um olhar mais atento aos cromatogramas revela que todos os picos tiveram que ser relacionados ao seu respectivo tempo de retenção. Obviamente que todo este trabalho é lento e suscetível a erros humanos.

Uma observação minuciosa na Tabela 4 indicará um problema relacionado às áreas dos picos referente ao padrão primário, uma vez que todas as amostras foram preparadas conforme descrito no item 3.1 deste trabalho. Não há grandes variações na concentração do padrão interno (C17:0); isso deveria levar a obtenção de áreas semelhantes nos cromatogramas para este componente das misturas cromatografadas. Esse fato não foi observado e um breve tratamento estatístico, apresentado na Tabela 5, nas áreas do C17:0 comprova esta observação.

Tabela 5: Tratamento estatístico das áreas (mAmin) obtidas do Padrão interno.

Valor Mínimo	Valor Maximo	Média	Desvio Padrão
36.860	68.606	51.744	5.997

A maioria dos valores encontrados das áreas do padrão interno estão próximos à média; mas o valor máximo é 86% maior que o mínimo e o desvio padrão relativo equivale a 12% da média. Se o padrão interno sofre estas variações, todos os demais componentes cromatografados também as sofrem.

Este fato pode ser explicado por variações instrumentais, causadas por problemas rotineiros encontrados nas análises cromatográficas, que podem causar alterações no sinal gerado pelo FID, tais como: amostras corridas em dias diferentes, troca dos cilindros dos gases, desligar/ligar diariamente o cromatografo (com intuito de economizar gases e energia), uso de soluções de padrão interno diferentes, evaporação de solvente das amostras durante o tempo entre o preparo e a injeção, flutuação na composição dos gases do detector, entre outros.

Para minimizar os efeitos destas variações, foi empregado outra grandeza, a relação percentual dos picos, conhecida na cromatografia como “Normalização por Área”. A relação (proporção) das áreas de todos os picos foram compiladas, de acordo com seu tempo de retenção, conforme está mostrado na Tabela 6.

Como pode ser observado, foram excluídos da Tabela 6, e nos tratamentos multivariados, os valores relativos ao padrão interno. Esta opção pode ser explicada pelo fato que o padrão interno não faz parte dos ésteres constituintes das amostras. Sua utilização é fundamental para quantificar e identificar os ésteres contidos nas amostras (EN 14103), mas estes não são os objetivos deste trabalho.

Tabela 6: Percentual de cada pico em relação a área total do cromatograma.

Amostra	A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08	A09	A10	A11	A12	A13	
T E M P O D E R E T E N Ç Ã O	1.5	0.663	0.141	0.126	0.286	0.285	0.308	0.158	0.139	0.126	0.526	0.345	0.333	0.262
	1.61	0.011	0.029	0.007	0.016	0.018	0.020	0.014	0.020	0.019	0.011	0.010	0.014	0.021
	1.68	0.061	0.031	0.034	0.022	0.028	0.033	0.021	0.027	0.026	0.056	0.038	0.045	0.052
	1.88	1.204	0.158	0.153	1.173	1.143	1.111	0.549	0.391	0.285	1.011	0.726	0.681	0.499
	2.18	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.055	0.046	0.035	0.020
	2.63	47.682	16.204	10.724	29.788	29.820	28.629	22.124	18.046	17.981	38.777	37.276	31.907	26.133
	2.77	0.237	0.156	0.133	0.498	0.514	0.469	0.319	0.218	0.227	0.234	0.198	0.196	0.182
	3.38	0.037	0.086	0.041	0.058	0.061	0.077	0.087	0.063	0.075	0.060	0.059	0.052	0.067
	4.03	3.490	2.885	3.525	2.811	2.707	2.747	3.085	3.130	2.818	3.347	3.706	3.549	2.974
	4.29	37.731	22.622	18.500	17.760	17.892	18.664	21.068	22.342	22.258	32.803	36.933	33.373	27.169
	4.44	0.000	0.040	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.008	0.022	0.016	0.027
	4.82	8.267	50.946	65.272	46.642	46.223	45.997	49.517	50.837	50.372	21.043	18.735	26.611	37.983
	4.89	0.000	0.076	0.161	0.022	0.017	0.032	0.046	0.060	0.075	0.032	0.023	0.041	0.061
5.05	0.000	0.000	0.000	0.078	0.071	0.056	0.041	0.019	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	
5.12	0.108	0.139	0.131	0.135	0.119	0.123	0.155	0.175	0.140	0.117	0.138	0.152	0.113	
5.45	0.000	0.113	0.024	0.062	0.050	0.048	0.061	0.086	0.097	0.054	0.032	0.044	0.079	
5.55	0.219	5.858	0.742	0.267	0.737	1.352	2.273	3.821	5.002	1.570	1.422	2.487	4.000	
5.72	0.000	0.134	0.024	0.000	0.011	0.027	0.049	0.079	0.109	0.029	0.032	0.056	0.083	
6.63	0.151	0.157	0.164	0.144	0.115	0.135	0.182	0.223	0.134	0.152	0.183	0.213	0.131	
7.01	0.051	0.101	0.063	0.042	0.045	0.039	0.072	0.102	0.082	0.068	0.070	0.103	0.067	
11.63	0.026	0.125	0.199	0.103	0.071	0.069	0.129	0.168	0.116	0.072	0.046	0.101	0.067	
12.73	0.000	0.000	0.000	0.096	0.072	0.057	0.049	0.034	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	

Amostra	A14	A15	A16	A17	A18	A19	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26	
T E M P O D E R E T E N Ç Ã O	1.5	0.175	0.100	0.111	0.088	0.102	0.091	0.559	0.615	0.363	0.355	0.299	0.114	0.186
	1.61	0.019	0.011	0.018	0.016	0.022	0.018	0.011	0.011	0.015	0.016	0.018	0.014	0.017
	1.68	0.035	0.028	0.038	0.032	0.043	0.032	0.051	0.058	0.036	0.035	0.033	0.028	0.036
	1.88	0.285	0.117	0.165	0.135	0.154	0.143	1.082	1.335	0.909	1.104	1.236	0.213	0.472
	2.18	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.056	0.048	0.035	0.023	0.013	0.000	0.000
	2.63	20.235	11.686	12.451	11.865	14.812	14.142	41.439	44.939	36.268	32.269	32.774	11.911	16.391
	2.77	0.158	0.136	0.128	0.153	0.146	0.188	0.265	0.307	0.305	0.484	0.450	0.151	0.218
	3.38	0.068	0.075	0.058	0.066	0.074	0.082	0.044	0.052	0.061	0.063	0.048	0.053	0.054
	4.03	2.933	3.806	3.303	3.462	2.998	3.121	3.523	3.158	3.539	3.323	2.838	3.964	3.294
	4.29	25.114	23.061	19.555	21.408	21.699	22.707	34.428	31.622	31.546	25.487	20.035	22.546	18.193
	4.44	0.032	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000
	4.82	45.291	58.705	61.683	58.955	54.947	53.567	17.318	17.172	25.967	35.813	41.465	59.460	59.925
	4.89	0.066	0.132	0.139	0.122	0.104	0.091	0.020	0.022	0.014	0.019	0.007	0.120	0.121
5.05	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007	0.017	0.032	0.055	0.068	0.019	0.017	
5.12	0.126	0.156	0.126	0.162	0.135	0.165	0.143	0.113	0.139	0.155	0.115	0.179	0.128	
5.45	0.081	0.036	0.038	0.064	0.086	0.094	0.019	0.009	0.026	0.045	0.054	0.047	0.000	
5.55	4.953	1.452	1.837	2.884	4.239	4.913	0.664	0.266	0.384	0.322	0.243	0.604	0.588	
5.72	0.106	0.030	0.045	0.063	0.087	0.115	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.000	
6.63	0.151	0.198	0.124	0.216	0.139	0.208	0.192	0.128	0.172	0.206	0.120	0.221	0.132	
7.01	0.081	0.088	0.056	0.096	0.072	0.101	0.087	0.051	0.073	0.064	0.048	0.087	0.056	
11.63	0.101	0.183	0.124	0.213	0.141	0.191	0.083	0.048	0.074	0.096	0.059	0.221	0.153	
12.73	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014	0.023	0.041	0.064	0.075	0.013	0.019	

Tabela 6: Percentual de cada pico em relação a área total do cromatograma (Continuação).

Amostra	A27	A28	A30	A31	A32	A33	A34	A35	A36	A37	A38	A39	A40	
T E M P O	1.5	0.200	0.269	0.226	0.189	0.371	0.585	0.444	0.598	0.397	0.220	0.549	0.495	0.381
	1.61	0.019	0.017	0.014	0.012	0.010	0.011	0.008	0.014	0.019	0.020	0.016	0.015	0.017
	1.68	0.033	0.033	0.046	0.032	0.041	0.064	0.043	0.057	0.042	0.042	0.051	0.053	0.039
	1.88	0.743	1.080	0.314	0.321	0.662	1.070	0.840	1.194	1.315	0.424	1.176	0.968	1.144
	2.18	0.000	0.000	0.015	0.020	0.038	0.048	0.057	0.050	0.014	0.009	0.044	0.044	0.024
	2.63	21.511	27.326	16.031	17.145	27.301	40.500	38.340	44.207	33.424	22.173	40.425	38.735	34.955
	2.77	0.334	0.456	0.170	0.139	0.162	0.249	0.233	0.299	0.482	0.200	0.318	0.256	0.396
	3.38	0.055	0.086	0.070	0.051	0.037	0.051	0.060	0.043	0.059	0.057	0.043	0.053	0.062
	4.03	3.070	2.823	3.414	3.754	3.748	3.337	3.875	3.307	2.673	2.929	3.190	3.206	3.017
	4.29	17.886	17.346	20.434	23.380	28.144	31.911	36.584	33.762	19.364	24.226	30.134	31.817	24.582
R E T E N Ç Ã O	4.44	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	
	4.82	55.052	49.626	58.059	53.583	38.197	21.429	18.652	15.404	41.027	44.800	22.898	22.424	34.126
	4.89	0.082	0.058	0.139	0.135	0.090	0.053	0.051	0.016	0.018	0.050	0.019	0.029	0.023
	5.05	0.038	0.055	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.060	0.009	0.022	0.006	0.041
	5.12	0.127	0.110	0.117	0.144	0.154	0.113	0.147	0.121	0.124	0.148	0.131	0.119	0.137
	5.45	0.034	0.046	0.020	0.021	0.017	0.000	0.000	0.013	0.045	0.083	0.021	0.028	0.045
	5.55	0.465	0.360	0.628	0.598	0.475	0.321	0.301	0.617	0.648	4.169	0.656	1.458	0.677
	5.72	0.000	0.006	0.015	0.022	0.012	0.005	0.000	0.008	0.010	0.084	0.009	0.026	0.015
	6.63	0.122	0.110	0.120	0.175	0.214	0.130	0.204	0.150	0.107	0.154	0.153	0.146	0.148
	7.01	0.049	0.038	0.056	0.075	0.085	0.047	0.080	0.065	0.042	0.075	0.058	0.061	0.056
11.63	0.120	0.096	0.146	0.208	0.241	0.073	0.090	0.051	0.061	0.092	0.062	0.048	0.060	
12.73	0.046	0.058	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013	0.068	0.017	0.026	0.013	0.051	

Amostra	A41	A42	A43	A44	A45	A46	A47	A48	A49	A50	A51	A52	A53	
T E M P O	1.5	0.219	0.245	0.311	0.408	0.131	0.261	0.133	0.151	0.110	0.223	0.257	0.121	0.116
	1.61	0.015	0.020	0.019	0.017	0.015	0.019	0.021	0.017	0.015	0.015	0.017	0.013	0.017
	1.68	0.026	0.038	0.043	0.045	0.033	0.026	0.033	0.028	0.032	0.028	0.035	0.025	0.032
	1.88	0.718	0.624	0.664	1.001	0.275	1.052	0.288	0.487	0.294	0.817	0.950	0.383	0.254
	2.18	0.008	0.013	0.026	0.030	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	2.63	27.077	24.125	29.099	34.755	13.533	27.717	17.216	17.181	14.895	23.452	26.335	18.313	14.880
	2.77	0.314	0.278	0.234	0.329	0.180	0.440	0.188	0.250	0.225	0.358	0.416	0.248	0.168
	3.38	0.071	0.073	0.062	0.054	0.058	0.061	0.070	0.049	0.068	0.057	0.084	0.080	0.053
	4.03	3.255	3.111	3.094	2.902	3.347	2.798	2.899	3.242	3.199	3.001	2.732	3.144	3.234
	4.29	24.475	24.059	27.721	25.829	18.724	18.023	21.850	18.804	19.496	18.335	18.548	21.253	21.336
R E T E N Ç Ã O	4.44	0.024	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	0.034	0.000	0.000	0.000	0.000	0.030	0.000
	4.82	41.781	43.793	35.063	32.455	61.904	48.253	52.125	57.891	59.026	52.133	48.401	52.699	55.705
	4.89	0.032	0.044	0.061	0.031	0.129	0.035	0.073	0.106	0.120	0.063	0.054	0.071	0.092
	5.05	0.044	0.026	0.008	0.029	0.010	0.060	0.008	0.022	0.007	0.043	0.040	0.026	0.013
	5.12	0.154	0.163	0.137	0.113	0.146	0.138	0.153	0.157	0.142	0.146	0.132	0.170	0.181
	5.45	0.034	0.068	0.047	0.035	0.032	0.048	0.081	0.044	0.048	0.042	0.052	0.063	0.072
	5.55	1.341	2.823	2.978	1.723	1.083	0.763	4.407	1.130	1.925	0.871	1.631	2.627	3.276
	5.72	0.024	0.063	0.069	0.037	0.027	0.013	0.093	0.024	0.039	0.017	0.028	0.060	0.072
	6.63	0.168	0.184	0.155	0.107	0.134	0.116	0.141	0.162	0.139	0.140	0.120	0.170	0.195
	7.01	0.063	0.066	0.082	0.044	0.061	0.043	0.068	0.067	0.059	0.057	0.053	0.078	0.093
11.63	0.088	0.137	0.080	0.058	0.163	0.068	0.096	0.159	0.147	0.136	0.063	0.138	0.180	
12.73	0.052	0.032	0.016	0.038	0.018	0.065	0.017	0.030	0.014	0.051	0.052	0.035	0.019	

Tabela 6: Percentual de cada pico em relação a área total do cromatograma (Continuação).

