



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



IVON PINHEIRO LÔBO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA
QUANTIFICAÇÃO DE ALQUIL ÉSTERES EM AMOSTRAS DE
BODIESEL**

**Salvador
2010**

IVON PINHEIRO LÔBO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA
QUANTIFICAÇÃO DE ALQUIL ÉSTERES EM AMOSTRAS DE
BODIESEL**

Tese apresentada ao colegiado dos Cursos de Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para a obtenção do grau de doutor em ciências. Área de concentração: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr.Sérgio Luís Costa Ferreira

Co-Orientadora: Profa. Dra. Rosenira Serpa da Cruz

**Salvador
2010**

***A minha esposa Marta, sempre forte e amável,
pelo apoio incondicional.***

***Aos meus heróis, Jade A. Lôbo e Pedro A. Lôbo,
tesouros inestimáveis, responsáveis por muitos
momentos de alegria.***

***Aos meus pais, leumacy e Nilamon (in
memoriam), e meus irmãos que a muito me
apóiam.***

AGRADECIMENTOS

Ao professor Prof. Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira, pela orientação e incentivo, e a quem devo grande parte dos conhecimentos adquiridos desde a graduação.

A Professora. Dra. Rosenira Serpa, pela co-orientação, incentivo e amizade que muito contribuíram para este trabalho.

A Professora Dra. Ana Maria, pela convivência e pelos conhecimentos de cromatografia transmitidos.

Aos amigos, Dra. Edeilsa e Dr. Érik, pela amizade e por ter resolvidos muitos entraves burocráticos,

Ao Cristóvão e Paulo, pessoas que fazem a diferença, sempre dispostos a colaborar.

Aos colegas de trabalho na UESC: Milena Araújo e José Faustino, pela colaboração neste trabalho, pelo apoio e amizade.

Aos colegas de trabalho na UESC: Rebeca Jane e José Rodrigo, pela convivência salutar e pela descontração.

A amiga Jean Quelle, pela alegria contagiante e incentivos.

Ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia, a Universidade Estadual de Santa Cruz.

RESUMO

Dentre os parâmetros estabelecidos para garantia da qualidade do biodiesel, o teor de ésteres destaca-se por refletir a pureza do biocombustível a ser misturado ao diesel mineral. Com esse objetivo, é preconizado pela Resolução 07/08 da ANP o método cromatográfico EN ISO 14103, que se baseia na comparação da área total dos picos dos ésteres com a área relativa ao padrão heptadecanoato de metila (C17:0-Me). Este método apresenta inconvenientes como o alto custo do padrão C17:0-Me e a sua aplicabilidade na quantificação de ésteres com cadeia carbônica com menos de 16 carbonos. Essa limitação é decorrente da maior deficiência de carbono para os ésteres de cadeia curta, resultando em respostas diferenciadas no FID. Outro ponto que deve ser destacado é que o C17:0-Me poderá estar presente em biodieseis de diferentes óleos e gorduras e poderá acarretar em erros de quantificação. Neste trabalho, foram propostos Fatores de Correção *Split* (FRS), baseados na razão entre a proporção de carbonos ativos na molécula do éster e na sua resposta relativa no GC FID. O propósito desses fatores é corrigir as respostas no FID para ésteres com cadeia menor que 16 carbonos e a discriminação das massas dos ésteres mais pesados, no momento da injeção *split*. Os FRS mostraram uma correlação linear com as respectivas massas molares, permitindo assim realizar previsão dos FRS dos ésteres do biodiesel, a partir dos FRS de três padrões adicionados a amostra. Os padrões internos empregados foram C12:0-Et, C14:0-Et e C18:1-Et nas análises de biodieseis metílicos e C12:0-Me, C14:0-Me e C18:0-Me para os biodieseis etílicos. Utilizando FRS para a análise de uma amostra sintética simulando o biodiesel de babaçu, onde estavam presentes ésteres de cadeia curta em concentrações significativas, os erros de previsão (EP%) foram respectivamente 1,4; 2,7; 1,4; 2,2; e 3,2%, para os ésteres C6:0-Et, C8:0-Et, C10:0-Et, C12:0-Et, C14:0-Et; contra 24,4; 13,5; 6,2; 2,4 e 2,0% para os mesmos ésteres determinados via padrão C17:0-Me. Para amostras reais de biodieseis de dendê, soja e pinhão manso, onde os ésteres mais leves estão presentes em concentrações não superiores a 1%, os resultados das análises realizadas através dos FRS_{Preditos} e via padrão C17:0-Me não apresentaram diferenças significativas, conforme a avaliação do método de referência EN ISO 14103. Mesmo utilizando uma quantidade maior de padrões internos, o método proposto apresenta um custo mais baixo que o método oficial, permitindo inclusive a quantificação de C17:0-Me que possa vir está presente na amostra do biodiesel. O método mostrou-se confiável, sendo aplicável a análise de biodieseis metílico e etílicos de óleos e gorduras, onde a concentração de ésteres com cadeia carbônica menor que C16 não seja superior a 1%.

Palavras-chaves: teor de ésteres, biodiesel, deficiência de carbono, fatores de resposta

ABSTRACT

Among the parameters set for quality assurance of biodiesel, the ester content stands out because it reflects the purity of the biofuel to be blended with mineral diesel. With this objective, it is recommended by Resolution 07/08 of the ANP the chromatographic method EN ISO 14 103, which is based on a comparison of the total area of the peaks of the esters with the area on the standard methyl heptadecanoate (C17:0-Me). This method has drawbacks such as high cost of the standard C17:0-Me and its applicability in the quantification of esters with chains with less than 16 carbons. This limitation is due to higher carbon deficiency for short chain esters, resulting in differential responses on the FID. Another point to be stressed is that the C17:0-Me may be present in biodiesel of different oils and fats and can cause errors in measurement. In this work, split response factors (SRF) have been proposed, based on the ratio between the proportion of active carbons in the ester molecule and its response on the GC FID. The purpose of these factors is the correct answers to the FID chain esters with less than 16 carbons and discrimination of the masses of heavier esters, during the split injection. The SRF showed a linear correlation with their molecular weights, thus allowing prediction of SRF held the esters of biodiesel, from the FRS three patterns added to the sample. The internal standards used were C12 :0-Et, Et and C14 :0-C18 :1-Et in the analysis of methyl biodiesels and C12 :0-Me, Me, and C14 :0-C18 :0-Me for ethyl biodiesels. Using SRF to the analysis of a sample simulating synthetic biodiesel from babassu, where were these short chain esters in high concentrations, the prediction errors (PE%) were respectively 1.4, 2.7, 1.4, 2.2 , and 3.2% for C6 :0-Et ester, C8 :0-Et, C10 :0-Et, Et :0-C12, C14 :0-Et, against 24.4, 13.5, 6 , 2, 2.4 and 2.0% for the same esters determined via standard C17 :0-Me. For samples of palm, soybean and jatropha biodiesels, where the lighter esters are present in concentrations not exceeding 1%, the results of analysis performed by SRF predicted and by standard route C17:0-Me showed no significant differences, as evaluation of the reference method EN ISO 14 103. Even using a larger amount of internal standards, the proposed method has a lower cost than the official method, permitting a quantification of C17 :0-Me which may present in the sample of biodiesel. This method was reliable and applicable to analysis of methyl and ethyl esters oils and fats, where the concentration of esters with carbon chain less that C16 is not more than 1%.

Keywords: ester content, biodiesel, deficiency carbon, response factors

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Reação de transesterificação de triglicerídeos	7
Figura 2 -	Esquema geral de produção de biodiesel	10
Figura 3 -	Separação de metil ésteres em duas colunas capilares de diferentes graus de polaridade.	17
Figura 4 -	Visão seccional do injetor <i>split</i> Varian CP 1177	32
Figura 5 -	Sobreposição de ésteres metílico e etílico de dendê	42
Figura 6 -	Sobreposição de ésteres metílico e etílico de soja	43
Figura 7 -	Sobreposição de ésteres metílico e etílico de pinhão-manso	44
Figura 8 -	Identificação da presença de heptadecanoato de metila (pico em azul) em biodieseis metílicos de dendê, soja e pinhão manso.	47
Figura 9 -	Cromatograma de padrões de ésteres metílicos e etílicos	49
Figura 10 -	Variação dos FRTs e FREs com o aumento da cadeia carbônica da carboxila nos alquil ésteres	51
Figura 11 -	Distribuição dos FRS e dos FREs em função das massas molares dos ésteres metílicos e etílicos	56

Figura 12 -	Correlação entre as massas molares dos ésteres e os FRSs calculados com normalização por ésteres metílicos	58
Figura 13 -	Correlação entre massas molares dos ésteres e os FRSs calculados com normalização por ésteres etílicos	59
Figura 14 -	Correlação entre as massas molares dos ésteres etílicos e os FRS-1 e FRS obtidos para uma razão split de 1:100	60
Figura 15 -	Correlação entre as massas molares dos ésteres metílicos e os FRS-1 e FRS obtidos para uma razão split de 1:100	60
Figura 16 -	Correlação entre as massas molares e os FRS-1 e FRS numa razão <i>split</i> 1:50	72
Figura 17 -	Correlação entre as massas molares e os FRS-1 e FRS numa razão <i>split</i> 1:80	72
Figura 18 -	Correlação entre as massas molares e os FRS⁻¹ e FRS numa razão <i>split</i> 1:100 e temperatura do injetor 245 °C	80
Figura 19 -	Correlação entre as massas molares e os FRS-1 e FRS numa razão <i>split</i> 1:100 e temperatura do injetor 260 °C	80
Figura 20 -	Cromatograma da amostra sintética de biodiesel de babaçú	95
Figura 21 -	Cromatogramas das amostras de biodieseis metílicos	102
Figura 22 -	Cromatogramas das amostras de biodieseis etílicos	111

LISTA DE TABELAS

Tabela	1 -	Padrões de qualidade do biodiesel	14
Tabela	2 -	Fatores de Respostas Teóricas e Experimentais determinados por Akman e Sipos (1964)	22
Tabela	3 -	Composição de óleos vegetais e gorduras	25
Tabela	4 -	Soluções estoques de alquil ésteres	29
Tabela	5 -	Custos de metil e etil ésteres utilizados como padrões cromatográficos	46
Tabela	6 -	Padrões internos em potencial para análise de biodiesel	48
Tabela	7 -	Obtenção de FREs para padrões de ésteres metílicos e etílicos com normalização pelo C18:0-Me	50
Tabela	8 -	Comparação entre os FREs, obtidos através da injeção <i>split</i> , e os FRT	52
Tabela	9 -	Cálculo de FRSs, tendo ésteres metílicos como referência de normalização	54
Tabela	10 -	Cálculo de FRSs, tendo ésteres etílicos como referência de normalização	55
Tabela	11 -	Curvas de regressão das massas molares versus FRS	61
Tabela	12 -	FRS _{Preditos} obtidos com uma vazão <i>split</i> de 1:100 e com normalização pelo C14:0-Me	63
Tabela	13 -	Fatores <i>split</i> preditos obtidos com uma vazão <i>split</i> de 1:100 e com normalização pelo C12:0-Et	64
Tabela	14 -	Previsão das massas de alquil ésteres utilizando os FRS _{Preditos} obtidos com uma vazão <i>split</i> de 1:100 e com normalização pelo C14:0-Me	66
Tabela	15 -	Previsão das massas de alquil ésteres utilizando os FRS _{Preditos} obtidos com uma vazão <i>split</i> de 1:100 e com normalização pelo C12:0-Et	67

Tabela	16 -	Previsão das massas de alquil ésteres utilizando o heptadecanoato de metila como padrão interno	68
Tabela	17 -	Comparação: Determinação pelos FRS_{Preditos} X Determinação pelo C17:0-Me - Vazão <i>split</i> de 1:100	69
Tabela	18 -	Registros das áreas dos ésteres para diferentes condições de razão <i>split</i> e temperatura do injetor	71
Tabela	19 -	Comparação entre $FRS_{\text{Determinados}}$ e FRS_{Preditos} , determinados sob a razão <i>split</i> de 1:50	73
Tabela	20 -	Comparação entre $FRS_{\text{Determinados}}$ e FRS_{Preditos} , determinados sob a razão <i>split</i> de 1:80	74
Tabela	21 -	Determinação de alquil ésteres utilizando os FRS_{Preditos} obtidos para uma vazão <i>split</i> de 1:50	76
Tabela	22 -	Comparação das determinação de alquil ésteres pelos FRS_{Preditos} e pelo C17:0-Me utilizando vazão <i>split</i> de 1:50	77
Tabela	23 -	Determinação de alquil ésteres utilizando os FRS_{Preditos} obtidos para uma vazão <i>split</i> de 1:80	78
Tabela	24 -	Comparação das determinação de alquil ésteres pelos FRS_{Preditos} e pelo C17:0-Me utilizando vazão <i>split</i> de 1:80	79
Tabela	25 -	Comparação entre $FRS_{\text{Determinados}}$ e FRS_{Preditos} determinados com a temperatura do injetor de 245 °C e vazão <i>split</i> de 1:100	83
Tabela	26 -	Comparação entre $FRS_{\text{Determinados}}$ e FRS_{Preditos} determinados com a temperatura do injetor de 260 °C e vazão <i>split</i> de 1:100	84
Tabela	27 -	Determinação de alquil ésteres utilizando os FRS_{Preditos} obtidos para com temperatura do injetor 245 °C e razão <i>split</i> de 1:100	85
Tabela	28 -	Comparação das determinação de alquil ésteres pelos FRS_{Preditos} e pelo C17:0-Me utilizando uma temperatura do injetor de 245 °C e vazão <i>split</i> de 1:100	86

Tabela	29 -	Determinação de alquil ésters utilizando os FRS _{Preditos} obtidos para com temperatura do injetor 260 °C e vazão <i>split</i> de 1:100	87
Tabela	30 -	Comparação das determinação de alquil ésteres pelos FRS _{Preditos} e pelo C17:0-Me utilizando uma temperatura do injetor de 260 °C e vazão <i>split</i> de 1:100	88
Tabela	31 -	Estimativa da Sensibilidade, LD e LQ a partir de soluções com ésteres na concentração de 1,00 mg/mL	90
Tabela	32 -	Estimativa da Sensibilidade, LD e LQ a partir de soluções com ésteres na concentração de 17 µg/mL	91
Tabela	33 -	Estimativa da Sensibilidade, LD e LQ a partir de soluções com ésteres na concentração de 50 µg/mL	92
Tabela	34 -	Estimativa da Sensibilidade, LD e LQ a partir de soluções com ésteres na concentração de 100 µg/mL	93
Tabela	35 -	Equações para previsão dos FRS para análise da amostra sintética de biodiesel de babaçú	95
Tabela	36 -	Determinação de ésteres na amostra sintética de biodiesel de babaçu utilizando FRS _{Predito}	97
Tabela	37 -	Determinação de ésteres na amostra sintética de biodiesel de babaçu utilizando C17:0-Me como padrão interno	98
Tabela	38 -	Comparação de determinações de ésteres metílicos via FRS _{Predito} e C17:0-Me como padrão interno	101
Tabela	39 -	Determinações em amostras de ésteres metílico de dendê utilizando FRS _{Preditos}	103
Tabela	39A -	Determinações em amostras de ésteres metílico de dendê utilizando C17:0-Me como padrão interno	104
Tabela	40 -	Determinações em amostras de ésteres metílico de soja utilizando FRS _{Preditos}	105
Tabela	40A -	Determinações em amostras de ésteres metílico de soja utilizando C17:0-Me como padrão interno	106
Tabela	41 -	Determinações em amostras de ésteres metílico de pinhão-manso utilizando FRS _{Preditos}	107

Tabela	41A -	Determinações em amostras de ésteres metílico de pinhão-manso utilizando C17:0-Me como padrão interno	108
Tabela	42 -	Comparação de determinações de ésteres etílicos via $FRS_{Predito}$ e C17:0-Me como padrão interno	110
Tabela	43 -	Determinações em amostras de ésteres etílico de dendê utilizando $FRS_{Preditos}$	112
Tabela	43A -	Determinações em amostras de ésteres etílico de dendê utilizando C17:0-Me como padrão interno	113
Tabela	44 -	Determinações em amostras de ésteres etílico de soja utilizando $FRS_{Preditos}$	114
Tabela	44A -	Determinações em amostras de ésteres etílico de soja utilizando C17:0-Me como padrão interno	115
Tabela	45 -	Análise da precisão na determinação de ésteres metílicos de dendê utilizando $FRS_{Preditos}$	116
Tabela	46 -	Análise da precisão na determinação de ésteres etílicos de dendê utilizando $FRS_{Preditos}$	117

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 -	Teor de éster em biodiesel conforme Método EN ISO 14103	19
Equação 2 -	Equação para o cálculo dos fatores de resposta teóricos	20
Equação 3 -	Concentração percentual de éster	21
Equação 4 -	Massa de alquil éster	22
Equação 5 -	Cálculo do Fator de Resposta Experimental - FRE	32
Equação 6 -	Fração de massa ativa molecular	35
Equação 7	Resposta relativa do éster	36
Equação 8	Cálculo do Fator de Resposta Split - FRS	36
Equação 9	Cálculo do Fator de Resposta Split - FRS. Equação simplificada	36
Equação 10	Cálculo das massas dos éteres utilizando correção das áreas pelo FRS	37
Equação 11	Cálculo da resolução dos picos	48
Equação 12	Calculo de $t_{\text{calculado}}$ para comparação de FREs com FRTs	51
Equação 13	Equação para $t_{\text{calculado}}$	101
Equação 14	Equação do cálculo do desvo padrão combinado	101
Equação 15	Equação para o cálculo do grau de liberdade quando $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$	101

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$\%_m$	Percentual em massa
CG FID	Cromatografia a gás com detecção por ionização de chama
CV%	Coeficiente de variância
EP%	Erro de previsão
FID	Detector de Ionização de Chama (<i>Flame Ionization Detector</i>)
FRE	Fator de Resposta Experimental
FRS	Fator de resposta <i>split</i>
FRS _{Predito}	Fator de resposta <i>split</i> predito
FRT	Fator de Resposta Teórico
FRTs	Fatores de Respostas Teóricos
LD	Limite de detecção.
LQ	Limite de quantificação.
r^2	Coeficiente de regressão linear
S	Sensibilidade
s	Desvio padrão
RANP	Resolução da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
TEP	Tonelada Equivalente de Petróleo
C6:0 - Me	Hexanoato de metila
C6:0 - Et	Hexanoato de etila
C8:0 - Me	Octanoato de metila
C8:0 - Et	Octanoato de etila
C10:0 - Et	Decanoato de etila

C12:0 -Me	Laurato de metila
C12:0 -Et	Laurato de etila
C14:0 - Me	Miristato de metila
C14:0 - Et	Miristato de etila
C16:0 - Me	Palmitato de metila
C16:0 - Et	Palmitato de etila
C17:0 -Me	Heptadecanoato de metila
C18:0 - Me	Estearato de metila
C18:1 - Me	Oleato de metila
C18:0 - Et	Estearato de etila
C18:1 - Et	Oleato de etila
C18:2 - Me	Linoleato de metila
C18:2 - Et	Linoleato de etila
C20:0 - Me	Araquidato de metila
C22:0 - Me	Behenato de metila
C22:0 - Et	Behenato de etila
C24:0 - Me	Tetracosanoato de metila

SUMÁRIO

1.	Introdução	1
2.	Transesterificação de óleos e gorduras para produção de biodiesel	6
3.	Métodos analíticos para avaliação da qualidade do biodiesel	12
4.	Determinação de alquil ésteres em biodiesel (Teor de éster)	16
5.	Objetivos	27
5.1	<i>Objetivo geral</i>	27
5.2	<i>Objetivos específicos</i>	27
6.	Materiais:	28
6.1	<i>Soluções</i>	28
6.2	<i>Amostras de biodiesel/alquil ésteres</i>	30
6.3	<i>Equipamento</i>	31
7.	Metodologia	33
7.1	<i>Identificação de novos padrões internos</i>	33
7.2	<i>Fatores de correção para injeção split</i>	35
7.3	<i>Previsão e validação dos fatores de resposta split</i>	37
7.3.1	<i>Efeito da variação da vazão split e da temperatura do injetor</i>	38
7.3.1.1	<i>Influência da vazão split</i>	38
7.3.1.2	<i>Influência da temperatura do injetor na determinação utilizando FRS</i>	38
7.3.2	<i>Sensibilidade, limite de detecção e limite de quantificação</i>	39
7.3.3	<i>Exatidão e Precisão</i>	39
8.	Resultados e Discussão	41
8.1	<i>Identificação de novos padrões internos</i>	41
8.2	<i>Fatores de correção para injeção split</i>	53

8.3	<i>Previsão e validação dos fatores de resposta split</i>	61
8.3.1	<i>Efeito da variação da vazão split e da temperatura do injetor</i>	70
8.3.1.1	<i>Influência da vazão split</i>	70
8.3.1.2	<i>Influência da temperatura do injetor na determinação utilizando FRS</i>	80
8.4	<i>Sensibilidade, limite de detecção e limite de quantificação</i>	89
8.5	<i>Análises de amostras de biodiesel utilizando FRS_{Preditos}</i>	94
8.5.1	<i>Análise da amostra sintética – Avaliação da exatidão</i>	94
8.5.2	<i>Teor de ésteres em biodiesel metílico</i>	99
8.5.3	<i>Teor de éster em biodiesel etílico</i>	109
8.6	<i>Precisão</i>	116
9.	Considerações finais	118
10.	Perspectivas	119
11.	Referência Bibliográfica	120

1. Introdução

Buscando a sobrevivência o homem aprendeu a viver em sociedade e a usar e transformar a energia em seu favor. Inicialmente o uso de energia limitou-se a procedimentos simples como iluminação, aquecimento e cozimento dos alimentos. Mais tarde, passou-se a utilizar a energia em procedimentos mais elaborados e complexos, tais como transporte e industrialização (UNANDER, 2005). Atualmente a sociedade moderna goza das facilidades providas pelo avanço tecnológico e tem o consumo de energia diretamente relacionado com o nível de desenvolvimento (KESSIDES, 2009).

Embora a energia seja essencial ao bem-estar e à qualidade de vida, a sua produção e consumo geram problemas ambientais que podem ter conseqüências sérias e mesmo pôr em risco a sustentabilidade, em longo prazo, dos ecossistemas do planeta (SARTBAEVA *et al.*, 2008). A queima de combustíveis fósseis tem sido a principal causa da poluição atmosférica. Gases são lançados na atmosfera, a exemplo dos óxido de enxofre e de nitrogênio (SO_x e NO_x), responsáveis diretos pelas chuvas ácidas, e os chamados gases de efeito estufa, como o dióxido de carbono - CO₂ e o metano - CH₄, que contribuem para o aquecimento global.

Ainda nos gases da queima são encontrados compostos tóxicos com características carcinogênicas, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) (CORRÊIA e ARBILLA, 2006; HEEB *et al.*, 2010) e materiais particulados, responsáveis por doenças respiratória (LUCKING, 2008).

A demanda de energia está atrelada ao desenvolvimento econômico e ao crescimento populacional. Com uma média de crescimento anual da população mundial na ordem de 1% e um crescimento anual médio previsto de 2 % na demanda de energia, é calculado para o ano de 2030 um consumo de 18.185 milhões de toneladas equivalentes de petróleo por ano de energia (TEP/ano), com a previsão total de 46,7 bilhões de toneladas de CO₂ a serem lançados na atmosfera (MME, 2009).

Considerando a oferta mundial de energia em 2008, o petróleo representa 34,4% de toda oferta, seguido do carvão mineral com 26,0%, gás natural com 20,5%, e energia nuclear com 6,2%. Estas totalizam as fontes de energias de origem não

renovável e que correspondem a 87,1% da oferta de energia no mundo. Restando apenas 12,9% desta oferta que são supridos por fontes renováveis, sendo 10,1% de biomassa e 2,2% de energia hidráulica (MME, 2009).

No Brasil, verifica-se uma participação menor de fontes de energias não renováveis na matriz energética (54,6%). O uso de petróleo e derivados continua sendo a principal fonte energética (37,4%), com pouca diferença no percentual de oferta exibido na matriz energética mundial. A diferença está na maior oferta de energias renováveis no Brasil, constituída de 31,5% de energia proveniente de biomassa e 13,9% hidráulica (MME, 2009).

Suprir a demanda energética mundial tem sido um grande desafio para nossa sociedade. A contínua elevação do preço do barril de petróleo e as questões ambientais associadas à queima de combustíveis fósseis, também têm contribuído para colocar a humanidade frente à necessidade de novas fontes energéticas. Para garantir o abastecimento energético no futuro é necessário diversificar as fontes de energia, desenvolver novas tecnologias e, além disso, são imprescindíveis iniciativas políticas.

A biomassa foi a primeira fonte de energia utilizada pela humanidade, tendo sido aproveitada por milhares de anos. Gradualmente foi substituída após a descoberta de grandes quantidades de combustíveis fósseis baratos e mais convenientes para uso e o transporte (THORNLEY, 2006). O uso em larga escala da energia proveniente da biomassa tem sido considerado como uma grande opção que poderia contribuir para o desenvolvimento sustentável nas áreas ambiental, social e econômica (TREVISANI *et al.*, 2007; SERRANO-RUIZ, *et al.*, 2010). Quanto às características ambientais, a biomassa não contribui para o aquecimento global devido ao ciclo de carbono quase fechado, ou seja, grande parte do dióxido de carbono emitido é reabsorvido nas áreas agriculturáveis, tornando a fazer parte de nova biomassa. Na área social, o emprego da biomassa para produção de energia seria uma excelente oportunidade para diversificação do rendimento e do emprego nas zonas rurais, sendo, portanto, um eficiente instrumento de fixação do homem no campo. Na área econômica, o uso de biomassa para fins energéticos representa a redução da dependência da importação de petróleo, cujo preço tem sofrido contínuo aumento, forçando tanto a sociedade quanto o setor empresarial a buscar a diversificação das fontes de energia (SERRANO-RUIZ, *et al.*, 2010).

Assim como foi com a gasolina, que teve seu consumo reduzido pela introdução do álcool na matriz energética brasileira, o biodiesel surge como substituto potencial do diesel mineral, num momento de grandes oscilações do preço do petróleo no mercado mundial. A busca por um substituto do diesel é justificada pela sua importância estratégica na economia mundial. Grande parte do diesel consumido no mundo é utilizada em transporte e na produção agrícola (MME, 2009), atividades estas de grande impacto econômico, e que tem impulsionado vários países na busca por alternativas para a auto-suficiência energética.

O biodiesel apresenta vantagens sobre o diesel de petróleo, pois é proveniente de fontes renováveis, além da melhor qualidade das emissões durante o processo de combustão (ATADASHI *et al.*, 2010). Neste contexto, são observadas reduções na emissão de CO, de SO_x e de materiais particulados. Por ser proveniente de biomassa, o biodiesel não contribui para o aquecimento global.

O biodiesel é compatível com o diesel convencional, podendo ser adicionado a este em proporção variada. Estudos mostraram redução da emissão de PAHs, em comparação com a exaustão diesel, de 2,7% para o B2 (mistura de 2 % de Biodiesel e 98% de diesel), 6,3% para o B5 (mistura de 5% de biodiesel e 95% de diesel) e 17,2% para B20 (mistura de 20% de biodiesel em diesel) (CORRÊIA e ARBILLA, 2006). Embora o biodiesel forneça uma quantidade de energia 10% menor que o diesel de petróleo, seu desempenho no motor é praticamente o mesmo no que diz respeito à potência e ao torque (ATADASHI *et al.*, 2010). O biodiesel possui maior viscosidade que o diesel, proporcionando uma maior lubrificidade, o que é importante para redução de desgastes das partes móveis do motor.

A introdução do biodiesel na matriz energética brasileira foi autorizada através da Lei Federal 11.097 de janeiro de 2005. O percentual mínimo obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no país foi fixado em 5% em volume, percentual este a ser alcançado em oito anos, após a publicação da referida lei. A capacidade de produção de biodiesel instalada no País superou as expectativas, fazendo com que a previsão do percentual mínimo obrigatório de 5% fosse antecipada. Conforme a Resolução N° 6/2009 do Conselho Nacional de Políticas Energéticas (CNPE) do Ministério de Minas e Energia, ficou estabelecido em cinco por cento, em volume, o percentual mínimo obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel a partir de 1º de janeiro de 2010.

O governo brasileiro, valendo-se da grande extensão territorial do país e da variedade edafoclimática, optou pela produção descentralizada de biodiesel, o que implica em diferentes rotas tecnológicas, escalas de produção, matérias-primas e insumos. Para tanto, foi implantado o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB) que tem como objetivo fomentar a produção e o uso do Biodiesel, promovendo a inclusão social e desenvolvimento regional via geração de emprego e renda. Para garantir o bom desempenho do combustível, a qualidade das emissões da queima, a integridade do motor e a segurança no transporte e manuseio do biodiesel, os contaminantes devem ser monitorados tendo como base os valores limites estabelecidos nos padrões de qualidade. No caso do biodiesel brasileiro, para que se possa conquistar maior credibilidade e, principalmente, uma maior abertura aos mercados externos, o monitoramento dos padrões de qualidade deverá ser mais criterioso.

Dentre os parâmetros de qualidade do biodiesel apresentados na Resolução Nº 07/2008 da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (RANP 07/08), o teor de ésteres destaca-se por refletir a pureza do biodiesel a ser misturado ao diesel mineral. Conforme a RANP 07/08, a concentração mínima aceitável de ésteres no biodiesel é de 96,5%, a ser determinada através do método cromatográfico EN ISO 14103, desenvolvido na Europa para quantificação de ésteres em biodiesel de colza, girassol e soja (SCHOBER *et al.*, 2006). Este método não é adequado para a quantificação de ésteres em biodiesel, que contenha quantidades significativas de alquil ésteres com cadeia carbônica menor que C14. Como o carbono da carboxila do éster não contribui para a resposta no detector de ionização de chama (FID), a quantidade relativa de carbonos ativos diminui à medida que reduz a massa molar do éster, resultando em respostas diferenciadas no sistema de detecção, necessitando, portanto, de correção. Neste caso, as diferenças observadas podem ser corrigidas através de aplicação de fatores de resposta (SCHREINER & HULAN, 2004). Por outro lado, a mistura de ésteres de diferentes massas molares resultará não apenas em respostas diferenciadas no FID, mas também na discriminação de compostos devido à ampla faixa de volatilidade dos componentes. A evaporação dos componentes da amostra tem início na introdução da microseringa no injetor aquecido. Ainda na agulha, os componentes de massa molar relativamente baixa são vaporizados mais rapidamente e introduzidos no

injetor. Parte dos componentes de alto ponto de ebulição são retidos, tendo a sua discriminação iniciada na agulha. Esse problema foi minimizado com a introdução de amostradores automáticos rápidos, que reduzem o tempo de introdução da agulha no septo, da injeção da amostra e retirada da agulha (GROB & BIEDERMANN, 2000).

A discriminação dos compostos pode estar associada a diferença de volatilidade entre compostos e a processos de retenção e adsorção de componentes da amostra nas partes internas do injetor, podendo acarretar erros de quantificação (GROB & BARRY, 2004). A retenção de compostos na câmara de vaporização pode ocorrer devido a interações com materiais, tais como contaminantes. A adsorção depende da presença de sítios ativos e, em algum momento, eles estarão saturados, ocasionando um desempenho não-linear (GROB, 2001). A transferência incompleta de compostos de alto ponto de ebulição também é observada no modo de injeção *split*, resultando na discriminação entre componentes da amostra de baixo e alto ponto de ebulição (BUSER *et al.*, 2000).

Na determinação do teor de ésteres em biodiesel através do método EN ISO 14103, o ácido heptadecanóico é utilizado como padrão interno. Este padrão é um ácido graxo raro, mas que pode estar presente em alguns óleos e gorduras e, neste caso, interferirá na determinação dos ésteres metílicos (SCHOBBER *et al.*, 2006). Canacki (2007) relata ter encontrado 0,5% de heptadecanoato de metila em biodiesel de sebo. Moraes e colaboradores caracterizaram o sebo bovino quanto ao teor de ácidos graxos e relatam ter encontrado 1,74% do ácido heptadecanóico e, após a transesterificação; 1,59% de heptadecanoato de metila no biodiesel. Neste caso, o uso do heptadecanoato de metila é inadequado e, como consequência, o teor de ésteres no biodiesel será subestimado. Em comparação com outros alquil ésteres, verifica-se que o padrão heptadecanoato de metila é caro, contribuindo para o custo final da análise.

Uma vez que o biodiesel brasileiro é obtido da produção descentralizada, onde se tem diferentes características e qualidades, padrões internos adequados e novas estratégias de quantificação deverão ser propostos, buscando resultados mais confiáveis para a análise do biodiesel nacionais. Novos alquil ésteres de ácidos graxos devem ser avaliados como padrão, buscando redução de custos e evitar erros ocasionados pela sobreposição de picos. Faz-se necessário também a

adequação do método de quantificação de alquil ésteres em biodiesel (Teor de Éster) para que sejam incluídos os alquil ésteres de cadeia curta, a exemplo do laurato de metila. Deste modo, se garantirá a aplicação do método analítico a análise de biodiesel oriundo de diferentes matérias-primas.

O presente trabalho tem como proposta o desenvolvimento de um novo método cromatográfico para quantificação de alquil ésteres em amostras de biodiesel, com aplicação de padrões cromatográficos de custos mais baixos e condições que permitam a quantificação de ésteres de cadeia curta, sendo de grande utilidade para a diversificação das matérias-primas empregadas na produção nacional de biodiesel.

2. Transesterificação de óleos e gorduras para produção de biodiesel

O uso de óleos vegetais como combustível automotivo data da elaboração do motor de ciclo diesel por Rodolf Diesel, em 1898. Por razões tanto econômicas quanto técnicas, o emprego dos óleos vegetais como combustível deu lugar ao diesel de petróleo (DEMIRBAS, 2003). O baixo preço e a oferta dos derivados de petróleo, na época, influenciaram decisivamente na escolha pelo diesel mineral.

Quando o óleo vegetal é utilizado por um grande período nos motores, observa-se a formação de depósitos de carbono e gomas nas suas partes internas, provenientes de reações de oxidação e polimerização. Estes problemas estão associados à elevada viscosidade, baixa volatilidade e ao caráter poliinsaturado dos óleos vegetais (LEUNG *et al.*, 2006). Várias estratégias foram estudadas, então, com a finalidade de obter solução para este problema, sendo elas a diluição do óleo vegetal em diesel, o uso de micro-emulsão com álcoois, o craqueamento e a transesterificação. A transesterificação de óleos e gorduras foi a que apresentou resultados mais promissores, sendo a atualmente empregada para a produção industrial de biodiesel (HELWANI *et al.*, 2009).

A transesterificação é a reação entre um éster e um álcool, onde há a troca do grupo alcóxido do éster pelo proveniente do álcool. No caso da produção do biodiesel, os ésteres empregados são triacilglicerol, componentes majoritários dos

óleos e gorduras de origem animal ou vegetal, que serão postos para reagir com um álcool de cadeia curta. Este tipo de reação ocorre através de substituição nucleofílica, típica dos derivados carboxílicos que pode ser catalisada tanto por ácido quanto por base. A transesterificação de triacilgliceróis tem como resultado a formação de uma mistura de alquil ésteres de cadeia linear, denominada biodiesel (Figura 1), e tem como co-produto a glicerina.

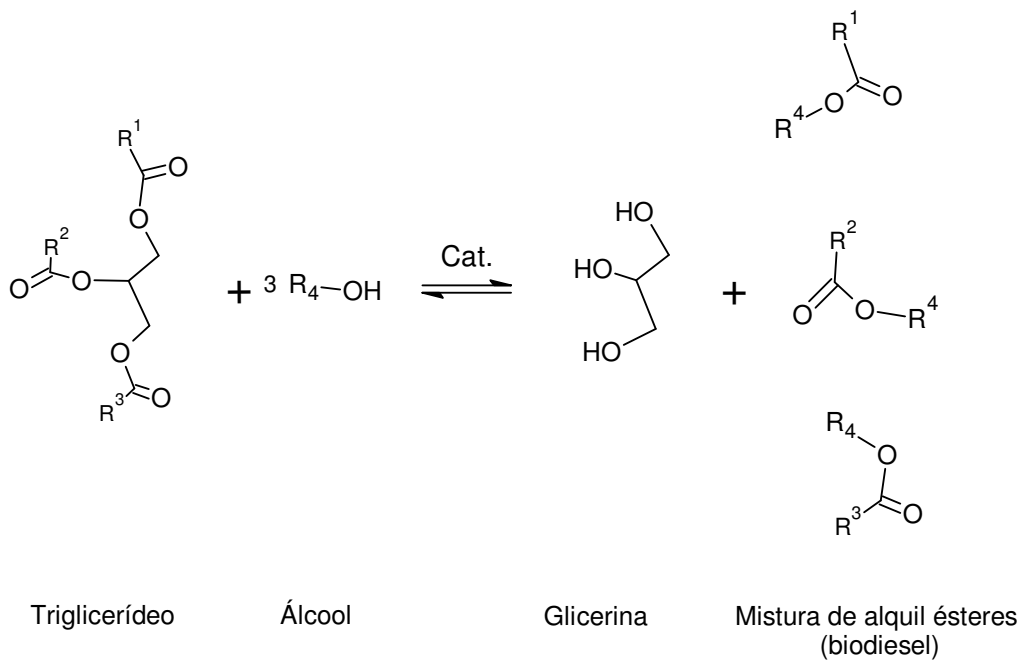


Figura 1 – Reação de transesterificação de triacilgliceróis

Como o biodiesel possui estruturas moleculares mais simples que o seu precursor, os triacilgliceróis, a sua viscosidade é comparativamente menor, apresentando maior eficiência de atomização na câmara de combustão, reduzindo significativamente os problemas de heterogeneidade da combustão e, por conseguinte, a deposição de resíduos nas partes internas do motor.

Os alcoóis empregados na transesterificação de óleos e gorduras para produção de biodiesel são alcoóis de cadeia curta, sendo que os mais utilizados são o metanol e o etanol. Comercialmente, o metanol tem tido maior preferência por ser mais reativo, o que conseqüentemente implica em menor temperatura e tempo de reação, além do menor consumo do álcool. O etanol, no entanto, além de ter

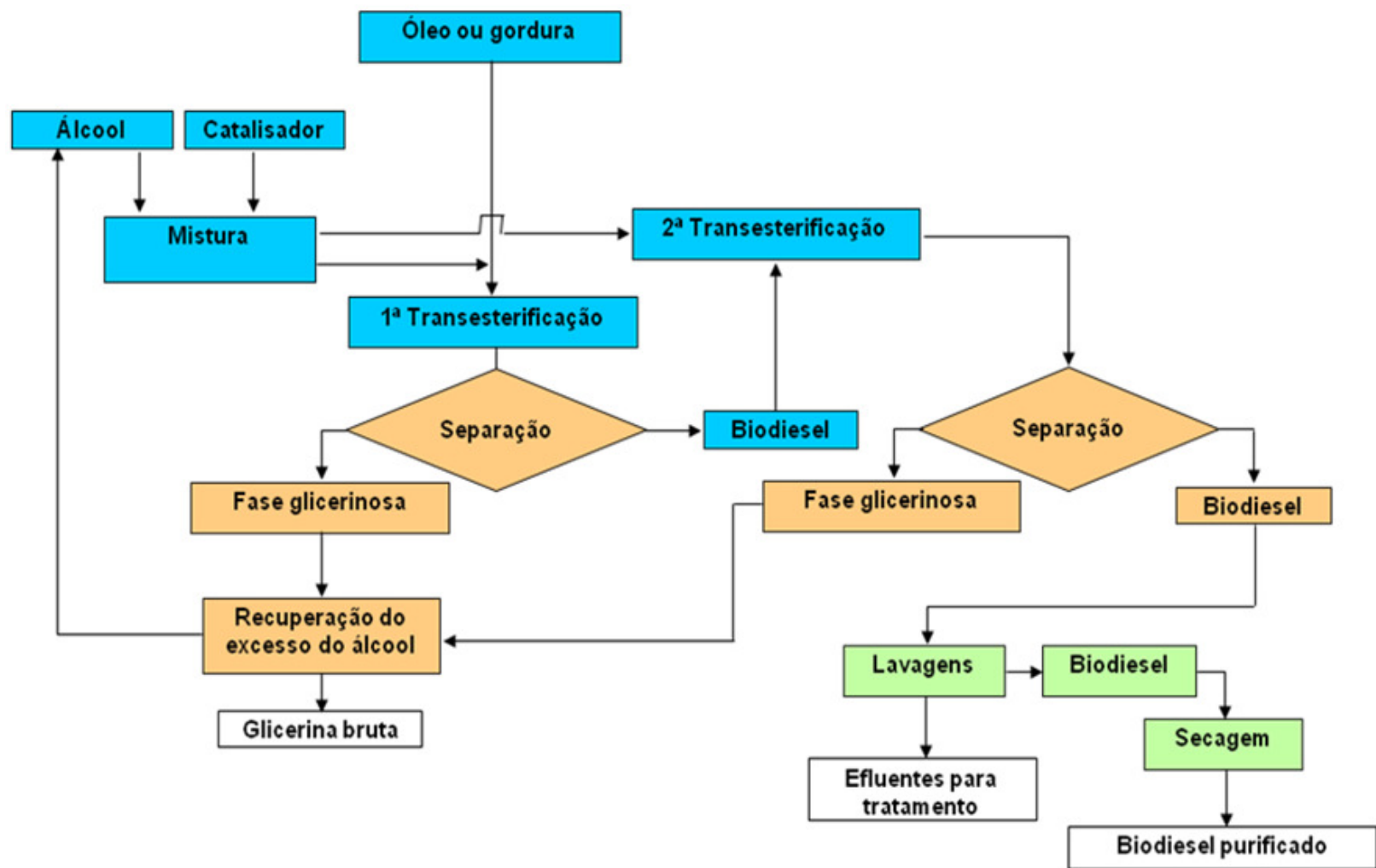
produção consolidada no Brasil, é consideravelmente menos tóxico, renovável e produz biodiesel com maior número de cetano e lubricidade. Uma grande desvantagem do etanol está no fato deste ser menos reativo, representando custos adicionais para manter condições reacionais (ex.: temperatura, maior razão álcool/óleo e tempo de reação) que garantam conversões em alquil ésteres que sejam economicamente viáveis. Outra desvantagem do etanol está no fato de promover uma maior dispersão da glicerina no biodiesel, dificultando a sua separação.