Amostra	A54	A55	A56	A57	A58	A59	A60	A61	A62	A63	A64	A65	A66	
T E M P O	1.5	0.151	0.209	0.583	0.182	0.289	0.163	0.440	0.453	0.297	0.191	0.320	0.219	0.608
	1.61	0.012	0.015	0.013	0.018	0.014	0.015	0.012	0.013	0.016	0.020	0.015	0.016	0.014
	1.68	0.027	0.037	0.050	0.038	0.042	0.036	0.048	0.049	0.042	0.042	0.041	0.040	0.051
	1.88	0.439	0.321	1.053	0.294	0.514	0.287	0.818	0.844	0.522	0.312	0.554	0.418	1.158
	2.18	0.000	0.012	0.051	0.009	0.025	0.011	0.041	0.042	0.025	0.014	0.029	0.015	0.052
	2.63	16.839	17.101	41.319	19.576	23.847	16.962	34.970	36.785	26.741	19.181	26.409	17.859	43.450
	2.77	0.234	0.166	0.217	0.149	0.175	0.150	0.207	0.228	0.173	0.171	0.187	0.199	0.258
	3.38	0.087	0.062	0.037	0.064	0.039	0.060	0.039	0.047	0.044	0.054	0.048	0.065	0.038
	4.03	3.180	3.346	3.405	3.037	3.454	3.368	3.398	3.280	3.172	3.128	3.333	3.356	3.338
	4.29	20.782	21.227	33.883	24.744	25.511	22.808	30.958	31.935	27.990	23.748	27.322	20.337	33.695
R E T E N Ç Ã O	4.44	0.025	0.000	0.000	0.031	0.000	0.010	0.000	0.016	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000
	4.82	54.645	55.752	18.289	46.826	44.483	53.251	27.809	24.233	37.178	49.254	39.273	56.259	16.683
	4.89	0.108	0.131	0.028	0.076	0.100	0.112	0.056	0.041	0.055	0.081	0.076	0.125	0.021
	5.05	0.030	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.009
	5.12	0.143	0.133	0.120	0.152	0.137	0.155	0.118	0.129	0.139	0.128	0.139	0.135	0.118
	5.45	0.066	0.026	0.012	0.076	0.028	0.048	0.015	0.028	0.059	0.072	0.042	0.017	0.005
	5.55	2.749	1.103	0.680	4.296	0.982	2.111	0.801	1.586	3.155	3.226	1.876	0.583	0.265
	5.72	0.061	0.016	0.010	0.091	0.020	0.044	0.014	0.033	0.067	0.071	0.043	0.020	0.000
	6.63	0.171	0.127	0.152	0.149	0.149	0.169	0.139	0.141	0.152	0.138	0.146	0.126	0.134
	7.01	0.072	0.060	0.067	0.083	0.060	0.076	0.061	0.064	0.066	0.068	0.065	0.050	0.055
11.63	0.136	0.150	0.078	0.119	0.132	0.165	0.066	0.054	0.101	0.113	0.112	0.133	0.042	
12.73	0.037	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.012	

Amostra	A67	A68	A69	A70	A71	A72	A73	A74	A75	A76	A77	A78	A79	
T E M P O	1.5	0.333	0.310	0.235	0.470	0.532	0.351	0.319	0.399	0.161	0.158	0.512	0.296	0.204
	1.61	0.016	0.015	0.014	0.013	0.015	0.015	0.019	0.018	0.016	0.018	0.014	0.018	0.018
	1.68	0.034	0.041	0.033	0.046	0.048	0.034	0.036	0.046	0.029	0.034	0.054	0.031	0.039
	1.88	1.215	0.613	0.632	0.938	1.160	0.971	1.031	0.974	0.310	0.386	0.996	1.012	0.388
	2.18	0.015	0.029	0.012	0.045	0.044	0.024	0.013	0.030	0.006	0.014	0.047	0.013	0.009
	2.63	31.950	24.595	21.755	35.988	40.496	33.931	28.450	31.610	19.065	17.415	38.374	29.460	19.632
	2.77	0.451	0.213	0.261	0.234	0.316	0.333	0.432	0.312	0.206	0.179	0.233	0.396	0.198
	3.38	0.064	0.049	0.039	0.040	0.040	0.044	0.060	0.066	0.072	0.053	0.044	0.062	0.054
	4.03	2.778	3.456	3.228	3.378	3.183	3.087	2.908	3.155	3.317	3.438	3.440	2.901	3.139
	4.29	19.311	24.522	20.311	29.832	29.790	24.531	19.409	24.421	24.132	21.371	32.252	20.466	22.755
R E T E N Ç Ã O	4.44	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	4.82	43.016	45.086	52.376	28.175	23.712	35.892	46.385	38.068	49.061	55.038	22.754	43.987	50.067
	4.89	0.026	0.000	0.096	0.050	0.032	0.022	0.061	0.060	0.070	0.118	0.033	0.039	0.087
	5.05	0.059	0.011	0.022	0.009	0.025	0.045	0.038	0.027	0.015	0.016	0.005	0.053	0.010
	5.12	0.118	0.143	0.135	0.121	0.110	0.106	0.120	0.124	0.164	0.150	0.132	0.132	0.147
	5.45	0.059	0.022	0.027	0.008	0.019	0.055	0.048	0.022	0.064	0.041	0.019	0.040	0.058
	5.55	0.280	0.484	0.496	0.362	0.273	0.271	0.352	0.367	2.816	1.112	0.740	0.759	2.784
	5.72	0.000	0.012	0.014	0.008	0.000	0.000	0.009	0.009	0.066	0.028	0.012	0.012	0.056
	6.63	0.108	0.158	0.123	0.135	0.124	0.141	0.117	0.122	0.177	0.175	0.168	0.130	0.148
	7.01	0.039	0.065	0.048	0.055	0.047	0.050	0.052	0.046	0.078	0.065	0.074	0.047	0.069
11.63	0.059	0.153	0.121	0.083	0.042	0.048	0.088	0.081	0.150	0.162	0.078	0.069	0.125	
12.73	0.062	0.020	0.028	0.016	0.026	0.050	0.049	0.038	0.014	0.021	0.016	0.055	0.016	

Tabela 6: Percentual de cada pico em relação a área total do cromatograma (Continuação).

Amostra	A80	A81	A82	A83	A84	A85	A86	A87	A88	A89	A90	A91	A92	
T E M P O	1.5	0.323	0.259	0.240	0.281	0.339	0.441	0.367	0.436	0.199	0.272	0.218	0.330	0.307
	1.61	0.020	0.023	0.022	0.018	0.017	0.016	0.015	0.016	0.018	0.014	0.016	0.015	0.015
	1.68	0.044	0.040	0.032	0.033	0.037	0.042	0.042	0.044	0.036	0.035	0.036	0.037	0.041
	1.88	0.624	0.699	0.721	0.831	0.953	1.013	0.763	0.863	0.410	0.507	0.599	0.725	0.744
	2.18	0.027	0.013	0.007	0.017	0.024	0.037	0.038	0.036	0.016	0.024	0.017	0.020	0.023
	2.63	28.033	25.835	24.114	25.847	31.898	36.744	31.867	35.197	19.191	22.312	21.217	27.391	27.817
	2.77	0.204	0.299	0.296	0.332	0.324	0.298	0.235	0.237	0.200	0.184	0.260	0.266	0.247
	3.38	0.054	0.070	0.051	0.062	0.051	0.055	0.044	0.043	0.053	0.038	0.049	0.050	0.048
	4.03	3.188	2.833	3.192	3.049	3.212	3.217	3.520	3.242	3.241	3.602	3.273	3.202	3.144
	4.29	27.471	22.007	22.549	20.526	25.311	28.832	29.654	30.246	21.850	25.534	21.038	24.792	24.602
R E T E N Ç Ã O	4.44	0.022	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012	0.000	0.000	0.000	0.000
	4.82	36.810	44.797	46.126	47.547	36.435	28.123	32.019	27.607	52.262	45.624	51.673	41.103	41.019
	4.89	0.051	0.062	0.052	0.056	0.032	0.032	0.055	0.038	0.099	0.098	0.092	0.062	0.058
	5.05	0.007	0.021	0.036	0.039	0.040	0.022	0.011	0.006	0.009	0.007	0.022	0.019	0.017
	5.12	0.138	0.124	0.161	0.133	0.151	0.120	0.141	0.122	0.141	0.157	0.132	0.144	0.136
	5.45	0.048	0.050	0.048	0.048	0.041	0.026	0.024	0.031	0.046	0.033	0.041	0.038	0.039
	5.55	2.577	2.587	1.888	0.828	0.724	0.686	0.781	1.527	1.817	1.109	0.920	1.442	1.409
	5.72	0.055	0.049	0.035	0.016	0.014	0.012	0.017	0.028	0.040	0.024	0.022	0.028	0.028
	6.63	0.155	0.115	0.180	0.132	0.176	0.144	0.182	0.138	0.148	0.183	0.147	0.146	0.133
	7.01	0.065	0.053	0.072	0.053	0.065	0.058	0.074	0.064	0.062	0.084	0.061	0.064	0.056
11.63	0.085	0.049	0.112	0.111	0.106	0.059	0.121	0.067	0.148	0.140	0.139	0.102	0.090	
12.73	0.013	0.022	0.050	0.040	0.046	0.029	0.019	0.013	0.015	0.012	0.027	0.023	0.025	

Amostra	A93	A94	A95	A96	A97	A98	A99	
T E M P O	1.5	0.323	0.312	0.321	0.280	0.298	0.324	0.219
	1.61	0.016	0.017	0.016	0.016	0.018	0.018	0.012
	1.68	0.038	0.038	0.041	0.037	0.041	0.041	0.030
	1.88	0.722	0.747	0.739	0.678	0.717	0.806	0.536
	2.18	0.023	0.019	0.023	0.021	0.025	0.021	0.023
	2.63	27.555	27.239	27.781	26.878	27.490	28.460	24.720
	2.77	0.261	0.269	0.229	0.247	0.273	0.288	0.247
	3.38	0.054	0.051	0.057	0.060	0.051	0.062	0.080
	4.03	3.168	3.209	3.150	3.230	3.193	3.103	3.396
	4.29	24.588	24.713	24.607	24.880	24.738	24.215	25.816
R E T E N Ç Ã O	4.44	0.013	0.013	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000
	4.82	41.185	41.280	41.012	41.570	41.054	40.633	42.717
	4.89	0.056	0.061	0.061	0.057	0.056	0.070	0.073
	5.05	0.016	0.018	0.016	0.018	0.016	0.013	0.016
	5.12	0.131	0.138	0.124	0.141	0.133	0.134	0.149
	5.45	0.040	0.041	0.030	0.037	0.042	0.045	0.035
	5.55	1.435	1.441	1.442	1.463	1.467	1.420	1.531
	5.72	0.033	0.031	0.029	0.030	0.027	0.027	0.032
	6.63	0.142	0.150	0.132	0.153	0.150	0.142	0.167
	7.01	0.066	0.063	0.060	0.067	0.065	0.061	0.074
11.63	0.099	0.121	0.092	0.105	0.111	0.095	0.111	
12.73	0.023	0.026	0.027	0.030	0.025	0.023	0.026	

4.2 Modelagem por PLS

Para prever a origem do biodiesel, inclusive estabelecer proporções quando se trata de misturas de matérias-primas diferentes, foram construídos quatro modelos de calibração de multivariada (um para cada oleaginosa estudada) por Regressão Parcial dos Mínimos Quadrados (PLS, do inglês *Partial Least Squares Regression*).

Inicialmente o tratamento foi realizado com as áreas de cada pico (obtidas por integração manual, citada no item 4.1) dos cromatogramas. Em seguida, o mesmo tratamento foi feito para as áreas normalizadas. Finalmente, após alinhamento dos picos, a ferramenta de análise multivariada foi realizada utilizando todos os pontos dos cromatogramas. Uma comparação destes três tratamentos será apresentado neste trabalho.

As áreas do padrão interno de cada amostra foram retiradas do tratamento, uma vez que o padrão interno serve para verificar anormalidades no comportamento do cromatograma. Caso contrário, esse dado pode contribuir com ruído para o modelo; além do mais, a presença do padrão interno seria um equívoco para previsões de composições, já que ele é adicionado em mesma concentração em todas as medidas e o coeficiente dele no modelo deve ser zero.

4.2.1 Pré-Modelagem por PLS2 para identificação de *outliers* nas áreas cromatográficas normalizadas e não normalizadas

Antes da modelagem, devemos realizar um tratamento prévio para observar as amostras *outliers* (com altos desvios, que devem ser descartadas da modelagem) em relação as variáveis Y (eixo Y, concentração real, predita, de cada oleaginosa) e X (concentração medida, estimada pela modelagem, de cada oleaginosa). Para tanto, foi construído inicialmente o PLS2, que tem a característica de avaliar simultaneamente todas as variáveis (concentração de cada matéria-prima nas amostras), dando uma visão geral do modelo. Neste procedimento, foram usadas as 98 amostras aptas (a amostra A29 foi excluída). Com a exclusão, as amostras acima da A29 foram diminuídas em 1 algarismo; por exemplo: a amostra A11 equivale a 11, a A25 equivale a 25, a A31 equivale a 30, a A79 equivale a 78, etc.

As amostras *outliers* são identificadas observando as amostras que apresentam alto resíduo ou alta influência, tanto em X quanto em Y, nos gráficos de resíduos e influências (são os dois gráficos do lado esquerdo da Figura 12). Se forem amostras com alto teor ($\geq 90\%$) ou baixo teor (0%) de qualquer oleaginosa, são consideradas extremas e não podem ser retiradas da modelagem.

Para exemplificar, mostra-se, a seguir o procedimento realizado para a pré-modelagem do sistema de áreas cromatográficas não normalizadas.

Assim, na geração do PLS2, foi verificado que as amostras: A10 , A23, A25, A54, A22, A02 e A11 possuíam altos resíduos em Y. Contudo, as A10, A25, A02 e A54 são amostras extremas e não podem ser consideradas *outliers* para todos os

modelos. A amostra A69 possuía alto resíduo em X, mas é amostra extrema inferior (0%) em soja.

Em seguida, construiu-se um novo modelo PLS2 considerando as amostras A11, A22 e A23 como *outlier*; este novo modelo não apresentou melhorias nos parâmetros, sendo similar ao anterior.

Também construiu-se um modelo aplicando o algoritmo Jack Knife, para avaliar quais variáveis exercem influência considerável no modelo (variáveis de pouca influência podem ser desconsideradas). Contudo, os parâmetros apresentaram a mesma grandeza. A única novidade foi que este modelo considerou a amostra A74 como *outlier*, mas sua retirada gerou um modelo com parâmetros piores. Portanto a amostra A74 não foi retirada.

Na Figura 13 é mostrada a tela do *Unscrambler* do PLS2 para verificação geral de *outliers* nas áreas não normalizadas. Os dois gráficos da esquerda mostram os resíduos em X (valores preditos) e em Y (valores medidos). O gráfico superior da esquerda apresenta as variáveis latentes (componentes principais), que são o as áreas (tempo de retenção) que terão influencia no modelo.

Ainda sobre a Figura 13, o gráfico inferior da esquerda exhibe os parâmetros das retas de calibração (em azul) e da validação cruzada (em vermelho). Ambos os gráficos plotam no eixo X o valor predito e no eixo Y o valor medido pelo modelo. O *Slope* é o coeficiente angular da reta e quanto mais próximo de 1, melhor, pois indica uma correlação perfeita; o *Offset* é o coeficiente linear e quanto mais próximo a 0, melhor (assim aproxima-se a uma correlação perfeita, que é a

primeira bissetriz, em que os valores de y se igualam aos valores de x); RMSE é o erro associado ao modelo (RMSEC é o erro da calibração, RMSECV é o erro da validação cruzada, e RMSEP é o erro do conjunto de previsão); e o R -Square é o R^2 , que é o coeficiente de correlação.

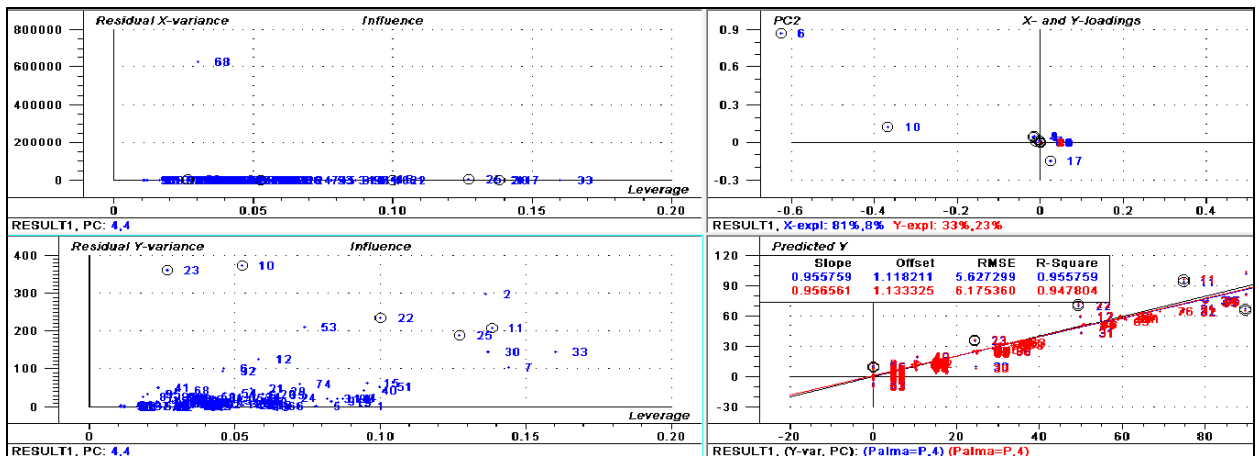


Figura 13: Tela do *Unscrambler* do PLS2 para verificação geral de *outliers*.

Para finalizar sobre a Figura 13, convém explicar o que é a Validação Cruzada: uma determinada amostra é retirada do modelo PLS2 gerado; um novo modelo é gerado (normalmente é muito parecido como o modelo original); essa amostra retirada é analisada pelo novo modelo como uma amostra desconhecida; o valor encontrado (medido) e comparado com o valor predito; a amostra volta para o modelo original e uma nova amostra é retirada para passar pelo mesmo procedimento; todas as amostras passam por este processo. Após todas as amostras serem estudadas é gerado o gráfico e os parâmetros em vermelho.

Assim, este modelo foi explicado com 4 Variáveis Latentes (VL, número eixos ortogonais que explicam o modelo) e considerando as amostras 11, 22 e 23 como *outliers*. Portanto, o conjunto de calibração deve conter no mínimo 30

amostras depois da eliminação de *outliers* [conjunto de calibração ≥ 6 (VL+1)]. Na Tabela 6 são mostrados os parâmetros e resultados encontrados para o PLS2 das áreas normalizadas e não normalizadas.

Como pode ser observado na Tabela 7, apesar dos parâmetros das áreas não normalizadas serem bons, os valores encontrados para os dados das áreas normalizadas são melhores, o que comprova a explanação feita no item 4.1 deste trabalho.

Tabela 7: Parâmetros e resultados da construção do PLS2.

	Áreas não normalizadas						Áreas normalizadas					
	Slope	Offset	RMSE	R ²	VL*	J Knife	Slope	Offset	RMSE	R ²	VL*	J Knife
Calibração	0,9556	1,1182	5,6273	0,9558	4	Não	0,9818	0,4600	3,6091	0,9818	5	Não
Validação Cruzada	0,9566	1,1333	6,1754	0,9478			0,9773	0,5544	3,9914	0,9782		
Outliers	A11, A22 e A23						-----					

* VL é o número de Variáveis Latentes.

4.2.2 Pré-Modelagem por PLS1 para identificação de *outliers* nas áreas cromatográficas normalizadas e não normalizadas.

Realizou-se também estudos empregando o algoritmo PLS1, que tem a característica de avaliar cada variável (concentração da matéria-prima nas amostras) de modo individual, dando uma visão específica para cada variante do modelo gerado, para identificação das amostras *outliers*.

A forma de construção do PLS1 é a mesma do PLS2, onde testou-se modelos com todas 98 amostras, depois excluímos as *outliers*, em seguida testamos o algoritmo Jack Knife, etc. A única diferença é que realizou-se este procedimento para cada uma das quatro matérias-primas. Na Tabela 8 são mostrados os resultados encontrados.

De acordo com a Tabela 8, o tratamento das áreas não normalizadas indicou que as amostras A10, A22, A23, A25, A32, A54, A68 e A69 são *ouliers*, contudo nenhuma delas pode ser descartada para seleção do conjunto de calibração (veremos essa etapa a seguir), pois são amostras extremas para alguma das matérias-primas estudadas.

Tabela 8: Parâmetros e resultados da construção do PLS1.

		Áreas não normalizadas						Áreas normalizadas					
		<i>Slope</i>	<i>Offset</i>	RMSE	R ²	V L*	J Knife	<i>Slope</i>	<i>Offset</i>	RMSE	R ²	V L*	J Knife
Palma	Calibração	0,9932	0,1683	2,2219	0,9932	7	Não	0,9688	0,7964	4,7505	0,9688	3	Não
	Validação Cruzada	0,9907	0,2846	2,6602	0,9904			0,9677	0,7991	4,9887	0,9663		
	Outliers	A23, A32 e A68						A23 e A25					
Soja	Calibração	0,9809	0,4860	3,7406	0,9809	3	Sim	0,9777	0,5593	3,9951	0,9777	3	Não
	Validação Cruzada	0,9795	0,5086	4,0383	0,9782			0,9792	0,5728	4,2134	0,9757		
	Outliers	A10 e A54						A23, A54 e A75					
Girassol	Calibração	0,9888	0,2633	2,7307	0,9888	5	Sim	0,9838	0,3890	3,3127	0,9838	5	Não
	Validação Cruzada	0,9918	0,0459	3,4388	0,9825			0,9778	0,5115	3,6781	0,9804		
	Outliers	A22, A23 e A69						A23					
Sebo	Calibração	0,9763	0,5679	4,0258	0,9763	5	Não	0,9800	0,5019	3,7953	0,9800	5	Não
	Validação Cruzada	0,9736	0,6975	4,5786	0,9699			0,9772	0,5541	4,2071	0,9759		
	Outliers	A25 e A54						-----					

* V L é o número de Variáveis Latentes.

Já o tratamento das áreas normalizadas, de acordo com a Tabela 8, indicou que as amostras A23, A25, A54 e A75 são *ouliers*, contudo apenas a amostra A75 será descartada do conjunto de calibração, pois as demais amostras são extremas.

A determinação dos *ouliers* nos dois pré-tratamentos (PLS2 e PLS1) foram diferentes. Portanto, decidiu-se trabalhar com os resultados do PLS1, por ser específico. De acordo com esta decisão, prosseguiu-se com todas as 98 amostras para o tratamento das áreas não normalizadas e com 97 amostras para as áreas normalizadas.

4.2.3 Pré-Modelagem: seleção do conjunto de calibração usando algoritmo ksXY

As amostras consideradas aptas para a continuação da modelagem devem ser divididas em dois conjuntos distintos: (I) conjunto de calibração ou de treinamento e (II) conjunto de previsão ou de validação. No conjunto de calibração são selecionadas amostras que formaram o modelo de calibração, que deve ser feito com PLS1 de modo semelhante ao mencionado nos itens 4.2.1 e 4.2.2 acima. O conjunto de previsão é formado pelas amostras que irão validar (testar) o modelo confeccionado pelo conjunto de calibração. Ou seja: haverá validação cruzada no conjunto de calibração; mas estes não serão os resultados mais importantes. Os resultados mais importantes serão os dados obtidos no conjunto de previsão.

Os dois conjuntos devem ser os mesmos para as 4 matérias-primas estudadas; ou seja: não podemos ter um conjunto para palma e outro diferente para sebo, por exemplo. Outra premissa, é que as amostras de 1 a 4 devem fazer parte do conjunto de calibração, porque são amostras com 100% de cada uma das oleaginosas. Para fundamentar a escolha, foi fixado o método de seleção de amostras ksXY.

O número de amostras mínimas para o conjunto de calibração é $6(K+1)$, em que $K = n^{\circ}$ de fatores estimado (nesse caso, levando-se em conta todas as oleaginosas, são 4 fatores) = 30 amostras como mínimo para conjunto de calibração. Como a etapa anterior definiu que 98 amostras com áreas não normalizadas estão aptas para fazerem parte de um dos conjuntos, definimos que

teríamos 57 amostras no conjunto de calibração; as demais (41 amostras) fariam parte do conjunto de previsão. Para o conjunto de calibração, utilizando o ksXY, foram selecionadas as seguintes amostras:

A01, A02, A03, A04, A07, A08, A10, A11, A12, A13, A14, A17, A18, A19, A21, A22, A23, A24, A25, A27, A28, A31, A32, A33, A34, A36, A38, A39, A40, A41, A42, A44, A45, A48, A49, A51, A52, A53, A54, A58 A63, A64, A65, A69, A70, A74, A75, A78, A80, A82, A83, A84, A85, A86, A89, A98 e A99.

Conseqüentemente, as amostras de área não normalizadas selecionadas para o conjunto de previsão foram as seguintes:

A05, A06, A09, A15, A16, A20, A26, A29, A34, A36, A42, A45, A46, A49, A54, A55, A56, A58, A59, A60, A61, A65, A66, A67, A70, A71, A72, A75, A76, A78, A80, A86, A87, A89, A90, A91, A92, A93, A94, A95 e A96

A seleção dos conjuntos das amostras de áreas normalizadas foi realizado da mesma forma. A única diferença é que 97 amostras estavam aptas e, por este motivo, 57 fariam parte do conjunto de calibração e 40 do conjunto de previsão. Para o conjunto de calibração foram selecionadas as seguintes amostras:

A01, A02, A03, A04, A06, A07, A08, A10, A11, A12, A13, A15, A16, A17, A18, A21, A22, A23, A24, A25, A26, A27, A28, A30, A31, A32, A37, A39, A40, A42, A43, A47, A48, A49, A50, A51, A54, A60, A61, A63, A65 A67, A68, A69, A71, A72, A73, A74, A76, A78, A79, A81, A82, A83, A84, A86, A95.

Portanto, as amostras de área normalizadas selecionadas para o conjunto de previsão foram:

A05, A09, A14, A19, A20, A33, A34, A35, A36, A38, A41, A44, A45, A46, A52, A53, A55, A56, A57, A57, A58, A59, A62, A64, A66, A70, A77, A80, A85, A87, A88, A89, A90, A91, A92, A93, A94, A96, A97, A98

4.2.4 Modelagem dos sistemas de áreas normalizadas e não normalizadas

A modelagem do conjunto de calibração que deve ser feito com PLS1, segue o mesmo rito estabelecido e comentado nos itens 4.2.1 e 4.2.2, 4.2.3. A única diferença, já comentada, é que esta modelagem empregará as 57 amostras definidas no item 4.2.3 acima. Na Tabela 9 são mostrados os resultados encontrados.

Tabela 9: Parâmetros e resultados da modelagem para áreas normalizadas e não normalizadas.

		Áreas não normalizadas						Áreas normalizadas					
		<i>Slope</i>	<i>Offset</i>	RMSE	R ²	V L*	J Knife	<i>Slope</i>	<i>Offset</i>	RMSE	R ²	V L*	J Knife
Palma	Calibração	0,9897	0,2526	2,7829	0,9898	6	Sim	0,9739	0,6936	4,7029	0,9739	4	Não
	Validação Cruzada	0,9895	0,0787	3,7969	0,9816			0,9710	0,7398	5,3424	0,9675		
	Outliers	A23 e A32						-----					
Soja	Calibração	0,9810	0,4928	3,9482	0,9810	4	Não	0,9784	0,5130	3,8648	0,9784	3	Não
	Validação Cruzada	0,9728	0,7767	4,8594	0,9723			0,9756	0,6863	5,0851	0,9634		
	Outliers	A10 e A54						A10					
Girassol	Calibração	0,9909	0,2178	2,5428	0,9909	6	Não	0,9849	0,3388	3,1987	0,9849	4	Sim
	Validação Cruzada	0,9903	0,1910	3,1107	0,9869			0,9829	0,3375	3,5679	0,9819		
	Outliers	A22, A23, A54 e A69						A22 e A41					
Sebo	Calibração	0,9731	0,5934	4,4009	0,9731	5	Não	0,9896	0,2331	2,3495	0,9896	4	Sim
	Validação Cruzada	0,9679	0,8124	5,3567	0,9617			0,9846	0,4118	2,9974	0,9839		
	Outliers	A32, A54 e A69						-----					

* V L é o número de Variáveis Latentes.

Observando-se os parâmetros listados na Tabela 9 consta-se que os modelos das áreas não normalizadas apresentam parâmetros melhores que os modelos das áreas normalizadas (exceção para a matéria-prima sebo). Contudo,

os sistemas de áreas normalizadas apresentam menores números de variáveis latentes e de *outliers*. Mas, de um modo geral, as modelagens se equivalem, pois todas apresentam erros iguais ou inferiores a 5%.

Para checagem dos modelos, as amostras do conjunto de previsão foram analisadas como amostras desconhecidas em cada uma das modelagens. Os resultados são expressos graficamente, conforme exemplifica a Figura 14.

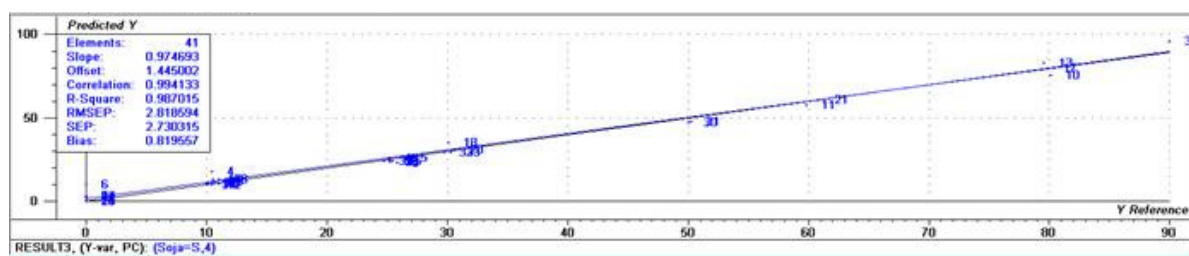


Figura 14: Tela do *Unscrambler* apresentando os resultados do conjunto de previsão das para as áreas não normalizadas de soja.

Na Figura 14 está o gráfico que correlaciona os valores de referência (preditos e no eixo X) com os valores previstos (determinados pelo modelo e no eixo Y). Os parâmetros *Slope*, *Offset*, *RMSEP* e *R-Square* foram definidos anteriormente no item 4.2.1 deste trabalho. “*Elements*” é quantidade de amostras que fazem parte do conjunto de previsão; *Correlation* é a relação entre os valores das variáveis independentes e dependentes, respectivamente x e y. A correlação mostra o quanto próximo estão os valores reais dos valores obtidos; *SEP* é o erro relativo à previsão; *Bias* é uma grandeza que expressa o nível dos erros sistemáticos do modelo.

Na tabela 10 é mostrado um resumo dos conjuntos de previsão dos oito modelos.

Tabela 10: Parâmetros do conjunto de previsão para áreas normalizadas e não normalizadas.

Áreas não normalizadas							
	<i>Slope</i>	<i>Offset</i>	Correlation	R ²	RMSEP	SEP	Bias
Palma	0,9717	2,3944	0,9953	0,9860	3,0817	2,6157	1,6798
Soja	0,9747	1,4450	0,9941	0,9870	2,8186	2,7303	0,8196
Girassol	0,9803	-0,4413	0,9940	0,9867	2,8607	2,7546	-0,8842
Sebo	0,9325	2,1119	0,9924	0,9820	3,5655	3,5993	0,2718

Áreas normalizadas							
	<i>Slope</i>	<i>Offset</i>	Correlation	R ²	RMSEP	SEP	Bias
Palma	0,9706	0,9906	0,9892	0,9784	3,4345	3,4720	0,2583
Soja	1,0208	0,3661	0,9944	0,9867	3,1785	3,0742	0,9527
Girassol	1,0000	0,6028	0,9941	0,9875	0,28442	2,8178	0,6032
Sebo	0,99896	0,2331	0,9948	0,9896	2,3496	2,3819	0,0000

Os dados da Tabela 10 mostram que os dois modelos são bons e se equivalem, com uma leve superioridade (vantagem) para o modelo de área normalizada. Os erros aleatórios (RMSEP) ficaram abaixo de 4%. As correlações foram no mínimo 0,99, com exceção da previsão para sebo com área não normalizada, que tivemos resultado abaixo deste. Estes parâmetros se equivalem nos dois modelos.