A razão molar estequiométrica álcool/óleo para a reação de transesterificação é de 3 mols de álcool para cada 1 mol de triglicerídeo. A transesterificação é uma reação reversível, logo, costuma-se utilizar um excesso de álcool e a remoção da glicerina, para deslocar o equilíbrio da reação, obtendo-se maiores rendimentos. Para o metanol, a razão molar comumente empregada é de 6:1, enquanto que para o etanol, a razão é de 9:1 a 12:1 (BONDIOLI e BELLA, 2005; SHARMA *et al.*, 2008; LEUNG *et al.*, 2010).

A Figura 2 apresenta um esquema simplificado de produção de biodiesel. Neste esquema estão ressaltadas três etapas: a etapa de produção, onde ocorre o processo de mistura e a reação de transesterificação; a etapa de separação, onde o biodiesel produzido é separado do álcool excedente e da glicerina (co-produto); e a etapa de purificação, responsável pela remoção das impurezas do biodiesel, como a glicerina residual, sabões, catalisador e álcool remanescentes. Logo após a etapa de separação, o biodiesel pode passar por uma segunda etapa de transesterificação, com o objetivo de obter maior rendimento. O excesso de álcool pode ser recuperado na etapa de separação e empregado em transesterificações subsequentes. A glicerina bruta pode ser encaminhada para compostagem ou produção de biogás (ROBRA, 2007) e, dependendo da sua qualidade, pode ser purificada e empregada para fins mais nobres, a exemplo da confecção de cosméticos, explosivos, plastificante, polímeros etc (RIVALDI *et al.* 2007; MOTA *et al.* 2009).

A reação de transesterificação de óleos ou gorduras é realizada na presença de catalisadores ácidos, básicos ou enzimáticos, que podem estar presentes na forma homogênea ou heterogênea em relação ao meio reacional. Na transesterificação ácida são empregados preferencialmente como catalisadores homogêneos os ácidos sulfônicos e ácido sulfúrico. Este tipo de catalisador

apresenta vantagem sobre os catalisadores básicos, quando empregado na transesterificação de óleos e gorduras com alto teor de ácidos graxos livres. No entanto, requerem tempos e temperaturas de reação maiores, bem como elevada razão álcool/óleo, além de serem mais corrosivos (LAM *et al.*, 2010). Dentre os catalisadores alcalinos homogêneos mais empregados têm-se os alcóxidos de sódio e potássio. Este catalisador é muito ativo, resultando em rendimentos superiores a 98% na reação de transesterificação; no entanto, é sensível à água presente nos óleos e gorduras. Os alcóxidos podem ser gerados pela reação de hidróxidos de sódio ou de potássio com álcool a ser utilizado na transesterificação (ácido de Bronsted-Lowry). Esta estratégia garante menor custo e promove rendimentos satisfatórios, deve-se, contudo, atentar para quantidade de hidróxido a ser empregada, pois a água gerada como co-produto da reação de neutralização entre o álcool e o hidróxido favorecerá a reação de saponificação (LEUNG *et al.*, 2010).



- Etapa de produção
- Etapa de separação
- Etapa de purificação

Figura 2 – Esquema geral de produção de biodiesel através da catálise homogênea alcalina.

Os catalisadores homogêneos apresentam como desvantagem a impossibilidade de reutilização e a necessidade de uma etapa adicional de lavagem para a sua remoção do biodiesel, em conjunto com a glicerina residual. Deste modo, custos adicionais são incluídos ao processo com a inclusão de etapas de lavagem e tratamento dos efluentes gerados. Neste sentido, várias pesquisas têm sido realizadas no desenvolvimento de catalisadores heterogêneos para a transesterificação de óleos e gorduras, buscando as vantagens deste tipo de catalisadores, tais como: a possibilidade de reutilização do catalisador e a simplificação do processo de purificação do biodiesel, pois os materiais heterogêneos são facilmente removidos por um simples processo de filtração, reduzindo assim a emissão de efluentes.

Os catalisadores enzimáticos apresentam-se como uma possibilidade promissora. O alto custo deste tipo de catalisador torna inviável a sua aplicação como catalisadores homogêneos. Estes podem ser empregados como catalisadores heterogêneos na transesterificação de óleo vegetais, na presença de ácidos graxos livres e na presença de certa quantidade de água (ZENG *et al.* 2006; NIE *et al.* 2006; LI *et al.* 2006, LAM *et al.*, 2010).

3. Métodos analíticos para avaliação da qualidade do biodiesel

A reação de transesterificação de óleos e gorduras para produção de biodiesel é bastante conhecida, no entanto, por mais otimizada que esteja a sua aplicação em escala industrial, alguns contaminantes estarão presentes no produto final. Surge assim a necessidade de estabelecer padrões de qualidade do biodiesel, objetivando fixar teores limites dos contaminantes que não venham a prejudicar a qualidade das emissões da queima, bem como o desempenho e a integridade do motor. Parâmetros que indiquem possíveis degradações do biodiesel também são necessários para monitoramento do produto durante o processo de estocagem.

A Áustria foi o primeiro país no mundo a definir e aprovar os padrões para ésteres metílicos de colza como o combustível diesel. Subsequentemente, padrões de qualidade foram sendo estabelecidos em outros países como a Alemanha, Itália, França, República Checa e nos Estados Unidos (BONDIOLI; BELLA, 2005). Dentre os padrões de qualidade conhecidos atualmente, dois figuram como os mais conhecidos e são geralmente usado como a referência ou a base para outros padrões. São estes o padrão de qualidade estabelecido nos Estados Unidos pela ASTM (American Society of Testing and Materials), através da norma ASTM D 6751, e o estabelecido na União Européia, através das normas EN 14214 e EN 14213, para qualidade do óleo de calefação, ambos do Comitê Europeu de Normalização (Comité Européen de Normalisation - CEN). A norma EN 14213, por tratar de biodiesel que não tem fins de uso automotivos, difere da norma EN 14214, não fixando valores para o número de cetano, corrosão ao cobre, teor de ácido linolênico, teor de metanol, glicerina total, metais e fósforo, parâmetros esses associados ao desempenho do combustível e à manutenção da integridade do motor.

A norma européia, desenvolvida a partir de normas preexistentes em diferentes países da Europa (KNOTHE, 2005), define biodiesel como ésteres monoalquílicos feitos com metanol, ou ésteres metílicos de ácido graxos (fatty acid methyl esters - FAME). O teor mínimo de éster é especificado em 96,5%, não sendo permitida a adição de componentes, à exceção dos aditivos. A ASTM define o biodiesel como um combustível composto por ésteres alquílicos de ácidos graxos de cadeia longa, derivados dos óleos vegetais ou de gorduras animais, a ser misturado

ao diesel mineral, enquanto que a norma Européia estabelece as especificações do biodiesel puro (B100), que pode ser utilizado diretamente no motor. Na Europa o óleo de colza tem sido amplamente utilizado na produção de biodiesel. No entanto, devido à concorrência com a indústria alimentícia, bem como a outras aplicações tradicionais, tem-se buscado fontes de matérias-primas alternativas, o que significará adequações a serem implementadas na EN 14214 (METHANOL INSTITUTE, 2007).

No Brasil, a Lei 11097/05 instituiu a obrigatoriedade da adição de 2% de biodiesel ao diesel (mistura B2) a partir de janeiro de 2008 e torna obrigatórias as misturas de 5% até 2013. Antecipando as previsões, o Conselho Nacional de Políticas Energéticas (CNPE) tornou obrigatória a adição de 5% de biodiesel ao diesel (mistura B5) a partir de 1º de janeiro de 2010. Esta medida, além de fortalecer a indústria nacional e reduzir a participação do diesel mineral na matriz energética nacional, visa também escoar a produção nacional de biodiesel. As especificações do B100, a ser misturado com o diesel mineral, são estabelecidas pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), através da Resolução nº 07 de 2008 (RANP 07/08) que substituiu a Resolução nº 42 de 2004, tornando os critérios de avaliação da qualidade do biodiesel brasileiro mais restritivos. Os padrões de qualidades presentes nesta resolução foram constituídos com base nas normas ASTM D6751 e EN 14214 (Tabela 1). A mistura óleo diesel/biodiesel tem sua especificação estabelecida pela resolução ANP 15/2006. Como se pode verificar na Tabela 1, a norma ASTM é menos rigorosa, pois, para essa, o biodiesel deverá ser empregado em mistura com diesel, estando em adequação com os seus propósitos. Neste sentido, cabe questionamentos quanto o rigor da RANP 07/08, visto que o biodiesel utilizado no mercado interno também é misturado ao diesel, estando os contaminantes diluídos no caso do B5.

Entre os parâmetros instituídos nas normas, encontram-se os que são provenientes da normatização do diesel mineral, assinalados na Tabela 1, e os que são específicos para os óleos vegetais, alguns comumente utilizados na indústria óleo-química. Parâmetros como viscosidade cinemática, ponto de fulgor e cinzas sulfatadas, embora tenham origem na normatização do diesel mineral, fornecem resultados bastante esclarecedores quanto à qualidade do biodiesel.

Tabela 1 – Padrões de qualidade do biodiesel *

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	Brasil	UE	EUA
		ANP 07/2008	EN 14214	ASTM D6751
Aspecto	---	Límpido e isento de impurezas	---	---
Massa específica *	kg/m ³	850 – 900 a 20°C	860 – 900 a 15°C	---
Viscosidade Cinemática a 40°C *	mm ² /s	3,0 – 6,0	3,5 -5,0	1,9 – 6,0
Água e sedimentos, máx. *	% volume	---	---	0,05
Ponto de fulgor, mín. *	°C	100	120	130
Destilação; 90% vol. recuperados, máx. *	°C	---	---	360
Resíduo de carbono dos, máx. *	% massa	Em 100% da amostra 0,050	10% residual da destilação 0,3	Em 100% da amostra 0,05
Cinzas sulfatadas, máx. *	% massa	0,020	0,02	---
Enxofre total, máx. *	mg/Kg	50	10	15
Corrosividade ao cobre, 3h a 50°C, máx. *	-	1	1	3
Número de Cetano *	-	Anotar	51 (mín.)	47 (mín.)
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx. *	°C	19	Por região	---
Ponto de Fluidex (pour point - PP) *	°C	---	Por região	---
Ponto de nuvem (cloud point - CP) *	°C	---	----	Registrar
Sódio + Potássio, máx	mg/kg	5	5	---
Cálcio + Magnésio, máx	mg/kg	5	5	---
Fósforo, máx	mg/kg	10	10	10
Contaminação Total, máx	mg/kg	24	24	---
Teor de éster , mín.	% massa	96,5	96,5	---
Índice de acidez, máx.	mg KOH/g	0,50	0,5	0,5
Glicerina livre, máx.	% massa	0,02	0,02	0,02
Glicerina total, máx.	% massa	0,25	0,25	0,24
Monoglicerídeos	% massa	Anotar	0,8 (máx)	---
Diglicerídeos	% massa	Anotar	0,2 (máx)	---
Triglicerídeos	% massa	Anotar	0,2 (máx)	---
Metanol ou Etanol, máx.	% massa	0,20	0,20	---
Índice de Iodo	g I ₂ /100 g	Anotar	120 (máx)	---
Estabilidade à oxidação a 110°C, mín	h	6	6	---
Água, Max	mg/kg	500	500	500
Ácido linolênico	% massa	---	12 max	---
Metil ésteres com mais que 4 insaturações	%mass	---	1 max	---

* Parâmetros típicos da normatização do diesel mineral

A qualidade do biodiesel pode sofrer variações conforme as estruturas moleculares dos seus ésteres constituintes ou devido à presença de contaminantes oriundos da matéria prima, do processo de produção ou formados durante a estocagem do biodiesel. As estruturas moleculares dos ésteres podem variar tanto no tamanho da cadeia carbônica quanto na quantidade e posição de insaturações, ou mesmo devido à presença de substituintes na cadeia, a exemplo da hidroxila ligada em C12 do ácido ricinoléico proveniente da mamona. Contaminantes procedentes da matéria prima, a exemplo do fósforo, enxofre, cálcio e magnésio, podem também ser encontrados no biodiesel. Dependendo da eficiência do processo de produção também podem estar presentes em maior ou menor quantidade: glicerina livre, glicerídeos não reagidos, sabões, álcool residual, resíduos de catalisadores e água. A absorção de umidade e os processos de degradação oxidativa durante o armazenamento do biodiesel contribuem para a presença de água, peróxidos e ácidos carboxílicos de baixa massa molecular. Neste contexto, os métodos analíticos para avaliação da qualidade do biodiesel podem ser separados em quatro grupos conforme as informações que proveêm:

- Métodos analíticos para determinação de contaminantes provenientes da matéria prima;
- Métodos analíticos para avaliação do processo produtivo;
- Métodos analíticos para avaliação das propriedades inerentes às estruturas moleculares;
- Métodos analíticos para monitoramento da qualidade do biodiesel durante o processo de estocagem.

A partir dos métodos analíticos aplicados na avaliação da qualidade do biodiesel, podem-se obter informações importantes a respeito da seleção da matéria prima, do processo fabril e do armazenamento, bem como do desempenho do biodiesel como combustível e da qualidade das suas emissões.

4. Determinação de alquil ésteres em biodiesel (Teor de éster)

Por mais otimizada que esteja a produção de biodiesel em escala industrial, resíduos de contaminantes poderão estar presentes no produto final. Para garantir o bom desempenho do combustível, a qualidade das emissões da queima, a integridade do motor e a segurança no transporte e manuseio do biodiesel, os contaminantes devem ser monitorados tendo como base os valores limites estabelecidos nos padrões de qualidades. No caso do biodiesel brasileiro, para que se possa conquistar maior credibilidade e, principalmente, uma maior abertura para sua disponibilização aos mercados externos, o monitoramento dos padrões de qualidade deverá ser mais criterioso, uma vez que o biodiesel obtido da produção descentralizada resultará em biodiesel com diferentes características e qualidades (LÔBO *et al.*, 2009). Dentre os parâmetros de qualidade do biodiesel apresentados na Resolução n. 07/2008 da Agência Nacional Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (RANP 07/08), o teor de ésteres destaca-se por refletir a pureza do biodiesel a ser misturado ao diesel mineral.

O método de determinação do teor de éster em biodiesel é uma variação de métodos cromatográficos estabelecidos para caracterização de óleos e gorduras, a exemplo dos métodos padronizados pela ASTM (método D1983-90) e da American Oil Chemists Society –AOCS (métodos Ce 1-62, Ce 1e-91 e Ce 1c-89). Nestes procedimentos, tanto os ácidos graxos livres como os glicerídeos são convertidos a ésteres metílicos antes de serem analisados por cromatografia a gás. Os ésteres metílicos de ácidos graxos são mais voláteis em função da suas estruturas mais simples e de baixa massa molecular, resultando em picos com excelente perfil e resolução (CHRISTIE, 1989).

Como na grande maioria das análises por cromatografia a gás, a determinação de alquil ésteres de ácidos graxos é realizada em colunas capilares. Comparadas com as colunas empacotadas, as colunas capilares oferecem uma maior resolução dos componentes da amostra, picos com largura de banda mais estreitas, menor tempo de análise, menor tamanho da amostra (GROB e BARRY, 2004). A escolha do comprimento dessas colunas reflete o compromisso com a resolução dos picos e

o tempo da análise. Colunas capilares com fase estacionária polar de polietilenoglicol, com comprimento de 10 a 25 metros e diâmetro interno de 0,2 a 0,3 mm, são utilizadas quase que universalmente, oferecendo resoluções satisfatórias nas análises de alquil ésteres. Em colunas polares, os alquil ésteres eluem por ordem crescente de massa molar e polaridade; logo, os alquil ésteres insaturados eluem após o seu correspondente saturado. O aumento da polaridade da coluna não altera a ordem de eluição para ésteres com mesmo comprimento da cadeia carbônica (Figura 3), mas pode alterar a ordem de eluição quando os ésteres possuem diferentes comprimentos da cadeia, por exemplo, C18:3 e C20:0 (CHRISTIE, 1989). Isto é explicado pelo aumento da afinidade dos compostos insaturados, com maior momento de dipolo, com a fase estacionária mais polar, acarretando no aumento do tempo de retenção.

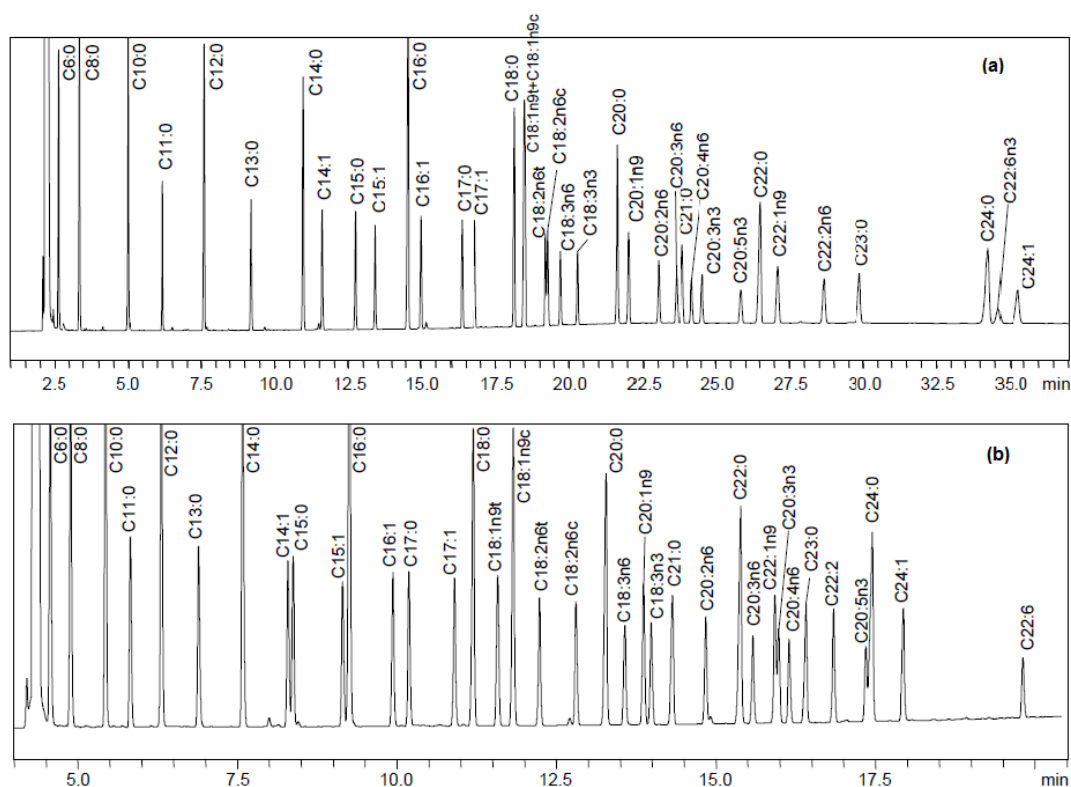


Figura 3 – Separação de metil ésteres em duas colunas capilares de diferentes graus de polaridade (SHIMADZU, 2010): **(a)** Coluna capilar polar - fase estacionária de polietileno glicol: 30m × 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de fase, **(b)** Coluna capilar de alta polaridade - fase estacionária 90% Cianopropil Polissilfenileno-Siloxano: 60 m × 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de fase

Fases estacionárias de alta polaridade, por exemplo, as fases cianopropil (Figura 3b), proporcionam excelentes resoluções e normalmente tem aplicações na separação de isômeros de ésteres de ácidos graxos (CHRISTIE, 1989). Colunas capilares de 10m de comprimento, diâmetro interno de 0,1mm e 0,2 µm de fase estacionária de alta polaridade têm sido empregadas para quantificação de metil ésteres de C4:0 a C22:5 em um tempo relativamente curto de 4 minutos (DESTAILLATS e CRUZ-HERNANDEZ, 2007).

As colunas capilares possuem uma capacidade limitada de processamento de amostras, exigindo quantidades de amostras que são praticamente impossíveis de injetar diretamente (SCOTT, 2004). No caso de amostras de biodiesel, onde o teor mínimo aceitável de ésteres é de 96,5% em massa, conforme exigência da RANP 07/08, deve-se recorrer à injeção do tipo *split*, onde a amostra é dividida, permitindo que apenas uma pequena fração adentre na coluna, sendo a outra parte desprezada na purga da válvula *split* do injetor (YUWONO e INDRAYANTO, 2004). No caso do biodiesel, uma vaporização desigual dos componentes da amostra ocorrerá durante a injeção *split* devido à diferença de volatilidade entre os alquil ésteres. A razão *split* deverá então ser cuidadosamente ajustada de forma a garantir transferências de parcelas representativas das amostras para a coluna, obtendo-se resultados confiáveis nas análises quantitativas.

Conforme a RANP 07/08, o teor de éster deverá ser determinado através do método cromatográfico EN ISO 14103, desenvolvido na Europa para quantificação de ésteres em biodiesel de colza, girassol e soja (SCHOBER *et al.*, 2006). A massa de éster é obtida através da comparação da área total dos picos correspondentes aos alquil ésteres com a área do pico heptadecanoato de metila, utilizado como referência (Equação 1). A análise é realizada por cromatografia a gás com detecção por ionização de chama (FID – flame ionization detection). É utilizada uma coluna capilar com fase de polietilenoglicol de 0,25 µm de espessura, 30 metros de comprimento e diâmetro interno de 0,32 mm, trabalhando em condições isotérmicas de 200 °C. O injetor trabalha a uma temperatura de 250 °C, com uma razão *split* dependente do modelo do injetor, podendo ser de 20 a 100 mL/min. Hidrogênio ou o hélio podem ser utilizados como gás de arraste, com um fluxo de 1 a 2 mL/min.

A norma brasileira recomenda ainda o uso do método ABNT NBR 15342 para análise de biodiesel oriundo de gordura animal ou de misturas de matérias-primas distintas, das quais uma corresponde ao óleo de mamona.

$$TE = \frac{\sum A - A_{hept}}{A_{hept}} \cdot \frac{C_{hept} \cdot V_{hept}}{M_{am}} \cdot 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

TE é o percentual de éster em relação à massa da amostra;

$\sum A$ é a soma de todas as áreas dos picos compreendidos de C14 a C24;

A_{hept} é a área do pico do padrão heptadecanoato de metila;

C_{hept} é a concentração da solução padrão de hepta decanoato de metila em mg/mL;

M_{am} é a massa da amostra analisada.

O método EN ISO 14103 é aplicável à quantificação de ésteres metílicos em biodiesel cujas cadeias estejam compreendidas entre C14 a C24. Este método não é adequado para a quantificação de ésteres em biodiesel, em que haja um teor significativo de alquil ésteres com cadeia carbônica menor que C14. No óleo de dendê, por exemplo, o ácido láurico (C12:0) pode estar presente em até 1% da massa do óleo (SAMBANTHAMURTHI *et al.*, 2000) e seu alquil éster correspondente deverá compor o biodiesel na mesma proporção, após a transesterificação. Erros muito mais expressivos são esperados na quantificação de ésteres em biodiesel de babaçu, cujo óleo apresenta composição aproximada de 5% de ácido caprílico (C8:0), 6% de ácido cáprico (C10:0), 44% de ácido láurico (C12:0) e 17% de ácido mirístico (C14:0), dentre outros ácidos graxos (LIMA *et al.*, 2007). Nas condições de análise do método EN ISO 14103, os alquil ésteres de cadeia curta C8 – C10 eluem juntamente com o solvente (SCHOBER *et al.*, 2006).

É importante ressaltar que o óleo de palma pode ser considerado estratégico para o Programa Nacional de Biodiesel, pois o dendzeiro apresenta qualidades desejáveis para o fornecimento de óleo para a produção de biodiesel, tais como um

maior rendimento em óleo por área plantada, com amplas possibilidades de cultivo em larga escala, principalmente no Norte e Nordeste.

A dificuldade na quantificação de alquil ésteres de cadeia curta (C8 a C14) por cromatografia a gás com detector FID está relacionada com a quantidade de carbonos ativos presentes na molécula. Compostos orgânicos tendem formar íons quando pirolizados. No entanto, grupos funcionais como carbonila, álcool, halogênios e aminas produzem pouco ou nenhum íon na chama (HOLLER *et al.*, 2009). Como o carbono da carboxila do éster não contribui para a resposta no FID, a quantidade relativa de carbonos ativos diminui à medida que reduz a massa molar do éster, resultando em respostas diferenciadas para cada éster (SCHREINER & HULAN, 2004). Frequentemente faz-se referência ao número de carbono ativo como sendo o número total de carbonos na molécula do alquil éster menos 1, o carbono da carboxila (SCHREINER e HULAN, 2004). Neste caso, diz-se que a deficiência de carbono na molécula é 1.

Diante dos problemas relativos à deficiência de carbono, fatores de correção denominados Fatores de Resposta Teóricos (FRTs) foram propostos por Ackman e Sipos (1964), baseando-se na proporcionalidade da resposta do detector FID com o percentual de carbono ativo nas moléculas de metil ésteres. Em seu trabalho, os autores utilizaram 4 metil ésteres de ácidos graxos: laureato de metila, miristato de metila, palmitato de metila e estearato de metila. Inicialmente, foi calculada a resposta relativa para cada metil éster, que é a razão entre as massas de carbono ativo e a respectiva massa molar. Os FRTs foram calculados normalizando o inverso das respostas relativas pelo inverso da resposta relativa obtida para o estearato de metila; logo, o FRT do estearato de metila será igual a 1,000 (Equação 2).

$$FRT = \frac{MM_{\text{éster}}/mCativ_{\text{éster}}}{MM_{\text{estearato}}/mCativ_{\text{estearato}}} \quad \text{Equação 2}$$

onde:

$MM_{\text{éster}}$ é a massa molar do éster em questão;

$mCativ_{\text{éster}}$ é a massa de carbono ativo na molécula do éster;

$MM_{\text{estearato}}$ é a massa molar do estearato de metila;

$mCativ_{\text{estearato}}$ é a massa de carbono ativo na molécula do estearato de metila.

Fatores de Resposta Experimentais (FREs) também foram determinados através da razão da massa do éster pela área do pico correspondente, normalizado para FRE do estearato de metila igual a 1,000. A concordância entre os valores dos FRTs e FREs (Tabela 2) levaram os autores a recomendarem o uso de FRTs para correção das áreas dos picos dos ésteres metílicos durante o cálculo de suas concentrações (Equações 3 e 4). A presença de insaturações na cadeia do metil éster é pouco significante para os valores dos FRTs (ACKMAN e SIPOS, 1964).

Uma vez que os resultados de Ackman e Sipos foram obtidos usando colunas empacotadas, Bannon e colaboradores (1986) propuseram um método de validação dos FRTs para metil ésteres de cadeias insaturadas, aplicado a colunas capilares. Os autores justificaram a necessidade de alta precisão e confiabilidade dos resultados, tendo em vista as mínimas alterações nos valores dos FRTs promovidas pelas duplas ligações e a possibilidade de oxidação dos ésteres insaturados durante o preparo de suas misturas. Soluções de padrões de metil ésteres saturados e insaturados foram analisadas antes e depois de uma reação de hidrogenação. Além do metil éster de cadeia insaturada, cada uma das soluções dos padrões era composta de dois metil ésteres de cadeia saturada, sendo um deles um padrão interno e o segundo um metil éster de referência correspondente ao metil éster insaturado a ser avaliado. As diferenças das massas dos metil éster de referência, obtidas após a hidrogenação, foram utilizadas para o cálculo dos FREs dos metil ésteres insaturados, os quais apresentaram boa concordância com os respectivos FRTs, calculados conforme Ackman e Sipos (1964).

$$C(\%) = \frac{A_a \cdot FRT_a}{\sum A_n \cdot FRT_n} \cdot 100 \quad \text{Equação 3}$$

onde:

$C(\%)$ é a concentração percentual do éster de interesse em relação aos demais ésteres;

A_a é a área do éster de interesse;

FRT_a é o Fator de Resposta Teórico do éster de interesse;

$\sum A_n \cdot FRT_n$ é a soma das áreas corrigidas de todos os ésteres.

$$m_a = \frac{A_a \cdot FRT_a \cdot m_p}{A_p}$$

Equação 4

onde:

m_a é a massa do éster de interesse;

A_a é a área do éster de interesse;

FRT_a é o Fator de Resposta Teórico do éster de interesse;

m_p é a massa do padrão interno;

A_p é a área correspondente ao pico do padrão interno.

Tabela 2 – Fatores de respostas teóricos e experimentais determinados por Ackman e Sipos (1964)

Alquil ésteres	Nº de Carbono/insaturações	FRTs	FREs
Caprilato de metila	C8:0	1,1928	--
Caprato de metila	C10:0	1,1234	--
Laureato de metila	C12:0	1,0771	1,077
Miristato de metila	C14:0	1,0441	1,049
Palmitato de metila	C16:0	1,0193	1,022
Estearato de metila	C18:0	1,0000	1,000
Oleato de metila	C18:1	0,9933	--
Linoleato de metila	C18:2	0,9865	--
Linolenato de metila	C18:3	0,9798	--
Behenato de metila	C22:0	0,9720	--

Para metil ésteres com 3 a 8 átomos de carbono na cadeia da carbonila, FREs apresentam valores significativamente diferente dos respectivos FRTs, indicando uma deficiência de carbono maior que 1 (ULBERTH *et al.*, 1999). Perdas durante a preparação de amostras e soluções de padrões, devido à pronunciada volatilidade destes ésteres, também contribuem para a discrepância dos valores. Ulberth e colaboradores (1999) compararam FRTs e FREs de metil, etil, propil e butil ésteres; obtidos através de análise por GC/FID com injeção *on-column*. Conforme os resultados, houve uma maior concordância entre os valores de FRTs e FREs para butil ésteres. Com base nestes resultados, os autores propuseram a conversão de

ácidos graxos livres e triacilgliceróis em butil ésteres (derivatização), visando menor erro de quantificação de ácidos graxos em análises e caracterização de alimentos.

Para Schreiner e Hulan (2004), a convenção da normalização dos FRTs para o FRT do estearato de metila 1 faz com que os FRTs, obtidos a partir de diferentes métodos de cálculos, venham a convergir para o estearato de metila. Eles sugeriram ainda que o carbono 1 da porção alcoxi do alquil éster também contribui para redução da resposta no FID. Com base nessas proposições, os autores realizaram experimentos comparando valores de FRTs e FREs obtidos através de análises GC FID, em injeções *split* e *on-column*, para metil ésteres com cadeia a partir de 12 átomos de carbono. Os FRTs foram normalizados para FRT do heptadecano ($C_{17}H_{36}$) 1. Os valores dos FRTs foram calculados tanto para a deficiência de carbono 1 (DC1) como para deficiência de carbono empírica de 1,5 (DC1,5). Metil ésteres dicarboxílicos também foram estudados com o objetivo de avaliar o efeito da carboxila sobre a deficiência de carbono.

De forma geral, tanto para os ésteres mono carboxílicos como para os dicarboxílicos, os valores dos FRTs e FREs concordaram entre si quando os FRTs foram calculados para DC1,5 e utilizado injeção *on-column*. Para Schreiner e Hulan (2004), estes resultados corroboram a teoria de que o carbono C1 da porção alcoxi do éster também contribui para redução da resposta FID, promovendo uma DC maior que 1, mesmo para metil ésteres de cadeia longa. Os resultados para injeção *split* não foram satisfatórios tanto para DC1 como DC1,5, o que foi atribuído a discriminação de componentes da solução padrão no momento da injeção. Os indicativos de DC maior que 1, conforme foi apresentado pelos autores já eram esperados, tendo em vista terem utilizado um alcano ($C_{17}H_{36}$), composto sem deficiência de carbono, como padrão de normalização que não apresenta deficiência de carbono. Quanto aos resultados obtidos para a injeção *split*, esse vem a corroborar com o efeito da discriminação de composto no injetor.

A quantificação de alquil ésteres através do método EN ISO 14103, indicado pela RANP 07/08, originalmente elaborado para obtenção do teor de éster de C14:0 a C24:0 em biodiesel de soja, colza e girassol, não prevê correções de resposta no FID inerentes às deficiências de carbono. De fato, com base nos FRTs (Tabela 2), é esperada uma diferença de resposta no FID pouco expressiva para ésteres metílicos

com cadeia da carboxila de C16 a C22, quando utilizada injeção *on-column*. Diferenças acentuadas poderão ser observadas usando injeção do tipo *split* para amostras de biodiesel, cuja composição apresenta uma variedade muito grande em ésteres, similar a composição em ácidos graxos dos óleos e gorduras utilizados como matéria-prima (Tabela 3). Essa mistura poderão apresentar ésteres cujas massas molares variam, por exemplo, de 186,29 g/mol para o decanoato de metila (C10:0) a 354,61g/mol para o behenato de metila (C22:0), resultando numa mistura de compostos com ampla faixa de volatilidade. Quando uma solução de alquil ésteres é introduzida num injetor *split*, em temperaturas que comumente variam de 200-250 °C, o solvente e os componentes de menor ponto de ebulição são os primeiros a serem volatilizados. Já os compostos de alto ponto de ebulição são transferidos de forma incompleta para a coluna (BUSER *at al.*, 2000; BAILEY, 2005). Como consequência, uma parcela não representativa da amostra será introduzida na coluna cromatográfica, resultando em picos com áreas reduzidas para os compostos menos voláteis e, por conseguinte, em erros de quantificação.

Tabela 3 – Composição de óleos e gorduras

Composição em termos de ácidos graxos saturados (%Área)											
Óleo	C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C17:0	C18:0	C20:0	C22:0	C24:0	Referência
Canola	--	--	--	0,06	3,75	0,04	1,87	0,64	0,35	0,27	ZAMBIAZI <i>et al.</i> , 2007
Milho (Brasil)	--	--	--	--	10,47	0,08	2,02	0,39	0,76	0,15	
Milho (USA)	--	--	--	--	10,34	0,07	2,04	0,44	0,31	0,26	
Palma (Malásia)				1,12	42,70	0,11	4,55	0,39	0,58	0,06	
Girassol (Brasil)	--	--	--	0,05	5,76	0,05	4,76	0,30	0,78	0,22	
Soja (Brasil)				0,06	9,90	0,10	3,94	0,41	0,48	0,21	
Soja (USA)	--	--	--	0,06	9,63	0,11	4,38	0,35	0,67	0,24	
Pinhão manso (Malásia)	--	--	--	0,1	14,2	0,1	7,0	0,2	--	--	AKBAR <i>et al.</i> , 2009
Babaçu (Brasil)	5,0	6,0	44,0	17,0	8,0	--	4,5	--	--	--	LIMA <i>et al.</i> , 2007
Sebo				1,52	22,39	0,53	12,81	0,20	<0,1		CANACKI, 2007
Composição em termos de ácidos graxos insaturados (%Área)											
Óleo	C16:1	C17:1	C18:1	C18:2	C18:3	C20:1	C20:2	C22:1	C22:2	C24:1	Referência
Canola	0,21	--	62,41	20,12	8,37	1,54	0,11	--	--	0,26	ZAMBIAZI <i>et al.</i> , 2007
Milho (Brasil)	--	0,05	24,23	60,38	0,99	0,28	--	--	--	0,20	
Milho (USA)	--	--	25,54	59,27	1,07	0,37	0,09	--	--	0,20	
Palma (Malásia)	--	0,06	39,37	10,62	0,21	0,17	--	--	--	0,06	
Girassol (Brasil)	--	0,06	15,26	71,17	0,45	0,22	0,09	--	--	0,39	
Soja (Brasil)	0,08	0,08	21,35	56,02	7,15	0,22	--	--	--	--	
Soja (USA)	0,04	0,01	23,44	52,92	7,60	0,36	0,12	--	--	0,07	
Pinhão manso (Malásia)	0,7	--	44,7	32,8	0,2	--	--	--	--	--	AKBAR <i>et al.</i> , 2009
Babaçu (Brasil)	--	--	14,0	2,0	--	--	--	--	--	--	LIMA <i>et al.</i> , 2007
Sebo	3,34	0,39	42,53	12,07	0,81	1,01	--	--	--	--	CANACKI, 2007

Além dos problemas associados à deficiência de carbono e à discriminação de massas, outro ponto importante que merece atenção diz respeito ao padrão heptadecanoato de metila, utilizado como referência na quantificação dos ésteres. O ácido heptadecanóico, precursor do heptadecanoato de metila, apresenta número ímpar de carbono na cadeia, o que o torna um ácido graxo raro, mais que pode estar presente em alguns óleos e gorduras (Tabela 3). A biossíntese de ácidos graxos saturados exige uma molécula de inicial, geralmente acetil coenzima A (acetil-CoA), e um extensor de cadeia, malonil-CoA. Moléculas sucessivas de malonil-CoA são adicionados à molécula inicial de acetil-CoA em uma seqüência de reações catalisadas por um complexo enzima multifuncional. Com ácidos graxos de cadeia ímpar, a molécula de inicial pode ser propanil-CoA, mas estes também podem ser produzidos a partir de componentes pares por alfa-oxidação. (AOCS, 2011). Ácidos graxos de cadeia ímpar foram identificados como constituintes minoritários comuns, sendo encontrados particularmente na gordura do leite, em bactérias e organismos marinhos (VIANI & BRAZ-FILHO, 1995; HAYASHI & TAKAG, 1977)

Dependendo da sua concentração do heptadecanoato de metila, poderá ocorrer interferências na determinação dos ésteres metílicos pelo método EN ISO 14103. Como consequência, o teor de ésteres no biodiesel será subestimado (SCHOBER *et al.*, 2006), podendo vir a comprometer toda uma produção quando os valores forem comparados com o teor mínimo estabelecido pela RANP 07/08 (96,5%_{massa}). Neste contexto, Marques e colaboradores (2010) propuseram o uso do oleato de etila como padrão interno para determinação do teor de éster em biodiesel metílico de soja. Segundo os autores, método proposto apresentou uma diferença de 0,1% em relação a quantificação na mesma amostra pelo método oficial. Como se tratou da simples substituição do padrão interno por outro com massa molar pouco maior, o efeito da deficiência de carbono continuam significativos para os ésteres mais leves. Deste modo, o problema na determinação de ésteres com cadeia menor que 16 carbono não foi resolvido.

Tendo em vista a opção do Governo Federal pela produção descentralizada e da grande diversidade de matérias-primas, biodiesel de diferentes qualidades e composição serão produzidos. A adequação do método EN ISO 14103 ou mesmo a elaboração de novos métodos cromatográficos é um fator de grande importância

para que sejam incluídos os alquil ésteres de cadeia curta, a exemplo do laurato de metila. Deste modo, se garantirá a aplicação do método analítico à análise de biodiesel oriundo de diferentes matérias-primas. Novos alquil ésteres de ácidos graxos devem ser avaliados como padrão, buscando reduzir custos e evitar erros ocasionados pela sobreposição de picos. O objetivo deste trabalho é propor um método analítico confiável e de custos mais baixos, capaz de quantificar alquil ésteres de cadeias carbônica principal compreendida entre C12 a C24, contribuindo assim com o Programa Brasileiro de Produção e Uso do Biodiesel no que tange ao controle de qualidade.