A qualidade superior do modelo de área não normalizada reside no fato de que os seguintes parâmetros foram melhores (com poucas ressalvas): *Slope* com valores superiores e melhores; *Offset* com resultados inferiores (em modulo), indicando menores erros quando o valor da oleaginosa for zero em alguma mistura; e *Bias* inferiores (em modulo), sugerindo menores erros sistemáticos dos modelos obtidos. Na Figura 15 são apresentados os gráficos destes modelos, com as respectivas retas.

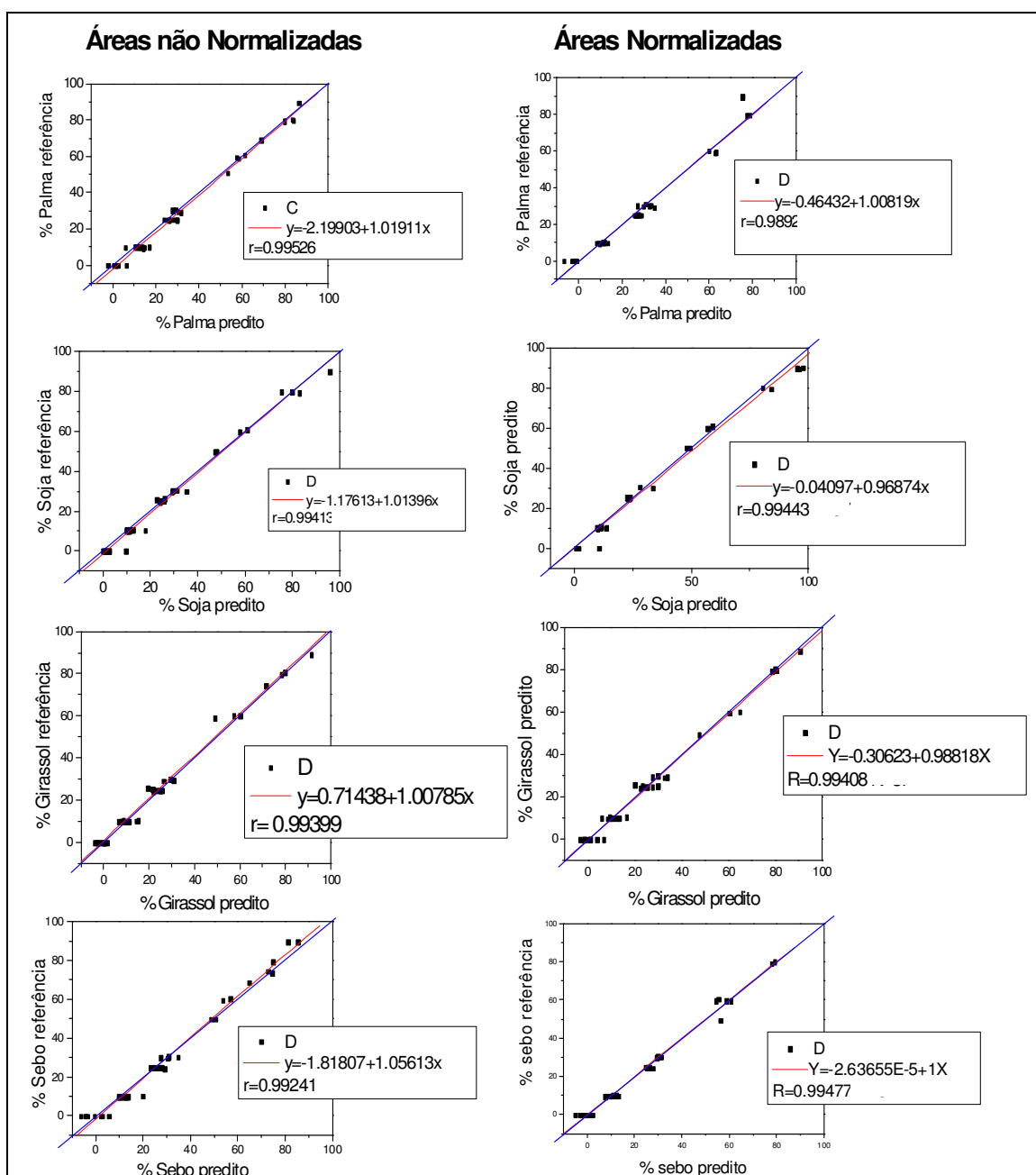


Figura 15: Gráficos das amostras de previsão dos modelos com áreas normalizadas e não normalizadas.

Nos gráficos apresentados na Figura 15, em azul está a reta ideal, onde é a correlação é perfeita (valor referência = valor predito) e em vermelho está a reta real, obtida pelo modelo desenvolvido. Portanto, quanto mais próximas estiverem as retas, o modelo é considerado melhor.

Observando as representações dos modelos das áreas não normalizadas, podemos aferir que, de um modo geral, as amostras de baixa concentração de palma (0% e 10%) e sebo (0%), e as de alta concentração (80 e 90%) de soja apresentam baixa precisão. Uma das amostras de 10% e outra de 60% de girassol, e a de 50% de sebo apresentaram comportamento anômalo. Visualmente, o modelo de girassol apresentou o melhor gráfico.

Em relação aos gráficos dos modelos das áreas normalizadas, avaliamos que as amostra de alta concentração de soja (90%) apresentaram valores com baixa exatidão, com resultados preditos superiores aos de referência. Uma das amostras de 10%, outra de 30% e a 90% de palma, uma de 10% de soja, girassol, e uma amostra de 10% de sebo apresentaram comportamento anômalo. As amostras com teores de 0%, 10%, 25% e 30% de girassol exibiram alta dispersão. Pelo aspecto visual, o gráfico de previsão de sebo é o melhor.

Pelas averiguações relatadas nos parágrafos acima, os modelos de predição das áreas não normalizadas foram ligeiramente superiores aos das áreas normalizadas. Essa constatação é inversa à realizada no estudo dos parâmetros. Assim, fica comprovado que os modelos são equivalentes.

4.3 Modelagem dos Cromatogramas Completos

Conforme discutido na introdução deste trabalho, na modelagem quimiométrica de todo o cromatograma é necessário que todos os sinais (picos)

possuam a mesma localização (tempos de retenção). Na Figura 16 são apresentados cromatogramas para ilustrar essa afirmação.

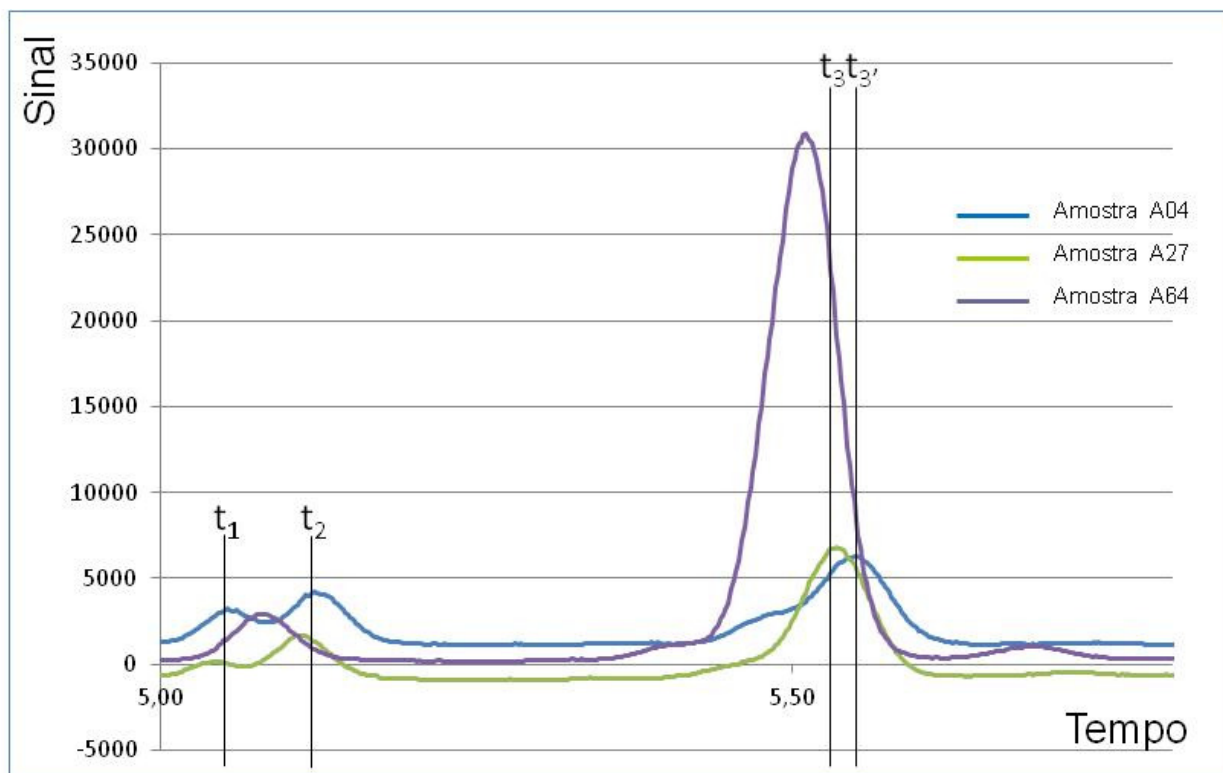


Figura 16: Cromatogramas sobrepostos, da região de 5,00 à 5,80 minutos, das amostras A04, A27 e A64.

Observamos nas amostras A04 e A27 a existência de dois picos, mal separados, em t_1 e t_2 . Agora, observemos esta mesma região na amostra A64; nela só existe um pico, e este pico está entre t_1 e t_2 . A questão é: este pico (da amostra 064) pertence ao analito com tempo de retenção t_1 ou t_2 ? A experiência do operador é que vai definir que este analito possui tempo de retenção em t_2 por dois fatos que foram observados nas 98 amostras: (I) pois a amostra A64 está adiantada (menores tempos de retenção das espécies) em relação às demais (observemos o pico t_3 das 3 amostras) e (II) a espécie de tempo de retenção t_2

está presente em todas as 98 amostras cromatografadas para este trabalho; enquanto a espécie t_1 está presente em algumas amostras apenas.

Outro fato que merece destaque na Figura 16 é a análise da espécie t_3 das amostras A04 e A27. Mesmo sendo amostras com cromatogramas parecidos, vemos claramente que a altura máxima deste pico está em momentos (pontos) diferentes. Esta noção será fundamental neste estudo.

Uma premissa fundamental para que um procedimento estatístico possa alcançar resultados satisfatórios é que as observações de determinada propriedade possam ser agrupadas de maneira correta. Em sistemas mais simples, como o apresentado na primeira parte deste trabalho, o analista integra corretamente e de igual maneira todos os picos dos cromatogramas, e os agrupa corretamente. Na Tabela 4 (apresentada e discutida no item 4.1) está um exemplo típico: foram realizadas 22 integrações (22 picos) em 98 cromatogramas, totalizado 2.156 integrações! Um trabalho gigantesco, que requer 5 vezes mais tempo que as 98 análises cromatográficas, e foi realizado por um único analista. O trabalho de integração levou algumas semanas para ser totalmente concluído; diariamente, antes do início das novas integrações, fazia-se necessário rever cromatogramas integrados em dias anteriores para que o analista “lembrasse” de detalhes das integrações; assim, garantia-se que as integrações realizadas em semanas diferentes seriam as mais parecidas possíveis. A própria construção da Tabela 1 (que serviu de base para a matriz da análise multivariada) necessitou de intervenção manual para execução de pequenos ajustes; por exemplo, quando

havia menos picos (espécies) nos cromatogramas, tinha-se que deixar indicar manualmente que as áreas destes picos inexistentes era zero.

Além do mais, deve ser considerado a maior probabilidade de erros, causados por fadiga do analista. Outro fato que deve ser levado em conta é que com a integração manual dos cromatogramas, apenas as áreas dos picos identificados pelo especialista são contabilizados, o que pode levar a perda de informações relevantes presentes na totalidade dos cromatogramas.

Assim, o emprego do cromatograma completo para análise multivariada levará, indubitavelmente, a um estudo mais robusto. Contudo, existem quatro fatores que devem ser considerados:

- (I) A quantidade de variáveis neste caso é muito maior, pois para gerar o cromatograma, o equipamento utilizado no experimento realiza uma leitura de sinal a 1/10 de segundo; ou seja: são 10 leituras por segundo ou 600 por minuto. Na “região cromatografica de interesse” são aproximadamente 7.500 leituras ou, em linguagem de calibração multivariada, 7.500 variáveis;
- (II) A propriedade que será estudada não será mais a área (ou a área normalizada), mas a altura do cromatograma em cada ponto (tempo);
- (III) As linhas de base devem estar no mesmo patamar (niveladas pela altura). Por exemplo, na Figura 16, aparentemente os pontos de máximo do pico t_3 das amostras A04 e A27 possuem a mesma altura. Mas com o alinhamento na linha de base, observamos que o pico da amostra A27 é mais alto; e

- (IV) Consequentemente, os cromatogramas devem estar corretamente alinhados uns com os outros, não podendo haver variação, como no exemplo do pico t_3 das amostras A04 e A27 mostrado na Figura 16; os picos devem estar corretamente alinhados para que os pontos (tempo) de máximo sejam os mesmos, assim as propriedades estarão agrupadas corretamente.

Neste ponto devemos definir a expressão “região cromatografica de interesse”, que será usada posteriormente. Observando a Figura 9 (item 4.1), verifica-se que o solvente é totalmente eluído em 1,28 minutos e o primeiro éster (C12) identificado neste método começa a ser detectado no tempo de 1,55 min. O último éster identificado é detectado no tempo de 12,0 min. Assim, definiu-se a “região cromatografica de interesse” como sendo a região do cromatograma que compreende tempos de retenção entre 1,3 e 14,00 minutos.

Para reduzir o número de sinais desnecessários, a parte inicial dos cromatogramas (eluição do solvente) não foi tratada. Dessa forma, não eram embutidos erros na modelagem referentes ao sinal do solvente. Assim, essa matriz era composta por 98 linhas e 7.621 colunas

Na Figura 17 vemos os cromatogramas alinhados e com as linhas de base niveladas das amostras A04 e A27. Observamos que mesmo detalhes imperceptíveis para um analista destreinado, como o ombro do lado esquerdo do pico t_3 , está alinhado e a altura dos picos estão medidas de um modo mais real.

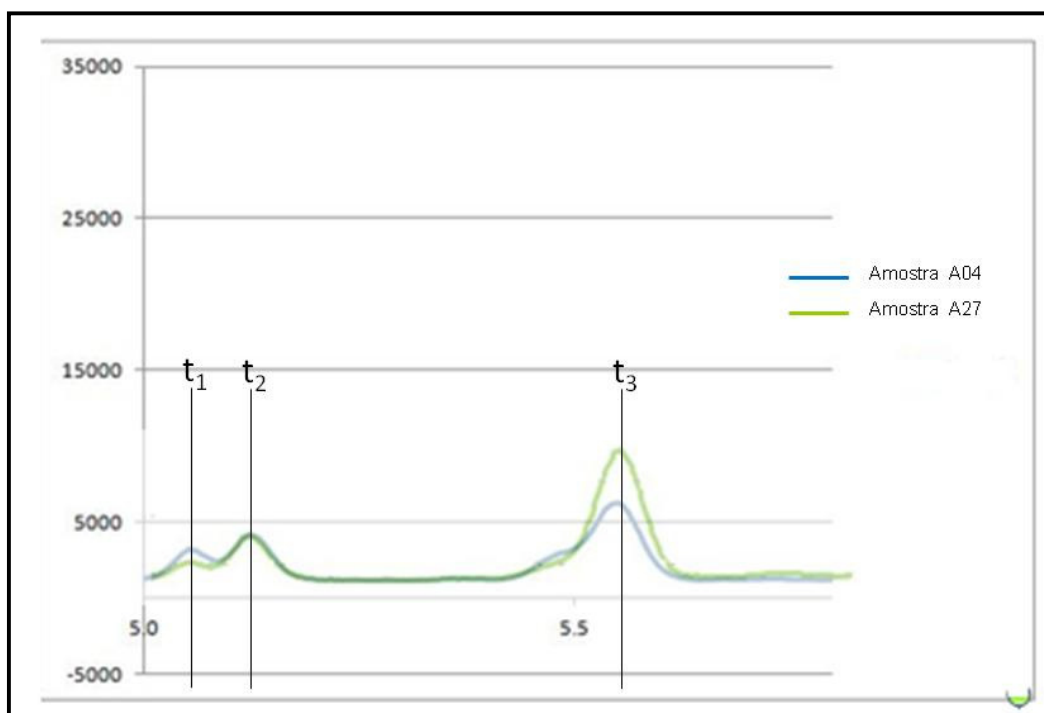


Figura 17: Cromatogramas sobrepostos e alinhados, da região de 5,00 à 5,80 minutos, das amostras A04, A27.

Portanto, devido ao não alinhamento total dos cromatogramas, esses tiveram que passar por um pré-tratamento, para corrigir essas imperfeições, e, assim, ser realizado o modelo com PLS com todo o cromatograma.

Na Figura 18 são mostrados os cromatogramas de 15 amostras escolhidas aleatoriamente. Na parte A uma grande parte dos cromatogramas (entre 1,00 e 8,00 minutos) estão representados e sem ampliações. Avaliando somente esse gráfico, aparentemente as variações entre os picos dos cromatogramas são pequenas. No gráfico B, verifica-se uma ampliação vertical, que demonstra que há variações das alturas das linhas de base. Essa variação influencia as medidas da altura dos picos, principalmente dos picos menos intensos. Assim, foi necessário normalizar as linhas de base, trazendo-as para o mesmo patamar. Para tanto foi

usado um aplicativo no próprio Unscrambler para o pré-tratamento da correção da linha de base.

Nas partes 18C (ampliação horizontal) e 18D (ampliação horizontal e vertical) mostram as distorções dos picos cromatográficos. Para corrigir o desalinhamento, os cromatogramas originais eram catalogados em um formato de matriz $X (I \times J)$, onde cada linha representava uma amostra. A operação foi realizada em software Matlab 9.0, empregando para tanto o algoritmo COW. Dentre as nove amostras que continha 25% de cada oleaginosa, a amostra A94 foi escolhida aleatoriamente como referência (destaca-se que, visualmente, os nove cromatogramas eram muito parecidos). Os parâmetros N (número de secções) e s (tamanho dos “nós”) foram fixados em 10 e 2, respectivamente. Escolheu-se estes valores pelos seguintes motivos: dividindo o cromatograma em 10 partes tem-se partes pequenas (1,27 minutos ou 762 pontos) para serem alinhadas, o que torna a tarefa mais fácil e há apenas dois picos que foram cortados na divisão das secções (os de TR 5,12 e 12,7). Como já foi apresentado anteriormente, o aumento no valor de s , significa aumento exponencial do tempo de gasto do alinhamento e da necessidade de memória do sistema operacional; assim $s = 2$ é um valor que não requer grande capacidade operacional, relativamente rápido e garante mobilidade ao algoritmo.

Na Figura 19 são mostrados os 99 cromatogramas (inclusive o cromatograma da amostra A29, para demonstrar suas incongruências) após o pré-tratamento da linha de base e o alinhamento com o COW.

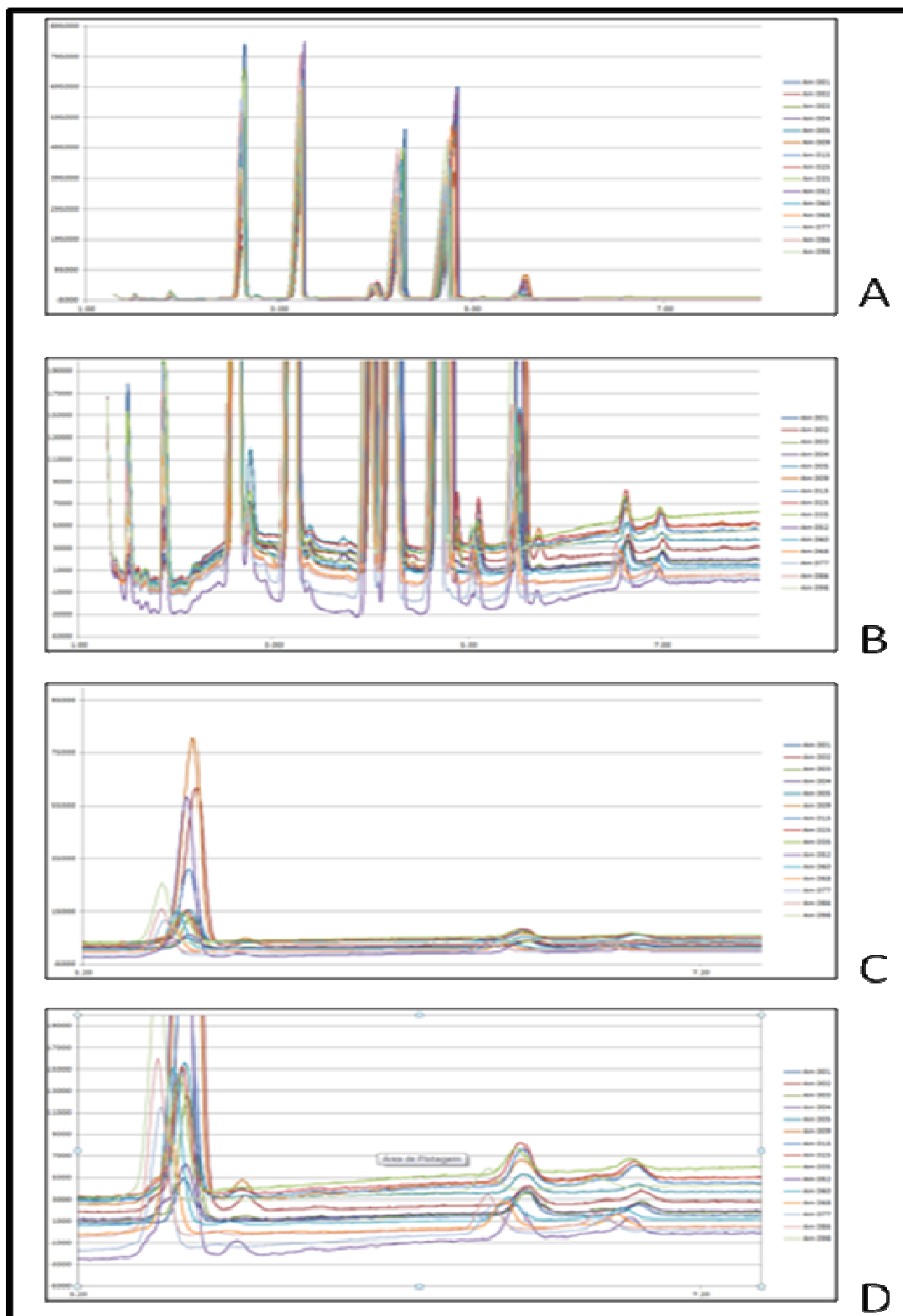


Figura 18: Cromatogramas de 15 amostras sobrepostas.

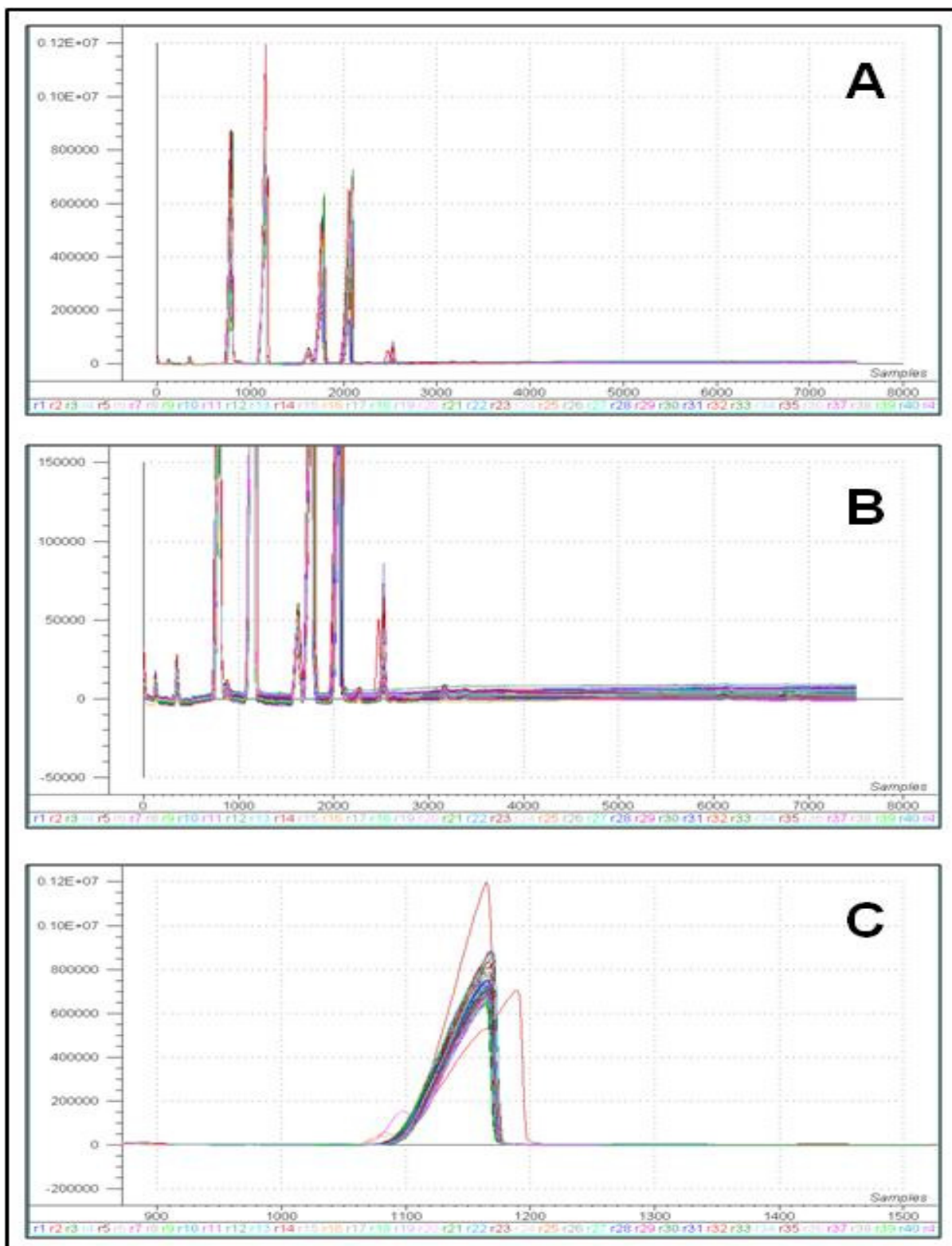


Figura 19: 99 cromatogramas das amostras de biodiesel alinhados.

Na Figura 19A são apresentados todos os 99 cromatogramas, onde pode-se verificar o resultado do alinhamento. Em 19B temos uma ampliação vertical, onde percebe-se o efeito do alinhamento das linhas de base dos cromatogramas; em 19C pode-se observar uma ampliação do pico do padrão interno. Nessas figuras verificou-se que apenas a amostra A29 não estava corretamente alinhada, contudo isso não invalidou o alinhamento dos demais cromatogramas; este fato ratifica sua exclusão do tratamento por PLS e a robustez do algoritmo COW.

A modelagem dos cromatogramas seguiu a mesma sequência descrita e comentada nos itens 4.2.1, 4.2.2, 4.2.3 e 4.2.4 (pré-modelagem por PLS2 para identificação de *outliers*, pré-modelagem por PLS1 para identificação de *outliers*, seleção do conjunto de calibração usando algoritmo ksXY e a modelagem dos sistemas). Por ser repetitivo, não descreve-se estes itens passo a passo; apresentaremos e comentaremos as tabelas e gráficos obtidos.

Tabela 11: Parâmetros e resultados da construção do PLS2

	Cromatogramas totais					
	Slope	Offset	RMSE	R ²	Variáveis Latentes	J Knife
Calibração	0,9347	1,9972	7,9763	0,9256	8	Não
Validação Cruzada	0,9095	3,0873	9,1854	0,8934		
Outliers	A25, A45e A72					

Como pode ser observado na Tabela 11, os valores dos parâmetros não são bons: os erros são maiores que 8, as regressões estão afastadas do ideal (1) e número de Variáveis Latentes, 8, está alto. Nenhuma das amostras consideradas *outliers* podem ser excluídas, pois são extremos de alguma oleaginosa.

De acordo com a Tabela 12, o tratamento das áreas não normalizadas indicou que as amostras A08, A10, A11, A23, A28, A34, A45, A59, A69 e A78 são

ouliers, mas estas amostras não podem ser desprezadas para seleção do conjunto de calibração, pois são extremas para alguma das matérias-primas. Aqui cabe outra observação: os dados das Tabelas 11 e 12 são piores que os encontrados nas Tabelas 7 e 8, respectivamente.

Tabela 12: Parâmetros e resultados da construção do PLS1

		Cromatogramas totais					
		Slope	Offset	RMSE	R ²	Variáveis Latentes	J Knife
Palma	Calibração	0,9348	4,1386	5,9121	0,9348	9	Sim
	Validação Cruzada	0,9276	5,4866	7,6403	0,9304		
	Outliers	A11, A34 e A45					
		Slope	Offset	RMSE	R ²	Variáveis Latentes	J Knife
Soja	Calibração	0,9489	4,4210	3,7406	0,9489	8	Sim
	Validação Cruzada	0,9358	5,5278	4,0383	0,9386		
	Outliers	A28, A45 e A78					
		Slope	Offset	RMSE	R ²	Variáveis Latentes	J Knife
Girassol	Calibração	0,8836	4,2933	8,0762	0,8836	7	Não
	Validação Cruzada	0,8791	4,7651	8,1148	0,9005		
	Outliers						
		Slope	Offset	RMSE	R ²	Variáveis Latentes	J Knife
Sebo	Calibração	0,9024	3,7649	6,9983	0,9024	7	Sim
	Validação Cruzada	0,8973	2,9450	9,5641	0,9001		
	Outliers	A08, A34 e A59					

Na sequência, empregou-se o algoritmo ksXY para a escolha do conjunto de calibração. Para calibração foram selecionadas as seguintes amostras:

A01, A02, A03, A04, A07, A08, A09, A10, A11, A12, A13, A15, A17, A18, A20, A22, A23, A24, A27, A28, A31, A32, A33, A34, A36, A40, A41, A44, A50, A51, A52, A53, A54, A57, A58, A59, A60, A62, A63, A65, A68, A70, A72, A73, A76, A77, A79, A80, A81, A82, A83, A84, A85, A86, A88, A94, A97.