5. Objetivos

5.1 Objetivo geral

Propor fatores de correção para os efeitos da deficiência de carbono e de discriminação de massas na determinação de alquil ésteres em biodiesel metílico e etílico por cromatografia a gás com injeção *split* e detecção com ionização de chama.

5.2 Objetivos específicos

- Identificar ésteres etílicos de baixo custo com potencial para uso como padrão interno na determinação cromatográfica do teor de ésteres em biodiesel metílicos;
- Identificar ésteres metílicos de baixo custo com potencial para uso como padrão interno na determinação cromatográfica do teor de ésteres em biodiesel etílicos;
- Determinar os fatores de correção para os efeitos da deficiência de carbono e discriminação de massas na análise dos principais alquil ésteres comumente presentes em biodiesel;

- Empregar amostras sintéticas para comparação do método proposto com o método EN ISO 14103;
- Determinar a sensibilidade, o limite de detecção e o limite de quantificação do método proposto;
- Avaliar o teor de ésteres em diferentes amostras de ésteres etílicos e metílicos provenientes de diferentes matérias-primas, utilizando o método proposto, comparando-o com o método padrão EN ISO 14103;
- Avaliar a repetitividade do método proposto.

6. Materiais

6.1 Soluções

As soluções dos padrões foram preparadas em heptano à partir de ésteres metílicos e etílicos de ácidos graxos de grau cromatográfico, adquiridos de três diferentes fornecedores (Tabela 4). O heptano utilizado também possuía pureza de grau cromatográfico e foi adquirido da Sigma-Aldrich.

6.1.1 Soluções-estoques de padrões de alquil ésteres

Foram preparadas em balões volumétricos, um total de 22 soluções estoque de ésteres metílicos e etílicos (Tabela 4) com cadeia carbônica de 6 a 24 átomos de carbono. Para minimizar alterações na concentração das soluções, devido a evaporação do solvente durante a manipulação, cada solução foi prontamente fracionada para três frascos com tampa rosqueável e com selo de teflon. Os frascos foram sendo utilizados a cada ensaio para o preparo de soluções trabalho de alquil ésteres. As soluções foram mantidas sob refrigeração, numa faixa de temperatura de 6 a 8°C, e utilizadas apenas após alcançarem a temperatura ambiente e depois de serem homogeneizadas.

Tabela 4 – Soluções-estoques de alquil ésteres

Padrões metílicos Pureza	Fornecedor	Conc. (mg/mL)	Padrões etílicos Pureza	Fornecedor	Conc. (mg/mL)
Hexanoato - 99,8%	Fluka	20	Hexanoato - 99%	Sigma-Aldrich	80
Octanoato - 99%	Fluka	20	Octanoato - 99%	Sigma-Aldrich	40
Laurato - 99,5%	Sigma-Aldrich	20	Decanoato - 99%	Sigma-Aldrich	80
Miristato - 99%	Acros	20	Laurato – 99%	Sigma-Aldrich	80
Palmitato - 99%	Sigma-Aldrich	40	Miristato - 98%	Acros	80
Estearato - 99%	Sigma-Aldrich	20	Palmitato - 98%	Acros	80
Oleato - 99%	Sigma-Aldrich	20	Estearato - 99%	Sigma-Aldrich	40
Linoleato - 98,5%	Fluka	20	Oleato - 98%	Sigma-Aldrich	40
Araquidato - 99,5%	Fluka	20	Linoleato - 99%	Sigma-Aldrich	20
Behenato - 99%	Sigma-Aldrich	20	Behenato - 99%	Sigma-Aldrich	20
Tetracosanoato – 99%	Fluka	25	---	---	---
Heptadecanoato - 99%	Sigma-Aldrich	20	---	---	---

Conc. – Concentração das soluções-estoque

6.1.2 Soluções trabalho de padrões de alquil ésteres

Soluções trabalho foram preparadas diretamente nos *vials*, pela transferência de alíquotas das soluções estoques utilizando microseringas. Por fim, os volumes nos *vials* foram completados para 2 mL com heptano. Para esta solução, a área de cada pico no cromatograma é uma função da massa do respectivo éster adicionada no *vial*. O uso da relação área/massa dos padrões internos (C17:0-Me e outros indicados conforme a seção 7.1) possibilitam a determinação das massas dos demais ésteres, sem a necessidade de precisão na aferição do volume final do *vial*.

6.1.3 Amostra sintética simulando as concentrações de etil ésteres do biodiesel de babaçu:

A partir das soluções-estoques de ésteres etílicos, foi preparada uma solução com concentrações dos ésteres próximas a de uma solução de biodiesel etílico de babaçu. Esta solução possui ésteres de massas molares relativamente baixas (octanoato de etila, decanoato de etila, laurato de etila e miristato de etila) como componentes principais.

6.2 Amostras de alquil ésteres

Foram empregados quatro tipos diferentes de óleos vegetais para o preparo das amostras de alquil ésteres empregadas na simulação de análises de biodiesel. Os óleos utilizados foram:

- Óleos de dendê com acidez de 5,1%, utilizado no preparo de ésteres metílicos e etílicos de dendê;
- Óleo de soja degomado com acidez de 0,8%, utilizado para o preparo de ésteres metílico de soja;
- Óleo de soja refinado com acidez de 0,5%, para o preparo de ésteres etílico de soja;
- Óleo de pinhão manso com acidez de 6,0%, utilizado no preparo de ésteres metílico de pinhão-manso.

Antes da reação de transesterificação dos óleos de dendê e de pinhão manso, foi realizada uma etapa preliminar de esterificação dos ácidos graxos livres para redução da acidez. Com esse objetivo, foi utilizada uma razão molar álcool:óleo de 5:1, temperatura de 82°C do meio reacional para esterificação etílica e 61°C para esterificação metílica. O ácido sulfúrico (H_2SO_4) foi utilizado como catalisador, estando presente numa proporção de 0,9 % em relação à massa do óleo. O tempo total da reação de esterificação foi de 40 min. Após esse período foi possível obter uma acidez final dos óleos entre 0,80 a 0,90 %, aceitável para a transesterificação alcalina de óleos e gorduras para a produção de biodiesel.

A transesterificação metílica foi conduzida com uma razão molar álcool/óleo de 6:1, massa de NaOH de 0,6% (utilizado como precursor do catalisador metóxido), temperatura do meio reacional de 45°C e tempo de refluxo de 60 min. A transesterificação etílica foi realizada a 72°C, uma razão molar álcool:óleo de 10:1, massa de NaOH de 0,8% em relação a massa do óleo e tempo de refluxo de 90 min. Tendo finalizado o período de reação, foi adicionado glicerina pura para acelerar a separação do excesso de etanol. Logo após a adição da glicerina, o meio reacional foi mantido em agitação por 30 segundos e, em sequência, foi realizada a transferência para um funil de decantação, onde houve a imediata separação das

fases. Utilizou-se um tempo curto (30 s) para dispersão da glicerina adicionada visando minimizar o efeito de reversibilidade da reação.

Os alquil ésteres produzidos foram purificados através de lavagens exaustivas com água aquecida a 40 °C para remoção de resíduo de álcool, glicerina, sabões e catalisador. As lavagens foram realizadas, em cada etapa, com uma massa de água correspondente a 10% da massa do meio reacional. Em seguida a amostra de ésteres foi seca por destilação à vácuo.

6.3 Equipamento

O trabalho foi todo executado em um cromatógrafo a gás da Varian, modelo CP-3800. O equipamento é equipado com injetor split/splitless CP-1177 (Figura 4) e detecção por FID. As injeções das amostras foram realizadas através de um amostrador automático Varian, modelo 8400, programado para operar no modo de injeção *split*. Todo o estudo foi realizado com uma coluna capilar com fase de polietilenoglicol de 0,25 µm de espessura, 30 metros de comprimento e diâmetro interno de 0,32 mm. O cromatógrafo foi alimentado com gás hélio como gás de arraste a uma vazão de 30 mL/min. Para alimentar o detector FID fora utilizado o gás hidrogênio a 30 mL/min e ar sintético numa vazão de 300 mL/min. Foram utilizados filtros de linha no ponto de entrada do gás de arraste no equipamento para remoção de oxigênio e umidade.

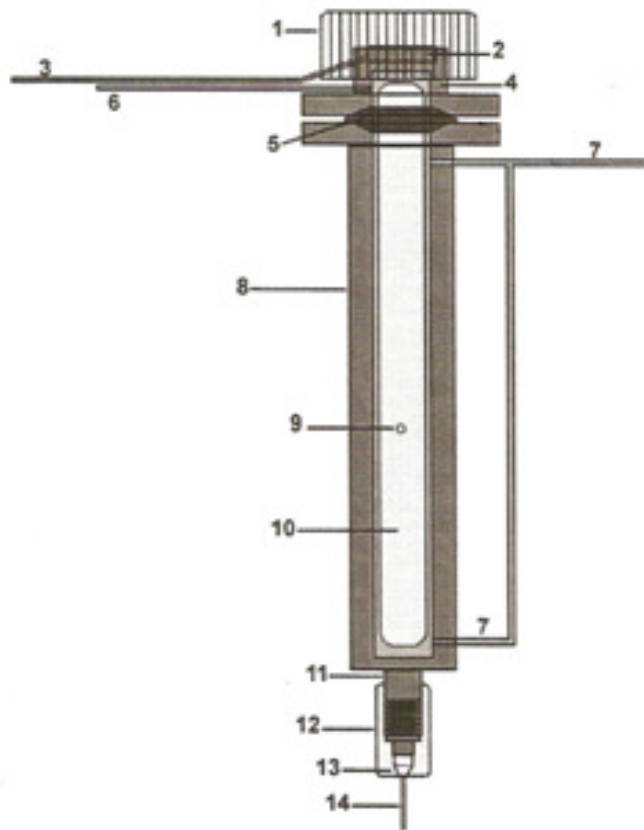


Figura 4 – Visão seccional do injetor *split* Varian CP 1177

- | | |
|------------------------------------|---|
| 1. Nut do injetor | 8. Corpo do injetor |
| 2. Septo | 9. Ponto de injeção |
| 3. Purga do septo | 10. <i>Liner</i> com lã de vidro silanizada |
| 4. Purga da cabeça do septo | 11. Guia da coluna |
| 5. Anel de vedação do <i>liner</i> | 12. Conector da coluna capilar |
| 6. Gás carreador | 13. Ferruilha |
| 7. Purga da válvula Split | 14. Coluna capilar |

7. Metodologia:

7.1 Identificação de novos padrões internos

Diante das dificuldades verificadas para quantificação dos ésteres em biodiesel, através de GC-FID com injeção do tipo *split*, o uso de FREs apresenta-se como solução plausível para problemas relativos à deficiência de carbono e à discriminação de compostos mais pesados no momento da injeção da amostra. Na análise de biodiesel, no entanto, a quantidade de padrões internos que seria necessária para uma mesma amostra, tornaria economicamente inviável o procedimento analítico.

Novos padrões internos têm que possuir características mais próximas possíveis às apresentadas pelos analitos e seus picos não devem sobrepor aos picos correspondentes aos componentes da amostra. Partindo destes princípios, procurou-se avaliar o emprego de ésteres etílicos como padrões internos na quantificação de metil ésteres, ao passo que o inverso também foi considerado, ou seja, metil ésteres como padrões internos na quantificação de etil ésteres em amostras de biodiesel.

A identificação de possíveis padrões foi realizada através da sobreposição de cromatogramas de ésteres metílicos e etílicos de óleo de dendê, soja e pinhão manso. Para obtenção dos cromatogramas, alíquotas de 250 mg das amostras dos alquil ésteres foram diluídas com 5 mL de heptano e injetadas no cromatógrafo. As corridas cromatográficas foram realizadas sob as condições analíticas recomendadas no método EN ISO 14103, utilizando-se uma coluna capilar com fase de polietilenoglicol de 0,25 μm de espessura, 30 metros de comprimento e diâmetro interno de 0,32 mm. A análise transcorreu sob condições isotérmicas de 200 °C, com introdução de 1 μL da solução da amostra no injetor operando numa temperatura de 250 °C, com uma razão *split* de 1:80. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste, com vazão de 1,5 mL/min. O detector FID foi mantido a 250 °C. Foram escolhidos como padrões os ésteres que não apresentaram sobreposição de picos e com custos acessíveis. Nestas mesmas condições, foi investigada a presença do heptadecanoato de metila nas amostras de alquil ésteres trabalhadas através da

sobreposição do cromatograma do padrão deste éster com os cromatogramas de amostras de biodiesel.

Além da sobreposição dos picos, avaliou-se também as respostas de cada éster frente a injeção *split* e detecção FID pela determinação dos fatores de respostas experimentais (FREs). Com esse objetivo, foram preparadas três soluções com mesma composição em ésteres metílicos e etílicos, em um total de 22 ésteres, que foram injetadas em duplicata. Alquil ésteres do ácido hexanóico (hexanoato de metila e o hexanoato de etila) foram incluídos neste estudo a fim de avaliar a detecção de ésteres de cadeias carbônicas curtas no FID.

De posse dos resultados, os FREs foram calculados como o recíproco das respostas experimentais relativas normalizadas para o FRE do estearato de metila, que foi estabelecido como igual a 1,000; conforme aplicação da Equação 5, considerando as massas dos ésteres presentes nas soluções mistura e suas respectivas áreas nos cromatogramas.

$$\text{FRE} = \frac{m_e \cdot A_{C18:0-Me}}{A_e \cdot m_{C18:0-Me}} \quad \text{Equação 5}$$

onde:

FRE é o Fator de Resposta Experimental;

m_e é a massa do éster em questão;

$A_{C18:0-Me}$ é a área do pico do estearato de metila;

A_e é a área do pico do éster em questão;

$m_{C18:0-Me}$ é a massa de estearato de metila.

Nessa etapa do trabalho, optou-se por uma temperatura inicial mais baixa com o objetivo de incluir ésteres com cadeias carbônicas com 6, 8 e 10 carbonos. Sob condição isotérmica, estes ésteres eluiriam muito próximo ou junto com o solvente; logo, a corrida cromatográfica foi realizada com uma temperatura inicial do forno de 145°C, que foi mantida por 0,5 minutos, seguido de aquecimento a 5°C/min até a temperatura de 210°C, que permaneceu por 22 min. Esta programação da temperatura foi baseada no trabalho desenvolvido por Schober e colaboradores (2006) para quantificação de metil ésteres em biodiesel de sebo bovino e de óleos vegetais. As amostras foram injetadas no cromatógrafo num volume de 0,8 µL e com

uma vazão *split* de 1:100. Hélio foi utilizado como gás de arraste, com vazão de 1,5 mL/min na coluna cromatográfica. Tanto o injetor quanto o detector operaram numa temperatura de 250 °C.

7.2 Fatores de correção para injeção *split*

Os FRTs propostos por Ackman e Sipos (1964) são ainda empregados para correção do efeito da deficiência de carbonos na quantificação de metil ésteres e, conforme foi demonstrado por Schreiner e Hulan (2004), estes fatores são aplicáveis a injeção *on-column*. A deficiência de carbono é um efeito inerente ao sistema de detecção FID, no entanto, a discriminação de compostos de alto ponto de ebulição nos injetores *split* acaba afetando as concentrações dos ésteres. Desta forma, um novo fator de correção, aqui denominado de Fator de Resposta Split (FRS), é proposto com base na razão entre a proporção de carbonos ativos na molécula e a resposta relativa *split*. Embora esses sejam fatores experimentais, tem-se como objetivo obter fatores que apresentem uma correlação linear com as massas molares dos ésteres, facilitando assim a previsão dos FRS baseando-se apenas em poucos padrões internos. A sequência dos cálculos está demonstrada a seguir.

A fração de massa ativa molecular é dada pela equação:

$$\text{Fração de massa ativa} = \frac{m_{\text{Cativ}_E}}{MM_E} \quad \text{Equação 6}$$

onde:

m_{Cativ_E} é a massa de carbono ativo na molécula do éster que é obtida multiplicando o n° de carbonos na molécula menos 1 (que é o carbono da carboxila) pela massa atômica do carbono ($MA = 12,01078 \text{ g/mol}$);

MM_E é a massa molar do éster em análise.

A resposta relativa para cada éster é calculada através da razão:

$$R_{\text{resposta r}}\text{elativa} = \frac{A_E}{m_E} \quad \text{Equação 7}$$

onde:

A_E é a área do pico do éster no cromatograma;

m_E é a massa do éster na solução analisada.

O Fator de Resposta Split (FRS) foi calculado como sendo a razão entre os valores recíprocos da resposta relativa e da fração de massa ativa, normalizado para o FRS do padrão interno, que foi considerado igual a 1,000. Logo, tem-se que:

$$FRS = \frac{MM_P \cdot m_{\text{Cativ}_E}}{MM_E \cdot m_{\text{Cativ}_P}} \cdot \frac{A_P}{A_E} \cdot \frac{m_E}{m_P} \quad \text{Equação 8}$$

onde:

m_{Cativ_P} é a massa de carbono ativo na molécula do éster utilizado como padrão interno;

MM_P é a massa molar do éster empregado como padrão interno;

MM_E a massa molar do éster em análise;

A_P é a área do pico do éster utilizado como padrão interno;

m_P é a massa do éster padrão na solução analisada.

Na equação 8, o valor de $(MM_P \cdot m_{\text{Cativ}_E}) / (MM_E \cdot m_{\text{Cativ}_P})$ é o recíproco do valor do FRT e $(m_E \cdot A_P) / (A_E \cdot m_P)$ é valor do FRE, ambos determinados para o éster em questão, levando-se em conta o padrão interno de normalização. A partir destas observações, a equação 8 pode ser reescrita como:

$$FRS = \frac{FRE}{FRT} \quad \text{Equação 9}$$

De posse dos FRS, as massas dos ésteres podem ser obtidas por dedução da equação 4, conforme segue:

$$m_E = \frac{MM_E \cdot m_{Cativ_P}}{MM_P \cdot m_{Cativ_E}} \cdot \frac{m_P}{A_P} \cdot A_E \cdot FRS \quad \text{Equação 10}$$

Para os cálculos dos FRS, foram aproveitados os resultados dos cromatogramas das soluções padrões de trabalho e as massas dos ésteres, empregados na obtenção dos FREs (seção 7.1). As condições analíticas, portanto, foram as mesmas empregadas na seção anterior para avaliação das respostas de cada éster frente a injeção *split* e detecção FID.

7.3 Previsão e validação dos fatores de resposta *split*

Para a quantificação em biodiesel etílico, foi determinada a equação da curva de regressão das massas molares dos padrões C12:0-Me, C14:0-Me e C18:0-Me versus os valores correspondentes de FRS, calculados através da Equação 8 com normalização pelo C14:0-Me. Para determinação em biodiesel metílico, o mesmo foi feito para os padrões etílicos C12:0-Et, C14:0-Et e C18:1-Et, com normalização pelo C12:0-Et.

Aplicando os valores das massas molares nas equações de regressão, foram obtidos os fatores de resposta *split* preditos (FRS_{preditos}) para os alquil ésteres em estudo. Os erros de previsão (EP%) foram determinados por comparação das massas de ésteres adicionadas à solução trabalho com as massas obtidas através dos FRS_{preditos} . Comparações foram realizadas também, com as massas determinadas utilizando o heptadecanoato de metila como padrão interno.

Nesta parte do estudo a temperatura inicial do forno foi de 145°C, que foi mantida por 0,5 minutos, seguido de aquecimento a 5°C/min até a temperatura de 210°C, que permaneceu por 22 min. Volumes de 0,8 µL das amostras foram introduzidas no injetor a 250°C e a uma vazão *split* de 1:100. Hélio foi utilizado como gás de arraste, com vazão 1,5 mL/min na coluna cromatográfica. O detector FID foi operado na de temperatura de 250°C.

7.3.1 Efeito da variação da vazão *split* e da temperatura do injetor

A análise de novas soluções trabalho de ésteres metílicos e etílicos foram empregadas, buscando investigar a influência da temperatura do injetor e da vazão *split* na predição das massas dos ésteres através dos FRS_{Preditos} . Foram avaliadas as influências sobre a linearidade da curva Massa Molar x FRS, sobre a precisão e a exatidão dos resultados das massas preditas.

7.3.1.1 Influência da vazão *split*

Através da vazão *split* regula-se a quantidade da amostra introduzida na coluna capilar. Quanto menor for a quantidade de amostra introduzida na coluna, maior será o Limite de Detecção (LD) e o Limite de Quantificação (LQ) do método. Com o intuito de não prejudicar a sensibilidade do método, foi estabelecida a razão *split* mínima de 1:100, conforme empregada nos estudos anteriores. Razões *split* de 1:50 e 1:80 foram trabalhadas com o objetivo de avaliar a influência da amostragem da porção injetada, ou seja, da representatividade da fração inserida na coluna capilar. As demais condições de análise, como a programação de temperatura da coluna, a vazão do gás na coluna e a temperatura do detector, foram mantidas constantes conforme descrito na seção anterior (seção 7.3).

7.3.1.2 Influência da temperatura do injetor na determinação utilizando FRS

A temperatura do injetor deve ser selecionada de maneira a propiciar uma vaporização o mais homogênea possível da solução da amostra. Temperaturas baixas poderão favorecer a condensação dos componentes mais pesados da amostra, o que acarretará inevitavelmente em uma amostragem não representativa. Por outro lado, temperaturas elevadas poderão acarretar decomposição térmica dos constituintes da amostra. A temperatura do injetor também é limitada pela temperatura máxima de operação da coluna. A coluna capilar utilizada nestes experimentos, com fase de polietilenoglicol, suporta uma temperatura máxima de 260 °C, sob condições isotérmicas de análise. Para comparação com os resultados das injeções *split* com injetor operando na temperatura de 250 °C, foram realizadas

novas análise nas temperaturas de 245°C e 260°C, com vazão *split* 1:100. O objetivo desses experimentos foi identificar variações na previsão das massa dos ésteres via FRS_{Preditos} quando a temperatura do injetor é variada. Para realizar comparações, as demais condições analíticas foram mantidas constantes conforme o experimento apresentado na seção 7.3.

7.3.2 - Sensibilidade, limite de detecção e limite de quantificação

A sensibilidade (S) foi determinada para cada éster como sendo a razão entre a área do pico pela massa injetada ($S = \text{área}/\text{massa}_{\text{éster}}$). O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram determinados com base na relação sinal/ruído. O LD foi determinado como a menor concentração detectável, capaz de fornecer um sinal três vezes maior que o sinal do ruído. A mínima concentração quantificável, ou LQ, foi determinado como a concentração que fornece um sinal dez vezes maior que o sinal do ruído (RIBANI, *et al.*, 2004). O valor do sinal do ruído utilizado como referência, foi calculado como a média dos sinais dos ruídos fornecidos pelo do *software* do cromatógrafo para corridas completas de oito injeções do solvente heptano, nas mesmas condições analíticas estabelecidas para as análises.

7.3.3 Exatidão e Precisão

Para avaliação da exatidão, foram realizadas análises em uma amostra sintética, simulando a concentração esperada para o biodiesel etílico de babaçu, e amostras de alquil ésteres preparadas de 5 tipos diferentes de matéria-prima. Os resultados foram confrontados com os obtidos pela comparação das áreas dos picos dos ésteres com a área do padrão C17:0-Me adicionado às amostras, conforme preconizado pelo método EN ISO 14103. Para os amostras de ésteres metílicos, foram utilizados como padrões C12:0-Et, C14:0-Et e C18:1-Et, empregados para previsão dos FRS_{Preditos} . Para previsão dos FRS_{Preditos} na análise de ésteres etílicos, foram utilizados como padrões C12:0-Me, C14:0-Me e C18:0-Me. Neste caso, o C17:0-Me também foi utilizado como padrão de comparação.

Para aproximadamente 260 mg das amostras de alquil ésteres contidos num *vial*, foram adicionados 50 mg de cada padrão de previsão *split* e 50 mg do padrão

do padrão interno (C17:0-Me). Por fim, a mistura foi diluída com 5 mL de heptano e homogeneizada.

Com base nas massas e nas áreas dos picos dos padrões de previsão, foram calculados os FRS conforme a Equação 8. As equações das curvas de regressão das massas molares dos padrões *versus* os respectivos FRS calculados foram determinadas e, com base nas equações obtidas, foram realizadas as previsões dos FRS para os demais ésteres (FRS_{Preditos}) a partir de suas massas molares. As áreas dos picos dos ésteres da amostra foram aplicadas à Equação 10, juntamente com os respectivos FRS_{Preditos}, para o cálculo das massas. As percentagem de cada éster foi calculada com base na razão entre a massa prevista e a massa da amostra

Dentre os possíveis isômeros passíveis de serem encontrados nos óleos e gorduras, o vacenato (C18:1 *cis*-11) é o mais proeminente, eluindo geminado e logo após o pico correspondente a mistura dos isômeros oleato (C18:1 *cis*-9) e alaidato (C18:1 *trans*-9). Estes tiveram as áreas somadas, sendo portanto calculados como oleato.

Para avaliar a precisão dos resultados dos teores de ésteres em biodiesel utilizando FRS_{Preditos}, foram realizadas 6 repetições da análise para amostras de ésteres metílicos e etílicos de dendê. Foi escolhido dendê por este apresentar os ácidos graxos láurico (C12:0) e mirístico (C14:0) em sua composição, componentes que não estão comumente presentes em óleos como o da soja e do pinhão manso.

Tanto a amostra sintética como as amostras dos álquil ésteres foram analisadas nas seguintes condições cromatográficas: condição isotérmica de 145 °C por 0,5 min, seguida de aquecimento a 5 °C/min até a temperatura de 210 °C, que permaneceu por 22 min. Volumes de 0,8 µL das amostras foram introduzidas a 250 °C e com uma vazão *split* de 1:100. Hélio foi utilizado como gás de arraste, com vazão de 1,5 mL/min na coluna cromatográfica. Foi utilizado detector FID, operado na de temperatura de 250 °C.

8. Resultados e Discussão

8.1 Identificação de novos padrões internos

A identificação de possíveis padrões foi realizada através da sobreposição de cromatogramas de ésteres metílicos e etílicos de óleo de dendê, soja e pinhão manso (*Jatropha curcas*) (Figuras 5 a 7). Em colunas capilares com fase de polietilenoglicol, os ésteres etílicos eluem logo após o seu éster metílico correspondente, com exceção do estearato de etila e do oleato de etila, que eluem após o oleato de metila. Analisando detalhadamente os cromatogramas na região compreendida entre C12:0 a C18:3, verificou-se sobreposições entre os picos do palmitoleato de metila (C16:1 – Me) com palmitato de etila (C16:0 – Et) e sobreposição do estearato de etila (C18:0 – Et) com o oleato de metila (C18:1 – Me) e o seu isômero 11(Z)-octadecenoato de metila, ou vacenato de metila. Levando-se em consideração apenas as sobreposições dos picos, tanto o palmitato de etila quanto o estearato de etila não poderão, portanto, serem empregados como padrões internos na análise de biodiesel metílico. O oleato de metila, conseqüentemente, também não poderá servir como padrão para análise de biodiesel etílico. Uma sobreposição parcial foi observada entre os picos do gadoleato de metila (C20:1 – Me) e araquidato de etila (C20:0 – Et), excluindo-os também como padrões em potencial.

Para os demais ésteres foram identificadas resoluções satisfatórias dos picos, logo, permaneceram no processo de investigação de padrões. Como se pode verificar nas Figuras 5 a 7, os alquil ésteres com mais de 18 átomos de carbono na cadeia são menos freqüentes devido à pouca ocorrência dos seus respectivos ácidos graxos nos óleos e gorduras geralmente empregados na produção de biodiesel (Tabela 3). É de se esperar, portanto, o alto custo desses padrões em virtude da dificuldade de seu isolamento e purificação. Na Tabela 5 são apresentados preços de diversos alquil ésteres, dentre eles dois ésteres com número ímpar de átomos de

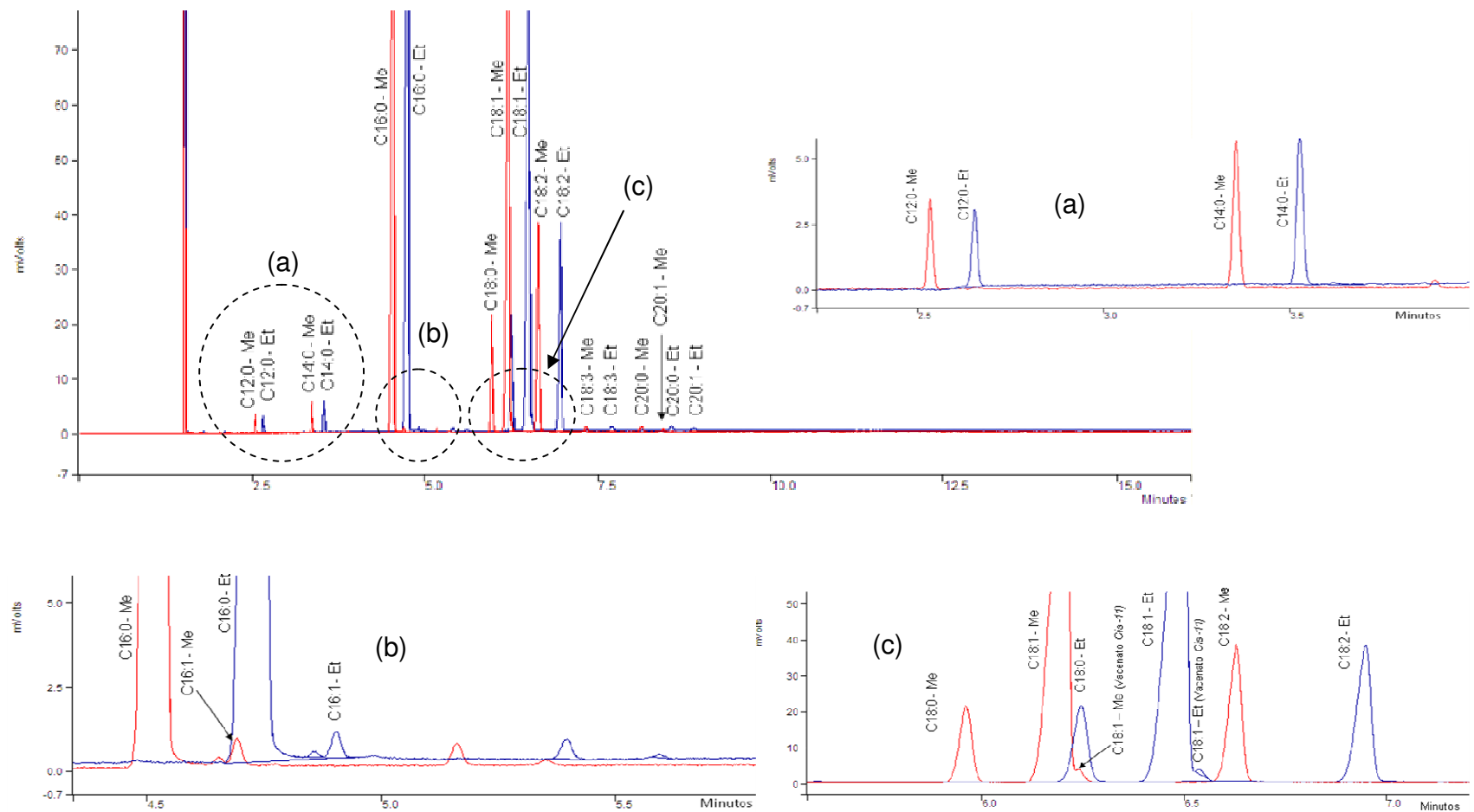


Figura 5 – Sobreposição de ésteres metílico e etílico de dendê: (a) Detalhe da região de C12:0 a C14:0, (b) Detalhe da região próxima a C16:0 e (c) Detalhe da região de C18:0 a C18:2

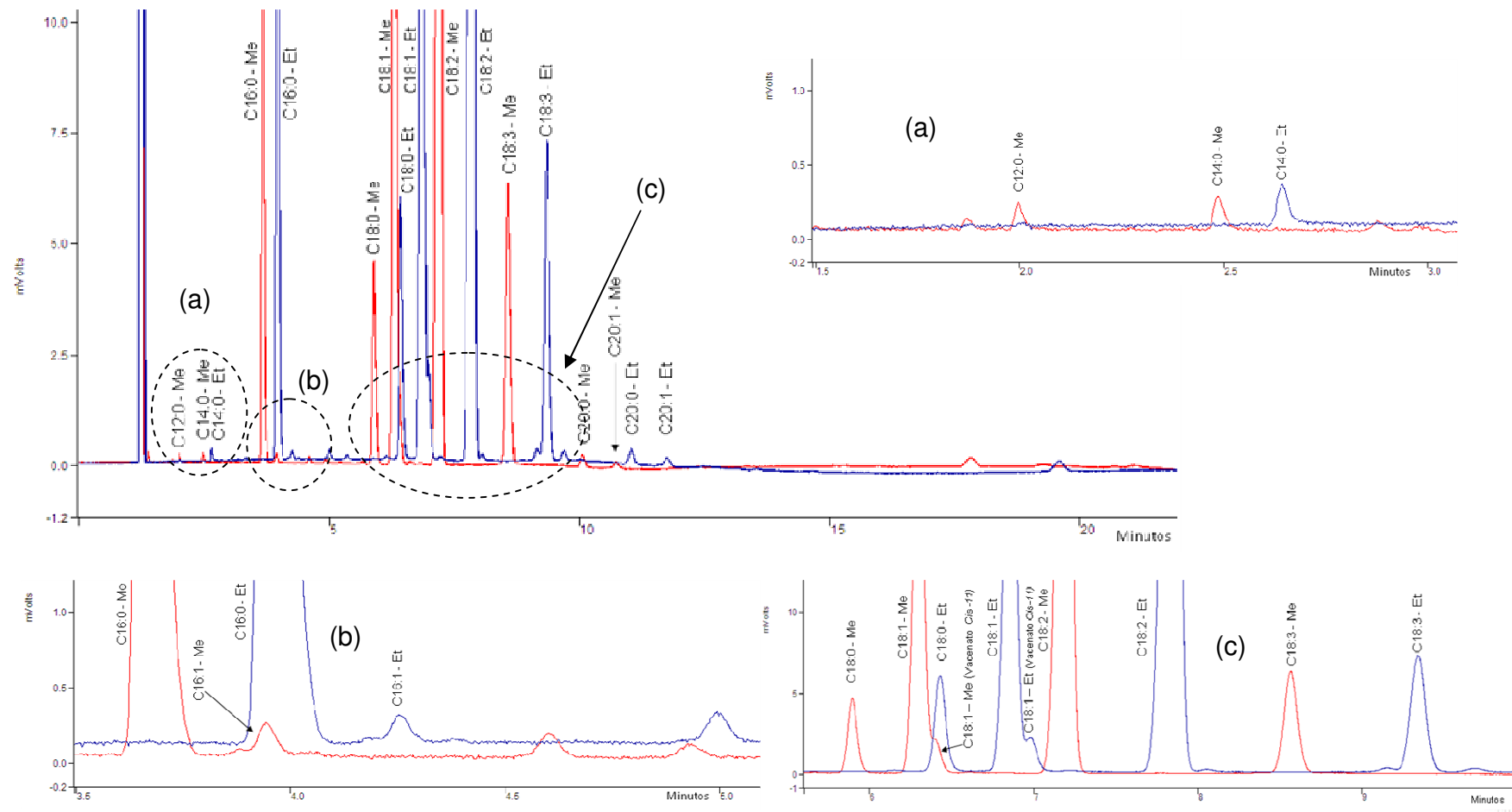


Figura 6 – Sobreposição de ésteres metílico e etílico de soja: (a) Detalhe da região de C12:0 a C14:0, (b) Detalhe da região próxima C16:0 e (c) Detalhe da região de C18:0 a C18:3

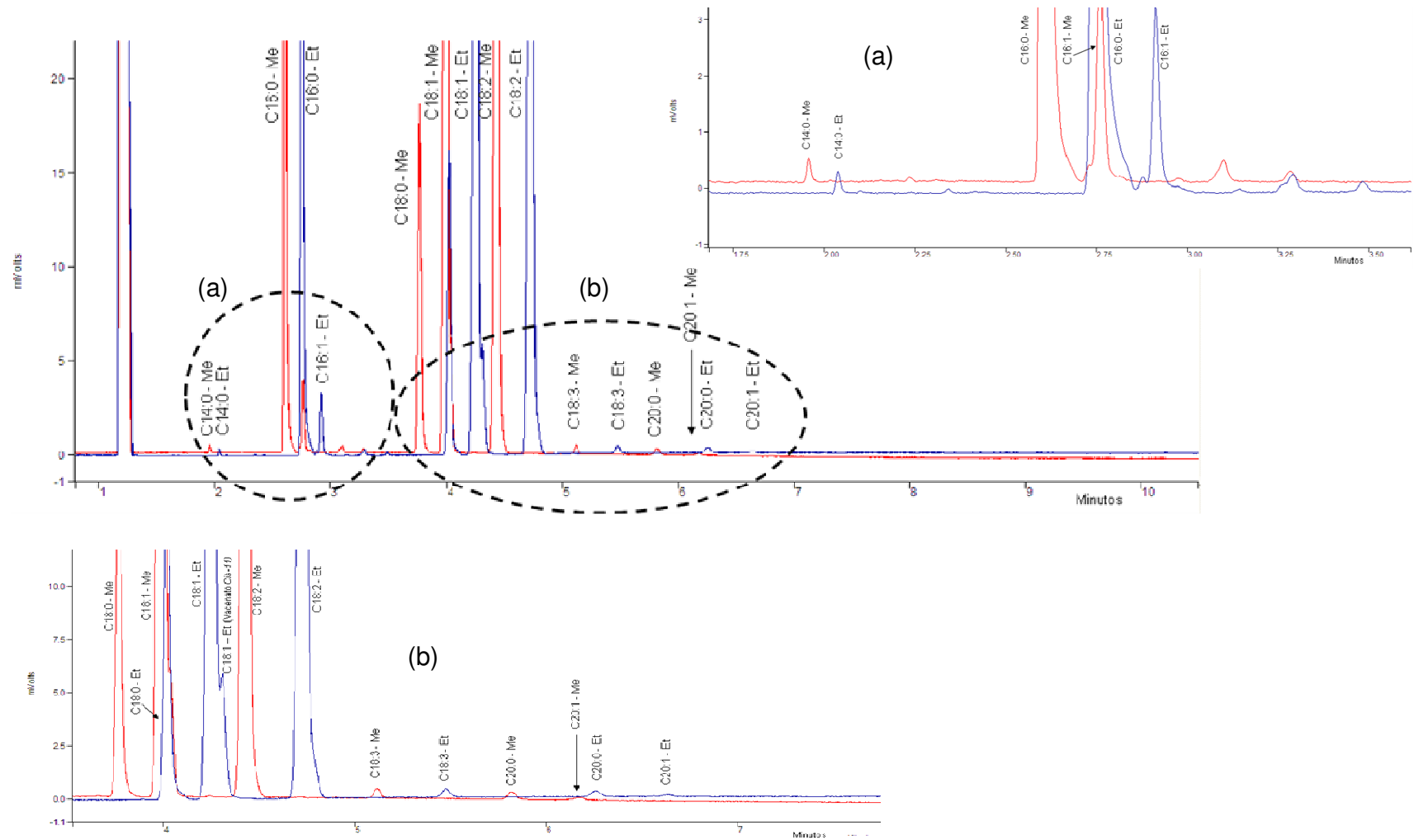


Figura 7 – Sobreposição de ésteres metílico e etílico de pinhão manso (*Jatropha curcas*): (a) Detalhe da região de C12:0 a C16:1 e (b) Detalhe da região próxima a C18:3

carbono na cadeia. A título de comparação, foram estimados também os preços para cada 50 mg de padrão, que é a massa do padrão interno heptadecanoato de metila, adicionada por amostra de biodiesel a ser analisado pelo método EN ISO 14103. Os cálculos foram realizados considerando uma densidade aproximada de 0,9 g/mL para os ésteres comercializados.

Embora também apresentem custos elevados, os alquil ésteres de ácidos graxos com número ímpar de carbono na cadeia são atraentes do ponto de vista analítico. Estes ésteres apresentam características moleculares semelhantes aos analitos e são de pouca ocorrência (VIANNI e BRAZ-FILHO, 1995). Conforme pesquisadores listados na Tabela 3, resultados de análises comprovam a presença de pequenas quantidades do ácido heptadecanóico (ácido margárico) em óleos e gorduras. Quantidades significativas do ácido heptadecanóico em sebo bovino (1 a 3%) foram encontradas por Noci e colaboradores (2007), tendo sido observadas também por Schober e colaboradores em 2006.

Neste trabalho, a presença do heptadecanoato de metila também foi constatada nas amostras de biodiesel de dendê, soja e pinhão manso usados neste trabalho (Figura 8). A identificação foi realizada através da sobreposição de cromatogramas de amostras de biodiesel com um cromatograma do padrão de heptadecanoato de metila, todos obtidos sob as mesmas condições cromatográficas.

Tabela 5 – Custos de metil e etil ésteres utilizados como padrões cromatográficos*

Padrões	Representação	Densidade	Pureza	Embalagem	Preço (R\$)	R\$/g	R\$/50 mg
Hexanoato de metila	C6:0 – Me	0,885 g/mL a 25 °C	≥ 99%	100g	381,00	3,81	0,19
Hexanoato de etila	C6:0 – Et	0,869 g/mL a 25 °C	≥ 99%	100 mL	103,00	1,14	0,06
Octanoato de metila	C8:0 – Me	0,877 g/mL a 20 °C	≥ 99%	100 mL	622,00	6,91	0,35
Octanoato de etila	C8:0 – Et	0,867 g/mL a 20 °C	≥ 99%	100 g	101,00	1,01	0,05
Decanoato de metila	C10:0 – Me	0,871 g/mL a 20 °C	≥ 99%	100g	186,00	1,86	0,09
Decanoato de etila	C10:0 – Et	0,862 g/mL a 25 °C	≥ 99%	100mL	103,00	1,14	0,06
Laureato de metila	C12:0 –Me	0,869 g/mL a 20 °C	≥ 99%	5mL	237,00	52,67	2,63
Laureato de etila	C12:0 –Et	0,862 g/mL a 20 °C	≥ 99%	500mL	421,00	0,94	0,05
Miristato de metila	C14:0 – Me	0,855 g/mL a 25 °C	≥ 99%	1g	186,00	186,00	9,30
Miristato de etila	C14:0 – Et	0,86 g/mL a 25 °C	99%	100mL	288,00	3,20	0,16
Pentadecanoato de metila	C15:0 – Me	0,862 g/mL a 25 °C	≥ 99%	1g	313,00	313,00	15,65
Pentadecanoato de etila	C15:0 – Et	0,86 g/mL a 25 °C	≥ 99%	0,1	77,00	770,00	38,50
Palmitato de metila	C16:0 – Me	0,852 g/mL a 25 °C	≥ 99%	1g	144,00	144,00	7,20
Palmitato de etila	C16:0 – Et	0,857 g/mL a 25 °C	≥ 99%	5g	149,00	29,80	1,49
Heptadecanoato de metila	C17:0 – Me	n		1g	474,00	474,00	23,70
Estearato de metila	C18:0 – Me	n	≥ 99%	1g	151,00	151,00	7,55
Oleato de metila	C18:1 – Me	0,874 g/mL a 20 C	≥ 99%	1g	150,00	150,00	7,50
Estearato de etila	C18:0 – Et	n	≥ 99%	5g	275,00	55,00	2,75
Oleato de etila	C18:1 – Et	0,87 g/mL a 25 C	98%	5g	196,00	39,20	1,96
linoleato de metila	C18:2 – Me	0,889 g/mL a 25°C	≥ 99%	1g	154,00	154,00	7,70
linoleato de etila	C18:2 – Et	0,876 g/mL a 25°C	≥ 99%	1g	195,00	195,00	9,75
Araquidato de metila	C20:0 – Me	n	≥ 99%	1g	336,00	336,00	16,80
Araquidato de etila	C22:0 – Et	n	≥ 99%	1g	274,00	274,00	13,70
Behenato de metila	C22:0 – Me	n	≥ 99%	1g	179,00	179,00	8,95
Behenato de etila	C22:0 – Et	n	n	n	n	n	n
Tetracosanoato de metila	C24:0 – Me	n	≥ 99%	100 mg	149,00	1.490,00	74,50
Tetracosanoato de etila	C24:0 – Et	n	n	n	n	n	n

*SIGMA-ALDRICH, Disponível em www.sigmaaldrich.com, Acesso em 12 de fevereiro, 2010. n – dado não fornecido

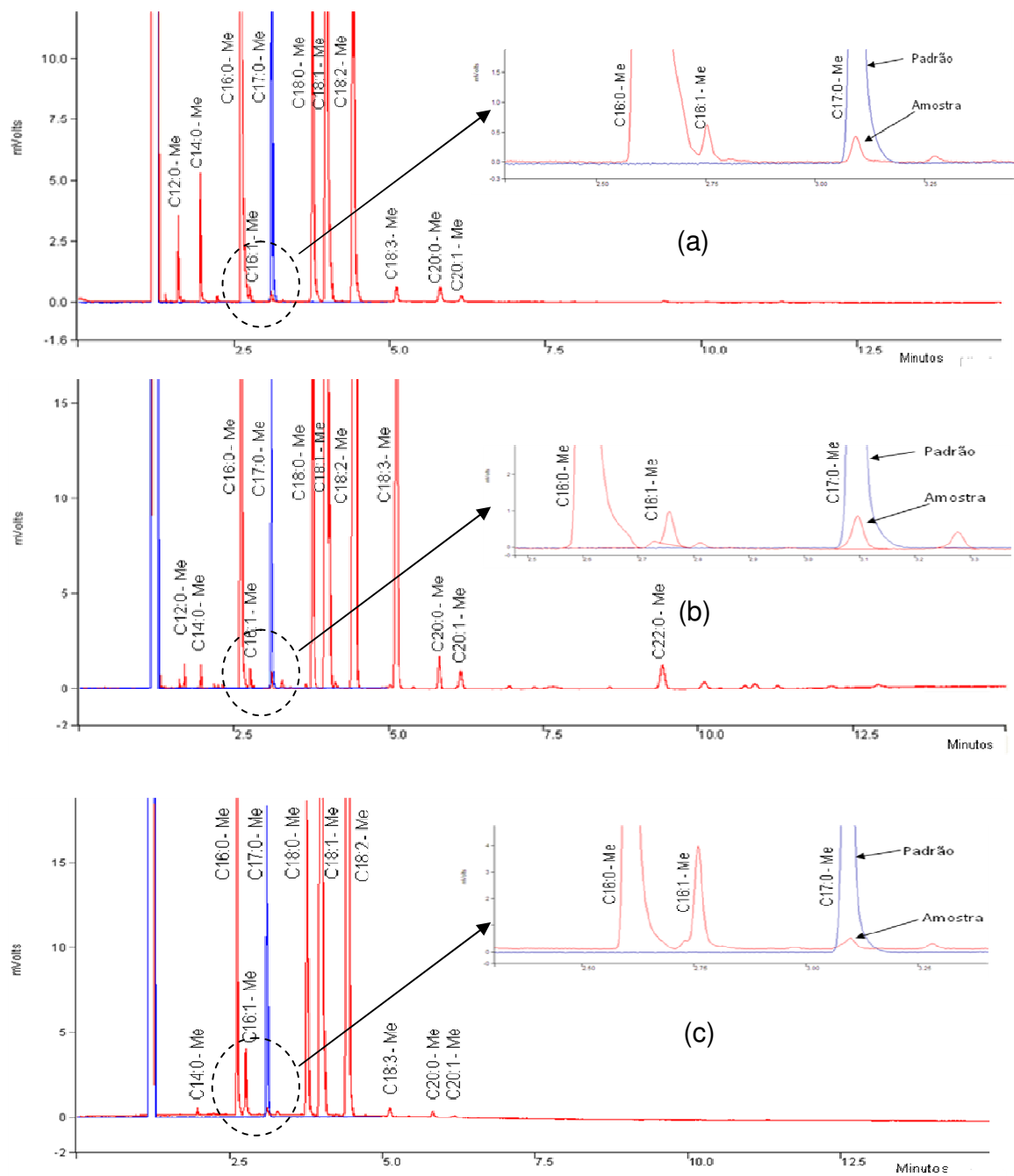


Figura 8 – Identificação da presença de heptadecanoato de metila (pico em azul) em amostras de biodiesel metílicos de dendê, soja e pinhão manso. (a) Biodiesel de dendê, (b) Biodiesel de soja e (c) Biodiesel de pinhão manso

Com base nas considerações acima, foram identificados possíveis padrões internos para determinação do teor de ésteres em biodiesel (Tabela 6). Ésteres poliinsaturados não foram considerados devido a sua alta suscetibilidade à oxidação.

Tabela 6 – Padrões internos com potencial para análise de biodiesel

Biodiesel	Possíveis padrões
Biodiesel metílico	Laurato de etila
	Miristato de etila
	Oleato de etila
Biodiesel etílico	Laurato de metila
	Miristato de metila
	Palmitato de metila
	Estearato de metila

As respostas de cada éster frente à injeção *split* e detecção FID foram avaliadas através da determinação dos fatores de respostas experimentais (FREs), calculados pela Equação 5 com base nos cromatogramas das soluções trabalho de ésteres. As soluções foram injetadas em duplicata e os resultados estão apresentados na Figura 9 e na Tabela 7. A resolução dos picos dos ésteres metílicos e etílicos com 6, 8 e 18 átomos de carbono na cadeia da carboxila estão detalhadas na Figura 9. Na Tabela 7 é apresentada para cada éster o valor da resolução (R_E) do pico em relação ao constituinte imediato na sequência do cromatograma. Os valores de R_E obtidos para os ésteres confirmam uma excelente resolução dos seus picos, uma vez que valores de R_E maiores que 1,5 indicam uma separação completa entre dois componentes (HOLLER *et al.*, 2009). Os cálculos de R_E foram realizados conforme a equação:

$$R_E = \frac{2[(t_{R2}) - (t_{R1})]}{W_1 + W_2} \quad \text{Equação 11}$$

Onde: R_E é a resolução entre picos consecutivos

t_{R1} é o tempo de retenção do componente 1

t_{R2} é o tempo de retenção do componente 2

W_1 é a largura da base do pico 1

W_2 é a largura da base do pico 2

Os valores obtidos para os FREs (Tabela 7) mostram que as maiores variâncias das respostas são obtidas para os ésteres mais leves com número de carbono de C6 a C12 e de C22 a C24. Para os ésteres mais leves, a diferença entre as resposta é explicada pela deficiência de carbono na molécula, enquanto que para os ésteres mais pesados, esta se deve à discriminação no momento da injeção. Foi identificado como exceção o laureato de etila, que apresenta uma deficiência de carbono menor que seu congênera metílico, e apresenta um FRE próximo a 1 como os demais ésteres com cadeia da carboxila de C14 a C18. Mais precisamente, a média dos fatores de C12:0-Et a C18:2-Me (Tabela 7) é 1,0004, com coeficiente de variação (CV%) de 1,6. Contribuíram para o aumento do desvio o heptadecanoato de metila (C17:0-Me) e o oleato de metila (C18:1-Me), cujos valores de FREs foram, respectivamente, 1,0234 e 1,0268. A uma primeira análise, a determinação para esse grupo de ésteres (C12:0-Et a C18:2-Me, com exceção do C17:0-Me e do C18:1-Me) pode ser realizada sem correção da resposta (áreas); no entanto, o mesmo não poderá ser realizado para os demais ésteres sem perda apreciável da exatidão dos resultados.

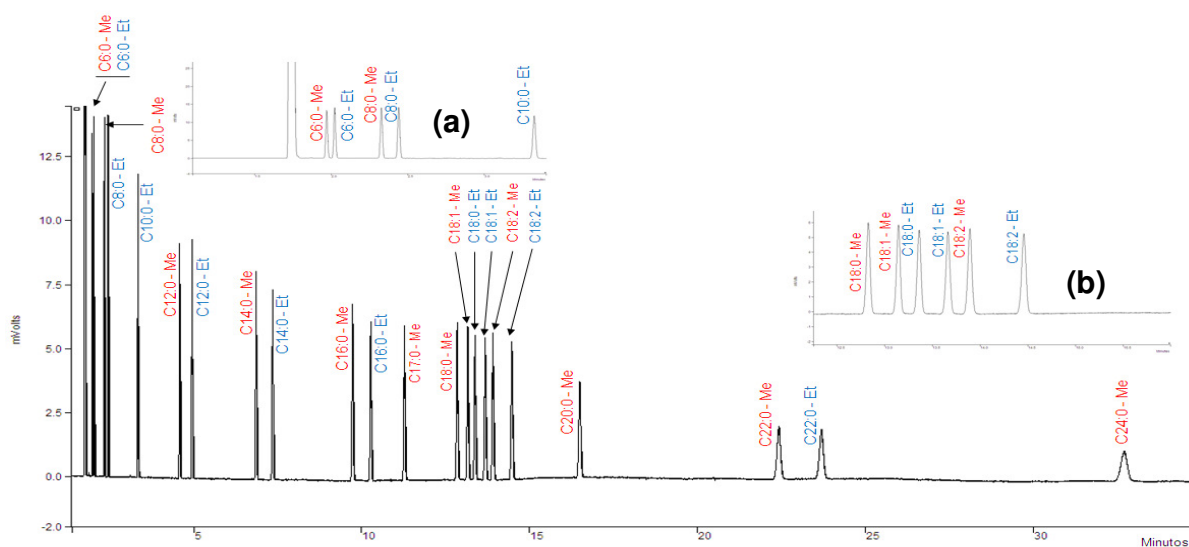


Figura 9 - Cromatograma de padrões de ésteres metílicos e etílicos: **(a)** Detalhe da região de C8 a C10 **(b)** Detalhe da região de C18:0-Me a C18:2 -Et

Tabela 7 – Obtenção de FREs para padrões de ésteres metílicos e etílicos com normalização pelo C18:0-Me

Padrões	TR (min)	W (s)	R _E	mp (mg)	Solução 1			Solução 2			Solução 3			FRE médio	s	CV%
					Área 1	Área 2	FREs	Área 1	Área 2	FREs	Área 1	Área 2	FREs			
C6:0 – Me	1,971	0,00	--	2,03	11619	11505	1,4608	11931	11602	1,4626	11656	11772	1,4224	1,4486	0,0227	1,6
C6:0 – Et	2,024	0,00	40,1	2,01	12499	12353	1,3451	12854	12340	1,3518	12365	12478	1,3273	1,3414	0,0126	0,9
C8:0 – Me	2,328	0,91	7,3	2,05	13858	13774	1,2339	14472	13824	1,2277	13703	13832	1,2215	1,2277	0,0062	0,5
C8:0 – Et	2,441	0,94	49,5	2,02	14349	14273	1,1709	15097	14350	1,1596	14330	14480	1,1476	1,1594	0,0117	1,0
C10:0 – Et	3,323	1,20	54,3	2,00	15451	15408	1,0766	16117	15354	1,0756	15275	15398	1,0685	1,0736	0,0044	0,4
C12:0 – Me	4,563	1,54	13,9	1,99	15665	15537	1,0597	16126	15701	1,0586	15657	15723	1,0395	1,0526	0,0114	1,1
C12:0 – Et	4,932	1,64	62,2	2,00	16721	16556	0,9956	17405	16476	0,9964	16435	16575	0,9901	0,9941	0,0034	0,3
C14:0 – Me	6,833	2,03	14,3	2,08	17681	17750	0,9725	18443	17447	0,9784	17349	17581	0,9732	0,9747	0,0032	0,3
C14:0 – Et	7,325	2,10	63,4	2,00	16833	16713	0,9914	17297	16655	0,9980	16439	16611	0,9927	0,9940	0,0035	0,4
C16:0 – Me	9,701	2,40	13,4	2,10	17415	17693	0,9914	18267	17594	0,9890	17465	17633	0,9784	0,9863	0,0069	0,7
C16:0 – Et	10,242	2,46	24,2	2,00	16688	17111	0,9820	17769	16597	0,9842	16451	16595	0,9908	0,9857	0,0046	0,5
C17:0 – Me	11,245	2,52	36,8	2,01	16318	16665	1,0110	17557	16063	1,0113	16043	16193	1,0205	1,0143	0,0054	0,5
C18:0 – Me	12,809	2,58	7,4	2,13	17525	17797	1,0000	18708	17297	1,0000	17346	17501	1,0000	1,0000	0,0000	0,0
C18:1 – Me	13,128	2,56	4,9	2,00	16021	16275	1,0305	17379	15943	1,0182	15957	16123	1,0234	1,0240	0,0061	0,6
C18:0 – Et	13,346	2,73	6,5	2,01	16153	16743	1,0134	17406	16349	1,0062	16293	16450	1,0042	1,0079	0,0048	0,5
C18:1 – Et	13,645	2,76	4,9	2,01	16342	16689	1,0093	17575	16312	1,0027	16297	16372	1,0067	1,0063	0,0033	0,3
C18:2 – Me	13,875	2,82	11,4	2,13	17517	18044	0,9948	18472	17381	1,0054	17349	17530	1,0005	1,0002	0,0053	0,5
C18:2 – Et	14,440	3,13	33,9	2,16	17809	17911	1,0033	18750	17465	1,0086	17368	17523	1,0133	1,0084	0,0050	0,5
C20:0 – Me	16,460	4,02	66,5	2,05	16276	16361	1,0431	16845	16164	1,0509	15998	16203	1,0430	1,0457	0,0045	0,4
C22:0 – Me	22,377	6,66	10,5	2,01	15330	15158	1,0933	16301	15488	1,0684	15543	15683	1,0530	1,0715	0,0203	1,9
C22:0 – Et	23,638	7,82	52,9	2,05	16176	16491	1,0401	17133	16195	1,0389	16280	16444	1,0243	1,0344	0,0088	0,8
C24:0 – Me	32,643	12,6	40,1	2,01	14565	15876	1,0982	16775	14542	1,0890	15262	15430	1,0729	1,0867	0,0128	1,2

TR – Tempo de Retenção. W – Largura da base do pico. R_E – Resolução. mp – Massa de éster s – Desvio padrão. CV(%) – Coeficiente de variância.

A partir de 20 átomos de carbono na cadeia, os FRTs tem seus valores reduzidos suavemente, enquanto que os FREs apresentam uma tendência de crescimento em função da necessidade de correção devida à discriminação dos ésteres mais pesados (Figura 10). Os valores dos desvios padrões também indicam uma maior variação dos valores dos FREs para os ésteres mais leves (C6 a C12) e mais pesados (C20 a C24), que são os mais afetados pela injeção *split*.

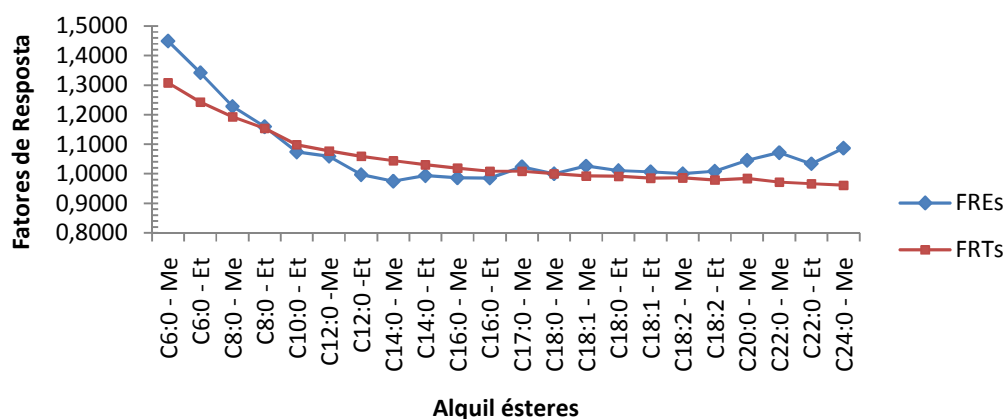


Figura 10 – Variação dos FRTs e FREs com o aumento da cadeia carbônica da carboxila nos alquil ésteres

Os FREs foram comparados com os respectivos FRTs com base nos valores de $t_{\text{calculado}}$ e t_{tabelado} (Tabela 8). Tanto os FREs quanto os FRTs utilizados na comparação foram calculados com normalização pelo estearato de metila. Para a análise realizada em triplicata ($n=3$) o valor de t_{tabelado} é igual a 4,303 a 95% de confiança. Os valores de $t_{\text{calculado}}$ foram obtidos conforme a Equação 12. Os valores são significativamente diferentes, a um nível de confiança de 95%, quando $t_{\text{calculado}} > t_{\text{tabelado}}$ (HARRIS, 2008).

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|\text{FRE} - \text{FRT}|}{s} \cdot \sqrt{n} \quad \text{Equação 12}$$

Onde: $t_{\text{calculado}}$ é o valor do t_{Student} calculado para a diferença entre FRE e o FRT;
 $\text{FRE}_{\text{médio}}$ é a média dos valores dos Fatores de Resposta Experimentais;
 FRT é o Fator de Resposta Teórico;
 s é o desvio padrão das medidas do FRE;
 n é o número de replicatas para obtenção do $\text{FRE}_{\text{médio}}$.

No conjunto dos 22 ésteres analisados, apenas o C8:0-Et, o C12:0-Me e o C17:0-Me apresentaram diferenças não significativas entre os valores de FREs e os respectivos FRTs. Já os demais ésteres apresentaram diferenças significativas e, nestes casos, não se podem garantir resultados confiáveis se as áreas dos picos forem corrigidas apenas pelo FRT.

Tabela 8 – Comparação entre os FREs, obtidos através da injeção *split*, e os FRT

Padrões	FRE médio	s	$\bar{x} - ts / \sqrt{n}$	$\bar{x} + ts / \sqrt{n}$	FRT	t _{calculado}	Dif.* FRE / FRT
C6:0 – Me	1,4486	0,0227	1,3922	1,5050	1,3083	10,698	S
C6:0 – Et	1,3414	0,0126	1,3100	1,3728	1,2423	13,578	S
C8:0 – Me	1,2277	0,0062	1,2124	1,2430	1,1928	9,795	S
C8:0 – Et	1,1594	0,0117	1,1304	1,1883	1,1542	0,767	NS
C10:0 – Et	1,0736	0,0044	1,0626	1,0845	1,0981	9,643	S
C12:0 – Me	1,0526	0,0114	1,0243	1,0808	1,0771	3,734	NS
C12:0 – Et	0,9941	0,0034	0,9856	1,0026	1,0593	32,986	S
C14:0 – Me	0,9747	0,0032	0,9668	0,9826	1,0441	37,794	S
C14:0 – Et	0,9940	0,0035	0,9852	1,0028	1,0308	18,056	S
C16:0 – Me	0,9863	0,0069	0,9690	1,0035	1,0193	8,240	S
C16:0 – Et	0,9857	0,0046	0,9743	0,9970	1,0091	8,865	S
C17:0 – Me	1,0143	0,0054	1,0008	1,0277	1,0091	1,654	NS
C18:0 – Me	1,0000	0,0000	1,0000	1,0000	1,0000	---	--
C18:1 – Me	1,0240	0,0061	1,0088	1,0393	0,9933	8,663	S
C18:0 – Et	1,0079	0,0048	0,9960	1,0199	0,9919	5,784	S
C18:1 – Et	1,0063	0,0033	0,9980	1,0145	0,9855	10,856	S
C18:2 – Me	1,0002	0,0053	0,9870	1,0134	0,9865	4,479	S
C18:2 – Et	1,0084	0,0050	0,9959	1,0208	0,9791	10,095	S
C20:0 – Me	1,0457	0,0045	1,0344	1,0569	0,9846	23,386	S
C22:0 – Me	1,0715	0,0203	1,0210	1,1220	0,9720	8,483	S
C22:0 – Et	1,0344	0,0088	1,0126	1,0562	0,9665	13,407	S
C24:0 – Me	1,0867	0,0128	1,0549	1,1184	0,9615	16,966	S

s – Desvio padrão.

* Diferença entre FRE e FRT, calculada a um nível de 95% de confiança

Classificação: S – diferença significativa; NS – diferença não significativa.

8.2 Fatores de correção para injeção *split*

Os valores dos FRTs e do FREs podem ser facilmente obtidos utilizando uma planilha de cálculo. Aplicando os valores das massas e áreas dos ésteres da Tabela 7 e as respectivas massas molares e massas ativas de carbono à Equação 8, foram obtidos para cada éster os FRS. Conforme mencionado (Tabela 5), para o cálculo dos FRS foram selecionados como padrões para os biodiesel etílicos o laureato de metila (C12:0-Met), o miristato de metila (C14:0-Met), o palmitato de metila (C16:0-Met) e o estearato de metila. Para as amostras de biodiesel metílicos, foram avaliados como padrões de normalização o laureato de etila (C12:0-Et), o miristato de etila (C14:0-Et) e o oleato de etila (C18:1-Et).

Os FRS (Tabelas 9 e 10) apresentaram coeficientes de variância superiores aos registrados para os FRE (Tabela 7). Os maiores desvios foram percebidos para os ésteres situados nas extremidades da sequência analisada (ésteres leves e pesados), efeito esse creditado ao fato de se tratarem dos componentes da mistura que mais são afetados pela injeção *split*, conforme discutidos anteriormente.

Tabela 9 – Cálculo de FRSs, tendo ésteres metílicos como referência de normalização

Padrões	FRS _{C12:0-Me} = 1,0000			FRS _{C14:0-Me} = 1,0000			FRS _{C16:0-Me} = 1,0000			FRS _{C18:0-Me} = 1,0000		
	FRS médio	s	CV%	FRS médio	s	CV%	FRS médio	s	CV%	FRS médio	s	CV%
C6:0 – Me	1,1261	0,0055	0,5	1,1859	0,0193	1,6	1,1442	0,0135	1,2	1,1072	0,0253	2,3
C6:0 – Et	1,0984	0,0064	0,6	1,1566	0,0114	1,0	1,1159	0,0107	1,0	1,0798	0,0183	1,7
C8:0 – Me	1,0471	0,0091	0,9	1,1025	0,0080	0,7	1,0638	0,0083	0,8	1,0293	0,0135	1,3
C8:0 – Et	1,0218	0,0091	0,9	1,0760	0,0111	1,0	1,0382	0,0090	0,9	1,0045	0,0143	1,4
C10:0 – Et	0,9945	0,0093	0,9	1,0472	0,0055	0,5	1,0104	0,0074	0,7	0,9776	0,0114	1,2
C12:0 –Me	1,0000	0,0000	0,0	1,0467	0,0143	1,4	1,0160	0,0094	0,9	0,9831	0,0202	2,1
C12:0 –Et	0,9575	0,0107	1,1	1,0052	0,0055	0,6	0,9728	0,0101	1,0	0,9412	0,0107	1,1
C14:0 – Me	0,9498	0,0130	1,4	1,0000	0,0000	0,0	0,9649	0,0090	0,9	0,9336	0,0082	0,9
C14:0 – Et	0,9809	0,0100	1,0	1,0328	0,0069	0,7	0,9966	0,0097	1,0	0,9643	0,0145	1,5
C16:0 – Me	0,9843	0,0090	0,9	1,0364	0,0097	0,9	1,0000	0,0000	0,0	0,9676	0,0139	1,4
C16:0 – Et	0,9939	0,0215	2,2	1,0463	0,0100	1,0	1,0096	0,0147	1,5	0,9768	0,0059	0,6
C17:0 – Me	1,0320	0,0267	2,6	1,0768	0,0145	1,3	1,0483	0,0205	2,0	1,0141	0,0062	0,6
C18:0 – Me	1,0175	0,0207	2,0	1,0712	0,0093	0,9	1,0336	0,0148	1,4	1,0000	0,0000	0,0
C18:1 – Me	1,0378	0,0234	2,3	1,0917	0,0152	1,4	1,0542	0,0163	1,5	1,0200	0,0117	1,1
C18:0 – Et	1,0504	0,0239	2,3	1,1013	0,0158	1,4	1,0671	0,0186	1,7	1,0323	0,0117	1,1
C18:1 – Et	1,0389	0,0211	2,0	1,0938	0,0113	1,0	1,0554	0,0144	1,4	1,0211	0,0040	0,4
C18:2 – Me	1,0316	0,0202	2,0	1,0861	0,0094	0,9	1,0480	0,0128	1,2	1,0139	0,0087	0,9
C18:2 – Et	1,0479	0,0210	2,0	1,1032	0,0078	0,7	1,0645	0,0162	1,5	1,0299	0,0061	0,6
C20:0 – Me	1,0804	0,0118	1,1	1,1375	0,0053	0,5	1,0976	0,0079	0,7	1,0620	0,0137	1,3
C22:0 – Me	1,1214	0,0147	1,3	1,1809	0,0221	1,9	1,1393	0,0173	1,5	1,1024	0,0230	2,1
C22:0 – Et	1,0889	0,0142	1,3	1,1465	0,0101	0,9	1,1062	0,0069	0,6	1,0703	0,0112	1,0
C24:0 – Me	1,1504	0,0545	4,7	1,2110	0,0480	4,0	1,1685	0,0471	4,0	1,1303	0,0364	3,2

s – Desvio padrão. CV(%) – Coeficiente de variância.

Tabela 10 – Cálculo de FRSs, tendo ésteres etílicos como referência de normalização

Padrões	FRS _{C12:0-Et} =1,0000			FRS _{C14:0-Et} =1,0000			FRS _{C18:1 Et} =1,0000		
	FRS médio	s	CV%	FRS médio	s	CV%	FRS médio	s	CV%
C6:0 – Me	1,1798	0,0164	1,4	1,1482	0,0156	1,4	1,0843	0,0252	2,3
C6:0 – Et	1,1454	0,0140	1,2	1,1198	0,0082	0,7	1,0658	0,0333	3,1
C8:0 – Me	1,0968	0,0046	0,4	1,0675	0,0069	0,6	1,0080	0,0134	1,3
C8:0 – Et	1,0704	0,0075	0,7	1,0418	0,0113	1,1	0,9838	0,0139	1,4
C10:0 – Et	1,0418	0,0033	0,3	1,0139	0,0057	0,6	0,9574	0,0117	1,2
C12:0 –Me	1,0413	0,0117	1,1	1,0195	0,0103	1,0	0,9629	0,0199	2,1
C12:0 –Et	1,0000	0,0000	0,0	0,9762	0,0062	0,6	0,9218	0,0116	1,3
C14:0 – Me	0,9949	0,0055	0,5	0,9682	0,0065	0,7	0,9143	0,0095	1,0
C14:0 – Et	1,0275	0,0066	0,6	1,0000	0,0000	0,0	0,9444	0,0151	1,6
C16:0 – Me	1,0311	0,0108	1,0	1,0035	0,0099	1,0	0,9476	0,0131	1,4
C16:0 – Et	1,0410	0,0143	1,4	1,0131	0,0151	1,5	0,9566	0,0058	0,6
C17:0 – Me	1,0713	0,0176	1,6	1,0520	0,0204	1,9	0,9932	0,0071	0,7
C18:0 – Me	1,0657	0,0121	1,1	1,0372	0,0155	1,5	0,9794	0,0038	0,4
C18:1 – Me	1,0830	0,0164	1,5	1,0540	0,0180	1,7	0,9952	0,0070	0,7
C18:0 – Et	1,0988	0,0156	1,4	1,0747	0,0201	1,9	1,0147	0,0052	0,5
C18:1 – Et	1,0907	0,0137	1,3	1,0591	0,0168	1,6	1,0000	0,0000	0,0
C18:2 – Me	1,0806	0,0148	1,4	1,0516	0,0146	1,4	0,9930	0,0093	0,9
C18:2 – Et	1,0976	0,0110	1,0	1,0682	0,0130	1,2	1,0086	0,0082	0,8
C20:0 – Me	1,1317	0,0082	0,7	1,1014	0,0047	0,4	1,0401	0,0143	1,4
C22:0 – Me	1,1748	0,0176	1,5	1,1433	0,0214	1,9	1,0797	0,0219	2,0
C22:0 – Et	1,1406	0,0119	1,0	1,1101	0,0141	1,3	1,0482	0,0108	1,0
C24:0 – Me	1,2049	0,0508	4,2	1,1728	0,0540	4,6	1,1069	0,0352	3,2

s – Desvio padrão. CV(%) – Coeficiente de variância.

O gráfico apresentado na Figura 11 demonstra os comportamentos da distribuição dos valores de FRS e FRE em função das massas molares. Para esta análise, o gráfico foi elaborado com base nos dados das Tabelas 7 e 9 e tanto os FRSs quanto os FREs foram calculados considerando o estearato de metila como padrão de normalização, conforme foi proposto por Ackman e Sipos (1964) para o cálculo dos FRT. Ambas as curvas apresentam um formato de “V”, delineado em função do comportamento diferenciado dos ésteres durante a injeção *split*. A porção negativa das curvas refere-se aos ésteres cujas determinações no FID sofrem significativa influência da deficiência de carbono. Nas porções positivas das curvas

estão os ésteres que são menos afetados pela deficiência de carbono, efeito esse que vai sendo minimizado à medida que aumenta a massa molar e que, nesta mesma sequência, vai sendo gradualmente aumentado o efeito da discriminação durante a injeção *split*. A fronteira entre estes dois comportamentos é ocupada pelos ésteres miristato de metila e laurato de etila, que estão no ponto de inflexão das curvas. Conforme demonstrado na Equação 9, os FRSs são obtidos pela razão entre os FREs e os FRTs, explicando os valores menores dos FRSs frente aos FREs na seção de inclinação negativa da curva. Como a partir do miristato de metila os valores de FRE estão mais próximos aos de FRT, os valores de FRS se aproximam de FRE na parte positiva das curvas, havendo uma maior diferença para o behenato de metila e o tetracosonoato de metila.

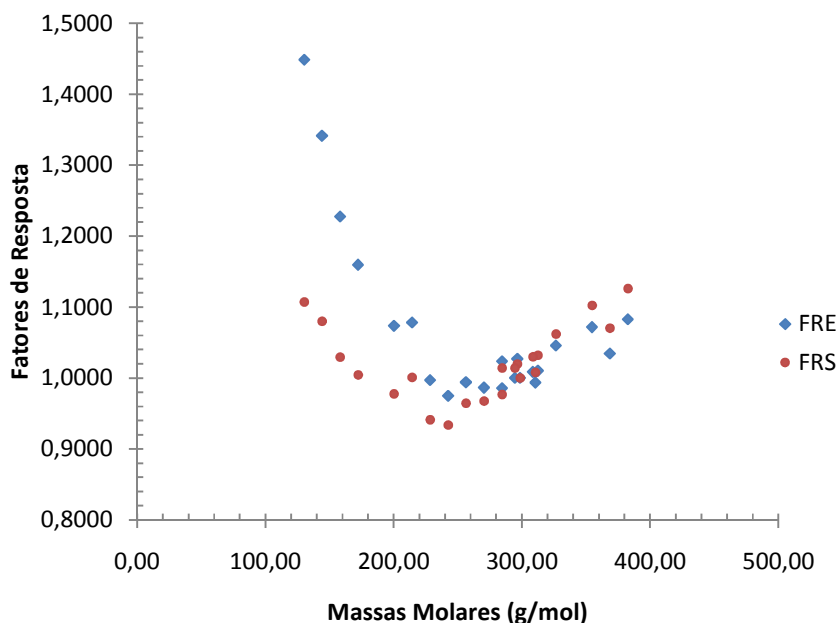


Figura 11 – Distribuição dos FRS e dos FREs em função das massas molares dos ésteres metílicos e etílicos

A partir dos dados das Tabelas 9 e 10, novos gráficos das massas molares versus FRS foram elaborados, considerando agora outros padrões de normalização (Figuras 12a, 12b, 12c, 12d, 13a, 13b, 13c e 13d). Em todas essas figuras percebem-se o mesmo comportamento descritos acima. Dentre esses, está o posicionamento do miristato de metila e do laurato de etila nos pontos de inflexão das curvas.

Diferentemente das curvas dos FREs, verifica-se ainda que ambas seções das curvas de FRS apresentam, em módulo, o mesmo valor de inclinação. Com base nessa observação, propôs-se linearizar a curva substituindo os valores de FRS da porção de inclinação negativa da curva pelos seus respectivos recíprocos (FRS^{-1}). Esta estratégia deu origem aos gráficos das Figuras 12a', 12b', 12c', 12d', 13a', 13b', 13c' e 13d'. Como se pode observar, os melhores resultados de linearização foram alcançados para as curvas obtidas empregando normalização pelo miristato de metila e pelo laurato de etila (Figuras 12b' e 13a'). Por estar no vértice da curva (Figura 11), o miristato de metila e o laurato de etila representam o ponto onde a deficiência de carbono deixa de ser preponderante. Matematicamente, ambos os pontos participam das duas retas que compõem a curva. Assim sendo, as normalizações pelo miristato de metila e pelo laurato de etila permitiram uma melhor colinearidade dos pontos. Aplicando esses dois ésteres como padrões de normalização, foi possível obter retas que demonstram uma correlação linear entre as massas molares dos ésteres metílicos e etílicos analisados e os seus respectivos FRS^{-1} (para ésteres com cadeia carbônica menor que 14) e FRS (para ésteres com cadeia carbônica maior e igual a 14).

Com o objetivo de avaliar a aplicação de padrões de ésteres metílicos para a determinação de ésteres em biodiesel etílico, como também o emprego de ésteres etílicos para quantificação de ésteres em biodiesel metílico, foram elaboradas curvas de correlação separadas para ésteres etílicos (Figuras 14a) e para ésteres metílicos (Figuras 15a). Na Figura 14b, os FRS foram correlacionados com as respectivas massas dos ésteres etílicos, estando presentes os padrões C12:0-Me, C14:0-Me (padrão de normalização) e C18:0-Me. O mesmo foi feito para os ésteres metílicos, utilizando como padrões C12:0-Et (padrão de normalização), C14:0-Et e C18:1-Et (Figura 15b). Como se pode verificar, não há variações significativas nas equações das retas e nos coeficientes de determinação (r^2) quando os ésteres estão ou não na presença de seus respectivos padrões. Com base nos resultados, os valores dos FRS dos padrões de ésteres metílicos, obtidos conforme a Equação 8, serão empregados para predição dos FRS dos ésteres etílicos. O mesmo será avaliado para os padrões de ésteres etílicos para previsão dos FRS para ésteres dos ésteres metílicos.

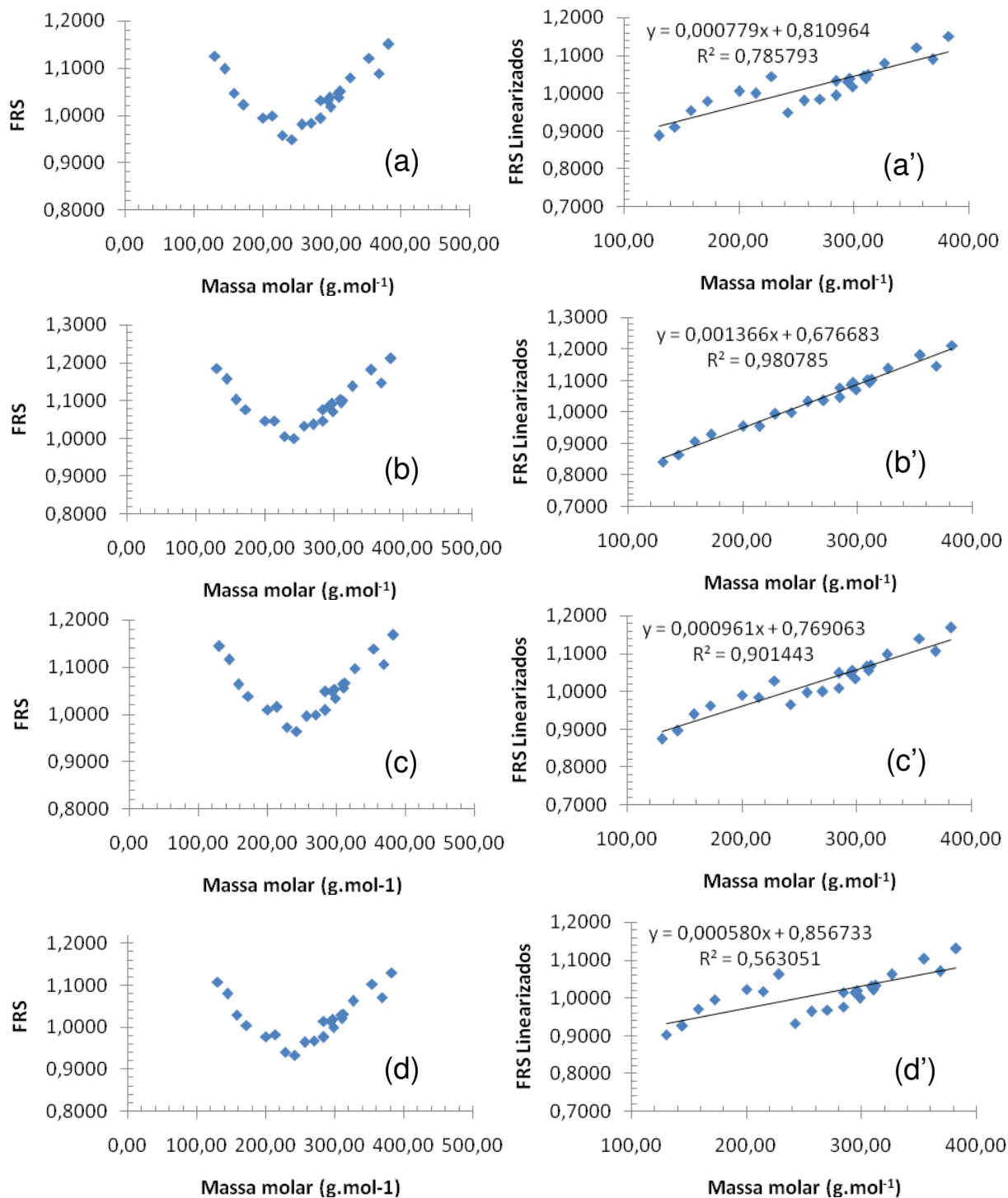


Figura 12 – Correlação entre massas molares dos ésteres e os FRSs calculados com normalização por ésteres metílicos: (a) Massa molar x FRS Normalizado pelo C12:0-Me, (a') Curva (a) linearizada, (b) Massa molar x FRS Normalizado pelo C14:0-Me, (b') Curva (b) linearizada, (c) Massa molar x FRS Normalizado pelo C16:0-Me, (c') Curva (c) linearizada, (d) Massa molar x FRS Normalizado pelo C18:0-Me, (d') Curva (d) linearizada.