Conseqüentemente, as amostras de área não normalizadas selecionadas para o conjunto de previsão foram as seguintes:

A05, A06, A14, A16, A19, A21, A25, A26, A30, A35, A37, A38, A39, A42, A43, A45, A46, A47, A48, A49, A55, A56, A61, A64, A66, A67, A69, A71, A74, A75, A78, A87, A89, A90, A91, A92, A93, A95, A96 e A98

Na Tabela 13, está exibido um resumo dos modelos de calibração das quatro matérias-primas de biodiesel; e na Tabela 14, estão os parâmetros do conjunto de previsão.

Tabela 13: Parâmetros e resultados da modelagem para cromatogramas totais.

		Áreas não normalizadas					
		Slope	Offset	RMSE	R ²	V L*	J Knife
Palma	Calbr.	0,9836	0,4569	3,5871	0,9836	6	Não
	V. Cruz.	0,9343	1,8004	5,9637	0,9563		
	Outliers	A10 e A31					
Soja	Calbr.	0,9764	0,5946	4,1733	0,9764	2	Sim (4x)
	V. Cruz.	0,9686	0,7014	4,7562	0,9795		
	Outliers	A10, A15 e A54					
Girassol	Calbr.	0,9665	0,7990	4,9116	0,9665	7	Não
	V. Cruz.	0,9308	1,4022	9,1379	0,8884		
	Outliers	A22 e A23					
Sebo	Calbr.	0,9548	0,9964	5,3519	0,9548	10	Sim
	V. Cruz.	0,9085	2,7508	9,0572	0,8751		
	Outliers	-----					

* V L é o número de Variáveis Latentes.

Tabela 14: Parâmetros do conjunto de previsão para cromatogramas totais

	Cromatogramas totais						
	Slope	Offset	Correlation	R ²	RMSEP	SEP	Bias
Palma	0,9879	-0,1544	0,9947	0,9892	2,4165	2,4133	-0,4157
Soja	1,0093	0,4457	0,9902	0,9901	3,8265	3,8153	0,6922
Giras.	0,8145	5,5769	0,9770	0,9320	6,3459	6,3423	1,0645
Sebo	0,9571	-0,5940	0,9656	0,9273	7,1906	7,0639	-1,7762

Pelas Tabelas 13 e 14, pode-se notar que, com exceção da soja, os parâmetros obtidos são piores que os valores conseguidos com os modelos com

as áreas normalizadas e não normalizadas. Para confirmar esta afirmação, pode-se observar os gráficos de previsão, apresentadas na Figura 20.

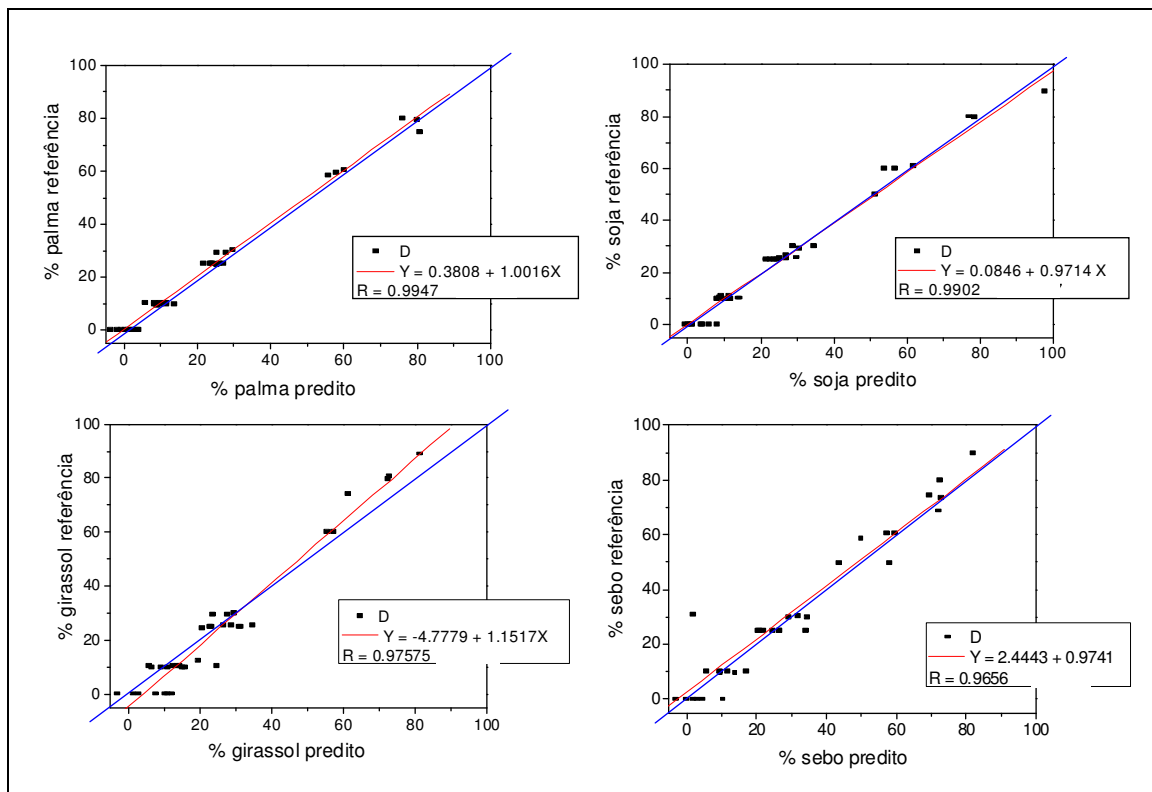


Figura 20: Gráficos das amostras de previsão dos modelos com cromatogramas totais.

A previsão do componente soja apresenta dispersão, principalmente as amostras de baixa concentração de palma (0% e 10%); contudo essa baixa precisão é similar às previsões de soja com áreas normalizadas e não normalizadas. A componente palma também tem previsão comparável às áreas normalizadas e não normalizadas. As previsões de girassol apresentam muita dispersão; sendo que os valores preditos das amostras inferiores a 30% são maiores que as referências, e os valores prognosticados das amostras superiores a 60% são menores que as referências; este fato fez com a reta de previsão seja bastante afastada da 1ª bissetriz. A previsão da matéria-prima sebo também é

muito dispersa, mas os valores previstos são distribuídos acima e abaixo das referências; assim a reta de previsão não se afasta da 1ª bissetriz.

Pelo exposto acima, fica claro que os modelos de PLS do cromatograma total são inferiores aos modelos das áreas. Para a explicação deste fato, devemos levar em conta que na cromatografia a grandeza que é relacionada com a concentração dos componentes é a área dos picos dos respectivos componentes; e não a altura destes picos. Por que?

A teoria cromatográfica demonstra que as moléculas, de uma determinada substância, se espalham ao serem eluídas em uma coluna cromatográfica. Quando chegam ao final da coluna são computadas pelo detector escolhido. Um sinal elétrico proporcional ao número de moléculas é gerado e registrado graficamente ao longo do tempo. Este registro gráfico é o cromatograma. É desejável que durante a eluição, os componentes se espalhem o mínimo possível; assim os picos cromatográficos terão bases menores e serão mais altos. Isso pode ser obtido nos componentes que eluem rapidamente (baixos tempo de retenção); nos componentes com tempo de retenção maiores, este efeito é conseguido empregando rampas de temperatura, pois em temperaturas maiores os componentes aumentam a velocidade de eluição, com isso as moléculas ficam mais próximas, menos espalhadas. Contudo a EN-14.103, norma que empregamos neste trabalho, define que o sistema cromatográfico deve operar isotermicamente, com temperatura fixa em 200 °C. Assim, a medida que o tempo de retenção aumenta, os picos ficam mais largos e a altura máxima dos picos diminuem.

Mas, o que é altura máxima de um pico cromatográfico? Podemos definir que é o instante (tempo) em que o detector contabiliza o maior número de moléculas. Neste momento o sinal será máximo. Contudo, a dinâmica do sistema cromatográfico inviabiliza que tenhamos picos totalmente simétricos, com percentual fixo de moléculas sendo eluídas no instante de máxima altura dos picos. Ou seja, a distribuição (espalhamento) das moléculas na coluna cromatográfica é variável de corrida para corrida; esse efeito faz com que, ao injetarmos uma mesma amostra varias vezes em um bom cromatografo, os picos de cada componente, apesar de terem áreas parecidas, serão diferentes e terão alturas diferentes.

Observando a Tabela 5 (página 66), pode-se analisar os possíveis motivos da variação da área do padrão interno nas amostras cromatografadas. Assim, a altura máxima do pico cromatográfico está sujeita a estas variáveis e as discutidas aqui, acerca da dinâmica da eluição. Assim, altura do pico é uma grandeza sujeita a maiores variações que a área do pico. Por isso, a área do pico é empregada para quantificação na grande maioria dos métodos cromatográficos.

Quando fez-se a modelagem de todo o cromatograma (em vez das áreas dos picos), a variável analisada pelo PLS foi a altura da linha de base ao longo do tempo. Ou seja, o PLS passou a analisar uma variante mais suscetível a alterações. Por este motivo os modelos de PLS dos cromatogramas totais são inferiores aos modelos das áreas normalizadas e não normalizadas.

A principal vantagem deste modelo em relação aos anteriores, que apresentam melhores parâmetros, reside no tempo gasto para sua elaboração. Enquanto que nos modelos anteriores o tempo gasto com a integração, conforme debatido anteriormente, foi grande (durou semanas), neste modelo, em uma manhã (4 horas de trabalho) os picos foram convenientemente alinhados e os dados obtidos puderam ser tratados no PLS rapidamente.

Além desta conveniência, o modelo deixou de ser dependente de um único analista. Nos modelos anteriores, para minimizar os erros, todas as amostras foram integradas por um cromatografista. Se expandirmos esta discussão para um laboratório de rotina, onde o número de amostras é maior, o funcionamento é diário e há exigência de rapidez nas determinações, este fato adquire uma importância ainda maior. Deve ser levado em conta, ainda, que os analistas saem de folga, de férias, ficam doentes e etc. Portanto, essa dependência torna-se um inconveniente que deve ser contornado.

Mas os laboratórios de rotina possuem outra particularidade, que é a familiaridade e o conhecimento que o analista tem com as amostras e as determinações envolvidas. Um técnico quando vai trabalhar em um laboratório de rotina não recebe treinamento apenas das determinações que ele irá realizar. Ele é exaustivamente treinado nas características, limites de especificação e nas particularidades do produto. Este treinamento aliado ao contato diário com o produto, faz com que o técnico tenha uma familiaridade com o produto a ser analisado. Muitas vezes, quando o analista recebe a amostra juntamente com conhecimento da história da mesma, o que faz com que sua percepção para

possíveis problemas e/ou particularidades esteja mais aguçada. Por exemplo, ele vai perceber que biodiesel de palma tem uma cor particular (vermelha); que o odor do biodiesel de sedo é característico; se o analista souber a origem geográfica da amostra de biodiesel, ele pode suspeitar de determinadas matérias-primas próprias daquela região, etc. Com este conhecimento prévio da amostra, pode-se utilizar um método menos exato, mas que permita respostas analíticas mais rápidas.

Portanto, apesar dos parâmetros inferiores, este modelo pode ser utilizado em laboratórios de rotina de biodiesel, onde (I) a rapidez na emissão dos resultados é requerida, (II) existe rotatividade entre os analistas, (III) a automação é uma necessidade, e (IV) existe um prévio conhecimento da amostra.

5.0 CONCLUSÕES

A cromatografia gasosa aliada à técnica de calibração multivariada PLS possibilitou o desenvolvimento de metodologia de análise da composição das matérias-primas de amostras de biodiesel (B100) contendo até quatro matérias-primas diferentes, tornando-se a única alternativa para este tipo de determinação, onde o estudo do perfil cromatográfico não apenas classifica a origem (ou matriz) da amostra, mas indica os teores das diferentes origens (ou matrizes) quando a amostra é uma mistura de diferentes origens.

Foram realizadas três modelagens diferentes: com as áreas de cada pico cromatográfico, com as áreas normalizadas e com o cromatograma total. Para as duas primeiras modelagens os cromatogramas foram integrados manualmente; um trabalho cansativo, suscetível a erros humanos, operador dependente e que demanda muito tempo. Na terceira metodologia, foi necessário preliminarmente empregar o algoritmo COW para alinhar todos os cromatogramas; deste modo todos os picos passaram a ter tempos de retenção muito próximos; esta tarefa é instrumental, pode ser automatizada e demanda menos tempo.

As duas primeiras modelagens estabeleceram parâmetros similares e seguros para avaliar a matéria-prima (oleaginosa) do biodiesel em B100. No conjunto de calibração encontraram-se valores de RMSEC < 4,763, RMSECV < 5,357, R^2 (calibração) > 0,973 e R^2 (Validação Cruzada) > 0,962. O conjunto de previsão apresentou *Correlation* > 0,989 e RMSEP < 3,565.

A terceira modelagem, com os cromatogramas totais alinhados, apresentou parâmetros inferiores ao das duas primeiras, onde no conjunto de calibração encontraram-se valores de $RMSEC < 5,352$, $RMSECV < 9,138$, R^2 (calibração) $> 0,955$ e R^2 (Validação Cruzada) $> 0,875$. O conjunto de previsão apresentou $Correlation > 0,966$ e $RMSEP < 7,191$. Estes parâmetros piores puderam ser explicados porque nesta modelagem a altura (sinal) era a variável avaliada, por sua vez a altura é um dado cromatográfico de menor confiabilidade que a área (normalizada ou não) dos picos.

Contudo, a modelagem dos cromatogramas totais pode ser empregada em condições especiais, como, por exemplo, laboratórios de rotina, onde se têm prévio conhecimento da amostra e rapidez da determinação é fator importante.

Devido à complexidade do cromatograma (em cromatografia a gás unidimensional), não foram realizados estudos para determinação da composição das matérias-primas do biodiesel quando este está inserido em blendas biodiesel/diesel. Contudo, existem estudos que demonstram que a cromatografia bidimensional é capaz de realizar separações cromatográficas, com eficiência, desta mistura, com possibilidades de determinar os ésteres existentes no biodiesel. Portanto, apresenta-se como prospecto o emprego de modelagens de PLS em cromatogramas GCxGC-FID para realizar esta determinação.

6.0 PERSPECTIVAS FUTURAS

A norma europeia EN 14.103 determina que o forno (coluna) cromatográfico deve operar em uma isoterma de 200 °C; esta determinação causa algumas implicações: (I) a não determinação de ésteres metílicos com menos de 14 carbonos, (II) baixa eficiência na separação dos ésteres C18:0, C18:1n9, C18:2n6 e C18:3n3 e seus isômeros e (III) e picos largos (menor detectabilidade) dos ésteres mais pesados (maior que 22 carbonos).

Buscando contornar estes problemas, desenvolvemos um método para determinação de ésteres metílicos derivados de ácidos graxos, onde ha variação na temperatura do forno cromatográfico. A programação de temperatura é a seguinte: 90 °C (2 min.) | 50 °Cmin⁻¹ ⇒ 200°C (5 min) | 70 °Cmin⁻¹ ⇒ 230 °C (10 min). As demais condições cromatográficas são as mesmas citadas no item 3.3 ('Análises Cromatográficas') deste trabalho. Na Figura 21 são apresentados cromatogramas de amostras de biodiesel de palma, soja e licuri (*Cocos Picrophylla* ou *Syagrus Picrophylla*).