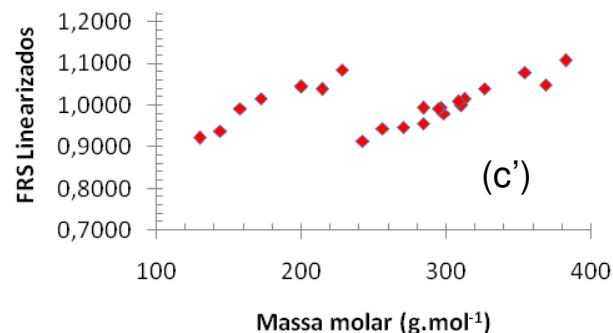
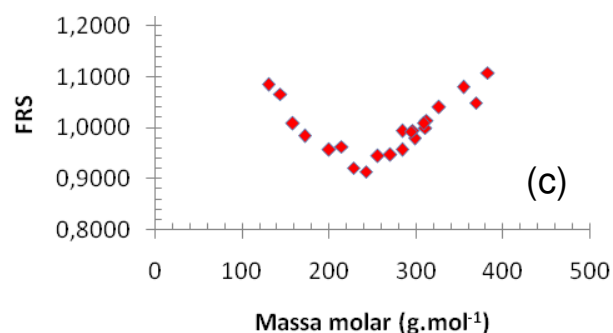
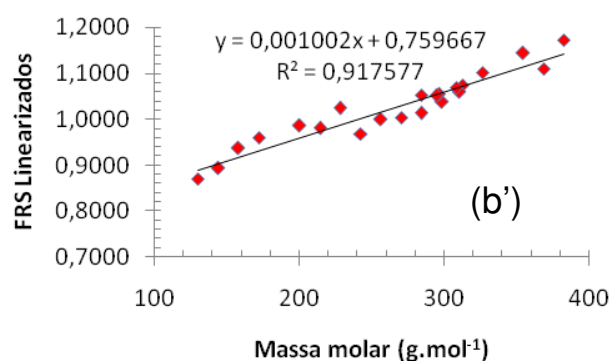
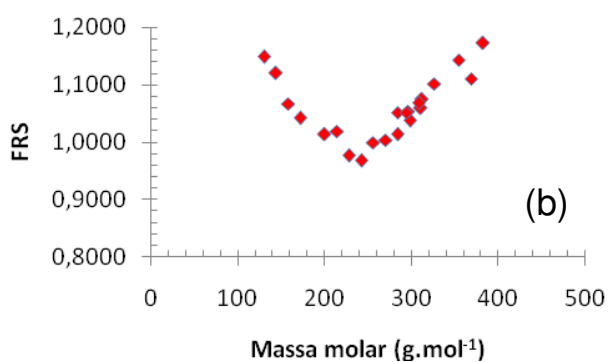
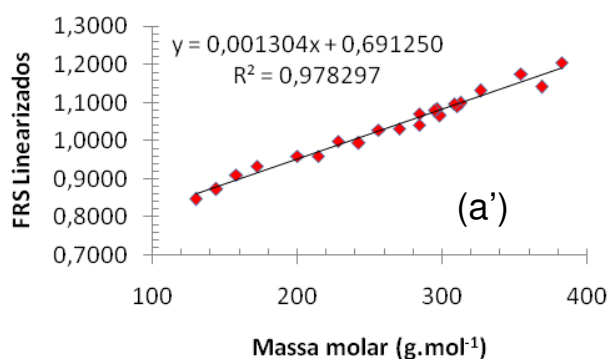
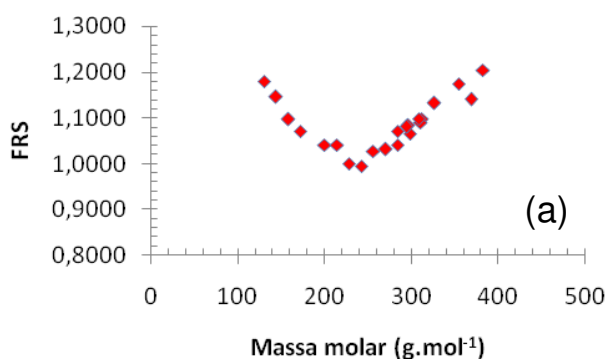


Figura 13 - Correlação entre massas molares dos ésteres e os FRSs calculados com normalização por ésteres etílicos: (a) Massa molar x FRS Normalizado pelo C12:0-Et. (a') Curva (a) linearizada, (b) Massa molar x FRS Normalizado pelo C14:0-Et, (b') Curva (b) linearizada, (c) Massa molar x FRS Normalizado pelo C18:1-Et. (d') Curva (d) linearizada

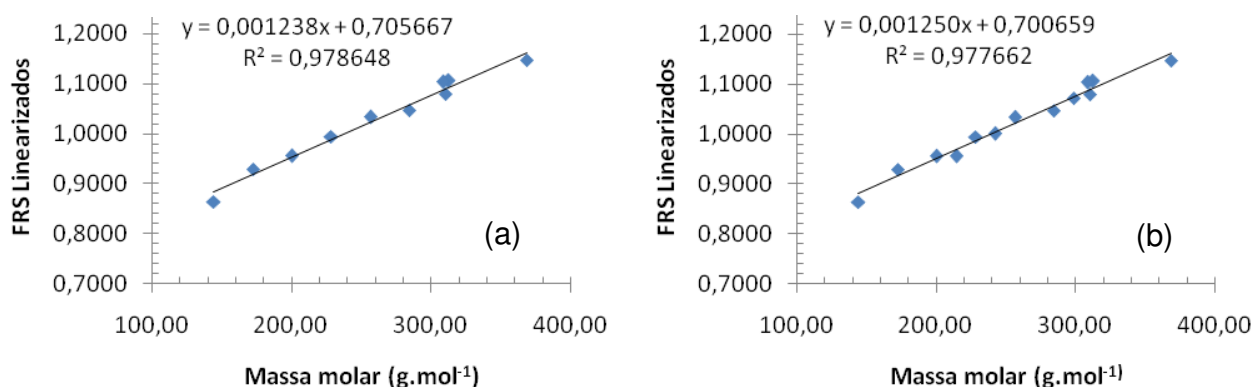


Figura 14 – Correlação entre as massas molares dos ésteres etílicos e os FRS⁻¹ e FRS obtidos para uma razão *split* de 1:100: (a) Massas molares dos ésteres etílicos versus os FRS⁻¹ e FRS, com normalização pelo C14:0-Me, (b) Massas molares dos ésteres etílicos versus os FRS⁻¹ e FRS, na presença dos padrões C12:0-Me, C14:0-Me C18:0-Me, com normalização pelo C14:0-Me.

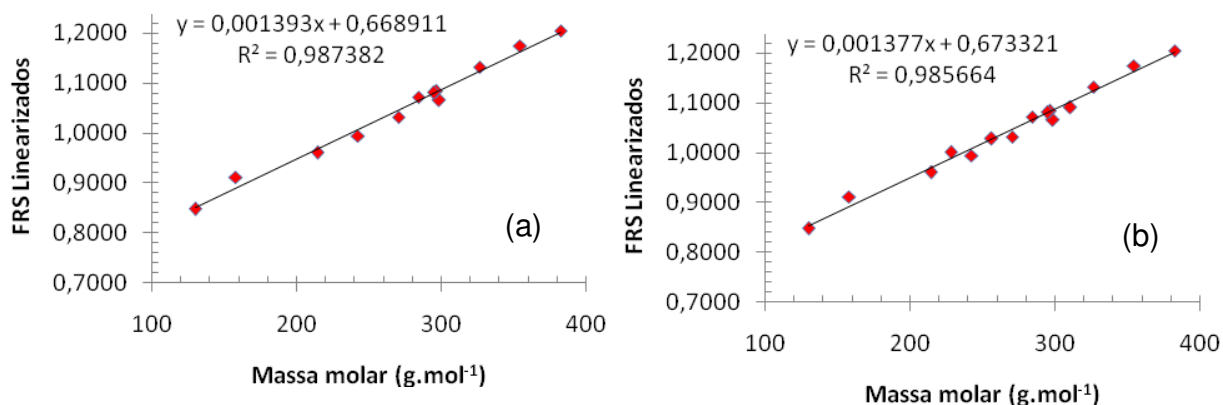


Figura 15 – Correlação entre as massas molares dos ésteres metílicos e os FRS⁻¹ e FRS numa razão *split* de 1:100: (a) Massas molares dos ésteres metílicos versus os FRS⁻¹ e FRS. Normalização pelo C12:0-Et, (b) Massas molares dos ésteres metílicos versus os FRS⁻¹ e FRS, na presença dos padrões C12:0-Et, C14:0-Et C18:1-Et, com normalização pelo C12:0-Et

8.3 Previsão e validação dos fatores de resposta *split*

Foi determinada a equação da curva de regressão das massas molares dos padrões C12:0-Me, C14:0-Me e C18:0-Me (para fins de quantificação em biodiesel etílico) versus os valores correspondentes de FRS, calculados através da Equação 8, com base nos valores das áreas dos picos e das massas dos ésteres apresentados na Tabela 7 e normalização pelo C14:0-Me (Tabela 11). O mesmo foi feito para os padrões etílicos C12:0-Et, C14:0-Et e C18:1-Et (para fins de quantificação em biodiesel metílico) com normalização pelo C12:0-Et. Conforme foi discutido na seção anterior, foram utilizados os valores de FRS^{-1} para o C12:0-Me e para o C12:0-Et de forma obter a linearização da curva.

Tabela 11 - Curvas de regressão das massas molares dos alquil ésteres versus FRSs obtidas para vazão *split* de 1:100

			Solução 1	Solução 2	Solução 3
		Massa Molar	FRS	FRS	FRS
Normalização pelo C14:0-Me	Laurato de metila	214,34	0,9468*	0,9536*	0,9659*
	Miristato de metila	242,40	1,0000	1,0000	1,0000
	Estearato de metila	298,50	1,0736	1,0673	1,0728
	Coefficiente angular		0,001479	0,001329	0,001274
	Coefficiente linear		0,6345	0,6723	0,6921
	R ²		0,9905	0,9929	0,9998
	Normalização pelo C12:0-Et	Laurato de etila	228,37	1,0000*	1,0000*
Miristato de etila		256,42	1,0232	1,0292	1,0302
Oleato de etila		310,51	1,0923	1,0843	1,0954
Coefficiente angular			0,001145	0,001025	0,001167
Coefficiente linear			0,7351	0,7661	0,7325
R ²			0,9903	0,9999	0,9993

* Inverso do FRS (FRS^{-1})

Os FRS preditos (FRS_{Preditos}), obtidos tanto pela normalização pelo C14:0-Me quanto pelo C12:0-Et, apresentaram boa concordância entre os valores das replicatas, como se pode observar através dos coeficientes de variância (Tabela 12 e 13, respectivamente). Os FRS_{Preditos} médios também foram avaliados calculando-se os Erros de Previsão (EP%) com relação aos seus congêneres, determinados através da Equação 8. Os valores dos EP% com normalização pelo C14:0-Me não

excederam 2%, ao passo que, para os obtidos através da normalização pelo C12:0-Et, foram observadas as maiores diferenças para as substâncias que ocupam as extremidades do conjunto experimental de alquil ésteres, ordenadas pelas massas molares. Excetuando o C6:0-Me e o C6:0-Et, a média dos EP% manteve-se próximo a 1%, alcançado portanto uma boa aproximação dos FRS calculados pela Equação 8.

Tabela 12 – Fatores *split* preditos obtidos com uma vazão *split* de 1:100 e com normalização pelo C14:0-Me

Ésteres	Massas Molares (g/mol)	FRS preditos									Comparação	
		Solução 1		Solução 2		Solução 3		FRS Médias	s	CV (%)	FRS Determinados com base na Equação 8	EP (%)
		FRS Linearizados	FRS	FRS Linearizados	FRS	FRS Linearizados	FRS					
C6:0 - Me	130,18	0,8270*	1,2092	0,8454*	1,1829	0,8580*	1,1655	1,1859	0,0220	1,9	1,1859	0,0
C6:0 - Et	144,21	0,8604*	1,1623	0,8640*	1,1574	0,8759*	1,1417	1,1538	0,0107	0,9	1,1566	0,2
C8:0 - Me	158,24	0,9005*	1,1105	0,8827*	1,1329	0,8937*	1,1189	1,1208	0,0113	1,0	1,1025	1,7
C8:0 - Et	172,26	0,9182*	1,0891	0,9013*	1,1095	0,9116*	1,0970	1,0985	0,0103	0,9	1,0760	2,1
C10:0 - Et	200,32	0,9502*	1,0524	0,9386*	1,0654	0,9473*	1,0556	1,0578	0,0068	0,6	1,0472	1,0
C12:0 -Me	214,34	0,9468*	1,0562	0,9572*	1,0447	0,9652*	1,0360	1,0456	0,0101	1,0	1,0467	0,1
C12:0 -Et	228,37	0,9911*	1,0090	0,9759*	1,0247	0,9831*	1,0172	1,0170	0,0079	0,8	1,0052	1,2
C14:0 - Me	242,4	1,0000	1,0000	0,9945	0,9945	1,0010	1,0010	0,9985	0,0035	0,3	1,0000	0,2
C14:0 - Et	256,42	1,0324	1,0324	1,0132	1,0132	1,0188	1,0188	1,0215	0,0099	1,0	1,0328	1,1
C16:0 - Me	270,45	1,0443	1,0443	1,0318	1,0318	1,0367	1,0367	1,0376	0,0063	0,6	1,0364	0,1
C16:0 - Et	284,48	1,0448	1,0448	1,0505	1,0505	1,0546	1,0546	1,0499	0,0049	0,5	1,0463	0,3
C17:0 - Me	284,48	1,0757	1,0757	1,0505	1,0505	1,0546	1,0546	1,0602	0,0135	1,3	1,0768	1,5
C18:0 - Me	298,5	1,0736	1,0736	1,0691	1,0691	1,0724	1,0724	1,0717	0,0023	0,2	1,0712	0,0
C18:1 - Me	296,49	1,0969	1,0969	1,0664	1,0664	1,0699	1,0699	1,0777	0,0167	1,5	1,0917	1,3
C18:0 - Et	312,53	1,1138	1,1138	1,0878	1,0878	1,0903	1,0903	1,0973	0,0143	1,3	1,1013	0,4
C18:1 - Et	310,51	1,0996	1,0996	1,0851	1,0851	1,0877	1,0877	1,0908	0,0077	0,7	1,0938	0,3
C18:2 - Me	294,47	1,0827	1,0827	1,0638	1,0638	1,0673	1,0673	1,0712	0,0100	0,9	1,0861	1,4
C18:2 - Et	308,5	1,1000	1,1000	1,0824	1,0824	1,0852	1,0852	1,0892	0,0095	0,9	1,1032	1,3
C20:0 - Me	326,56	1,1373	1,1373	1,1064	1,1064	1,1082	1,1082	1,1173	0,0174	1,6	1,1375	1,8
C22:0 - Me	354,61	1,2075	1,2075	1,1437	1,1437	1,1439	1,1439	1,1650	0,0368	3,2	1,1809	1,3
C22:0 - Et	368,64	1,1554	1,1554	1,1623	1,1623	1,1618	1,1618	1,1598	0,0039	0,3	1,1465	1,2
C24:0 - Me	382,66	1,2265	1,2265	1,1810	1,1810	1,1796	1,1796	1,1957	0,0267	2,2	1,2110	1,3

* Inverso do FRS (FRS⁻¹)

CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão. s – Desvio padrão.

Tabela 13 – Fatores *split* preditos obtidos com uma vazão *split* de 1:100 e com normalização pelo C12:0-Et

Ésteres	Massas Molares (g/mol)	FRS preditos									Comparação	
		Solução 1		Solução 2		Solução 3		FRS Médias	s	CV (%)	FRS Determinados com base na Equação 8	EP (%)
		FRS Linearizados	FRS	FRS Linearizados	FRS	FRS Linearizados	FRS					
C6:0 - Me	130,18	0,8841*	1,1311	0,8995*	1,1117	0,8844*	1,1307	1,1245	0,0111	1,0	1,1798	4,7
C6:0 - Et	144,21	0,9001*	1,1109	0,9139*	1,0942	0,9008*	1,1101	1,1051	0,0094	0,9	1,1454	3,5
C8:0 - Me	158,24	0,9162*	1,0915	0,9283*	1,0773	0,9172*	1,0903	1,0864	0,0079	0,7	1,0968	1,0
C8:0 - Et	172,26	0,9322*	1,0727	0,9426*	1,0608	0,9335*	1,0712	1,0682	0,0065	0,6	1,0704	0,2
C10:0 - Et	200,32	0,9644*	1,0370	0,9714*	1,0294	0,9663*	1,0349	1,0338	0,0039	0,4	1,0418	0,8
C12:0 -Me	214,34	0,9804*	1,0200	0,9858*	1,0144	0,9826*	1,0177	1,0174	0,0028	0,3	1,0413	2,3
C12:0 -Et	228,37	0,9965*	1,0035	1,0002*	0,9998	0,9990*	1,0010	1,0015	0,0019	0,2	1,0000	0,1
C14:0 - Me	242,4	1,0125	1,0125	1,0145	1,0145	1,0154	1,0154	1,0142	0,0015	0,1	0,9949	1,9
C14:0 - Et	256,42	1,0286	1,0286	1,0289	1,0289	1,0317	1,0317	1,0297	0,0017	0,2	1,0275	0,2
C16:0 - Me	270,45	1,0446	1,0446	1,0433	1,0433	1,0481	1,0481	1,0454	0,0025	0,2	1,0311	1,4
C16:0 - Et	284,48	1,0607	1,0607	1,0577	1,0577	1,0645	1,0645	1,0610	0,0034	0,3	1,0410	1,9
C17:0 - Me	284,48	1,0607	1,0607	1,0577	1,0577	1,0645	1,0645	1,0610	0,0034	0,3	1,0713	1,0
C18:0 - Me	298,5	1,0767	1,0767	1,0721	1,0721	1,0808	1,0808	1,0765	0,0044	0,4	1,0657	1,0
C18:1 - Me	296,49	1,0744	1,0744	1,0700	1,0700	1,0785	1,0785	1,0743	0,0043	0,4	1,0830	0,8
C18:0 - Et	312,53	1,0928	1,0928	1,0864	1,0864	1,0972	1,0972	1,0922	0,0054	0,5	1,0988	0,6
C18:1 - Et	310,51	1,0905	1,0905	1,0844	1,0844	1,0949	1,0949	1,0899	0,0053	0,5	1,0907	0,1
C18:2 - Me	294,47	1,0721	1,0721	1,0679	1,0679	1,0761	1,0761	1,0721	0,0041	0,4	1,0806	0,8
C18:2 - Et	308,5	1,0882	1,0882	1,0823	1,0823	1,0925	1,0925	1,0877	0,0051	0,5	1,0976	0,9
C20:0 - Me	326,56	1,1089	1,1089	1,1008	1,1008	1,1136	1,1136	1,1078	0,0065	0,6	1,1317	2,1
C22:0 - Me	354,61	1,1410	1,1410	1,1296	1,1296	1,1463	1,1463	1,1390	0,0086	0,8	1,1748	3,0
C22:0 - Et	368,64	1,1570	1,1570	1,1440	1,1440	1,1627	1,1627	1,1546	0,0096	0,8	1,1406	1,2
C24:0 - Me	382,66	1,1731	1,1731	1,1583	1,1583	1,1791	1,1791	1,1702	0,0107	0,9	1,2049	2,9

* Inverso do FRS (FRS⁻¹)

CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão. s – Desvio padrão.

Os FRS_{Preditos} foram avaliados quanto a capacidade de previsão das massas na solução de mistura de ésteres. Com esse fim, aplicou-se os FRS_{preditos} médios (Tabelas 12 e 13) na Equação 10 para obtenção das massas preditas dos ésteres. A equação foi alimentada com as massas e as áreas dos aquil ésteres da Tabela 7. Os valores das massas médias preditas foram comparados com os correspondentes valores das massas adicionadas (Tabelas 14 e 15). As massas dos ésteres foram obtidas também pela comparação com a área do C17:0-Me, utilizado como padrão interno na determinação pelo método EN ISO 14103 (Tabelas 16). Tanto a normalização pelo C14:0-Me quanto pelo C12:0-Et propiciaram valores precisos das massas preditas, conforme pode-se avaliar através dos coeficientes de variância (Tabelas 14 e 15). A determinação com normalização pelo C12:0-ET e a previsão das massas através da comparação com o C17:0-Me (Tabela 16) apresentaram comportamento semelhante dos desvios, com maiores valores para os ésteres mais leves e mais pesados do conjunto estudado, sendo estes os mais afetados pela injeção *split*.

Quando comparadas as massas preditas com as massas adicionadas, constata-se uma melhor performance para as determinações empregando os FRS_{Preditos} sobre as determinações pelo C17:0-Me. Os erros de previsão entre as massas preditas e as massas adicionadas, com normalização pelo C14:0-Me, não foram maiores que 3%. A normalização pelo C12:0-Et obteve desempenho idêntico, com exceção das determinações das massas do C6:0-Me e do C6:0-Et, que apresentaram diferenças de 4,7 e 4,0 %, respectivamente. Estes ésteres, no entanto, não são comuns no biodiesel.

Devido à diferença de resposta no FID, já eram esperados valores elevados das diferenças percentuais das massas para os primeiros ésteres, quando quantificadas pelo C17:0-Me (Tabela 17). Comparando com a determinação usando os FRS_{Preditos} , verifica-se também uma tendência de erro de previsão maiores para os ésteres mais pesados quando determinados pelo C17:0-Me. Essa tendência é explicada pela discriminação das massas na injeção *split*. A correlação linear entre as massas molares dos ésteres e os FRS permitiu corrigir os efeitos da deficiência de carbono e da discriminação das massas nos injetores *split*, resultando em melhores resultados para determinação via FRS_{preditos} .

Tabela 14 – Previsão das massas de alquil ésteres utilizando os FRS_{Preditos} obtidos com uma vazão *split* de 1:100 e com normalização pelo C14:0-Me

Ésteres	Massa (mg)	Solução 1		Solução 2		Solução 3		Massa média prevista (mg)	s	CV (%)	IC (±)	EP (%)
		Área média	Massa prevista (mg)	Área média	Massa prevista (mg)	Área média	Massa prevista (mg)					
C6:0 - Me	2,03	11562	2,05	11767	2,02	11714	2,03	2,03	0,02	0,9	0,04	0,0
C6:0 - Et	2,01	12426	2,04	12597	2,01	12422	2,00	2,02	0,02	1,1	0,05	0,3
C8:0 - Me	2,05	13816	2,13	14148	2,12	13768	2,09	2,11	0,02	0,9	0,05	2,9
C8:0 - Et	2,02	14311	2,08	14724	2,09	14405	2,08	2,08	0,01	0,3	0,02	3,2
C10:0 - Et	2,00	15430	2,04	15736	2,04	15337	2,02	2,03	0,01	0,5	0,03	1,7
C12:0 -Me	1,99	15601	1,98	15914	1,98	15690	1,99	1,99	0,01	0,3	0,01	0,3
C12:0 -Et	2,00	16639	2,03	16941	2,04	16505	2,02	2,03	0,01	0,3	0,02	1,8
C14:0 - Me	2,08	17716	2,06	17945	2,06	17465	2,08	2,07	0,01	0,4	0,02	0,4
C14:0 - Et	2,00	16773	1,97	16976	1,96	16525	1,97	1,97	0,01	0,3	0,01	1,7
C16:0 - Me	2,10	17554	2,08	17931	2,09	17549	2,11	2,09	0,02	0,8	0,04	0,2
C16:0 - Et	2,00	16900	2,02	17183	2,02	16523	2,00	2,01	0,01	0,5	0,02	0,7
C17:0 - Me	2,01	16492	1,97	16810	1,97	16118	1,95	1,97	0,01	0,6	0,03	2,1
C18:0 - Me	2,13	17661	2,13	18003	2,13	17424	2,13	2,13	0,00	0,1	0,01	0,1
C18:1 - Me	2,00	16148	1,93	16661	1,95	16040	1,94	1,94	0,01	0,6	0,03	3,1
C18:0 - Et	2,01	16448	2,01	16878	2,02	16372	2,01	2,01	0,01	0,2	0,01	0,3
C18:1 - Et	2,01	16516	2,00	16944	2,01	16335	1,99	2,00	0,01	0,4	0,02	0,4
C18:2 - Me	2,13	17781	2,11	17927	2,08	17440	2,09	2,09	0,01	0,5	0,03	1,7
C18:2 - Et	2,16	17860	2,14	18108	2,13	17446	2,11	2,12	0,02	0,7	0,04	1,5
C20:0 - Me	2,05	16319	2,01	16505	1,99	16101	2,00	2,00	0,01	0,6	0,03	2,4
C22:0 - Me	2,01	15244	1,93	15895	1,96	15613	1,98	1,95	0,02	1,3	0,06	2,7
C22:0 - Et	2,05	16334	2,09	16664	2,07	16362	2,09	2,08	0,01	0,5	0,02	1,9
C24:0 - Me	2,01	15221	1,97	15659	1,97	15346	1,98	1,97	0,01	0,3	0,02	1,8

mp – Massas de Padrões. s – Desvio padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão. IC - Intervalo de confiança

Tabela 15 – Previsão das massas dos alquil ésteres utilizando os FRS_{Preditos} obtidos com uma vazão *split* de 1:100 e com normalização pelo C12:0-Et

Ésteres	Massa add. (mg)	Solução 1		Solução 2		Solução 3		Massa média prevista (mg)	s	CV (%)	IC (±)	EP (%)
		Área média	Massa prevista (mg)	Área média	Massa prevista (mg)	Área média	Massa prevista (mg)					
C6:0 - Me	2,03	11562	1,94	11767	1,90	11714	1,98	1,94	0,04	1,9	0,09	4,7
C6:0 - Et	2,01	12426	1,94	12597	1,90	12422	1,95	1,93	0,03	1,4	0,07	4,0
C8:0 - Me	2,05	13816	2,04	14148	2,02	13768	2,04	2,03	0,01	0,6	0,03	1,0
C8:0 - Et	2,02	14311	2,01	14724	2,00	14405	2,03	2,01	0,02	0,8	0,04	0,2
C10:0 - Et	2,00	15430	1,99	15736	1,98	15337	1,99	1,99	0,01	0,3	0,02	0,8
C12:0 -Me	1,99	15601	1,94	15914	1,93	15690	1,96	1,95	0,02	0,8	0,04	2,3
C12:0 -Et	2,00	16639	2,00	16941	1,99	16505	2,00	2,00	0,00	0,2	0,01	0,1
C14:0 - Me	2,08	17716	2,12	17945	2,11	17465	2,11	2,12	0,00	0,2	0,01	1,9
C14:0 - Et	2,00	16773	2,01	16976	2,00	16525	2,01	2,01	0,01	0,3	0,01	0,2
C16:0 - Me	2,10	17554	2,12	17931	2,12	17549	2,14	2,12	0,01	0,6	0,03	1,4
C16:0 - Et	2,00	16900	2,05	17183	2,04	16523	2,03	2,04	0,01	0,6	0,03	1,9
C17:0 - Me	2,01	16492	2,00	16810	1,99	16118	1,98	1,99	0,01	0,6	0,03	0,9
C18:0 - Me	2,13	17661	2,15	18003	2,15	17424	2,15	2,15	0,00	0,2	0,01	1,0
C18:1 - Me	2,00	16148	1,95	16661	1,97	16040	1,96	1,96	0,01	0,5	0,02	2,2
C18:0 - Et	2,01	16448	2,02	16878	2,02	16372	2,03	2,02	0,01	0,4	0,02	0,9
C18:1 - Et	2,01	16516	2,01	16944	2,01	16335	2,01	2,01	0,00	0,1	0,00	0,1
C18:2 - Me	2,13	17781	2,13	17927	2,10	17440	2,11	2,11	0,01	0,7	0,04	0,8
C18:2 - Et	2,16	17860	2,15	18108	2,13	17446	2,13	2,14	0,01	0,6	0,03	0,9
C20:0 - Me	2,05	16319	2,02	16505	1,99	16101	2,01	2,01	0,02	0,8	0,04	2,1
C22:0 - Me	2,01	15244	1,91	15895	1,94	15613	1,98	1,95	0,04	1,9	0,09	3,0
C22:0 - Et	2,05	16334	2,07	16664	2,05	16362	2,10	2,07	0,03	1,2	0,06	1,2
C24:0 - Me	2,01	15221	1,94	15659	1,94	15346	1,99	1,96	0,03	1,3	0,06	2,7

mp – Massas de Padrões. s – Desvio padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão. IC - Intervalo de confiança.

Tabela 16 – Previsão das massas dos alquil ésteres utilizando o heptadecanoato de metila como padrão interno

Ésteres	mp (mg)	Solução 1		Solução 2		Solução 3		Massa média prevista (mg)	s	CV (%)	IC (±)	EP (%)
		Área média	Massa prevista (mg)	Área média	Massa prevista (mg)	Área média	Massa prevista (mg)					
C6:0 - Me	2,03	11562	1,41	11767	1,41	11714	1,46	1,42	0,03	2,1	0,08	30,0
C6:0 - Et	2,01	12426	1,51	12597	1,50	12422	1,55	1,52	0,02	1,5	0,06	24,4
C8:0 - Me	2,05	13816	1,68	14148	1,69	13768	1,72	1,70	0,02	1,0	0,04	17,4
C8:0 - Et	2,02	14311	1,74	14724	1,76	14405	1,79	1,77	0,03	1,5	0,07	12,5
C10:0 - Et	2,00	15430	1,88	15736	1,88	15337	1,91	1,89	0,02	1,0	0,05	5,5
C12:0 -Me	1,99	15601	1,90	15914	1,90	15690	1,95	1,92	0,03	1,6	0,08	3,6
C12:0 -Et	2,00	16639	2,03	16941	2,02	16505	2,06	2,04	0,02	0,9	0,05	2,0
C14:0 - Me	2,08	17716	2,16	17945	2,14	17465	2,18	2,16	0,02	0,7	0,04	4,0
C14:0 - Et	2,00	16773	2,04	16976	2,03	16525	2,06	2,04	0,02	0,8	0,04	2,0
C16:0 - Me	2,10	17554	2,14	17931	2,14	17549	2,19	2,16	0,03	1,3	0,07	2,8
C16:0 - Et	2,00	16900	2,06	17183	2,05	16523	2,06	2,06	0,00	0,2	0,01	2,9
C17:0 - Me	2,01	16492	2,01	16810	2,01	16118	2,01	2,01	0,00	0,0	0,00	0,0
C18:0 - Me	2,13	17661	2,15	18003	2,15	17424	2,17	2,16	0,01	0,5	0,03	1,4
C18:1 - Me	2,00	16148	1,97	16661	1,99	16040	2,00	1,98	0,02	0,8	0,04	1,0
C18:0 - Et	2,01	16448	2,00	16878	2,02	16372	2,04	2,02	0,02	0,9	0,05	0,6
C18:1 - Et	2,01	16516	2,01	16944	2,02	16335	2,03	2,02	0,01	0,6	0,03	0,8
C18:2 - Me	2,13	17781	2,16	17927	2,14	17440	2,17	2,16	0,02	0,8	0,04	1,4
C18:2 - Et	2,16	17860	2,17	18108	2,16	17446	2,17	2,17	0,01	0,3	0,02	0,6
C20:0 - Me	2,05	16319	1,99	16505	1,97	16101	2,01	1,99	0,02	0,9	0,04	3,0
C22:0 - Me	2,01	15244	1,86	15895	1,90	15613	1,95	1,90	0,04	2,3	0,11	5,3
C22:0 - Et	2,05	16334	1,99	16664	1,99	16362	2,04	2,01	0,03	1,4	0,07	2,0
C24:0 - Me	2,01	15221	1,85	15659	1,87	15346	1,91	1,88	0,03	1,6	0,07	6,5

mp – Massas de Padrões. s – Desvio padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão. IC - Intervalo de confiança.

Tabela 17 –Comparação: Determinação pelos FRS_{Preditos} x Determinação pelo C17:0-Me - Vazão *split* de 1:100

Ésteres	mp (mg)	Correção das áreas pelos FRS _{Preditos}				Previsão pelo C17:0-Me	
		Normalização C14:0-Me		Normalização C12:0-Et		Massa média (mg)	EP (%)
		Massa média (mg)	EP (%)	Massa média (mg)	EP (%)		
C6:0 - Me	2,03	2,03	0,0	1,94	4,7	1,42	30,0
C6:0 - Et	2,01	2,02	0,3	1,93	4,0	1,52	24,4
C8:0 - Me	2,05	2,11	2,9	2,03	1,0	1,70	17,4
C8:0 - Et	2,02	2,08	3,2	2,01	0,2	1,77	12,5
C10:0 - Et	2,00	2,03	1,7	1,99	0,8	1,89	5,5
C12:0 -Me	1,99	1,99	0,3	1,95	2,3	1,92	3,6
C12:0 -Et	2,00	2,03	1,8	2,00	0,1	2,04	2,0
C14:0 - Me	2,08	2,07	0,4	2,12	1,9	2,16	4,0
C14:0 - Et	2,00	1,97	1,7	2,01	0,2	2,04	2,0
C16:0 - Me	2,10	2,09	0,2	2,12	1,4	2,16	2,8
C16:0 - Et	2,00	2,01	0,7	2,04	1,9	2,06	2,9
C17:0 - Me	2,01	1,97	2,1	1,99	0,9	2,01	0,0
C18:0 - Me	2,13	2,13	0,1	2,15	1,0	2,16	1,4
C18:1 - Me	2,00	1,94	3,1	1,96	2,2	1,98	1,0
C18:0 - Et	2,01	2,01	0,3	2,02	0,9	2,02	0,6
C18:1 - Et	2,01	2,00	0,4	2,01	0,1	2,02	0,8
C18:2 - Me	2,13	2,09	1,7	2,11	0,8	2,16	1,4
C18:2 - Et	2,16	2,12	1,5	2,14	0,9	2,17	0,6
C20:0 - Me	2,05	2,00	2,4	2,01	2,1	1,99	3,0
C22:0 - Me	2,01	1,95	2,7	1,95	3,0	1,90	5,3
C22:0 - Et	2,05	2,08	1,9	2,07	1,2	2,01	2,0
C24:0 - Me	2,01	1,97	1,8	1,96	2,7	1,88	6,5

mp – Massas de Padrões. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão

8.3.1 Efeito da variação da vazão *split* e da temperatura do injetor

Nesta etapa, foram investigadas as influências das quantidades das massas inseridas na coluna capilar e da temperatura da coluna sobre a linearidade da curva Massa Molar x FRS e sobre a precisão e a exatidão dos resultados das massas preditas. Variou-se apenas os parâmetros em estudo, sendo que as demais condições de análise, como a programação de temperatura, a vazão do gás de arraste e a temperatura do detector foram mantidas as mesmas dos experimentos da seção anterior. Os valores das massas dos ésteres componentes da solução, bem como as áreas dos picos correspondentes, estão registrados na Tabela 18.

8.3.1.1 Influência da vazão *split*

Para condições analíticas empregando vazões *split* de 1:50 e 1:100, novos FRS foram calculados com base na Equação 8, empregando as massas e áreas apresentadas na Tabela 18. Conforme as curvas de regressão entre as Massas Molares e os FRS (Figuras 16 e 17), percebe-se perda de ajuste dos pontos da reta ao compararmos com os resultados obtidos para a razão *split* 1:100 (Figuras 14 e 15).

Tabela 18 – Registros das áreas dos ésteres para diferentes condições de razão *split* e temperatura do injetor

Ésteres	mp (mg)	<i>Split</i> 1:50 – Injetor 250 °C			<i>Split</i> 1:80 – Injetor 250 °C			Injetor 245 °C – <i>Split</i> 1:100			Injetor 260 °C – <i>Split</i> 1:100		
		Área			Área			Área			Área		
		Solução 1	Solução 2	Solução 3	Solução 1	Solução 2	Solução 3	Solução 1	Solução 2	Solução 3	Solução 1	Solução 2	Solução 3
C6:0 - Me	2,03	24194	24931	25259	14150	14235	14348	12171	12318	12130	11387	11532	11704
C6:0 - Et	2,01	25661	26509	26797	15032	15109	15099	13155	13309	12869	12122	12304	12526
C8:0 - Me	2,05	28333	29122	29718	16499	16678	16780	14319	14786	14404	13462	13657	13957
C8:0 - Et	2,02	29200	29866	30853	16979	17118	17428	14980	15344	14985	14049	14115	14462
C10:0 - Et	2,00	30693	31429	32710	17915	18095	18362	15821	16499	15985	14924	15061	15385
C12:0 - Me	1,99	30472	30577	32308	17710	17862	18209	15847	16325	16070	14809	14789	15162
C12:0 - Et	2,00	33233	33160	34885	19305	19320	19460	17255	17798	17050	16206	16195	16567
C14:0 - Me	2,08	35265	35224	36801	20495	20535	20618	18246	18910	18245	17126	17286	17743
C14:0 - Et	2,00	33270	33283	34911	19126	19338	19446	17271	17897	17284	16347	16353	17013
C16:0 - Me	2,10	35082	35159	36679	20151	20425	20584	18117	18901	18405	17341	17390	18223
C16:0 - Et	2,00	33777	33782	34662	19490	19672	19150	17230	18133	17256	16528	16800	17579
C17:0 - Me	2,01	33612	33498	34046	19050	19268	18959	17084	17838	17181	16164	16410	15513
C18:0 - Me	2,13	35802	35355	36362	20302	20336	20182	17992	18742	18326	17238	17687	18606
C18:1 - Me	2,00	32903	32650	33653	18429	18950	18629	16880	17793	17355	15987	16354	17398
C18:0 - Et	2,01	33246	33064	34385	18879	19119	19011	16659	17458	16999	15772	15905	17402
C18:1 - Et	2,01	34213	33868	34443	19376	19662	19004	17281	18039	17375	16490	17027	17843
C18:2 - Me	2,13	35597	35408	36332	19997	20506	20481	18052	18734	18234	17397	17551	18203
C18:2 - Et	2,16	36689	35929	36656	20528	20645	20218	18466	19153	18591	17775	17845	18675
C20:0 - Me	2,05	33336	32613	33551	18913	18879	18073	16826	17400	17023	15908	16127	17310
C22:0 - Me	2,01	32185	30796	31993	17806	18280	17643	16073	16412	16499	15382	15600	16241
C22:0 - Et	2,05	33258	32117	32699	18890	18875	18523	16986	17385	17059	16233	16120	17397
C24:0 - Me	2,01	30851	30567	31057	17166	17645	18070	15480	16433	16058	15095	15788	16327

mp – Massas de Padrões.

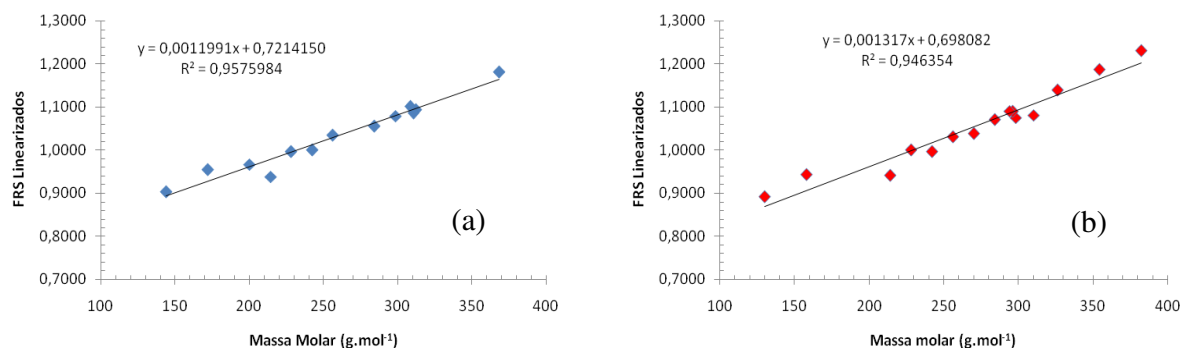


Figura 16 - Correlação entre as massas molares e os FRS-1 e FRS numa razão *split* 1:50: (a) Ésteres etílicos e padrões de ésteres metílicos (C12:0-Me, C14:0-Me e C18:0-Me), (b) Ésteres metílicos e padrões de ésteres etílicos (C12:0-Et, C14:0-Et e C18:1-Et).

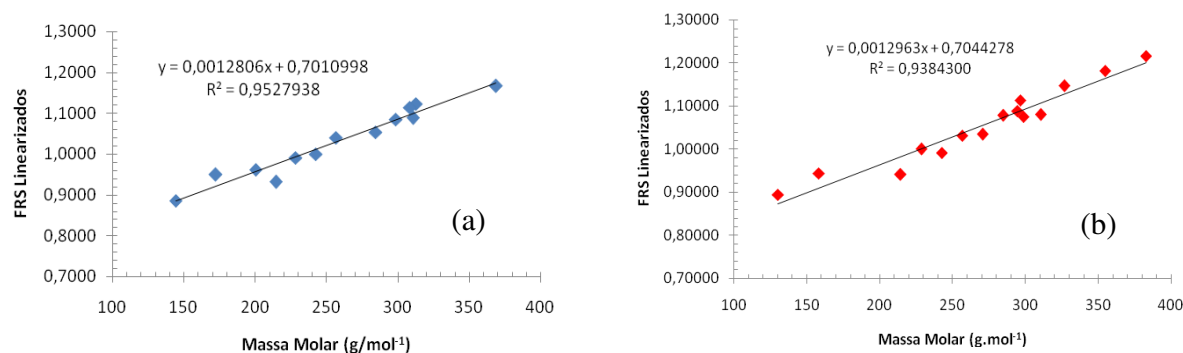


Figura 17 - Correlação entre as massas molares e os FRS-1 e FRS numa razão *split* 1:80: (a) Ésteres etílicos e padrões de ésteres metílicos (C12:0-Me, C14:0-Me e C18:0-Me), (b) Ésteres metílicos e padrões de ésteres etílicos (C12:0-Et, C14:0-Et e C18:1-Et).

Com base nos dados das Tabelas 19 e 20, comparados com os resultados para injeções com razão *split* 1:100 (Tabelas 14 e 15), verifica-se perda de precisão na determinação e predição dos FRS. Os maiores coeficientes de variância estão associados ao valor da razão *split* 1:50 e com normalização pelo C12:0-Et. Para razão *split* 1:80 também foram observados perda de precisão quando realizada normalização pelo C12:0-Et. De uma forma geral, as maiores variâncias foram observadas para os ésteres das extremidades da sequência analisada. As maiores diferenças entre $FRS_{\text{Determinado}}$ e FRS_{Preditos} foram registradas, nas duas razões *split* estudadas, para os ésteres mais leves (C6 a C10) com normalização pelo C14:0-Me. A normalização pelo C12:0-Et apresentou maior diferença para os ésteres pesados.

Tabela 19 – Comparação entre FRS_{Determinados} e FRS_{Preditos}, determinados sob a razão *split* de 1:50

Ésteres	mp (mg)	Normalização pelo C14:0-Me					Normalização pelo C12:0-Et				
		FRS Determinados com base na Equação 8		FRS preditos		EP (%)	FRS Determinados com base na Equação 8		FRS preditos		EP (%)
		Médias	CV (%)	Médias	CV (%)		Médias	CV (%)	Médias	CV (%)	
C6:0 - Me	2,03	1,1284	1,8	1,2255	0,7	8,6	1,1240	2,02	1,0833	3,8	3,6
C6:0 - Et	2,01	1,1077	1,9	1,1942	0,5	7,8	1,0938	3,70	1,0701	3,3	2,2
C8:0 - Me	2,05	1,0660	1,5	1,1645	0,4	9,2	1,0618	1,73	1,0573	2,7	0,4
C8:0 - Et	2,02	1,0498	1,2	1,1362	0,2	8,2	1,0457	1,28	1,0448	2,2	0,1
C10:0 - Et	2,00	1,0372	1,3	1,0837	0,2	4,5	1,0332	1,30	1,0208	1,2	1,2
C12:0 -Me	1,99	1,0691	0,8	1,0592	0,4	0,9	1,0649	0,50	1,0092	0,7	5,2
C12:0 -Et	2,00	1,0039	0,4	1,0357	0,5	3,2	1,0000	0,00	0,9979	0,3	0,2
C14:0 - Me	2,08	1,0000	0,0	0,9869	0,6	1,3	0,9961	0,37	1,0132	0,2	1,7
C14:0 - Et	2,00	1,0336	0,3	1,0082	0,8	2,5	1,0296	0,16	1,0244	0,6	0,5
C16:0 - Me	2,10	1,0383	0,2	1,0296	0,9	0,8	1,0342	0,42	1,0355	1,1	0,1
C16:0 - Et	2,00	1,0458	1,0	1,0509	1,0	0,5	1,0418	1,39	1,0467	1,5	0,5
C17:0 - Me	2,01	1,0619	1,7	1,0509	1,0	1,0	1,0578	2,04	1,0467	1,5	1,0
C18:0 - Me	2,13	1,0679	1,4	1,0722	1,2	0,4	1,0637	1,69	1,0578	1,9	0,6
C18:1 - Me	2,00	1,0847	0,4	1,0692	1,1	1,4	1,0805	0,78	1,0562	1,9	2,2
C18:0 - Et	2,01	1,0978	1,0	1,0936	1,3	0,4	1,0935	1,37	1,0690	2,3	2,2
C18:1 - Et	2,01	1,0726	1,9	1,0905	1,3	1,7	1,0684	2,23	1,0674	2,3	0,1
C18:2 - Me	2,13	1,0858	1,2	1,0661	1,1	1,8	1,0816	1,55	1,0546	1,8	2,5
C18:2 - Et	2,16	1,0889	2,2	1,0875	1,2	0,1	1,0847	2,50	1,0658	2,2	1,7
C20:0 - Me	2,05	1,1296	1,8	1,1150	1,4	1,3	1,1252	2,11	1,0801	2,7	4,0
C22:0 - Me	2,01	1,1740	2,6	1,1577	1,6	1,4	1,1694	2,83	1,1024	3,5	5,7
C22:0 - Et	2,05	1,1655	3,0	1,1790	1,7	1,2	1,1610	3,27	1,1136	3,9	4,1
C24:0 - Me	2,01	1,2204	1,9	1,2004	1,8	1,6	1,2156	2,25	1,1247	4,3	7,5

mp – Massas de Padrões. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 20 – Comparação entre FRS_{Determinados} e FRS_{Preditos}, determinados sob a razão *split* de 1:80

Ésteres	mp (mg)	Normalização pelo C14:0-Me					Normalização pelo C12:0-Et				
		FRS Determinados com base na Equação 8		FRS preditos		EP (%)	FRS Determinados com base na Equação 8		FRS preditos		EP (%)
		Médias	CV (%)	Médias	CV (%)		Médias	CV (%)	Médias	CV (%)	
C6:0 - Me	2,03	1,1285	1,2	1,2650	1,03	12,1	1,11870	0,3	1,1023	3,7	1,5
C6:0 - Et	2,01	1,1109	0,8	1,2264	0,96	10,4	1,10124	0,4	1,0860	3,2	1,4
C8:0 - Me	2,05	1,0688	0,7	1,1902	0,90	11,4	1,05948	0,5	1,0702	2,6	1,0
C8:0 - Et	2,02	1,0527	1,0	1,1560	0,84	9,8	1,04354	0,9	1,0549	2,2	1,1
C10:0 - Et	2,00	1,0394	1,2	1,0933	0,73	5,2	1,03032	0,8	1,0257	1,2	0,4
C12:0 -Me	1,99	1,0727	1,0	1,0644	0,69	0,8	1,06337	1,0	1,0117	0,8	4,9
C12:0 -Et	2,00	1,0088	0,2	1,0370	0,64	2,8	1,00000	0,0	0,9981	0,4	0,2
C14:0 - Me	2,08	1,0000	0,0	0,9892	0,61	1,1	0,99130	0,2	1,0153	0,2	2,4
C14:0 - Et	2,00	1,0406	0,6	1,0140	0,58	2,6	1,03153	0,6	1,0287	0,5	0,3
C16:0 - Me	2,10	1,0430	0,7	1,0388	0,55	0,4	1,03393	0,8	1,0421	0,9	0,8
C16:0 - Et	2,00	1,0537	1,3	1,0636	0,52	0,9	1,04454	1,8	1,0555	1,3	1,1
C17:0 - Me	2,01	1,0874	1,3	1,0636	0,52	2,2	1,07794	1,2	1,0555	1,3	2,1
C18:0 - Me	2,13	1,0848	0,7	1,0884	0,50	0,3	1,07540	0,8	1,0690	1,6	0,6
C18:1 - Me	2,00	1,1010	0,5	1,0849	0,50	1,5	1,11338	1,5	1,0670	1,6	4,2
C18:0 - Et	2,01	1,1231	1,2	1,1133	0,48	0,9	1,09141	0,7	1,0824	2,0	0,8
C18:1 - Et	2,01	1,0889	1,6	1,1097	0,48	1,9	1,07946	2,1	1,0804	1,9	0,1
C18:2 - Me	2,13	1,0984	1,0	1,0813	0,51	1,6	1,08882	1,2	1,0651	1,5	2,2
C18:2 - Et	2,16	1,1138	1,2	1,1061	0,49	0,7	1,10409	1,5	1,0785	1,9	2,3
C20:0 - Me	2,05	1,1566	2,5	1,1381	0,47	1,6	1,14662	3,0	1,0958	2,4	4,4
C22:0 - Me	2,01	1,1924	1,9	1,1877	0,45	0,4	1,18205	2,1	1,1226	3,0	5,0
C22:0 - Et	2,05	1,1667	1,4	1,2126	0,45	3,9	1,15659	1,6	1,1360	3,4	1,8
C24:0 - Me	2,01	1,2268	2,3	1,2374	0,45	0,9	1,21610	2,2	1,1494	3,7	5,5

mp – Massas de Padrões. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão

O valores dos FRS_{Preditos} foram avaliados na predição das massas dos ésteres das soluções. Do mesmo modo que foi feito para o estudo com a razão *split* 1:100, aplicou-se os FRS_{preditos} médios (Tabelas 19 e 20) à Equação 10, juntamente com as áreas dos aquil ésteres da Tabela 18, para obtenção de suas massas preditas. As massas preditas dos ésteres foram então comparadas com os respectivos valores das massas adicionadas. Os resultados para razão *split* 1:50 estão registrados na Tabela 21, estando a comparação com a performance da determinação pelo C17:0-Me apresentada na Tabela 22. Para a razão *split* 1:80, os dados encontram-se na Tabela 23 e a comparação com a determinação via C17:0-Me, na Tabela 24.

Na predição das massas dos ésteres das soluções, com injeção *split* 1:50 e normalização tanto pelo C14:0-Me quanto pelo C12:0-Et, a grande maioria dos coeficientes de variância obtiveram valores não superiores a 2%. O ésteres que apresentaram resultados com menor precisão foram os C6:0-Me e C6:0-Et, cujos coeficientes de variância para o par foram respectivamente 4% (para normalização pelo C14:0-Me) e 3% (para normalização pelo C12:0-Et). Quanto à exatidão dos resultados, a normalização pelo C14:0-Me apresentou valores menos exatos para os ésteres mais leves (C6 a C10), com erro de previsão das massas na faixa de 4 a 8%. A normalização pelo C12:0-Et apresentou comportamento inverso, tendo as maiores diferenças percentuais para os ésteres mais pesados (C20 a C24).

Nestas condições analíticas, as determinações através dos FRS_{Predito} , apresentam precisão dos resultados próximos aos obtidos via comparação das áreas com o C17:0-Me, com exceção do C6:0-Me e do C6:0-ET (Tabela 22). Quanto a exatidão dos resultados, os FRS_{Predito} apresentaram melhor desempenho, por minimizar os efeitos da deficiência de carbono e da discriminação das massas. Nitidamente, a determinação via C17:0-Me apresenta limitação para quantificação dos ésteres mais leves, com erro de previsão entre as massas adicionadas e as massas preditas atingindo o valor máximo de 27%.

Quando comparados com a injeção *split* 1:100, os resultados da injeção *split* 1:50 mostram perda de exatidão para os ésteres de 6 e 8 carbonos na cadeia e normalização pelo C14:0-Me e também para ésteres com 20 a 24 átomo de carbono, quando normalizados pelo C12:0-Et.

Tabela 21 – Determinação de alquil ésteres utilizando os FRS_{Preditos} obtidos para uma vazão *split* de 1:50

Ésteres	mp (mg)	Normalização C14:0-Me					Normalização C12:0-Et				
		Massa média prevista (mg)	s	CV (%)	Intervalo de confiança	EP(%)	Massa média prevista (mg)	s	CV (%)	IC (±)	EP(%)
C6:0 - Me	2,03	2,17	0,09	4,1	0,22	6,6	1,96	0,07	3,4	0,17	3,6
C6:0 - Et	2,01	2,14	0,08	4,0	0,21	6,1	1,95	0,06	3,0	0,15	3,0
C8:0 - Me	2,05	2,21	0,07	3,3	0,18	7,7	2,04	0,05	2,7	0,14	0,4
C8:0 - Et	2,02	2,16	0,05	2,4	0,13	7,0	2,02	0,05	2,5	0,12	0,1
C10:0 - Et	2,00	2,07	0,03	1,7	0,09	3,7	1,98	0,04	2,0	0,10	1,2
C12:0 -Me	1,99	1,96	0,01	0,6	0,03	1,5	1,89	0,02	1,2	0,06	5,2
C12:0 -Et	2,00	2,05	0,02	0,9	0,04	2,7	1,99	0,01	0,3	0,01	0,2
C14:0 - Me	2,08	2,05	0,02	1,0	0,05	1,1	2,11	0,00	0,2	0,01	1,7
C14:0 - Et	2,00	1,95	0,02	1,2	0,06	2,4	1,99	0,01	0,6	0,03	0,5
C16:0 - Me	2,10	2,08	0,02	0,9	0,05	0,9	2,10	0,02	0,8	0,04	0,1
C16:0 - Et	2,00	2,00	0,01	0,7	0,03	0,2	2,01	0,01	0,3	0,02	0,5
C17:0 - Me	2,01	1,98	0,02	1,2	0,06	1,3	1,99	0,01	0,6	0,03	1,0
C18:0 - Me	2,13	2,13	0,02	0,9	0,05	0,0	2,12	0,01	0,4	0,02	0,6
C18:1 - Me	2,00	1,94	0,01	0,6	0,03	3,0	1,94	0,01	0,5	0,02	3,4
C18:0 - Et	2,01	2,01	0,01	0,4	0,02	0,3	1,99	0,03	1,5	0,08	1,1
C18:1 - Et	2,01	2,03	0,03	1,6	0,08	1,2	2,01	0,00	0,1	0,00	0,1
C18:2 - Me	2,13	2,08	0,02	0,8	0,04	2,2	2,08	0,01	0,3	0,01	2,5
C18:2 - Et	2,16	2,14	0,04	1,7	0,09	0,6	2,12	0,01	0,6	0,03	1,7
C20:0 - Me	2,05	2,01	0,03	1,5	0,07	2,0	1,97	0,02	1,0	0,05	4,0
C22:0 - Me	2,01	1,96	0,04	2,3	0,11	2,3	1,89	0,04	2,1	0,10	5,7
C22:0 - Et	2,05	2,05	0,06	2,9	0,15	0,1	1,96	0,03	1,4	0,07	4,1
C24:0 - Me	2,01	1,95	0,05	2,3	0,11	2,8	1,86	0,04	2,0	0,09	7,5

mp – Massas de Padrões. s – Desvio padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão. IC - Intervalo de confiança.

Tabela 22 – Comparação das determinação de alquil ésteres pelos FRS_{Preditos} e pelo C17:0-Me utilizando vazão *split* de 1:50

Ésteres	mp (mg)	Determinação pelos FRS _{Preditos}						Determinação pelo C17:0-Me		
		Normalização C14:0-Me			Normalização C12:0-Et			Massa média prevista (mg)	CV (%)	EP (%)
		Massa média (mg)	CV (%)	EP (%)	Massa média (mg)	CV (%)	EP (%)			
C6:0 - Me	2,03	2,17	4,1	6,6	1,96	3,4	3,6	1,48	1,8	27,4
C6:0 - Et	2,01	2,14	4,0	6,1	1,95	3,0	3,0	1,57	1,9	22,1
C8:0 - Me	2,05	2,21	3,3	7,7	2,04	2,7	0,4	1,73	1,9	15,7
C8:0 - Et	2,02	2,16	2,4	7,0	2,02	2,5	0,1	1,78	2,1	11,6
C10:0 - Et	2,00	2,07	1,7	3,7	1,98	2,0	1,2	1,88	2,5	5,9
C12:0 -Me	1,99	1,96	0,6	1,5	1,89	1,2	5,2	1,85	2,5	6,9
C12:0 -Et	2,00	2,05	0,9	2,7	1,99	0,3	0,2	2,01	2,0	0,8
C14:0 - Me	2,08	2,05	1,0	1,1	2,11	0,2	1,7	2,13	1,7	2,6
C14:0 - Et	2,00	1,95	1,2	2,4	1,99	0,6	0,5	2,01	1,9	0,6
C16:0 - Me	2,10	2,08	0,9	0,9	2,10	0,8	0,1	2,12	1,7	1,3
C16:0 - Et	2,00	2,00	0,7	0,2	2,01	0,3	0,5	2,03	0,7	1,5
C17:0 - Me	2,01	1,98	1,2	1,3	1,99	0,6	1,0	2,01	0,0	0,0
C18:0 - Me	2,13	2,13	0,9	0,0	2,12	0,4	0,6	2,13	0,6	0,3
C18:1 - Me	2,00	1,94	0,6	3,0	1,94	0,5	3,4	1,97	0,7	1,7
C18:0 - Et	2,01	2,01	0,4	0,3	1,99	1,5	1,1	2,00	1,3	0,4
C18:1 - Et	2,01	2,03	1,6	1,2	2,01	0,1	0,1	2,04	0,4	1,4
C18:2 - Me	2,13	2,08	0,8	2,2	2,08	0,3	2,5	2,13	0,5	0,0
C18:2 - Et	2,16	2,14	1,7	0,6	2,12	0,6	1,7	2,17	0,9	0,5
C20:0 - Me	2,05	2,01	1,5	2,0	1,97	1,0	4,0	1,98	0,9	3,7
C22:0 - Me	2,01	1,96	2,3	2,3	1,89	2,1	5,7	1,89	2,0	6,1
C22:0 - Et	2,05	2,05	2,9	0,1	1,96	1,4	4,1	1,95	1,8	4,8
C24:0 - Me	2,01	1,95	2,3	2,8	1,86	2,0	7,5	1,84	0,3	8,7

mp – Massas de Padrões. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 23 – Determinação de alquil ésteres utilizando os FRS_{Preditos} obtidos para uma vazão *split* de 1:80

Ésteres	mp (mg)	Normalização C14:0-Me					Normalização C12:0-Et				
		Massa média prevista (mg)	s	CV (%)	±	EP(%)	Massa média prevista (mg)	s	CV (%)	IC (±)	EP (%)
C6:0 - Me	2,03	2,28	0,01	0,6	0,04	12,1	2,00	0,08	3,8	0,19	1,8
C6:0 - Et	2,01	2,22	0,02	1,1	0,06	10,4	1,98	0,06	2,8	0,14	1,7
C8:0 - Me	2,05	2,29	0,01	0,4	0,02	11,4	2,07	0,06	2,8	0,15	0,7
C8:0 - Et	2,02	2,22	0,01	0,3	0,01	9,8	2,03	0,06	3,0	0,15	0,8
C10:0 - Et	2,00	2,10	0,00	0,2	0,01	5,2	1,99	0,04	2,0	0,10	0,7
C12:0 -Me	1,99	1,99	0,01	0,4	0,02	0,8	1,90	0,03	1,8	0,08	4,6
C12:0 -Et	2,00	2,06	0,01	0,5	0,03	2,8	1,99	0,01	0,4	0,02	0,2
C14:0 - Me	2,08	2,05	0,01	0,6	0,03	1,1	2,12	0,00	0,2	0,01	2,1
C14:0 - Et	2,00	1,95	0,02	1,1	0,05	2,6	1,99	0,01	0,6	0,03	0,6
C16:0 - Me	2,10	2,09	0,03	1,3	0,07	0,4	2,11	0,02	1,2	0,06	0,5
C16:0 - Et	2,00	2,02	0,02	1,1	0,06	1,0	2,01	0,01	0,6	0,03	0,8
C17:0 - Me	2,01	1,98	0,01	0,6	0,03	2,2	1,98	0,00	0,1	0,00	1,5
C18:0 - Me	2,13	2,13	0,00	0,2	0,01	0,3	2,11	0,02	0,9	0,05	0,9
C18:1 - Me	2,00	1,95	0,02	1,3	0,06	3,4	1,92	0,02	1,1	0,05	4,0
C18:0 - Et	2,01	2,03	0,01	0,5	0,03	1,1	1,98	0,03	1,5	0,07	1,1
C18:1 - Et	2,01	2,05	0,03	1,5	0,07	1,9	2,00	0,00	0,2	0,01	0,4
C18:2 - Me	2,13	2,10	0,03	1,4	0,07	1,5	2,08	0,04	1,7	0,09	2,5
C18:2 - Et	2,16	2,14	0,02	0,9	0,05	0,7	2,10	0,01	0,6	0,03	2,6
C20:0 - Me	2,05	2,02	0,05	2,4	0,12	1,6	1,95	0,03	1,3	0,06	4,7
C22:0 - Me	2,01	2,00	0,03	1,6	0,08	0,4	1,90	0,02	1,1	0,05	5,3
C22:0 - Et	2,05	2,13	0,02	1,0	0,06	3,9	2,00	0,04	2,0	0,10	2,1
C24:0 - Me	2,01	2,03	0,05	2,5	0,13	0,9	1,90	0,10	5,3	0,25	5,7

mp – Massas de Padrões. s – Desvio padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão. IC - Intervalo de confiança.

Tabela 24 - Comparação das determinação de alquil ésteres pelos FRS_{Preditos} e pelo C17:0-Me utilizando vazão *split* de 1:80

Ésteres	mp (mg)	Determinação pelos FRS _{Preditos}						Comparação pela área do C17:0-Me		
		Normalização C14:0-Me			Normalização C12:0-Et			Massa média (mg)	CV (%)	EP (%)
		Massa média (mg)	CV (%)	EP (%)	Massa média (mg)	CV (%)	EP (%)			
C6:0 - Me	2,03	2,28	0,6	12,1	2,00	3,8	1,8	1,51	1,3	25,7
C6:0 - Et	2,01	2,22	1,1	10,4	1,98	2,8	1,7	1,60	0,8	20,5
C8:0 - Me	2,05	2,29	0,4	11,4	2,07	2,8	0,7	1,77	1,3	13,9
C8:0 - Et	2,02	2,22	0,3	9,8	2,03	3,0	0,8	1,82	1,9	9,7
C10:0 - Et	2,00	2,10	0,2	5,2	1,99	2,0	0,7	1,92	1,7	3,9
C12:0 -Me	1,99	1,99	0,4	0,8	1,90	1,8	4,6	1,90	2,0	5,0
C12:0 -Et	2,00	2,06	0,5	2,8	1,99	0,4	0,2	2,05	1,2	2,7
C14:0 - Me	2,08	2,05	0,6	1,1	2,12	0,2	2,1	2,18	1,0	5,1
C14:0 - Et	2,00	1,95	1,1	2,6	1,99	0,6	0,6	2,05	1,2	2,3
C16:0 - Me	2,10	2,09	1,3	0,4	2,11	1,2	0,5	2,16	1,5	3,2
C16:0 - Et	2,00	2,02	1,1	1,0	2,01	0,6	0,8	2,06	0,7	3,2
C17:0 - Me	2,01	1,98	0,6	2,2	1,98	0,1	1,5	2,03	0,0	0,0
C18:0 - Me	2,13	2,13	0,2	0,3	2,11	0,9	0,9	2,15	0,5	1,1
C18:1 - Me	2,00	1,95	1,3	3,4	1,92	1,1	4,0	1,98	0,9	1,6
C18:0 - Et	2,01	2,03	0,5	1,1	1,98	1,5	1,1	2,02	0,6	0,5
C18:1 - Et	2,01	2,05	1,5	1,9	2,00	0,2	0,4	2,05	0,9	2,3
C18:2 - Me	2,13	2,10	1,4	1,5	2,08	1,7	2,5	2,16	1,4	1,3
C18:2 - Et	2,16	2,14	0,9	0,7	2,10	0,6	2,6	2,17	0,5	0,6
C20:0 - Me	2,05	2,02	2,4	1,6	1,95	1,3	4,7	1,98	2,1	3,6
C22:0 - Me	2,01	2,00	1,6	0,4	1,90	1,1	5,3	1,90	1,0	5,3
C22:0 - Et	2,05	2,13	1,0	3,9	2,00	2,0	2,1	1,99	0,8	2,7
C24:0 - Me	2,01	2,03	2,5	0,9	1,90	5,3	5,7	1,87	2,9	6,9

mp – Massas de Padrões. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão

8.3.1.2 Influência da temperatura do injetor na determinação utilizando FRS

Comparando-se com o primeiro experimento realizado com uma vazão *split* 1:100 e temperatura do injetor de 250 °C, observou-se redução na correlação entre a massa molar e os FRS_{Preditos} (Figuras 18 e 19) quando a temperatura do injetor foi variada. O desempenho também foi inferior ao percebido nos experimentos anteriores, onde variou-se a vazão *split*. As maiores perdas de ajustes na reta que correlaciona as massas molares com os FRS_{Preditos} foram observadas com o injetor operando na temperatura de 260 °C e com normalização pelo C14:0-Me (Figura 19).

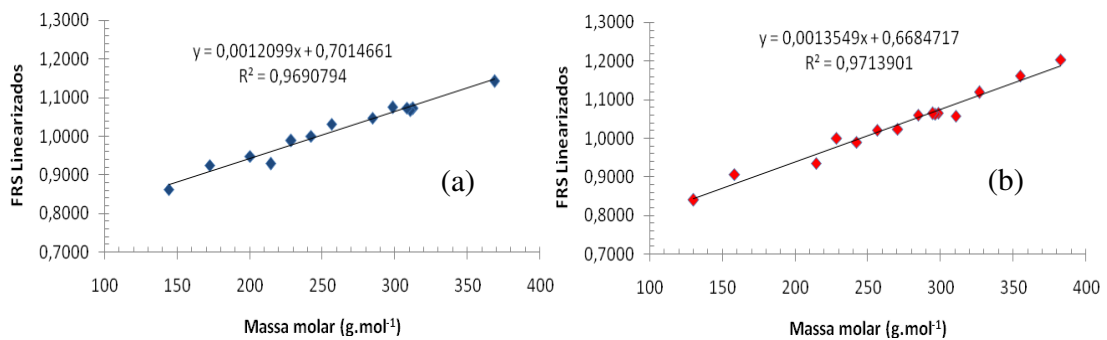


Figura 18 - Correlação entre as massas molares e os FRS^{-1} e FRS numa razão *split* 1:100 e temperatura do injetor 245 °C: (a) Ésteres etílicos e padrões de ésteres metílicos (C12:0-Me, C14:0-Me e C18:0-Me), (b) Ésteres metílicos e padrões de ésteres etílicos (C12:0-Et, C14:0-Et e C18:1-Et).

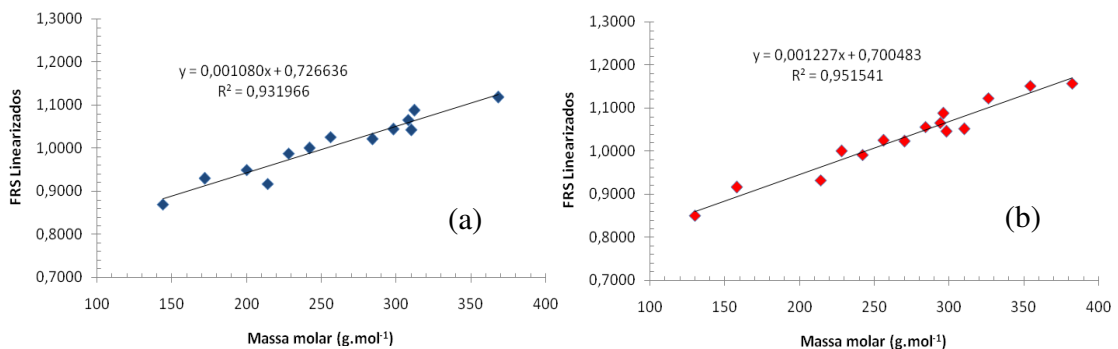


Figura 19 - Correlação entre as massas molares e os FRS-1 e FRS numa razão *split* 1:100 e temperatura do injetor 260 °C: (a) Ésteres etílicos e padrões de ésteres metílicos (C12:0-Me, C14:0-Me e C18:0-Me), (b) Ésteres metílicos e padrões de ésteres etílicos (C12:0-Et, C14:0-Et e C18:1-Et).

Tanto os $FRS_{\text{Determinados}}$ quanto os FRS_{Preditos} apresentaram boa precisão quando determinados para temperatura do injetor de 245 °C (Tabela 25). A maioria destes fatores registraram coeficientes de variância menor que 1%. Para os FRS_{Preditos} , apenas os ésteres com 6 a 8 átomos de carbono na cadeia mais C22:0-Et e o C24:00-Me apresentaram coeficientes de variância entre 2 a 3%. Precisoes equivalentes também foram obtidas quando realizada a normalização pelo C12:00-Et. Para os FRS_{Preditos} , as variâncias foram, em sua maior parte, também inferiores a 1%. Quanto aos $FRS_{\text{determinados}}$, os coeficientes de variância mantiveram-se abaixo e/ou próximos a 2%, com exceção do C22:0-Me e do C24:0-Me, que apresentaram coeficientes de 3,0 e 3,5, respectivamente. Quando o injetor foi operado na temperatura de 260°C, foi observada redução de precisão na obtenção dos $FRS_{\text{Determinados}}$ bem como dos FRS_{Preditos} (Tabela 26).

Comparando as condições experimentais desta etapa, os melhores valores de exatidão na determinação das massas (erro de previsão) foram obtidos para a temperatura do injetor de 245 °C, com normalização pelo C14:0-Me (Tabelas 27 e 28). Para estes, os maiores erros de previsão variaram de 4 a 7% e foram registrados para os ésteres com 6 a 10 átomos de carbono, mais o C22:0-Et. A maior parcela dos erros de previsão foram menores que 1%, não ultrapassando 2%. Ainda para a temperatura de 245 °C, e agora com normalização pelo C12:0-Et, os maiores erros de previsão foram registrados para os ésteres com 6 a 8 átomos de carbono na cadeia, mais o C12:0-Me e o C18:0-Me, além dos ésteres mais pesados com 20 a 24 átomos de carbono. Para este conjunto, os erros de previsão das massas foram de 4 a 9% e os demais apresentaram um valor médio aproximado de 2%.

Na análise com o injetor a 260 °C, o erro médio de previsão para normalização com C14:-Me foi de aproximadamente 2%, com os ésteres de 6 a 8 átomos de carbonos sendo mais uma vez exceção com erros de 4 a 6%. Para normalização pelo C12:0-Et, o erro médio de previsão também ficou situado em torno de 2%. Neste grupo, os ésteres de 6 a 8 átomos de carbono na cadeia, mais o C12:0-Me, C22:0-Me e o C24:0-Me, apresentaram erros de previsão de 5 a 9%. Nas situações estudadas, as performances dos FRS_{Preditos} foram melhores que a determinação das massas via comparação das áreas pelo C17:0-Me (Tabelas 29 e 30).

Excetuando os resultados para a análises com o injetor operando na temperatura de 260 °C e a uma vazão *split* 1:100, todos os outros experimentos

mostraram performances de previsão dos FRS_{Preditos} no mínimo idênticas a performance do C17:0-Me para ésteres com 16 a 18 átomos de carbono. Estes ésteres são os principais componentes de amostras de biodiesel provenientes de vários óleos e gorduras comumente empregados ou com grande potencial para a fabricação do biodiesel (por exemplo: soja, sebo, dendê, pinhão manso), estando presentes em concentrações superiores a 5%. Os demais ésteres podem estar presentes nas concentrações não superiores a 2%. A esse nível de concentração, os erros de previsão alcançados com o FRS_{Preditos} não oferecerá diferenças significativas na determinação.

A alteração das condições apresentadas nessa seção (variação da razão *split* e na temperatura do injetor) mostraram maior efeito sobre o coeficiente de correlação entre as massas molares e os FRS, reduzindo-o. Os ésteres mais leves e os mais pesados foram os que apresentaram maiores EP%, sendo que, para os principais ésteres, não houve diferença quando comparados com a determinação realizada a razão *split* de 1:100 e temperatura do injetor de 250 °C.

Tabela 25 - Comparação entre FRS_{Determinados} e FRS_{Preditos} determinados com a temperatura do injetor de 245 °C e vazão *split* de 1:100

Ésteres	mp (mg)	Normalização pelo C14:0-Me					Normalização pelo C12:0-Et				
		FRS Determinados com base na Equação 8		FRS preditos		EP (%)	FRS Determinados com base na Equação 8		FRS preditos		EP (%)
		Médias	CV (%)	Médias	CV (%)		Médias	CV (%)	Médias	CV (%)	
C6:0 - Me	2,03	1,1994	1,3	1,2536	3,2	4,3	1,1899	1,3	1,0714	0,8	10,0
C6:0 - Et	2,01	1,1600	1,3	1,2176	2,8	4,7	1,1407	1,7	1,0605	0,7	7,0
C8:0 - Me	2,05	1,1111	0,5	1,1837	2,4	6,1	1,1022	0,7	1,0498	0,6	4,8
C8:0 - Et	2,02	1,0817	0,7	1,1517	2,0	6,1	1,0718	0,8	1,0394	0,4	3,0
C10:0 - Et	2,00	1,0542	0,5	1,0926	1,2	3,5	1,0442	1,2	1,0191	0,2	2,4
C12:0 -Me	1,99	1,0763	1,0	1,0653	0,9	1,0	1,0692	1,1	1,0093	0,2	5,6
C12:0 -Et	2,00	1,0114	0,6	1,0393	0,5	2,7	1,0000	0,0	0,9997	0,2	0,0
C14:0 - Me	2,08	1,0000	0,0	0,9856	0,3	1,5	0,9907	1,0	1,0099	0,3	1,9
C14:0 - Et	2,00	1,0317	0,1	1,0090	0,2	2,2	1,0214	0,5	1,0194	0,4	0,2
C16:0 - Me	2,10	1,0330	0,8	1,0324	0,5	0,1	1,0242	1,2	1,0290	0,5	0,5
C16:0 - Et	2,00	1,0475	0,8	1,0558	0,7	0,8	1,0343	1,3	1,0385	0,6	0,4
C17:0 - Me	2,01	1,0724	0,4	1,0558	0,7	1,6	1,0606	1,3	1,0385	0,6	2,1
C18:0 - Me	2,13	1,0744	0,9	1,0792	1,0	0,4	1,0656	1,4	1,0481	0,7	1,6
C18:1 - Me	2,00	1,0719	1,4	1,0759	0,9	0,4	1,0628	2,0	1,0467	0,7	1,5
C18:0 - Et	2,01	1,1045	1,0	1,1027	1,2	0,2	1,0953	1,5	1,0577	0,8	3,4
C18:1 - Et	2,01	1,0667	0,4	1,0993	1,2	3,0	1,0572	1,0	1,0563	0,8	0,1
C18:2 - Me	2,13	1,0742	0,5	1,0725	0,9	0,2	1,0645	1,3	1,0454	0,7	1,8
C18:2 - Et	2,16	1,0738	0,4	1,0959	1,2	2,0	1,0629	1,1	1,0549	0,8	0,8
C20:0 - Me	2,05	1,1292	0,7	1,1261	1,5	0,3	1,1186	1,6	1,0672	0,9	4,6
C22:0 - Me	2,01	1,1710	2,1	1,1729	1,9	0,2	1,1613	3,0	1,0863	1,1	6,5
C22:0 - Et	2,05	1,1428	0,9	1,1963	2,2	4,5	1,1334	1,1	1,0959	1,2	3,3
C24:0 - Me	2,01	1,2108	1,9	1,2197	2,4	0,7	1,2030	3,5	1,1054	1,3	8,1

mp – Massas de Padrões. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 26 - Comparação entre FRS_{Determinados} e FRS_{Preditos} determinados com a temperatura do injetor de 260 °C e vazão *split* de 1:100

Ésteres	mp (mg)	Normalização pelo C14:0-Me					Normalização pelo C12:0-Et				
		FRS Determinados com base na Equação 8		FRS preditos		EP (%)	FRS Determinados com base na Equação 8		FRS preditos		EP (%)
		Médias	CV (%)	Médias	CV (%)		Médias	CV (%)	Médias	CV (%)	
C6:0 - Me	2,03	1,1783	0,6	1,2239	2,3	3,9	1,1759	1,9	1,0606	2,9	9,8
C6:0 - Et	2,01	1,1506	0,4	1,1951	1,8	3,9	1,1356	2,9	1,0510	2,5	7,4
C8:0 - Me	2,05	1,0997	0,3	1,1677	1,4	6,2	1,0911	0,8	1,0416	2,1	4,5
C8:0 - Et	2,02	1,0764	0,3	1,1416	1,1	6,1	1,0656	0,3	1,0323	1,7	3,1
C10:0 - Et	2,00	1,0537	0,3	1,0927	0,4	3,7	1,0419	0,5	1,0144	0,9	2,6
C12:0 -Me	1,99	1,0903	0,7	1,0699	0,2	1,9	1,0727	0,8	1,0057	0,5	6,2
C12:0 -Et	2,00	1,0123	0,7	1,0480	0,4	3,5	1,0000	0,0	0,9971	0,3	0,3
C14:0 - Me	2,08	1,0000	0,0	0,9738	0,7	2,6	0,9914	0,5	1,0114	0,4	2,0
C14:0 - Et	2,00	1,0256	0,7	0,9934	1,0	3,1	1,0243	0,9	1,0199	0,7	0,4
C16:0 - Me	2,10	1,0193	1,1	1,0129	1,3	0,6	1,0228	1,2	1,0284	1,1	0,5
C16:0 - Et	2,00	1,0213	1,4	1,0325	1,6	1,1	1,0219	1,0	1,0369	1,5	1,5
C17:0 - Me	2,01	1,0967	4,7	1,0325	1,6	5,9	1,0561	0,8	1,0369	1,5	1,8
C18:0 - Me	2,13	1,0433	2,1	1,0520	1,8	0,8	1,0457	1,3	1,0454	1,8	0,0
C18:1 - Me	2,00	1,0669	2,5	1,0492	1,8	1,7	1,0875	1,4	1,0442	1,8	4,0
C18:0 - Et	2,01	1,0871	3,6	1,0716	2,1	1,4	1,0754	1,2	1,0539	2,2	2,0
C18:1 - Et	2,01	1,0415	2,2	1,0688	2,0	2,6	1,0512	2,1	1,0527	2,1	0,1
C18:2 - Me	2,13	1,0662	0,6	1,0464	1,8	1,9	1,0655	1,0	1,0430	1,7	2,1
C18:2 - Et	2,16	1,0655	1,0	1,0660	2,0	0,0	1,0686	1,2	1,0515	2,1	1,6
C20:0 - Me	2,05	1,1082	2,7	1,0911	2,3	1,5	1,1229	1,4	1,0624	2,5	5,4
C22:0 - Me	2,01	1,1477	1,0	1,1303	2,8	1,5	1,1512	1,4	1,0794	3,2	6,2
C22:0 - Et	2,05	1,1174	2,5	1,1498	3,0	2,9	1,1277	0,9	1,0879	3,5	3,5
C24:0 - Me	2,01	1,1628	2,3	1,1694	3,2	0,6	1,1572	2,4	1,0964	3,8	5,3

mp – Massas de Padrões. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 27 – Determinação de alquil ésteres utilizando os FRS_{Preditos} obtidos para com temperatura do injetor 245 °C e vazão *split* 1:100

Ésteres	mp (mg)	Normalização C14:0-Me					Normalização C12:0-Et				
		Massa média prevista (mg)	s	CV (%)	Intervalo de confiança	EP (%)	Massa média prevista (mg)	s	CV (%)	IC (±)	EP (%)
C6:0 - Me	2,03	2,15	0,06	2,9	0,16	5,9	1,86	0,04	1,9	0,09	8,5
C6:0 - Et	2,01	2,13	0,07	3,5	0,19	6,1	1,88	0,03	1,6	0,08	6,7
C8:0 - Me	2,05	2,20	0,04	1,9	0,10	7,3	1,98	0,02	1,0	0,05	3,8
C8:0 - Et	2,02	2,16	0,04	1,6	0,09	7,1	1,97	0,02	1,2	0,06	2,3
C10:0 - Et	2,00	2,08	0,02	0,9	0,05	3,9	1,96	0,02	1,1	0,05	2,0
C12:0 -Me	1,99	1,99	0,00	0,2	0,01	0,9	1,90	0,03	1,7	0,08	5,1
C12:0 -Et	2,00	2,06	0,02	1,1	0,05	2,8	2,00	0,00	0,2	0,01	0,0
C14:0 - Me	2,08	2,05	0,01	0,3	0,01	1,4	2,12	0,01	0,3	0,02	2,1
C14:0 - Et	2,00	1,96	0,00	0,2	0,01	2,3	2,00	0,01	0,3	0,01	0,2
C16:0 - Me	2,10	2,09	0,01	0,3	0,02	0,2	2,11	0,02	0,9	0,05	0,5
C16:0 - Et	2,00	2,01	0,02	1,2	0,06	0,6	2,00	0,01	0,6	0,03	0,0
C17:0 - Me	2,01	1,99	0,01	0,6	0,03	1,7	1,98	0,01	0,3	0,01	2,3
C18:0 - Me	2,13	2,13	0,00	0,1	0,00	0,2	2,09	0,02	1,0	0,05	1,6
C18:1 - Me	2,00	1,99	0,01	0,7	0,03	0,6	1,96	0,03	1,3	0,06	2,3
C18:0 - Et	2,01	2,01	0,01	0,5	0,03	0,4	1,94	0,02	0,9	0,04	3,5
C18:1 - Et	2,01	2,05	0,02	1,1	0,06	2,0	1,99	0,00	0,1	0,01	0,9
C18:2 - Me	2,13	2,09	0,01	0,4	0,02	2,0	2,06	0,01	0,6	0,03	3,4
C18:2 - Et	2,16	2,16	0,02	0,8	0,04	0,3	2,10	0,01	0,5	0,03	2,5
C20:0 - Me	2,05	2,04	0,02	0,8	0,04	0,6	1,95	0,02	0,9	0,04	4,8
C22:0 - Me	2,01	2,00	0,02	0,9	0,05	0,2	1,88	0,04	2,3	0,11	6,5
C22:0 - Et	2,05	2,13	0,04	1,8	0,09	4,3	1,98	0,03	1,4	0,07	3,5
C24:0 - Me	2,01	2,02	0,03	1,4	0,07	0,4	1,85	0,02	1,2	0,06	8,1

mp – Massas de Padrões. s – Desvio padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão. IC - Intervalo de confiança.