Pelo observado na Figura 21, com esta nova programação, conseguimos sanar os três problemas descritos. Entendemos que com uma maior quantidade de picos (componentes) e menor quantidade de co-eluições nos cromatogramas, o emprego das metodologias desenvolvidas neste trabalho possibilitará melhores resultados que os obtidos.

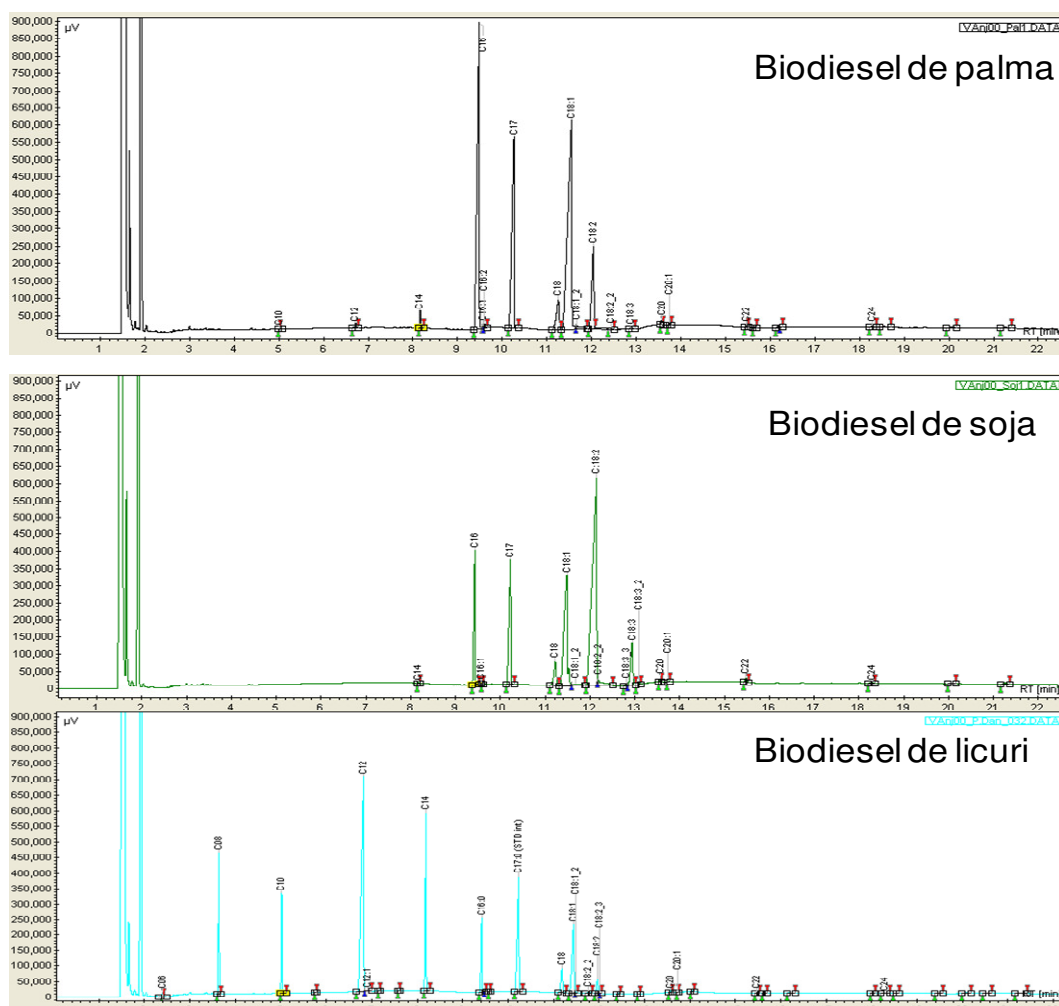


Figura 21: Cromatogramas palma, soja e licuri obtidos com programação de temperatura do forno.

Outra possibilidade é o emprego da metodologia em outras matrizes. Na Figura 22 são apresentados dois cromatogramas (realizados nas mesmas condições) de amostras extrato polietileno de alta densidade (PEAD) em clorofórmio. Apesar de ambos serem classificados como PEAD, são materiais diferentes, obtidos por processos catalíticos diferentes e que têm aplicações diferentes: a amostra de filme é utilizada para fabricar sacos e a de sopro para fazer garrafas.

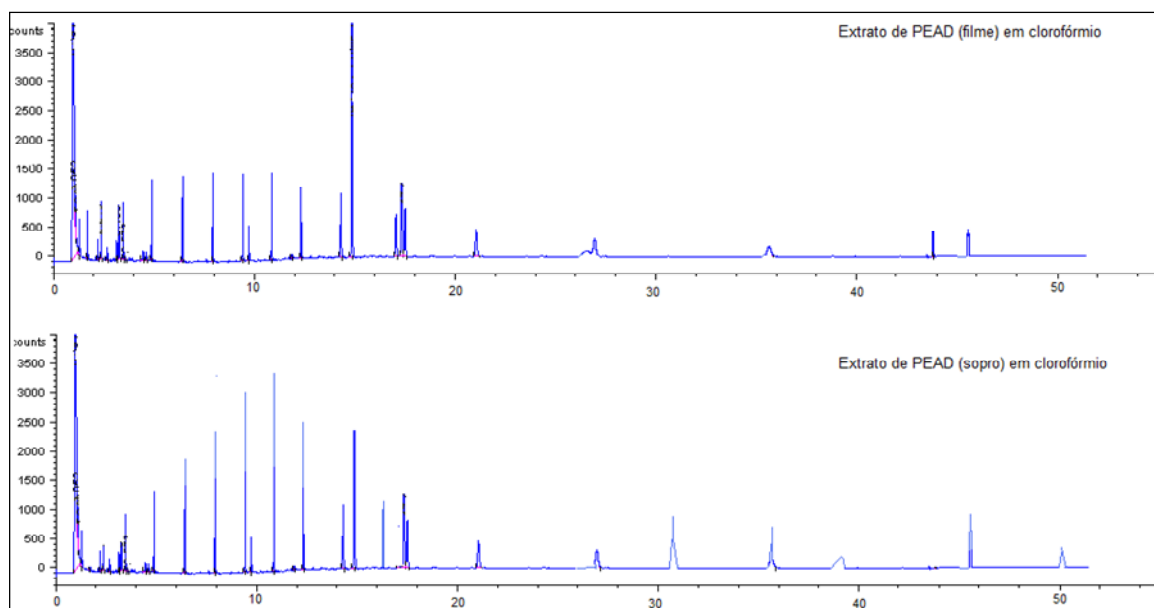


Figura 22: Cromatogramas de extrato polietileno de alta densidade (PEAD) em clorofórmio.

Se por algum motivo essas amostras forem misturadas, existe a possibilidade de emprego das metodologias desenvolvidas neste trabalho para determinar a proporção desta mistura, haja visto que existem diferenças entre os dois cromatogramas.

Outra perspectiva é o emprego de um método cromatográfico a gás bidimensional (GCxGC), que aumenta o poder de resolução cromatográfico em amostras que contém muitos componentes (misturas complexas), para determinação da composição da origem do biodiesel em amostras de mistura biodiesel/diesel. A Figura 23 apresenta três cromatogramas sobrepostos de amostras de B5 com biodiesel de três origens diferentes: palma, soja e sebo.

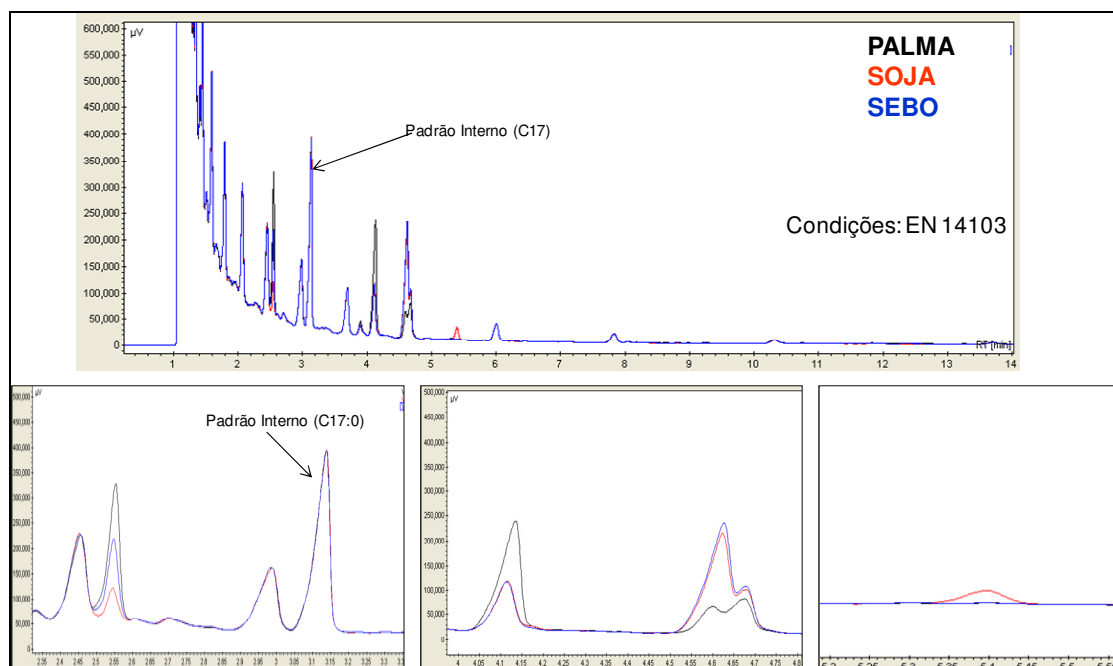


Figura 23: Cromatogramas sobrepostos de B5 de três origens diferentes: palma, soja e sebo.

Mesmo com a complexidade dos cromatogramas, observa-se na Figura 23 que há diferenças nos cromatogramas das amostras. Possivelmente, com emprego de rampas de temperatura e sistema cromatográfico bidimensional (GCxGC), semelhante ao empregado por Moraes e colaboradores (2011) possa ser possível o emprego das metodologias desenvolvidas neste trabalho para determinar a composição da origem do biodiesel, quando este estiver inserido na mistura biodiesel/diesel.

7.0 BIBLIOGRAFIA

ALIFERIS, K. A.; TARANTILIS, P. A.; HARIZANIS, P. C.; ALISSANDRAKIS, E. Botanical discrimination and classification of honey samples applying gas chromatography/mass spectrometry fingerprinting of headspace volatile compounds. *Food Chemistry*, volume nº 121, 2010.

AMIGO, J. M.; POPIELARZ, M. J.; CALLEJÓN, R. M.; MORALES, M. L.; TRONCOSO, A. M.; PETERSEN, M. A.; TOLDAM-ANDERSEN, T. B. Comprehensive analysis of chromatographic data by using PARAFAC2 and principal components analysis. *Journal of Chromatography A*, volume nº 1217, 2010.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – Boletim Mensal de Biodiesel – Dezembro de 2011. Disponível em <<http://www.anp.gov.br/?pg=60769&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cache bust=1341889393218>>. Acesso em 09/07/2012

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – Resolução 42/04. Brasil, 2004.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – Resolução 15/06. Brasil, 2006.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – Resolução 07/08. Brasil, 2008.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – Resolução 04/10. Brasil, 2010.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – Resolução 42/04. Brasil, 2004

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – Resolução 65/11. Brasil, 2011.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – Resolução 14/12. Brasil, 2012.

ASTM D 6584-00. “Test Method for Determination of Free and Total Glycerine in B-100 Biodiesel Methyl Esters By Gas Chromatography.

ASTM D 6751. Biodiesel Standard, *American Society of Testing and Materials* – ASTM.

ACCORSI, A.; MORRONE, B.; RAFFI, G. B.; VIOLANTE, F. S. High-speed capillary gas chromatography for determination of inhalation anesthetics, *Journal of Chromatography A*, nº 1071, 2005.

BERTONCINI, F.; VENDEUVRE, C.; DUVAL, L.; DUPLAN, J. L.; THIEBAUT, D.; HENNION, M. C. Comparison of conventional gas chromatography and comprehensive two-dimensional gas chromatography for the detailed analysis of petrochemical samples. *Journal of Chromatography A*, nº 1055, 2004.

BERTONCINI, F.; ADAM, F.; BRODUSCH, N.; DURAND, E.; THIEBAUT, D.; ESPINAT, D.; HENNION, M. C. New benchmark for basic and neutral nitrogen compounds speciation in middle distillates using comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, nº 1148, 2007.

BERTONCINI, F.; ADAM, F.; VENDEUVRE, C.; THIEBAUT, D.; ESPINAT, D.; HENNION, M. C. Comprehensive two-dimensional gas chromatography for enhanced analysis of naphthas: New column combination involving

permethylated cyclodextrin in the second dimension. *Journal of Chromatography A*, nº. 1178, 2008.

BERTONCINI, F.; ADAM, F.; COUPARD, V.; CHARON, N.; THIÉBAUT, D.; ESPINAT, D.; HENNIO, M. C. Using comprehensive two-dimensional gas chromatography for the analysis of oxygenates in middle distillates I. Determination of the nature of biodiesels blend in diesel. *Journal of Chromatography A*, nº1186, 2008.

BOMBARDA, I; DUPUY, N.; LE VAN DA, J. P.; GAYDOU, E. M. Comparative Chemometric analyses of geographic origins and compositions of lavandin var. Grosso essential oils by mid infrared spectroscopy and gas chromatography. *Analytica Chimica Acta*, vol. 613, 2008.

BRASIL. Decreto Lei nº 5.658, de 02/01/2006.

CAJKA, T.; RIDDELLOVA, K.; TOMANIOVA, M.; HAJŠLOVA, J. Recognition of beer brand based on multivariate analysis of volatile fingerprint. *Journal of Chromatography A*, volume nº 1217, 2010.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Fundamentos de Cromatografia. *Editora Unicamp*, Campinas, São Paulo, 2006.

CORRÊA, S.M. e ARBILLA, G. Aromatic hydrocarbons emission in diesel and biodiesel exhaust. *Atmospheric Environment*, nº 40, 2006.

COSTA, J. S. B. Óleos de soja Geneticamente Modificada: Caracterização Nutricional e Detecção de ADN. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Portugal. 2008

DABDOUB, M. J.; BRONZEL, J. L.; RAMPIN, M. A. Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria. *Química Nova*, nº 3, 2009.

DASZYKOWSKI, M. e WALCZAC, B. Target Selection for Alignment of Chromatographic Signals Obtained Using Monochannel Detectors. *Journal of Chromatography A*, nº 1176, 2007.

DAVIS, J. M. e GIDDINGS, J. C. Statistical Theory of Component Overlap in Multicomponent Chromatograms. *Analytical Chemistry*, nº 418, 1983.

DEMIBRAS, M. F. e BALAT, M. Recent advances on the production and utilization trends of bio-fuels: a global perspective. *Energy Conversion and Management*, nº 47, 2006.

DIAS, A. N.; CERQUEIRA, M. B. R.; MOURA, R. R.; KURZ, M. H. S.; CLEMENTIN, R. M.; D'OCA, M. G. M.; PRIMEL, E. G. Optimization of a method for the simultaneous determination of glycerides, free and total glycerol in biodiesel ethyl esters from castor oil using gas chromatography. *Fuel*, nº 94, 2012.

DINÇ, E., BALEANU, D. e ONUR, F., Spectrophotometric multicomponent analysis of a mixture of metamizol, acetaminophen and caffeine in pharmaceutical formulations by two chemometric techniques, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, nº 26, 2001.