Tabela 28 – Comparação das determinação de alquil ésteres pelos FRS_{Preditos} e pelo C17:0-Me utilizando uma temperatura do injetor de 245 °C e vazão *split* de 1:100

Ésteres	mp (mg)	Determinação pelos FRS _{Preditos}						Determinação pelo C17:0-Me		
		Normalização C14:0-Me			Normalização C12:0-Et			Massa média (mg)	CV (%)	EP (%)
		Massa média (mg)	CV (%)	EP (%)	Massa média (mg)	CV (%)	EP (%)			
C6:0 - Me	2,03	2,15	2,9	5,9	1,86	1,9	8,5	1,42	1,6	30,0
C6:0 - Et	2,01	2,13	3,5	6,1	1,88	1,6	6,7	1,53	1,7	24,0
C8:0 - Me	2,05	2,20	1,9	7,3	1,98	1,0	3,8	1,69	0,6	17,6
C8:0 - Et	2,02	2,16	1,6	7,1	1,97	1,2	2,3	1,76	1,0	12,7
C10:0 - Et	2,00	2,08	0,9	3,9	1,96	1,1	2,0	1,88	0,3	6,1
C12:0 -Me	1,99	1,99	0,2	0,9	1,90	1,7	5,1	1,88	1,1	6,3
C12:0 -Et	2,00	2,06	1,1	2,8	2,00	0,2	0,0	2,03	0,9	1,3
C14:0 - Me	2,08	2,05	0,3	1,4	2,12	0,3	2,1	2,15	0,4	3,8
C14:0 - Et	2,00	1,96	0,2	2,3	2,00	0,3	0,2	2,04	0,4	1,9
C16:0 - Me	2,10	2,09	0,3	0,2	2,11	0,9	0,5	2,16	0,6	2,8
C16:0 - Et	2,00	2,01	1,2	0,6	2,00	0,6	0,0	2,05	0,6	2,4
C17:0 - Me	2,01	1,99	0,6	1,7	1,98	0,3	2,3	2,03	0,0	0,0
C18:0 - Me	2,13	2,13	0,1	0,2	2,09	1,0	1,6	2,14	0,8	0,7
C18:1 - Me	2,00	1,99	0,7	0,6	1,96	1,3	2,3	2,02	1,1	0,8
C18:0 - Et	2,01	2,01	0,5	0,4	1,94	0,9	3,5	1,99	0,8	1,3
C18:1 - Et	2,01	2,05	1,1	2,0	1,99	0,1	0,9	2,05	0,0	2,1
C18:2 - Me	2,13	2,09	0,4	2,0	2,06	0,6	3,4	2,14	0,5	0,5
C18:2 - Et	2,16	2,16	0,8	0,3	2,10	0,5	2,5	2,19	0,4	1,3
C20:0 - Me	2,05	2,04	0,8	0,6	1,95	0,9	4,8	1,99	0,8	2,8
C22:0 - Me	2,01	2,00	0,9	0,2	1,88	2,3	6,5	1,91	2,1	5,1
C22:0 - Et	2,05	2,13	1,8	4,3	1,98	1,4	3,5	2,00	1,1	2,2
C24:0 - Me	2,01	2,02	1,4	0,4	1,85	1,2	8,1	1,87	1,6	7,2

mp – Massas de Padrões. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 29 – Determinação de alquil ésteres utilizando os FRS_{Preditos} obtidos para com temperatura do injetor 260 °C e vazão *split* de 1:100

Ésteres	mp (mg)	Normalização C14:0-Me					Normalização C12:0-Et				
		Massa média prevista (mg)	s	CV (%)	Intervalo de confiança	EP (%)	Massa média prevista (mg)	s	CV (%)	IC (±)	EP (%)
C6:0 - Me	2,03	2,11	0,06	2,8	0,15	3,9	1,85	0,04	2,3	0,11	9,2
C6:0 - Et	2,01	2,09	0,04	2,1	0,11	3,9	1,86	0,04	2,0	0,09	7,8
C8:0 - Me	2,05	2,18	0,03	1,5	0,08	6,2	1,96	0,03	1,8	0,09	4,4
C8:0 - Et	2,02	2,14	0,03	1,3	0,07	6,1	1,95	0,03	1,6	0,08	3,2
C10:0 - Et	2,00	2,07	0,01	0,7	0,03	3,7	1,94	0,01	0,6	0,03	2,8
C12:0 -Me	1,99	1,97	0,01	0,5	0,02	1,9	1,86	0,01	0,6	0,03	6,3
C12:0 -Et	2,00	2,07	0,01	0,3	0,01	3,5	1,99	0,01	0,3	0,01	0,3
C14:0 - Me	2,08	2,02	0,01	0,7	0,04	2,6	2,12	0,02	1,0	0,05	2,1
C14:0 - Et	2,00	1,94	0,02	1,0	0,05	3,1	2,01	0,03	1,7	0,08	0,4
C16:0 - Me	2,10	2,08	0,02	0,9	0,05	0,6	2,13	0,05	2,4	0,13	1,8
C16:0 - Et	2,00	2,02	0,01	0,3	0,01	1,1	2,05	0,06	2,9	0,15	2,5
C17:0 - Me	2,01	1,91	0,11	5,9	0,28	5,7	1,94	0,06	3,0	0,14	3,6
C18:0 - Me	2,13	2,14	0,01	0,2	0,01	0,8	2,15	0,08	3,7	0,20	1,2
C18:1 - Me	2,00	1,97	0,02	0,8	0,04	1,6	1,98	0,08	4,2	0,21	1,0
C18:0 - Et	2,01	1,99	0,04	1,9	0,09	1,4	1,97	0,12	5,8	0,29	1,7
C18:1 - Et	2,01	2,06	0,01	0,4	0,02	2,6	2,05	0,08	3,8	0,20	1,8
C18:2 - Me	2,13	2,09	0,03	1,2	0,06	1,9	2,10	0,05	2,4	0,13	1,3
C18:2 - Et	2,16	2,16	0,03	1,4	0,07	0,0	2,15	0,07	3,2	0,17	0,4
C20:0 - Me	2,05	2,02	0,02	0,8	0,04	1,5	1,99	0,10	5,1	0,25	3,2
C22:0 - Me	2,01	1,98	0,04	1,8	0,09	1,5	1,91	0,08	3,9	0,19	5,1
C22:0 - Et	2,05	2,11	0,04	1,9	0,10	2,9	2,01	0,12	6,0	0,30	1,6
C24:0 - Me	2,01	2,02	0,04	1,8	0,09	0,6	1,91	0,09	4,6	0,22	4,8

mp – Massas de Padrões. s – Desvio padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão. IC - Intervalo de confiança.

Tabela 30 – Comparação das determinação de alquil ésteres pelos FRS_{Preditos} e pelo C17:0-Me utilizando uma temperatura do injetor de 260 °C e vazão *split* de 1:100

Ésteres Massa (mg)	Correção das áreas pelos FRS _{Preditos}						Comparação pela área do C17:0-Me			
	Normalização C14:0-Me			Normalização C12:0-Et			Massa média (mg)	CV (%)	EP (%)	
	Massa média (mg)	CV (%)	EP (%)	Massa média (mg)	CV (%)	EP (%)				
C6:0 - Me	2,03	2,11	2,8	3,9	1,85	2,3	9,2	1,46	4,1	28,2
C6:0 - Et	2,01	2,09	2,1	3,9	1,86	2,0	7,8	1,56	4,3	22,6
C8:0 - Me	2,05	2,18	1,5	6,2	1,96	1,8	4,4	1,73	4,5	15,6
C8:0 - Et	2,02	2,14	1,3	6,1	1,95	1,6	3,2	1,80	4,4	10,9
C10:0 - Et	2,00	2,07	0,7	3,7	1,94	0,6	2,8	1,91	4,4	4,4
C12:0 -Me	1,99	1,97	0,5	1,9	1,86	0,6	6,3	1,89	4,3	5,8
C12:0 -Et	2,00	2,07	0,3	3,5	1,99	0,3	0,3	2,06	4,2	3,2
C14:0 - Me	2,08	2,02	0,7	2,6	2,12	1,0	2,1	2,20	4,7	6,0
C14:0 - Et	2,00	1,94	1,0	3,1	2,01	1,7	0,4	2,10	5,2	4,7
C16:0 - Me	2,10	2,08	0,9	0,6	2,13	2,4	1,8	2,23	5,7	6,6
C16:0 - Et	2,00	2,02	0,3	1,1	2,05	2,9	2,5	2,15	6,0	7,4
C17:0 - Me	2,01	1,91	5,9	5,7	1,94	3,0	3,6	2,03	0,0	0,0
C18:0 - Me	2,13	2,14	0,2	0,8	2,15	3,7	1,2	2,26	6,6	6,2
C18:1 - Me	2,00	1,97	0,8	1,6	1,98	4,2	1,0	2,10	7,2	4,6
C18:0 - Et	2,01	1,99	1,9	1,4	1,97	5,8	1,7	2,07	8,4	2,8
C18:1 - Et	2,01	2,06	0,4	2,6	2,05	3,8	1,8	2,17	6,6	7,9
C18:2 - Me	2,13	2,09	1,2	1,9	2,10	2,4	1,3	2,24	5,3	5,2
C18:2 - Et	2,16	2,16	1,4	0,0	2,15	3,2	0,4	2,29	5,7	6,1
C20:0 - Me	2,05	2,02	0,8	1,5	1,99	5,1	3,2	2,08	7,4	1,6
C22:0 - Me	2,01	1,98	1,8	1,5	1,91	3,9	5,1	1,99	5,6	0,8
C22:0 - Et	2,05	2,11	1,9	2,9	2,01	6,0	1,6	2,10	7,2	2,6
C24:0 - Me	2,01	2,02	1,8	0,6	1,91	4,6	4,8	1,99	6,3	0,9

CV(%) – Coeficiente de variância. EP(%) – Erro de previsão

8.4 Sensibilidade, limite de detecção e limite de quantificação

Sinais de ruído foram obtidos para corridas completas de oito injeções do solvente heptano, nas mesmas condições estabelecidas para previsão e validação dos FRSs (seção 7.3). O *software* do cromatógrafo forneceu os valores dos ruídos, cuja a média foi 55 $\mu\text{V}\cdot\text{s}$. A área esperada para o LD é portanto 165 $\mu\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$ (três vezes a área do ruído), enquanto que a para o LQ corresponde a 550 $\mu\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$ (dez vezes a área do ruído).

Para previsão inicial da Sensibilidade (S), do LD e do LQ, triplicatas de soluções foram preparadas com concentrações aproximadas dos ésteres de 1,00 mg/mL. Os resultados das corridas cromatográficas foram registrados na Tabela 31. Conforme foi descrito na seção 7.3.2, a sensibilidade foi calculada com base na centésima parte da massa introduzida no injetor uma vez que fora selecionada a vazão *split* de 1:100. O LD e o LQ foram calculados com base na proporcionalidade entre a área do pico e a concentração do éster, levando em consideração os valores das áreas a serem obtidos de 165 e 550, respectivamente.

Os dados da Tabela 31 foram utilizados apenas como ensaio para estimar os valores da sensibilidade, do LD e do LQ. Sabendo que resultados de medidas próximos ao LD e ao LQ são menos precisos, novas soluções em triplicatas foram preparadas nas concentrações de 17, 50 e 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Como pode-se observar (Tabelas 31 a 34), soluções mais concentradas tendem elevar a razão sinal/ruído, reduzindo assim os valores do LD e do LQ (RIBANI, *et al.*, 2004). Conforme se vem observando neste trabalho, há uma tendência de valores menos precisos para os ésteres que ocupam a extremidade da sequência analisada (C6 a C24). Os ésteres de C14:0-Me ao C18:2-Et foram os que apresentaram maior precisão em todas as concentrações estudadas. A partir da análise da solução com ésteres na concentração de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Tabela 34), verificou-se que os resultados obtidos apresentam-se mais próximos aos da concentrações de 1,00 mg/mL (Tabela 31), confirmando a redução do LD e do LQ conforme citado acima.

Tabela 31 – Estimativa da Sensibilidade, LD e LQ a partir de soluções com ésteres na concentração de 1,00 mg/mL

Éster	Área média	CV %	Conc. mg/mL	massa injetada ng	S área/pg	s	CV %	LD µg/mL	s	CV %	LQ µg/mL	s	CV %
C6:0 - Me	11463	0,4	1,02	8	1,4	0,04	2,7	14	0,4	2,7	48	1,3	2,7
C6:0 - Et	12261	1,4	1,01	8	1,5	0,04	2,7	13	0,4	2,7	44	1,2	2,7
C8:0 - Me	13491	1,2	1,03	8	1,6	0,03	2,0	12	0,2	2,0	41	0,8	2,0
C8:0 - Et	14000	1,1	1,01	8	1,7	0,05	2,8	12	0,3	2,8	39	1,1	2,8
C10:0 - Et	15556	1,5	1,00	8	1,9	0,05	2,5	11	0,3	2,4	35	0,9	2,5
C12:0 -Me	15911	0,6	1,00	8	2,0	0,05	2,4	10	0,3	2,4	34	0,8	2,4
C12:0 -Et	17222	0,2	1,00	8	2,2	0,02	0,9	10	0,1	0,8	32	0,3	0,8
C14:0 - Me	18382	1,2	1,04	8	2,2	0,03	1,5	9	0,1	1,5	31	0,5	1,5
C14:0 - Et	17637	1,5	1,00	8	2,2	0,03	1,2	9	0,1	1,2	31	0,4	1,2
C16:0 - Me	18281	2,3	1,04	8	2,2	0,04	1,8	9	0,2	1,8	31	0,6	1,8
C16:0 - Et	17141	1,8	1,00	8	2,1	0,04	1,9	9	0,2	1,9	31	0,6	1,9
C17:0 - Me	17696	1,5	1,01	8	2,2	0,03	1,5	9	0,1	1,5	32	0,5	1,5
C18:0 - Me	18494	1,0	1,06	9	2,2	0,03	1,3	9	0,1	1,3	31	0,4	1,3
C18:1 - Me	17544	1,0	1,01	8	2,2	0,03	1,3	9	0,1	1,2	31	0,4	1,3
C18:0 - Et	17145	0,8	1,00	8	2,1	0,03	1,2	10	0,1	1,2	32	0,4	1,2
C18:1 - Et	17491	0,7	1,00	8	2,2	0,03	1,3	9	0,1	1,3	31	0,4	1,3
C18:2 - Me	18456	1,0	1,07	9	2,2	0,02	1,1	9	0,1	1,1	32	0,4	1,1
C18:2 - Et	18707	1,3	1,08	9	2,2	0,03	1,2	9	0,1	1,2	32	0,4	1,2
C20:0 - Me	17411	0,2	1,03	8	2,1	0,02	1,0	10	0,1	1,0	32	0,3	1,0
C22:0 - Me	15954	1,5	1,00	8	2,0	0,04	2,2	10	0,2	2,2	34	0,8	2,2
C22:0 - Et	17014	0,8	1,02	8	2,1	0,03	1,4	10	0,1	1,4	33	0,5	1,4
C24:0 - Me	15935	3,8	1,01	8	2,0	0,04	2,2	10	0,2	2,2	34	0,8	2,3

S – Sensibilidade. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. Determinação em triplicata.

Tabela 32 – Estimativa da Sensibilidade, LD e LQ a partir de soluções com ésteres na concentração de 17 µg/mL

Ésteres	Área média	CV %	S área/pg	s	CV %	LD µg/mL	s	CV %	LQ µg/mL	s	CV %
C6:0 - Me	166	7,7	1,3	0,1	7,7	16	1,3	7,9	55	4,3	7,9
C6:0 - Et	177	7,8	1,3	0,1	7,8	15	1,3	8,1	51	4,2	8,1
C8:0 - Me	250	6,4	1,9	0,1	6,4	11	0,7	6,4	36	2,3	6,4
C8:0 - Et	223	6,1	1,7	0,1	6,1	12	0,7	6,1	41	2,5	6,1
C10:0 - Et	211	4,5	1,6	0,1	4,5	13	0,6	4,6	43	2,0	4,6
C12:0 -Me	212	5,6	1,6	0,1	5,6	13	0,7	5,7	43	2,4	5,7
C12:0 -Et	208	5,9	1,6	0,1	5,9	13	0,8	6,0	43	2,6	6,0
C14:0 - Me	307	4,1	2,3	0,1	4,1	9	0,4	4,0	29	1,2	4,0
C14:0 - Et	339	2,8	2,6	0,1	2,8	8	0,2	2,8	27	0,8	2,8
C16:0 - Me	313	2,9	2,4	0,1	2,9	9	0,3	2,9	29	0,8	2,9
C16:0 - Et	308	2,1	2,3	0,0	2,1	9	0,2	2,1	29	0,6	2,1
C18:0 - Me	211	3,8	1,6	0,1	3,8	13	0,5	3,8	43	1,6	3,8
C18:1 - Me	285	3,3	2,2	0,1	3,3	9	0,3	3,3	32	1,0	3,3
C18:0 - Et	244	2,7	1,8	0,0	2,7	11	0,3	2,7	37	1,0	2,7
C18:1 - Et	229	3,1	1,7	0,1	3,1	12	0,4	3,1	39	1,2	3,1
C18:2 - Me	220	1,8	1,7	0,0	1,8	12	0,2	1,8	41	0,8	1,8
C18:2 - Et	329	3,3	2,5	0,1	3,3	8	0,3	3,3	27	0,9	3,3
C20:0 - Me	206	8,1	1,6	0,1	8,1	13	1,1	8,4	44	3,7	8,4
C22:0 - Me	190	8,8	1,4	0,1	8,8	14	1,3	9,0	48	4,3	9,0
C22:0 - Et	172	6,7	1,3	0,1	6,7	16	1,1	6,7	53	3,6	6,7
C24:0 - Me	168	9,1	1,3	0,1	9,1	16	1,4	8,9	54	4,8	8,9

S – Sensibilidade. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. Determinação em triplicata.

De uma forma geral, observou-se menor sensibilidade na quantificação dos ésteres de C6 a C12 e de C20 a C24, estando estes entre os mais afetados pela deficiência de carbono no FID e pela discriminação de massa no injetor *split*, respectivamente. Embora os valores da Tabela 32 apresentem menor precisão, estes devem ser adotados como valores de S, LD e LQ, pois retratam a qualidade do resultado ao nível das concentrações trabalhadas. Esta proposta não afeta a quantificação dos principais ésteres (C16:0, C18:0, C18:1 e C18:2), pois estes encontram-se em concentrações não inferiores a 2% em biodiesel das matérias-primas mais utilizadas (Tabela 3), bem acima do limite de quantificação. Adicionalmente, estes ésteres foram os que apresentaram menores LQ. Para estes grupos de ésteres o maior limite de quantificação observado foi para o C18:0, com 43 µg/mL, correspondendo a 0,086 %_{massa}. Para a conversão das unidades dos LD e LQ de microgramas por mililitro para porcentagem em massa, considerando uma massa

de amostra de 250 mg, deve-se multiplicar pelo fator de conversão 0,00200. Os demais ésteres estudados encontram-se dentro dos LQ calculados.

Tabela 33 – Estimativa da Sensibilidade, LD e LQ a partir de soluções com ésteres na concentração de 50 µg/mL

Ésteres	Área média	CV %	S área/pg	s	CV %	LD µg/mL	s	CV %	LQ µg/mL	s	CV %
C6:0 - Me	541	4,4	1,4	0,06	4,4	15	0,7	4,3	51	2,2	4,3
C6:0 - Et	559	3,3	1,4	0,05	3,3	15	0,5	3,3	49	1,6	3,3
C8:0 - Me	647	3,9	1,6	0,06	3,9	13	0,5	3,9	42	1,7	3,9
C8:0 - Et	646	3,3	1,6	0,05	3,3	13	0,4	3,2	42	1,4	3,2
C10:0 - Et	614	2,3	1,5	0,04	2,3	13	0,3	2,3	45	1,0	2,3
C12:0 -Me	653	2,8	1,6	0,05	2,8	13	0,4	2,8	42	1,2	2,8
C12:0 -Et	728	2,1	1,8	0,04	2,1	11	0,2	2,1	38	0,8	2,1
C14:0 - Me	757	1,8	1,9	0,03	1,8	11	0,2	1,8	36	0,6	1,8
C14:0 - Et	811	1,9	2,0	0,04	1,9	10	0,2	2,0	34	0,7	2,0
C16:0 - Me	875	2,3	2,2	0,05	2,3	9	0,2	2,2	31	0,7	2,2
C16:0 - Et	728	2,5	1,8	0,05	2,5	11	0,3	2,5	38	0,9	2,5
C18:0 - Me	817	1,8	2,0	0,04	1,8	10	0,2	1,8	33	0,6	1,8
C18:1 - Me	725	2,2	1,8	0,04	2,2	11	0,3	2,2	38	0,8	2,2
C18:0 - Et	761	2,0	1,9	0,04	2,0	11	0,2	2,1	36	0,7	2,1
C18:1 - Et	847	1,5	2,1	0,03	1,5	10	0,1	1,5	32	0,5	1,5
C18:2 - Me	729	1,5	1,8	0,03	1,5	11	0,2	1,5	38	0,6	1,5
C18:2 - Et	747	3,3	1,9	0,06	3,3	11	0,4	3,3	37	1,2	3,3
C20:0 - Me	611	2,5	1,5	0,04	2,5	13	0,3	2,5	45	1,1	2,5
C22:0 - Me	602	2,8	1,5	0,04	2,8	14	0,4	2,8	45	1,3	2,8
C22:0 - Et	553	3,2	1,4	0,04	3,2	15	0,5	3,2	50	1,6	3,2
C24:0 - Me	552	4,1	1,4	0,06	4,1	15	0,6	4,1	50	2,0	4,1

S – Sensibilidade. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. Determinação em triplicata.

Tabela 34 – Estimativa da Sensibilidade, LD e LQ a partir de soluções com ésteres na concentração de 100 µg/mL

Ésteres	Área média	CV %	S área/pg	s	CV %	LD µg/mL	s	CV %	LQ µg/mL	s	CV %
C6:0 - Me	1258	3,8	1,6	0,06	3,8	13	0,5	3,8	44	1,7	3,8
C6:0 - Et	1274	3,8	1,6	0,06	3,8	13	0,5	3,8	43	1,6	3,8
C8:0 - Me	1260	3,5	1,6	0,06	3,5	13	0,4	3,4	43	1,5	3,4
C8:0 - Et	1368	2,6	1,7	0,04	2,6	12	0,3	2,6	40	1,0	2,6
C10:0 - Et	1383	3,3	1,7	0,06	3,3	12	0,4	3,3	40	1,3	3,3
C12:0 -Me	1470	2,8	1,8	0,05	2,8	11	0,3	2,9	37	1,1	2,9
C12:0 -Et	1493	1,9	1,9	0,04	1,9	11	0,2	1,9	37	0,7	1,9
C14:0 - Me	1634	3,1	2,0	0,06	3,1	10	0,3	3,1	33	1,0	3,1
C14:0 - Et	1727	2,4	2,2	0,05	2,4	10	0,2	2,4	32	0,8	2,4
C16:0 - Me	1824	1,4	2,3	0,03	1,4	9	0,1	1,4	30	0,4	1,4
C16:0 - Et	1665	1,0	2,1	0,02	1,0	10	0,1	1,0	33	0,3	1,0
C18:0 - Me	1871	1,0	2,3	0,02	1,0	9	0,1	1,0	29	0,3	1,0
C18:1 - Me	1656	2,1	2,1	0,04	2,1	10	0,2	2,1	33	0,7	2,1
C18:0 - Et	1751	2,4	2,2	0,05	2,4	9	0,2	2,4	31	0,8	2,4
C18:1 - Et	1616	1,4	2,0	0,03	1,4	10	0,1	1,4	34	0,5	1,4
C18:2 - Me	1660	1,4	2,1	0,03	1,4	10	0,1	1,4	33	0,5	1,4
C18:2 - Et	1612	1,6	2,0	0,03	1,6	10	0,2	1,6	34	0,6	1,6
C20:0 - Me	1639	3,7	2,0	0,08	3,7	10	0,4	3,6	33	1,2	3,6
C22:0 - Me	1580	3,8	2,0	0,07	3,8	10	0,4	3,7	35	1,3	3,7
C22:0 - Et	1501	3,1	1,9	0,06	3,1	11	0,3	3,1	36	1,1	3,1
C24:0 - Me	1402	4,4	1,8	0,08	4,4	12	0,5	4,4	39	1,7	4,4

S – Sensibilidade. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. Determinação em triplicata.

8.5 Análises de amostras de biodiesel utilizando FRS_{Preditos}

Foram realizadas análises em uma amostra sintética, simulando a concentração em ésteres esperada para o biodiesel de babaçu. Também foram empregadas amostras de ésteres para simular a determinação do teor de ésteres em biodiesel sendo estas: ésteres metílico e etílico de óleo de dendê (preparados do mesmo óleo), ésteres metílico de óleo de soja degomado, ésteres etílico de óleo de soja refinado e ésteres metílico de óleo de pinhão manso. Os resultados foram confrontados com os obtidos pela comparação das áreas dos picos dos ésteres com a área do padrão C17:0-Me adicionado às amostras, conforme preconizado pelo método EN ISO 14103. Para as amostras de ésteres metílicos, foram utilizados como padrões C12:0-Et, C14:0-Et e C18:1-Et, empregados para previsão dos FRS_{Preditos} . Para previsão dos FRS_{Preditos} na análise das amostras de ésteres etílicos, foram utilizados como padrões C12:0-Me, C14:0-Me e C18:0-Me. Neste caso, também foi utilizado o C17:0-Me como padrão de comparação.

8.5.1 Análise da amostra sintética – Avaliação da exatidão

A amostra sintética de biodiesel de babaçu foi preparada com o objetivo de avaliar o desempenho do FRS_{Preditos} na determinação das massas de ésteres de baixa massa molar, quando presentes em concentrações significativas. Como exemplo destes ésteres, tem-se os derivados dos ácidos graxos C8:0, C10:0 e C12:0 que compõem o óleo de babaçu, na proporção de 5, 6 e 44%, respectivamente (Tabela 3). Embora os ésteres derivados do C6:0 não sejam encontrados em quantidades significativas em amostras de biodiesel, estes foram adicionados neste estudo apenas como extrapolação do comportamento dos FRS.

Na Figura 20 é apresentado o cromatograma da amostra sintética do biodiesel de babaçu, com detalhe do pico do C6:0-Et. As massas dos ésteres foram obtidas a partir das áreas dos picos corrigidas pelos FRS previstos, segundo as equações apresentadas na Tabela 35. Os resultados da análise em duplicata, com os cálculos das massas via FRS_{Preditos} , encontram-se na Tabela 36, enquanto que as massas obtidas através do padrão C17:0-Me foram registrados na Tabela 37.

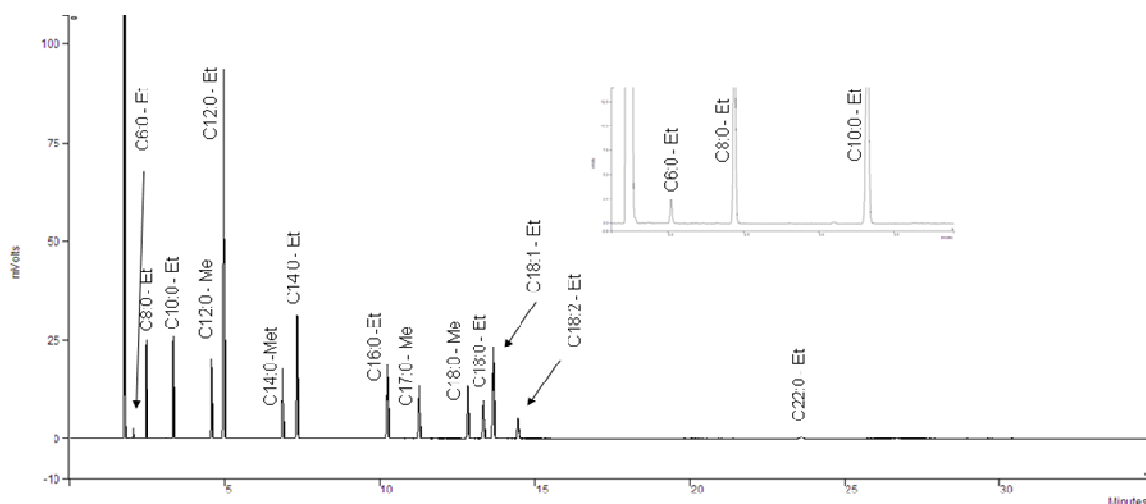


Figura 20 – Cromatograma da amostra sintética de biodiesel de babaçú

Tabela 35 – Equações para previsão dos FRS para análise da amostra sintética de biodiesel de babaçú

Replicata	Coefficiente angular (a)	Coefficiente linear (b)	r^2
1	0,0014976	0,6243638	0,9707556
2	0,0014288	0,6438256	0,9803071
$FRS_{Preditos} = a.MM + b$		donde: MM é a massa molar do éster	

Quando as massas foram determinadas via $FRS_{Preditos}$, os maiores EP(%) foram verificados para os ésteres C6:0-Et, C8:0-Et, C10:0-Et, C12:0-Et e C22:0-Et. Dentre esses, o C12:0-Et foi o que apresentou a maior diferença devido ao nível de concentração em que se encontra. Para esses mesmos ésteres e mais o C12:-Me, a determinação via C17:0-Me apresentou EP(%) das massas significativamente maiores, chegando a 27% para C6:0-Et, 14% para o C8:0-Et, 8% para C10:0-Et e 17% para C22:0-Et. A exceção foi o C12:0-Et, que apresentou EP(%) de 2%, bem abaixo do observado pela determinação via $FRS_{Preditos}$. Com exceção do C12:0-Et, conforme já foi mencionado, a determinação via os $FRS_{Preditos}$ apresentou melhores resultados.

Comparando os EP(%) das concentrações percentuais, verifica-se uma performance muito melhor para a quantificação via os $FRS_{Preditos}$. Para os ésteres

mais leves C6:0-Et, C8:0-Et, C10:0-Et, C12:0-Et e C14:0-Et, os erros de predição foram de 1,4; 2,7; 1,4; 2,2; e 3,2%, nesta sequência, contra 24,4; 13,5, 6,2; 2,4 e 2,0% para os mesmos ésteres determinados via padrão C17:0-Me. Os ésteres menos voláteis C18:2-Et e C22:0-ET apresentaram, na determinação via os FRS_{Preditos} , EP(%) de 3,5 e 13,1%, respectivamente, e 0,5 e 16% para os mesmos ésteres quantificados via C17:0-Et.

Os valores dos desvios padrões para os ésteres C10:-Et, C12:0-Et, C14:0-Et, C16:0-Et e C18:1-Et foram os maiores dentre os ésteres analisados (Tabela 36). Os resultados obtidos através do C17:0-Me foram mais precisos (Tabela 37), com as maiores variações para C10:0-Et e C12:0-Et. A variação observadas para os resultados contribuiu para o alargamento do intervalo de confiança, sugerindo assim o aumento de replicatas.

Tabela 36 – Determinação de ésteres etílicos na amostra sintética de biodiesel de babaçu utilizando FRS_{Preditos}

Éster	mp (mg)	%	1			2			massa média	s	CV (%)	IC (±)	% média	EP (%)
			Área	massa prevista (mg)	EP (%)	Área	massa prevista (mg)	EP (%)						
C6:0-Et	0,16	0,58	2119	0,16	1,1	2206	0,17	5,9	0,17	0,005	3,3	0,05	0,59	1,4
C8:0-Et	1,61	5,79	24818	1,69	4,5	24775	1,70	5,3	1,69	0,008	0,5	0,07	5,95	2,7
C10:0-Et	2,00	7,17	33828	2,09	4,4	32871	2,05	2,6	2,07	0,026	1,2	0,23	7,27	1,4
C12:0-Met	2,00		33519	1,99	0,9	33177	1,99	0,7	1,99	0,003	0,1	0,03		
C12:0-Et	10,41	37,32	190338	10,85	4,2	188362	10,88	4,5	10,86	0,023	0,2	0,20	38,15	2,2
C14:0-Met	2,08		38233	2,05	1,3	37579	2,05	1,0	2,05	0,004	0,2	0,04		
C14:0-Et	4,01	14,36	72747	3,93	1,9	72370	3,99	0,5	3,96	0,039	1,0	0,35	13,90	3,2
C16:0-Et	2,80	10,03	50646	2,79	0,3	50229	2,82	0,6	2,80	0,018	0,6	0,16	9,84	1,9
C17:0-Met	2,03		36356	2,00	1,1	36282	2,03	0,4	2,02	0,022	1,1	0,19		
C18:0-Met	2,13		38343	2,14	0,4	37692	2,13	0,3	2,13	0,001	0,1	0,01		
C18:0-Et	1,61	5,76	28683	1,62	0,6	28526	1,63	1,6	1,62	0,011	0,7	0,10	5,70	1,0
C18:1-Et	4,02	14,40	72297	4,03	0,5	72299	4,10	2,1	4,07	0,045	1,1	0,40	14,28	0,8
C18:2-Et	0,97	3,48	17271	0,95	1,7	17058	0,96	1,3	0,96	0,002	0,2	0,02	3,36	3,5
C22:0-Et	0,31	1,10	4596	0,27	11,5	4563	0,27	11,0	0,27	0,001	0,4	0,01	0,96	13,1

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 37 – Determinação de ésteres na amostra sintética de biodiesel de babaçu utilizando C17:0-Me como padrão interno

Éster	mp (mg)	%	1			2			massa média	s	CV (%)	IC (±)	% média	EP (%)
			Área	massa prevista (mg)	EP (%)	Área	massa prevista (mg)	EP (%)						
C6:0-Et	0,16	0,58	2119	0,12	26,7	2206	0,12	23,5	0,12	0,004	2,99	0,03	0,44	24,4
C8:0-Et	1,61	5,79	24818	1,38	14,3	24775	1,38	14,3	1,38	0,000	0,02	0,00	5,01	13,5
C10:0-Et	2,00	7,17	33828	1,89	5,8	32871	1,84	8,2	1,86	0,035	1,89	0,32	6,73	6,2
C12:0-Met	2,00		33519	1,87	6,7	33177	1,85	7,5	1,86	0,011	0,58	0,10		
C12:0-Et	10,41	37,32	190338	10,61	1,9	188362	10,52	1,1	10,56	0,063	0,59	0,56	38,23	2,4
C14:0-Met	2,08		38233	2,13	2,7	37579	2,10	1,1	2,11	0,023	1,08	0,20		
C14:0-Et	4,01	14,36	72747	4,05	1,2	72370	4,04	0,9	4,05	0,009	0,22	0,08	14,65	2,0
C16:0-Et	2,80	10,03	50646	2,82	0,9	50229	2,80	0,2	2,81	0,012	0,44	0,11	10,18	1,5
C17:0-Met	2,03		36356	2,03	0,0	36282	2,03	0,0	2,03	0,000	0,00	0,00		
C18:0-Met	2,13		38343	2,14	0,5	37692	2,10	1,0	2,12	0,023	1,07	0,20		
C18:0-Et	1,61	5,76	28683	1,60	0,4	28526	1,59	0,8	1,60	0,004	0,24	0,03	5,78	0,3
C18:1-Et	4,02	14,40	72297	4,03	0,3	72299	4,04	0,6	4,03	0,006	0,15	0,05	14,60	1,4
C18:2-Et	0,97	3,48	17271	0,96	0,9	17058	0,95	1,9	0,96	0,007	0,73	0,06	3,47	0,5
C22:0-Et	0,31	1,10	4596	0,26	16,5	4563	0,25	17,0	0,26	0,001	0,37	0,01	0,92	16,0

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

8.5.2 Teor de ésteres em biodiesel metílico

As amostras de ésteres apresentaram composição típica, conforme a composição de seus óleos de origem em termos dos teores dos ácidos graxos (Figura 21). Diferenças foram observadas entre as amostras de ésteres, a exemplo da presença de C12:0-Me e C14:0-Me para o dendê, que apresentou ésteres até o C20:1-Me. Os ésteres de soja variaram de C16:0-Me a C24:0-Me, não tendo apresentado área acima do LQ para o pico do C16:1-0. Os ésteres de pinhão manso, dentre as três amostras analisadas, apresentou menor variedade na sua composição, compreendida entre o C16:0-Me a C20:0-Me.

Excetuando os componentes majoritários (C16:0-Me, C18:1-Me, C18:2-Me), os demais ésteres apresentaram visualmente poucas diferenças nas suas composições percentuais, quando confrontadas a quantificação utilizando FRS_{preditos} com a determinação por comparação à área do C17:0-Me, para os três amostras analisadas (Tabela 38). Para os níveis de concentrações em que se encontram estes ésteres e levando-se em conta os erros de predição (EP%), discutidos nas seções anteriores para ambos os métodos, não eram esperadas diferenças significativas.