EBRAHIMI, D.; HIBBERT, D. B.; HEJAZI, L.; GUILHAUS, M. Determination of the Composition of Fatty Acid Mixtures Using GC × FI-MS: A Comprehensive Two-Dimensional Separation Approach , *Analytical Chemistry*, nº 4, 2009.

EILERS, P. H. C. Parametric Time Warping. *Analytical Chemistry*, nº 76, 2004

EN 14103 Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents, *European Normalization* – EN.

EN 14214 Biodiesel Standard, *European Normalization* – EN,

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Biodiesel de Soja – Taxa de Conversão em Ésteres Etílicos, Caracterização Físico-Química e Consumo em Gerados de Energia. *Química Nova*, nº 1, 2005.

FERRÉS, D. H. S. Competitividade dos Biocombustíveis no Brasil: Uma comparação entre os principais biocombustíveis – etanol e biodiesel. *Dissertação de Mestrado*, Fundação Getúlio Vargas – Escola de Economia de São Paulo, 2010.

FLUMIGNAN, D. L.; TININIS, A. G.; FERREIRA, F. O.; OLIVEIRA, J. E. Screening Brazilian C gasoline quality: Application of the SIMCA chemometric method to gas chromatographic data. *Analytica Chimica Acta*, volume nº 595, 2007.

FOGLIA, T. A., JONES, K. C. & PHILLIPS, J. G. “Determination of Biodiesel and Triacylglycerols in Diesel Fuel by LC” *Chromatografia*, nº 62, 2005.

FOGLIA, T. A.; JONES, K. C.; NUÑEZ, A.; PHILLIPS J. G.; MITTELBACH, M. “Comparison of Chromatographic Methods for the Determination of Bound Glycerol in Biodiesel” *Chromatografia*, nº 60, 2004.

FORSHEDE, J.; TORGRIP, R. J. O.; ABERG, K. M.; KARLBERG, B.; LINDBERG, J.; JACOBSSON, S. P. A Comparison of Methods for Alignment of NMR Peaks in the Context of Cluster Analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, nº 38, 2005.

FRAGA, C. G. Chemometric approach for the resolution and quantification of unresolved peaks in gas chromatography–selected-ion mass spectrometry data. *Journal of Chromatography A*, nº 1019, 2003.

FREEDMAN, B.; PRYDE, E. H.; KWOLEK, W. F. Thin layer chromatography: flame ionization analysis of transesterified vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, nº 7, 1984.

FREEDMAN, B.; PRYDE, E. H.; KWOLEK, W. F. Quantization in the analysis of transesterified soybean oil by capillary gas chromatography. *Journal of the American Oil Chemists Society*, nº 7, 1986.

FURTADO, A. T. e SCANDIFFIO, M. I. G. Álcool no Brasil: uma longa história. *Scientific American*, nº 53, 2006.

GODOY, L. A. F.; PEDROSO, M. P.; FERREIRA, E. C.; AUGUSTO, F.; POPPI, R. J. Prediction of the physicochemical properties of gasoline by comprehensive two-dimensional gas chromatography and multivariate data processing. *Journal of Chromatography A*, volume nº 1218, 2011.

GOES, T.; ARAUJO, M.; MARRA, R. Biodiesel e sua Sustentabilidade. Disponível em http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2010/Trabalho_biodiesel_11_de_janeiro_de_2010-versao_final.pdf. Acesso em 09/07/2012.

GORECKI, T. e HARYNUK, J. New liquid nitrogen cryogenic modulator for comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, nº 53, 2003.

HAMELINCKA, C. N. e FAAIJ, A. P. C. Outlook for advanced biofuels. *Energy Policy*, nº 34, 2006.

JELLEMA, R. H. Variable Shift and Alignment. *TNO Quality of Life*. Zeist, The Netherlands, 2009.

KNOTHE, G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J.; RAMOS, L.P. Manual de biodiesel. *Editora Edgard Blucher*, São Paulo, 2006

KAMMEN, D.M. “A hora e a vez da energia renovável” *Scientific American*. nº 53, 2006.

LANÇAS, F. M., *Cromatografia em Fase Gasosa, ACTA*, São Carlos, 1993.

LANÇAS, F. M. e MÜHLER, C., *Cromatografia unificada, Química Nova*, nº 5, 2004.

LEE, G. C.; WOODRUFF, D. L. Beam Search for Peak Alignment of NMR Signals. *Analytica Chimica Acta*, nº 513, 413–416, 2004

LEUNG, D.Y.C.; KOO, B.C.P; GUO, Y. Degradation of biodiesel under different storage conditions. *Bioresource Technology*, volume nº 97, 2006.

LEWIS, A. C.; BARTLE, K. D.; LEE, A. L. A Model of Peak Amplitude Enhancement in Orthogonal Two-Dimensional Gas Chromatography. *Analytical Chemistry*, volume nº 73, 2001.

LIN, X.; SUN, L.; LI, L.; GUO, Z.; LI, Y.; ZHONG, K.; WANG, Q.; LU, X.; YANG, Y.; XU, G. A random forest of combined features in the classification of cut tobacco based on gas chromatography fingerprinting. *Talanta*, volume nº 82, 2010.

LOPES, A. N.; CECHINEL, C. A.; WENTZ A. P. Co-Produto do Biodiesel – Novas Aplicações para Glicerina. *Diálogos e Ciência*, Volume 10, nº 30, 2012.

LOPES NETO, V.R. “A estratégia de injeções consecutivas em cromatografia gasosa aplicada à rotina de análise de antioxidantes em polietileno” *Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Bahia*. 2006.

LOTERO, E.; LIU, Y; LOPEZ, D.E.; acid catalysis. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, v. 44, p. 5353 – 5363, 2005.

LUMPUR, K. Rabobank: mercado global de olefinosas continuará apertado em 12/13. Disponível em <<http://aphc.com.br/2012/03/rabobank-mercado-global-de-olefinosas-continuara-apertado-em-1213/>> Acesso em 09/07/2012.

MARQUES, M. V.; NACIUK, F. F.; MELLO, A. M. S.; SEIBEL, N. M.; FONTOURA, L. A. M. Determinação do Teor de Ésteres Graxos em Biodiesel de Soja por Cromatografia gasosa Utilizando Oleato de Etila Como Padrão Interno. *Química Nova*, Vol. 33, nº 4, 978-980, 2010.

MARTINS, L. Governo lança Programa Nacional de Óleo de Palma. Disponível em <<http://mercadoetico.terra.com.br/arquivo/governo-lanca-programa-nacional-de-oleo-de-palma/>>. Acesso em 09/07/2012.

MEHER, L. C.; SAGAR, D. V.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 10, p. 248–268, 2006

MME – Ministério de Minas e Energia, Balanço Energético Nacional 2011 – Relatório Final Disponível em <www.mme.gov.br>, acesso em 12/07/2012.

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. 593–60, 2008.

MORAES, M. S. A.; ZINI, C. A.; GOMES, C. B.; BORTOLUZZI, J.H.; Von MÜHLEN, C.; CARARÃO, E. B. Uso da Cromatografia Bidimensional Abrangente (GCxGC) na Caracterização de Misturas Biodiesel/Diesel:

Aplicação ao Biodiesel de Sebo Bovino. *Química Nova*, vol 34, nº 7, 1188-1192, 2011.

MORRIS, R. E., JOHNSON, K. J. e ROSE-PEHRSSON, S. L., Monitoring Diesel Fuel Degradation by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy and Chemometric Analysis. *Energy & Fuels*, nº 18, 844-850, 2004.

MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A.; GONÇALVES, V. C. L. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. *Química Nova*, v. 32, nº 3, p. 639 – 648, 2009.

NIELSEN, N. P. V.; CARSTENSEN, J. M.; SMEDSGAARD, J. Aligning of Single and Multiple Wavelength Chromatographic Profiles for Chemometric Data Analysis Using Correlation Optimised Warping. *Journal of Chromatography A*, nº 805, 17–35, 1998

OLIVEIRA, J. S.; MONTALVÃO, R.; DHER L.; SUAREZ, P. A. Z.; RUBIM, J.C. Determination of methyl ester contents in biodiesel blends by FTIR-ATR and FTNIR spectroscopies. *Talanta*, v. 69, p. 1278 – 1284, 2006.

PAES, R. C. O. V. e SERRA, A. C. S. Classificação de cromatogramas gasosos de óleos baseada em redes neurais. Trabalho apresentado no 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás, Salvador/BA, Brasil, 2005.

PEDROSO, M. P.; GODOY, L. A. F.; FERREIRA, E. C.; POPPI, R. J.; AUGUSTO, F. Identification of gasoline adulteration using comprehensive two-dimensional gas chromatography combined to multivariate data processing. *Journal of Chromatography A*, volume nº 1201, 2008.

PEREIRA, A. S. e AQUINO NETO, F. R., Estado da Arte da Cromatografia Gasosa de Alta Resolução e Alta Temperatura, *Química Nova*, vol. 23, nº 3, 370-379, 2000.

PIERCE, K. M. e SCHALE, S. P. Predicting Percent Composition of Blends of Biodiesel and Conventional Diesel Using Gas Chromatography–Mass Spectrometry, Comprehensive Two-Dimensional gas Chromatography–Mass Spectrometry, and Partial Least Squares Analysis. *Talanta* nº 94, 320–327, 2011.

PIERCE, K. M.; HOPE, J. L.; JOHNSON, K. J.; WRIGHT, B. B.; SYNOVEC, R. E. Classification of gasoline data obtained by gas chromatography using a piecewise alignment algorithm combined with feature selection and principal component analysis. *Journal of Chromatography A*, volume nº 1096, 2005.

PORTE, A. F.; SCHNEIDER, R. C. S.; KAERCHER, J. A; KLAMT, R. A.; SCHMATZ, W. L.; SILVA, W. L. T.; SEVERO FILHO, W. A. Sunflower biodiesel production and application in family farms in Brazil. *Fuel*, nº 89, 3718–3724, 2010.

POPPI, R. J.; SENA, M. M.; TREVISAN, M. G., PARAFAC: uma Ferramenta Quimiométrica para Tratamento de Dados Multidimensionais. Aplicação na Determinação Direta de Fármacos em Plasma Humano por Espectrofluorimetria, *Química Nova*, vol. 28, nº 5, 910-920, 2005.

PRAVDOVA, V.; WALCZAK, B.; MASSART, D. L. A Comparison of Two Algorithms for Warping of Analytical Signals. *Analytica Chimica Acta*, nº 456, 77–92, 2002

RAMOS, L. P.; ZAGONEL, G. F.; COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. *Química Nova*, v. 23, nº 4, 531 – 537, 2000

RAMOS, G. R. e ÁLVAREZ-COQUE, M. C. G., Quimiometria. Editorial Síntesis S.A, Madri, Espanha, 2001.

RIBEIRO, S. K. “Aposta no biodiesel” *Scientific American*, nº 53, 60, 2006.

RIBEIRO, J. S.; AUGUSTO, F.; FERREIRA, M. M. C. Uso de Perfis Cromatográficos de Voláteis de Café Arábica torrados para a diferenciação das amostras segundo o sabor, o aroma e a qualidade da bebida. *Química Nova*, volume nº 33, nº 9, 2010.

RIBEIRO, J. S.; AUGUSTO, F.; SALVA, T. J. G.; THOMAZIELLO, R. A.; FERREIRA, M.M.C. Prediction of sensory properties of Brazilian Arabica roasted coffees by headspace solid phase microextraction-gas chromatography and partial least squares. *Analytica Chimica Acta*, volume nº 634, 2009.

SÂRBU, C.; NASCU-BRICIU, R. D.; KOT-WASIK, A.; GORINSTEIN, S.; WASIK, A.; NAMIESNIK, J. Classification and fingerprinting of kiwi and pomelo fruits by multivariate analysis of chromatographic and spectroscopic data. *Food Chemistry*, volume nº 130, 2012.

SCHALE, S. P.; LE, T. M.; PIERCE, K. M. Predicting feedstock and percent composition for blends of biodiesel with conventional diesel using chemometrics and gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta* nº 94, 320–327, 2012.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A., Princípios de Análise Instrumental. *Bookman*, Porto Alegre, 2002

SKOV, T.; van den BERG, F.; TOMASI, G.; BRO, R. Automated alignment of chromatographic data. *Journal of Chemometrics*, volume nº 20, 2006.

SUN, X.; ZIMMERMANN, C. M.; JACKSON, G. P.; BUNKER, C. E.; HARRINGTON, P. B. Classification of jet fuels by fuzzy rule-building expert systems applied to three-way data by fast gas chromatography-fast scanning quadrupole ion trap mass spectrometry. *Talanta*, volume nº 83, 2011.

SYNOVEC, R. E.; CAVELTI, M. A.; GRATE, J. W.; JOHNSON, K. J.; HOPE, J. L.; PRAZEN, B.J. High-Speed Gas Chromatographic Separations with Diaphragm Valve-Based Injection and Chemometric Analysis as a Gas Chromatographic "Sensor". *Analytica Chimica Acta*, nº490, 223-230, 2003.

SYNOVEC, R. E., FRAGA, C. G. e PRAZEN, B. J., Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography and Chemometrics for the High-Speed Quantitative Analysis of Aromatic Isomers in a Jet Fuel Using the Standard Addition Method and an Objective Retention Time Alignment Algorithm, *Analytical Chemistry*, 72, 4154-4162, 2000.

TAGUCHI, V. Brasil será maior produtor de biodiesel em 2012, diz Rosseto. Disponível em <<http://revistagloborural.globo.com/Revista/Common/0,,EMI278525-18077,00-BRASIL+SERA+MAIOR+PRODUTOR+DE+BIODIESEL+EM+DIZ+ROSSETO.html>>. Acesso em 09/07/12.

TOMASI, G.; van den BERG, F.; ANDERSON, C. Correlation Optimized Warping and Dynamic Time Warping as Preprocessing Methods for Chromatographic Data. *Journal Chemometric*, Nº 18, 231–241, 2004.

VALLIYAPPAN, T.; BAKHSHI, N. N.; DALAI, A .K. Pyrolysis of glycerol for the production of hydrogen or syn gás. *Bioresource Technology*, 2008.

VEIGA JUNIOR, V. F.; ROCHA, D. Q.; BARROS, D. K.; COSTA, E. J. C.; SOUZA, K. S.; PASSOS, R. R.; CHAAR, J. S. Determinação da matéria-prima utilizada na produção do biodiesel adicionado ao diesel mineral através de monitoramento seletivo de íons. *Química Nova*, v. 31, Nº 5, p. 1062-1066, 2008.

VERA, I. e LANGLOIS, L. Energy indicators for sustainable development. *Energy*, v. 32, p. 875–882, 2007.

VOEGELE, E. Glycerin: Research Turns Up New Uses. Disponível em: <<http://biodieselmagazine.com/articles/3237/glycerin-research-turns-up-new-uses>>. Acesso em: 09/09/12. 2010.

YANG, Z.; HOLLEBONE, B. P.; WANG, Z.; YANG, C.; LANDRIAULT, M. Method development for fingerprinting of biodiesel blends by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *J. Sep. Sci.*, nº 34, 3253–3264, 2011.

WANG, R.; SONG, B.; ZHOU, W.; ZHANG, Y.; HU, D.; BHADURY, P. S.; YANG, S. A facile and feasible method to evaluate and control the quality of *Jatropha curcus* L. seed oil for biodiesel feedstock: Gas chromatographic fingerprint. *Applied Energy*, volume nº 88, 2011.