A comparação das médias através de teste estatístico (teste t) indicou diferenças entre os valores observados para os métodos. Para o grau de liberdade igual a 4 ($n_1 + n_2 - 2$), diferenças significativas foram observadas, a um nível de 95% de confiança, quando $t_{\text{calculado}} > t_{\text{tabelado}}$ (graus de liberdade = 4 $t_{\text{tabelado}} = 2,776$), sendo os valores de t_{tabelado} calculados através da Equação 12. Para o C18:1-Me na amostra de ésteres de dendê e C16:0-Me, C18:1-Me e os teores totais na amostra de ésteres de pinhão manso, foram observadas diferenças significativas entre desvios padrão para os valores em comparação. Estas diferenças foram constatadas através do teste F, onde valores $F_{\text{calculado}}$ ($F_{\text{calculado}} = s_1/s_2$) foram maiores que os valores F_{tabelado} . Nestes casos, os valores de t_{tabelado} foram obtidos através do grau de liberdade calculados pela Equação 15. Os graus de liberdade calculados situaram-se entre 2,0 a 2,6, resultando em valores de $t_{\text{tabelados}}$ de 3,182 e 4,303.

Conforme apresentado na Tabela 38, diferenças estatisticamente significativas entre os métodos foram identificadas para a amostra de ésteres de dendê, na quantificação de C12:0-Me, C14:0-Me, C16:0-Me, C18:1-Me e C18:2-Me. Para os ésteres de soja, as diferenças foram observadas para C18:1-Me, C18:2-Me e C18:3-

Me. Já para os ésteres de pinhão-manso, foi verificada apenas diferença significativas entre os métodos na quantificação do C18:2-Me.

Valores de concentrações para C12:0-Me, C14:0-Me e C16:0-Me, para a amostra de ésteres de dendê e, C16:0-Me para os ésteres de soja e pinhão-manso, mostraram-se menores quando quantificadas via C17:0-Me. Esta diferença é mais clara para o C16:0-Me na amostra do dendê, onde o EP(%) é mais significativo no nível de concentração apresentado. Já para os ésteres C18:1-Me, C18:2-Me e C18:3-Me (para a amostra dos ésteres de soja), há uma tendência de valores de concentrações maiores quando determinados via C17:0-Me.

Baseando-se nos resultados das análises apresentados em detalhe nas Tabelas 39, 39A, 40, 40A, 41 e 41B, pode-se observar os EP(%) de ambos os métodos na predição das massas dos padrões (C12:0-Et, C14:0-Et e C18:1-Et) adicionados às amostras. Os maiores valores de EP(%) são observados para determinação via C17:0-Me, inclusive apresentando o mesmo comportamento descrito acima. Quando determinado por esse método, observa-se uma tendência de valores subestimados para o C14:0-Et (antecessor imediato do C16:0-Me) e valores superestimados para o C18:1-Et (sucessor imediato do C18:1-Me). Conclui-se, portanto, que esse comportamento contribuiu para as diferenças observadas e para os valores maiores dos teores totais dos ésteres quando determinados via C17:0-Me.

Na determinação para a amostra de ésteres de dendê empregado o padrão interno C17:0-Me, os valores superestimados dos ésteres C18:1-Me e C18:2-Me foram compensados pelos valores subestimados dos C12:0-Me, C14:0-Me e C16:0-Me, tornando o teor total dos ésteres próximo do determinado pelos FRS. Dentre os teores de ésteres, apenas os obtidos para o biodiesel de soja apresentaram valores significativamente diferentes.

Conforme análise de repetibilidade do método oficial EN ISO 14103, diferenças entre dois resultados de teores de ésteres de uma mesma amostra, avaliadas no mesmo laboratório com o mesmo equipamento e pelo mesmo operador, não pode exceder a 1,6%. Quanto à reprodutibilidade para a mesma amostra, analisada em diferentes laboratórios e diferentes operadores, os resultados não poderão diferir de 3,1%. Sob esta ótica, os resultados dos teores de ésteres obtidos através dos FRS_{Preditos} e via C17:0-Me são considerados similares, tendo em vista as diferenças observadas.

Tabela – 38 – Comparação de determinações de ésteres metílicos via FRS_{Predito} e C17:0-Me como padrão interno

Éster	Amostra / Formas de determinação														
	Ésteres de dendê %					Ésteres de soja %					Ésteres de pinhão-manso %				
	FRS		C17:0-Me		t _{calculado}	FRS		C17:0-Me		t _{calculado}	FRS		C17:0-Me		t _{calculado}
	% _{média}	s	% _{média}	s		% _{média}	s	% _{média}	s		% _{média}	s	% _{média}	s	
C12:0-Met	0,40	0,004	0,38	0,004	5,946	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
C14:0-Met	0,79	0,005	0,77	0,003	5,447	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
C16:0-Met	40,30	0,084	39,97	0,177	2,881	11,22	0,041	11,19	0,065	0,676	13,05	0,007	12,99	0,088	1,177*
C16:1 -Met	0,13	0,005	0,13	0,005	0,001	---	---	---	---	---	0,76	0,012	0,76	0,008	0,000
C18:0-Met	5,52	0,009	5,53	0,021	1,012	3,31	0,020	3,32	0,028	0,503	5,95	0,022	5,97	0,041	0,745
C18:1-Met	41,91	0,011	42,32	0,104	6,848*	21,46	0,094	21,72	0,118	2,985	40,85	0,070	41,25	0,352	1,930*
C18:2-Met	9,97	0,011	10,14	0,016	15,336	53,54	0,156	54,62	0,269	6,016	35,88	0,067	36,52	0,254	4,220
C18:3-Met	0,28	0,005	0,29	0,005	1,719	6,21	0,052	6,39	0,066	3,710	0,19	0,005	0,19	0,007	0,000
C20:0-Met	0,34	0,012	0,35	0,012	0,341	0,30	0,008	0,30	0,008	0,000	0,16	0,008	0,16	0,009	0,000
C20:1-Met	0,14	0,014	0,14	0,014	0,190	0,15	0,022	0,15	0,022	0,000	---	---	---	---	---
C22:0-Met	---	---	---	---	---	0,28	0,018	0,28	0,018	0,000	---	---	---	---	---
C24:0-Met	---	---	---	---	---	0,15	0,014	0,16	0,014	0,875	---	---	---	---	---
Total	99,77	0,087	100,01	0,313	1,324	96,63	0,270	98,39	0,487	4,697	96,85	0,121	97,84	0,731	2,314*

% - percentual em massa. s – Desvio Padrão.

- Para grau de liberdade igual a 4 ($n_1 + n_2 - 2 = 4$) $t_{\text{tabelado}} = 2,776$

* Comparar com os valores de t_{tabelado} de 3,182 e 4,303, obtidos através dos graus de liberdade calculados pela Equação 15

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_{\text{combinado}}} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} \quad \text{Equação 13}$$

$$s_{\text{combinado}} = \sqrt{\frac{s_1^2(n_1 - 1) + s_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}} \quad \text{Equação 14}$$

$$\text{Graus de liberdade} = \left\{ \frac{(s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2)^2}{\left(\frac{(s_1^2/n_1)^2}{n_1 + 1} + \frac{(s_2^2/n_2)^2}{n_2 + 1} \right)} \right\} - 2 \quad \text{Equação 15}$$

Onde: x_1 e x_2 são as medias a serem comparadas;

s_1 e s_2 são os desvios padrões relativos as médias;

n_1 e n_2 são os números de medidas relativas as médias.

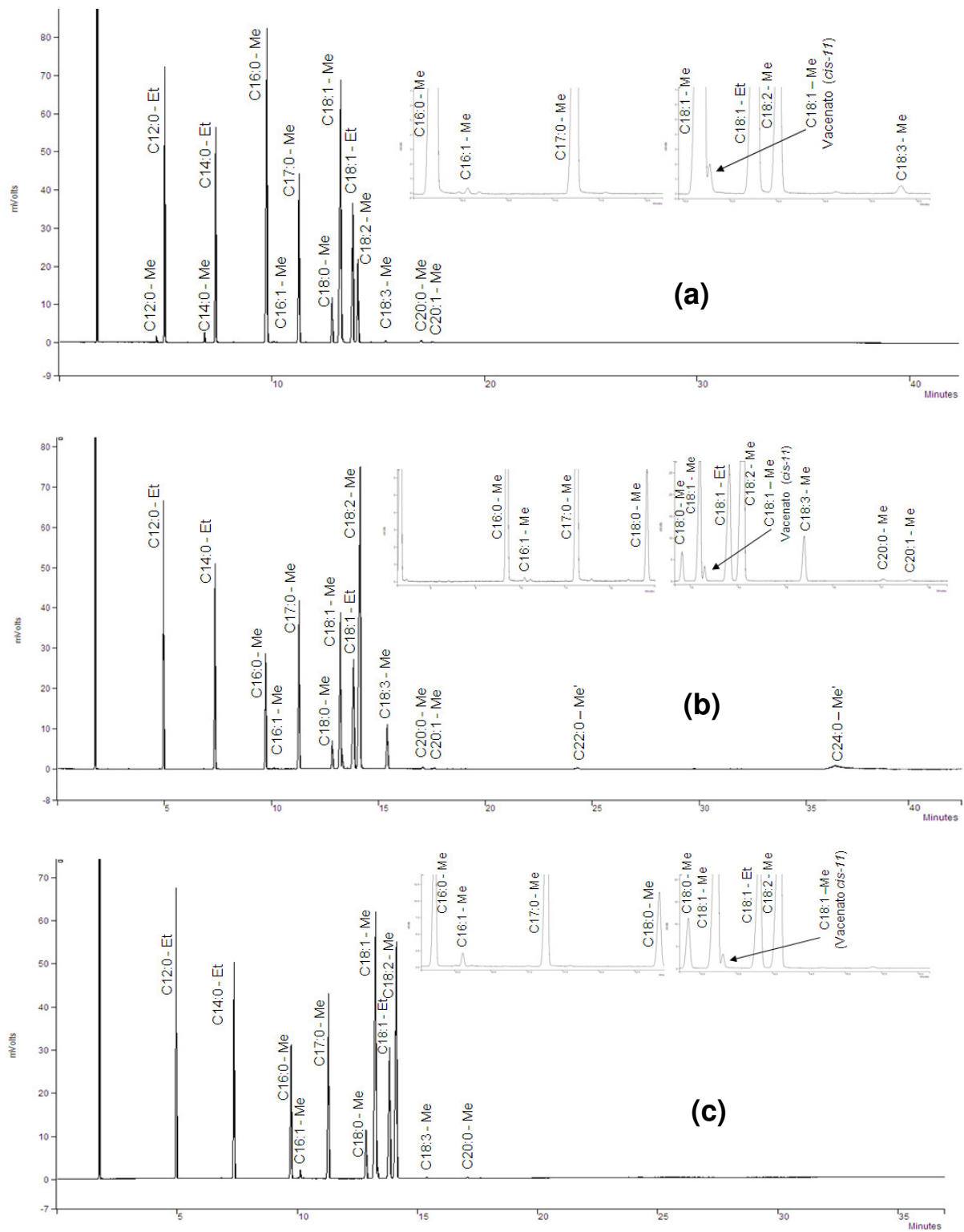


Figura 21 – Cromatogramas das amostras de ésteres metílicos: **(a)** ésteres de dendê **(b)** ésteres de soja **(c)** ésteres de pinhão-mansô

Tabela 39 – Determinações em amostras de ésteres metílico de dendê utilizando FRS_{Preditos}

Éster	mp (mg)	Amostra 1 massa amostra 257,3 mg				Amostra 2 massa amostra 256,0 mg				Amostra 3 massa amostra 257,5 mg				% média	s	CV (%)	IC (±)
		Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massas previstas (mg)	EP (%)	%				
C12:0-Met		2564	1,03		0,40	2572	1,02		0,40	2533	1,05		0,41	0,40	0,00	1,07	0,01
C12:0-Et	50,23	127585	50,13	0,20		129009	50,15	0,2		123616	50,10	0,2					
C14:0-Met		5223	2,04		0,79	5209	2,01		0,79	5082	2,05		0,80	0,79	0,01	0,64	0,01
C14:0-Et	50,06	128825	49,91	0,30		130433	49,95	0,2		124915	49,88	0,4					
C16:0-Met		268983	103,53		40,25	271851	103,41		40,39	261546	103,65		40,25	40,30	0,08	0,21	0,21
C16:1 -Met		818	0,31		0,12	876	0,33		0,13	850	0,33		0,13	0,13	0,00	3,67	0,01
C17:0-Met	49,05	128760	49,29	0,50		129666	49,05	0,0		124824	49,15	0,2					
C18:0-Met		37192	14,18		5,51	37559	14,14		5,53	36226	14,19		5,51	5,52	0,01	0,16	0,02
C18:1-Met		285021	107,83		41,92	287011	107,29		41,91	277468	107,88		41,90	41,91	0,01	0,03	0,03
C18:1-Et	50,60	134322	50,65	0,10		136017	50,68	0,1		130858	50,66	0,1					
C18:2-Met		68366	25,67		9,98	68733	25,50		9,96	66445	25,64		9,96	9,97	0,01	0,11	0,03
C18:3-Met		1887	0,70		0,27	1958	0,72		0,28	1887	0,72		0,28	0,28	0,00	1,63	0,01
C20:0-Met		2336	0,88		0,34	2278	0,85		0,33	2361	0,92		0,36	0,34	0,01	3,37	0,03
C20:1-Met		999	0,38		0,15	1005	0,37		0,15	807	0,31		0,12	0,14	0,01	10,51	0,04
Total					99,73				99,87				99,70	99,77	0,087	0,09	0,22

Equações das retas de previsão dos FRS (FRS_{Preditos} = a.MM + b)

Coef. Angular (a)	0,0003369	0,0003209	0,0003194
Coef. Linear (b)	0,92509531	0,9283578	0,9289878
r ²	0,9657075	0,9740666	0,9637905

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 39A – Determinações em amostras de ésteres metílico de dendê utilizando C17:0-Me como padrão interno

Éster	mp (mg)	Amostra 1 massa amostra 257,3 mg				Amostra 2 massa amostra 256,0 mg				Amostra 3 massa amostra 257,5 mg				% média	s	CV (%)	IC (±)
		Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massas previstas (mg)	EP (%)	%				
C12:0-Met		2564	0,98		0,38	2572	0,97		0,38	2533	1,00		0,39	0,38	0,004	1,01	0,01
C12:0-Et	50,23	127585	48,60	3,23		129009	48,80	2,8		123616	48,58	3,3					
C14:0-Met		5223	1,99		0,77	5209	1,97		0,77	5082	2,00		0,78	0,77	0,003	0,38	0,01
C14:0-Et	50,06	128825	49,07	1,97		130433	49,34	1,4		124915	49,09	2,0					
C16:0-Met		268983	102,47		39,83	271851	102,84		40,17	261546	102,78		39,91	39,97	0,177	0,44	0,44
C16:1 -Met		818	0,31		0,12	876	0,33		0,13	850	0,33		0,13	0,13	0,005	3,85	0,01
C17:0-Met	49,05	128760	49,05			129666	49,05			124824	49,05						
C18:0-Met		37192	14,17		5,51	37559	14,21		5,55	36226	14,24		5,53	5,53	0,021	0,38	0,05
C18:1-Met		285021	108,58		42,21	287011	108,57		42,41	277468	109,03		42,34	42,32	0,104	0,25	0,26
C18:1-Et	50,60	134322	51,17	1,12		136017	51,45	1,7		130858	51,42	1,6					
C18:2-Met		68366	26,04		10,12	68733	26,00		10,16	66445	26,11		10,14	10,14	0,016	0,16	0,04
C18:3-Met		1887	0,72		0,28	1958	0,74		0,29	1887	0,74		0,29	0,29	0,005	1,88	0,01
C20:0-Met		2336	0,89		0,35	2278	0,86		0,34	2361	0,93		0,36	0,35	0,012	3,43	0,03
C20:1-Met		999	0,38		0,15	1005	0,38		0,15	807	0,32		0,12	0,14	0,014	10,35	0,04
Total					99,72				100,34				99,99	100,01	0,313	0,31	0,78

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 40 – Determinações em amostras de ésteres metílico de soja utilizando $FRS_{Preditos}$

Éster	mp (mg)	Amostra 1 massa amostra 264,0 mg				Amostra 2 massa amostra 263,5 mg				Amostra 3 massa amostra 263,3 mg				% média	s	CV (%)	IC (±)	
		Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massas previstas (mg)	EP (%)	%					
C12:0-Et	50,23	130422	50,24	0,03		129019	50,35	0,2		128290	50,32	0,2						
C14:0-Et	50,06	132054	50,09	0,05		131159	50,25	0,4		130444	50,20	0,3						
C16:0-Met		78173	29,50		11,17	77553	29,58		11,22	77411	29,63		11,25	11,22	0,041	0,37	0,10	
C17:0-Met	49,05	130633	49,10	0,10		128483	48,84	0,4		128507	48,98	0,1						
C18:0-Met		23194	8,69		3,29	23148	8,78		3,33	22907	8,70		3,31	3,31	0,020	0,60	0,05	
C18:1-Met		151880	56,48		21,39	150004	56,45		21,42	150615	56,78		21,57	21,46	0,094	0,44	0,23	
C18:1-Et	50,60	136291	50,59	0,02		134460	50,54	0,1		134372	50,55	0,1						
C18:2-Met		381819	140,90		53,37	378085	141,17		53,58	377696	141,31		53,68	53,54	0,156	0,29	0,39	
C18:3-Met		44654	16,35		6,19	44621	16,53		6,27	43794	16,26		6,18	6,21	0,052	0,84	0,13	
C20:0-Met		2131	0,80		0,30	2138	0,81		0,31	2022	0,77		0,29	0,30	0,008	2,78	0,02	
C20:1-Met		1199	0,44		0,17	1115	0,42		0,16	891	0,33		0,13	0,15	0,022	14,26	0,05	
C22:0-Met		1831	0,68		0,26	1996	0,76		0,29	2033	0,77		0,29	0,28	0,018	6,37	0,04	
C24:0-Met		1203	0,45		0,17	1050	0,40		0,15	992	0,37		0,14	0,15	0,014	9,17	0,04	
				96,33					96,73					96,84	96,63	0,270	0,28	0,67

Equações das retas de previsão dos FRS ($FRS_{Preditos} = a.MM + b$)			
Coef. Angular (a)	0,0004439	0,0004906	0,0004234
Coef. Linear (b)	0,8983097	0,8855109	0,9015153
r^2	0,9994638	0,9750479	0,9821449

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 40A – Determinações em amostras de ésteres metílico de soja utilizando C17:0-Me como padrão interno

Éster	mp (mg)	Amostra 1 massa amostra 264,0 mg				Amostra 2 massa amostra 263,5 mg				Amostra 3 massa amostra 263,3 mg				% média	s	CV (%)	IC (±)
		Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massas previstas (mg)	EP (%)	%				
C12:0-Et	50,23	130422	48,97	2,5		129019	49,25	1,9		128290	48,97	2,5					
C14:0-Et	50,06	132054	49,58	1,0		131159	50,07	0,0		130444	49,79	0,5					
C16:0-Met		78173	29,35		11,12	77553	29,61		11,24	77411	29,55		11,22	11,19	0,065	0,58	0,16
C17:0-Met	49,05	130633	49,05			128483	49,05			128507	49,05						
C18:0-Met		23194	8,71		3,30	23148	8,84		3,35	22907	8,74		3,32	3,32	0,028	0,83	0,07
C18:1-Met		151880	57,03		21,60	150004	57,27		21,73	150615	57,49		21,84	21,72	0,118	0,55	0,29
C18:1-Et	50,60	136291	51,17	1,1		134460	51,33	1,4		134372	51,29	1,4					
C18:2-Met		381819	143,37		54,30	378085	144,34		54,78	377696	144,16		54,76	54,62	0,269	0,49	0,67
C18:3-Met		44654	16,77		6,35	44621	17,03		6,46	43794	16,72		6,35	6,39	0,066	1,03	0,16
C20:0-Met		2131	0,80		0,30	2138	0,82		0,31	2022	0,77		0,29	0,30	0,008	2,76	0,02
C20:1-Met		1199	0,45		0,17	1115	0,43		0,16	891	0,34		0,13	0,15	0,022	14,14	0,05
C22:0-Met		1831	0,69		0,26	1996	0,76		0,29	2033	0,78		0,29	0,28	0,018	6,55	0,05
C24:0-Met		1203	0,45		0,17	1050	0,40		0,15	992	0,38		0,14	0,16	0,014	8,98	0,03
Total					97,58				98,48				98,36	98,14	0,487	0,50	1,21

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 41 – Determinações em amostras de ésteres metílico de pinhão-mansó utilizando $FRS_{Preditos}$

Éster	mp (mg)	Amostra 1 massa amostra 259,3 mg				Amostra 2 massa amostra 251,3 mg				Amostra 3 massa amostra 250,5 mg				% média	s	CV (%)	IC (±)
		Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massas previstas (mg)	EP (%)	%				
C12:0-Et	50,23	132958	50,20	0,04		129662	50,35	0,2		128643	50,32	0,2					
C14:0-Et	50,06	134466	50,03	0,06		129301	49,29	1,5		128086	49,15	1,8					
C16:0-Met		91418	33,83		13,05	86356	32,77		13,04	85692	32,71		13,06	13,05	0,007	0,05	0,017
C16:1 -Met		5285	1,94		0,75	5122	1,93		0,77	5100	1,93		0,77	0,76	0,012	1,59	0,030
C17:0-Met	49,05	132232	48,73	0,66		130634	49,41	0,7		129285	49,14	0,2					
C18:0-Met		42041	15,44		5,96	39790	15,01		5,98	39229	14,86		5,93	5,95	0,022	0,36	0,054
C18:1-Met		291043	106,08		40,92	274088	102,63		40,85	271695	102,15		40,78	40,85	0,070	0,17	0,174
C18:1-Et	50,60	139149	50,61	0,02		133579	49,96	1,3		132379	49,67	1,8					
C18:2-Met		257237	93,05		35,89	243084	90,32		35,95	240446	89,71		35,81	35,88	0,067	0,19	0,166
C18:3-Met		1390	0,50		0,19	1246	0,46		0,18	1241	0,46		0,18	0,19	0,005	2,90	0,013
C20:0-Met		1120	0,41		0,16	1060	0,40		0,16	1149	0,43		0,17	0,16	0,008	5,18	0,021
					96,91				96,92				96,71	96,85	0,121	0,12	0,300
Equações das retas de previsão dos FRS ($FRS_{Preditos} = a.MM + b$)																	
Coef. Angular (a)		0,0004208				0,0005990				0,0004545							
Coef. Linear (b)		0,9043030				0,8673125				0,9187452							
r^2		0,9990689				0,9538953				0,9992977							

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 41A – Determinações em amostras de ésteres metílico de pinhão-mansão utilizando C17:0-Me como padrão interno

Éster	mp (mg)	Amostra 1 massa amostra 259,3 mg				Amostra 2 massa amostra 251,3 mg				Amostra 3 massa amostra 250,5 mg				% média	s	CV (%)	IC (±)
		Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massas previstas (mg)	EP (%)	%				
C12:0-Et	50,23	132958	49,32	1,8		129662	48,69	3,1		128643	48,81	2,8					
C14:0-Et	50,06	134466	49,88	0,4		129301	48,55	3,0		128086	48,60	2,9					
C16:0-Met		91418	33,91		13,08	86356	32,42		12,91	85692	32,51		12,98	12,99	0,088	0,68	0,218
C16:1 -Met		5285	1,96		0,76	5122	1,92		0,77	5100	1,93		0,77	0,76	0,008	1,06	0,020
C17:0-Met	49,05	132232	49,05			130634	49,05			129285	49,05						
C18:0-Met		42041	15,59		6,02	39790	14,94		5,95	39229	14,88		5,94	5,97	0,041	0,69	0,103
C18:1-Met		291043	107,96		41,64	274088	102,91		40,96	271695	103,08		41,15	41,25	0,352	0,85	0,875
C18:1-Et	50,60	139149	51,62	2,0		133579	50,16	0,9		132379	50,22	0,7					
C18:2-Met		257237	95,42		36,81	243084	91,27		36,33	240446	91,22		36,42	36,52	0,254	0,70	0,632
C18:3-Met		1390	0,52		0,20	1246	0,47		0,19	1241	0,47		0,19	0,19	0,007	3,60	0,017
C20:0-Met		1120	0,42		0,16	1060	0,40		0,16	1149	0,44		0,17	0,16	0,009	5,20	0,021
Total					98,66				97,25				97,62	97,84	0,731	0,75	1,816

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

8.5.3 Teor de éster em biodiesel etílico

Nesta etapa, apenas amostras de ésteres etílicos de dendê e soja foram analisados para comparação dos resultados obtidos pelos FRS_{Preditos} e via padrão C17:0-Me (Figura 22). Diferenças estatisticamente significantes (teste t) entre os métodos foram observadas para os ésteres de dendê para o C16:0-Et, C18:0-Et e C18:1-Et, culminando na diferença significativa entre o teor total de ésteres (Tabela 42). Para os ésteres de soja, discrepâncias foram registradas para o C18:0-Et, C18:1-Et e C20:0-Et. Não houve diferença significativa entre os teores totais dos ésteres obtidos através dos dois métodos para os ésteres de soja. Embora tenham sido observadas diferenças, verifica-se que estas foram bem menores que as observadas para os ésteres metílicos. Em concordância com estes resultados, verifica-se que EP(%) menores foram obtidos na determinação das massa dos padrões C14:0-Me e C18:0-Me via padrão C17:0-Me, confirmando o seu melhor desempenho na quantificação de ésteres etílicos (Tabelas 43, 43A, 44 e 44A).

Como as análises foram realizadas em ésteres etílicos, pode-se comparar as concentrações de C17:0-Et (inerente a amostra) obtidas através dos dois métodos. Tanto para os ésteres de dendê quanto os de soja, os resultados foram similares. Ao nível de concentração do C17:0-Et encontrado, verifica-se que a interferência do padrão C17:0-Me foi mínima nos resultados para quantificação para os ésteres metílico de dendê através do método oficial. Essa observação foi constatada devido a proximidade dos resultados para os ésteres de dendê metílico e etílico.

As diferenças observadas entre a determinação empregando FRS_{Preditos} e a quantificação através da comparação das áreas dos ésteres das amostra pela área do padrão C17:0-Me foi de 0,6% para o biodiesel etílico de dendê e 0,4% para o biodiesel etílico de soja. As discrepâncias observadas estão bem abaixo da tolerada pelo método oficial EN ISO 14103 (diferença não superior a 1,6%), considerando-se assim similares os resultados.

Tabela 42 - Comparação de determinações de ésteres etílicos via FRS_{Predito} e C17:0-Me como padrão interno

Éster	Amostras / Formas de determinação									
	Ésteres de dendê %					Ésteres de soja %				
	FRS		C17:0-Me		t _{calculado}	FRS		C17:0-Me		t _{calculado}
	% <i>média</i>	<i>s</i>	% <i>média</i>	<i>s</i>		% <i>média</i>	<i>s</i>	% <i>média</i>	<i>s</i>	
C12:0-Et	0,32	0,01	0,31	0,01	1,225					
C14:0-Et	0,77	0,00	0,78	0,00	0,000					
C16:0-Et	39,37	0,04	39,19	0,02	6,971	10,66	0,01	10,64	0,03	1,046
C16:1 -Et	0,12	0,01	0,12	0,01	0,000					
C17:0-Et	0,12	0,01	0,11	0,01	1,225	0,08	0,02	0,09	0,01	0,841
C18:0-Et	5,84	0,01	5,75	0,01	11,023	3,68	0,02	3,62	0,01	4,144
C18:1-Et	41,70	0,13	41,39	0,09	3,396	21,08	0,04	20,9	0,05	4,822
C18:2-Et	10,43	0,02	10,45	0,02	1,225	53,91	0,11	53,91	0,14	0,000
C18:3-Et	0,25	0,01	0,25	0,00	0,000	6,43	0,03	6,49	0,05	1,782
C20:0-Et	0,36	0,02	0,35	0,02	0,612	0,34	0,01	0,32	0,01	3,098
C20:1-Et	0,13	0,01	0,13	0,01	0,000	0,20	0,02	0,19	0,02	0,568
C22:0-Et						0,37	0,04	0,35	0,04	0,644
C24:0-Et						0,14	0,00	0,14	0,00	0,00
Total	99,42	0,11	98,84	0,08	7,386	96,89	0,14	96,51	0,34	1,790

% - percentual em massa. *s* – Desvio Padrão.

- Para grau de liberdade igual a 4 ($n_1 + n_2 - 2 = 4$) $t_{\text{tabelado}} = 2,776$

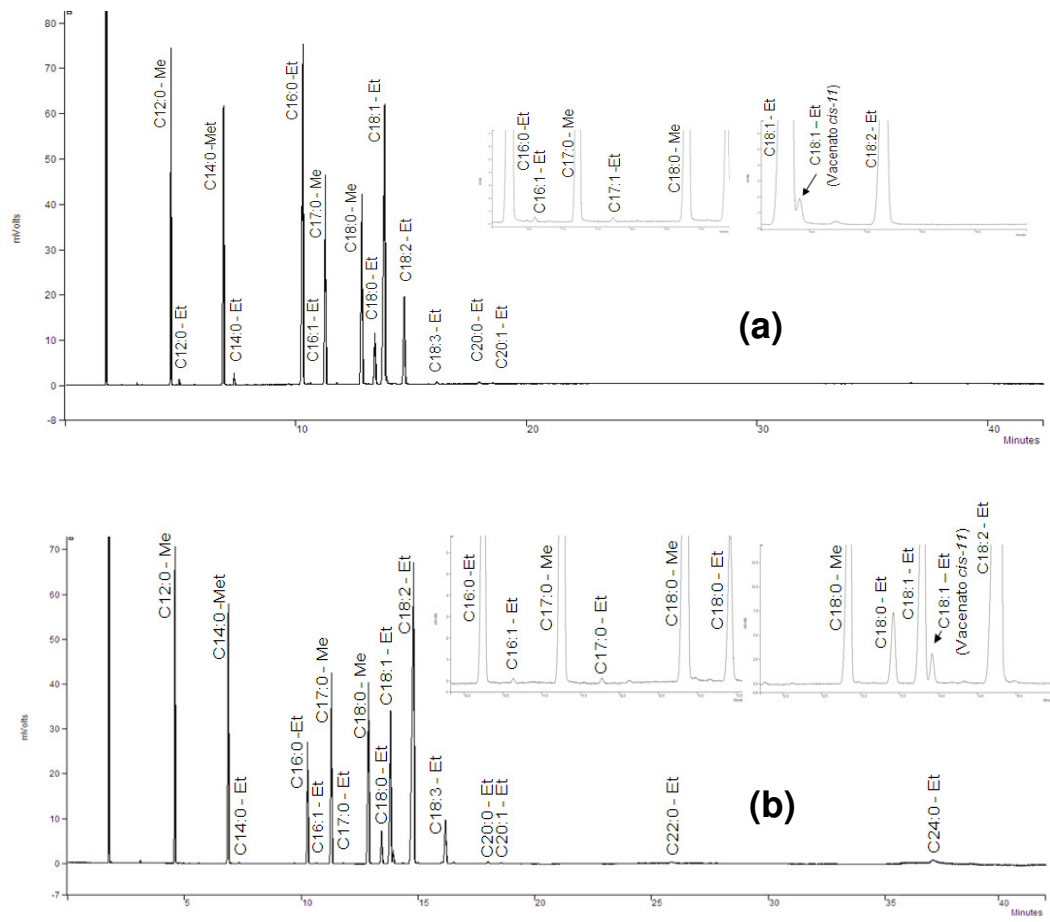


Figura 22 – Cromatogramas das amostras de ésteres etílicos: **(a)** amostra de ésteres de dendê **(b)** amostra de ésteres de soja

Tabela 43 – Determinações em amostras de ésteres etílico de dendê utilizando FRS_{Preditos}

Éster	mp (mg)	Amostra 1 massa amostra 269,5 mg				Amostra 2 massa amostra 261,5 mg				Amostra 3 massa amostra 262,0 mg				% média	s	CV (%)	IC (±)
		Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massas previstas (mg)	EP (%)	%				
C12:0-Met	49,06	129897	48,82	0,5		130285	48,78	0,6		126380	48,78	0,6					
C12:0-Et		2333	0,85		0,31	2387	0,87		0,33	2271	0,85		0,33	0,32	0,01	2,8	0,02
C14:0-Met	50,69	144226	50,33	0,7		145304	50,27	0,8		140883	50,26	0,8					
C14:0-Et		5954	2,08		0,77	5830	2,02		0,77	5708	2,04		0,77	0,77	0,00	0,3	0,01
C16:0-Et		302979	106,58		39,40	293897	102,84		39,33	285739	102,99		39,39	39,37	0,04	0,1	0,10
C16:1 -Et		913	0,32		0,12	851	0,30		0,11	1011	0,36		0,13	0,12	0,01	6,4	0,02
C17:0-Met	49,43	141202	49,67	0,5		141830	49,63	0,4		137504	49,56	0,3					
C17:0-Et		952	0,34		0,12	890	0,31		0,12	669	0,24		0,10	0,12	0,01	10,4	0,03
C18:0-Met	52,75	149609	52,87	0,2		150284	52,89	0,3		145966	52,89	0,3					
C18:0-Et		44395	15,77		5,83	43256	15,32		5,86	41972	15,30		5,84	5,84	0,01	0,2	0,04
C18:1-Et		319101	112,41		41,56	310782	109,13		41,73	302229	109,24		41,82	41,70	0,13	0,3	0,33
C18:2-Et		80681	28,18		10,42	78259	27,25		10,42	76421	27,39		10,45	10,43	0,02	0,2	0,04
C18:3-Et		1984	0,69		0,25	1896	0,65		0,25	1917	0,68		0,24	0,25	0,01	3,6	0,02
C20:0-Et		2837	1,02		0,38	2601	0,93		0,36	2395	0,88		0,34	0,36	0,02	5,1	0,05
C20:1-Et		1031	0,37		0,14	1073	0,38		0,15	880	0,32		0,12	0,13	0,01	9,9	0,03
Total					99,30				99,43				99,52	99,42	0,11	0,1	0,28

Equações das retas de previsão dos FRS (FRS_{Preditos} = a.MM + b)

Coef. Angular (a)	0,0010128	0,0010956	0,0010678
Coef. Linear (b)	0,7474934	0,7262339	0,7327882
r ²	0,9801014	0,9769255	0,9745571

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 43A – Determinações em amostras de ésteres etílico de dendê utilizando C17:0-Me como padrão interno

Éster	mp (mg)	Amostra 1 massa amostra 269,5 mg				Amostra 2 massa amostra 261,5 mg				Amostra 3 massa amostra 262,0 mg				% média	s	CV (%)	IC (±)
		Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massas previstas (mg)	EP (%)	%				
C12:0-Met	49,06	129897	45,47	7,3		130285	45,40	7,5		126380	45,43	7,4					
C12:0-Et		2333	0,82		0,30	2387	0,83		0,32	2271	0,82		0,31	0,31	0,01	2,65	0,02
C14:0-Met	50,69	144226	50,48	0,4		145304	50,64	0,1		140883	50,64	0,1					
C14:0-Et		5954	2,08		0,77	5830	2,03		0,78	5708	2,05		0,78	0,78	0,00	0,59	0,01
C16:0-Et		302979	106,05		39,21	293897	102,42		39,17	285739	102,71		39,20	39,19	0,02	0,06	0,06
C16:1 -Et		913	0,32		0,12	851	0,30		0,11	1011	0,36		0,13	0,12	0,01	8,67	0,03
C17:0-Met	49,43	141202	49,43			141830	49,43			137504	49,43						
C17:0-Et		952	0,33		0,12	890	0,31		0,12	669	0,24		0,10	0,11	0,01	12,81	0,04
C18:0-Met	52,75	149609	52,37	0,7		150284	52,37	0,7		145966	52,47	0,5					
C18:0-Et		44395	15,54		5,74	43256	15,07		5,76	41972	15,09		5,75	5,75	0,01	0,18	0,03
C18:1-Et		319101	111,70		41,29	310782	108,30		41,42	302229	108,63		41,47	41,39	0,09	0,22	0,23
C18:2-Et		80681	28,24		10,44	78259	27,27		10,43	76421	27,47		10,47	10,45	0,02	0,20	0,05
C18:3-Et		1984	0,69		0,26	1896	0,66		0,25	1917	0,69		0,25	0,25	0,00	1,14	0,01
C20:0-Et		2837	0,99		0,37	2601	0,91		0,35	2395	0,86		0,33	0,35	0,02	5,42	0,05
C20:1-Et		1031	0,36		0,13	1073	0,37		0,14	880	0,32		0,12	0,13	0,01	9,17	0,03
Total					98,75				98,84				98,92	98,84	0,08	0,08	0,20

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 44 – Determinações em amostras de ésteres etílico de soja utilizando FRS_{Preditos}

Éster	mp (mg)	Amostra 1 massa amostra 259,5 mg				Amostra 2 massa amostra 265,3 mg				Amostra 3 massa amostra 253,5 mg				% média	s	CV (%)	IC (±)
		Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massas previstas (mg)	EP (%)	%				
C12:0-Met	49,06	129730	48,76	0,6		129713	48,82	0,5		129588	48,75	0,6					
C14:0-Met	50,69	145400	50,25	0,9		145009	50,33	0,7		145443	50,23	0,9					
C16:0-Et		78580	27,62		10,64	80157	28,30		10,67	76893	27,03		10,66	10,66	0,014	0,14	0,04
C17:0-Met	49,43	140526	49,39	0,1		140838	49,73	0,6		140680	49,46	0,1					
C17:0-Et		755	0,27		0,10	597	0,21		0,08	748	0,17		0,07	0,08	0,018	21,47	0,04
C18:0-Met	52,75	149400	52,89	0,3		148617	52,87	0,2		149337	52,90	0,3					
C18:0-Et		26640	9,51		3,66	27431	9,84		3,71	26093	9,32		3,68	3,68	0,023	0,63	0,06
C18:1-Et		154311	54,59		21,04	157545	56,00		21,11	151089	53,49		21,10	21,08	0,041	0,20	0,10
C18:2-Et		397951	139,55		53,78	406264	143,15		53,97	389885	136,83		53,98	53,91	0,113	0,21	0,28
C18:3-Et		48058	16,70		6,44	48606	16,98		6,40	47072	16,37		6,46	6,43	0,030	0,46	0,07
C20:0-Et		2428	0,88		0,34	2397	0,87		0,33	2344	0,85		0,34	0,34	0,005	1,51	0,01
C20:1-Et		1519	0,55		0,21	1248	0,45		0,17	1462	0,53		0,21	0,20	0,023	11,52	0,06
C22:0-Et		2728	1,01		0,39	2335	0,87		0,33	2671	0,99		0,39	0,37	0,036	9,76	0,09
C24:0-Et		1010	0,36		0,14	1031	0,37		0,14	991	0,36		0,14	0,14	0,000	0,33	0,00
Total					96,60				96,77				96,49	96,89	0,14	0,1	0,35

Equações das retas de previsão dos FRS (FRS_{Preditos} = a.MM + b)

Coef. Angular (a)	0,0012315	0,0012412	0,0012547
Coef. Linear (b)	0,6927631	0,6920408	0,6867540
r ²	0,9792369	0,9863806	0,9781234

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

Tabela 44A – Determinações em amostras de ésteres etílico de soja utilizando C17:0-Me como padrão interno

Éster	mp (mg)	Amostra 1 massa amostra 259,5 mg				Amostra 2 massa amostra 265,3 mg				Amostra 3 massa amostra 253,5 mg				% _a média	s	CV (%)	IC (±)
		Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massa previstas (mg)	EP (%)	%	Áreas	massas previstas (mg)	EP (%)	%				
C12:0-Met	49,06	129730	45,63	7,00	---	129713	45,52	7,22	---	129588	45,53	7,2	---				
C14:0-Met	50,69	145400	51,14	0,89	---	145009	50,89	0,40	---	145443	51,10	0,8	---				
C16:0-Et		78580	27,64		10,65	80157	28,13		10,61	76893	27,01		10,66	10,64	0,03	0,3	0,07
C17:0-Met	49,43	140526	49,43		---	140838	49,43	0,00	---	140680	49,43		---				
C17:0-Et		755	0,27		0,10	597	0,21		0,08	748	0,26		0,10	0,09	0,01	14,6	0,03
C18:0-Met	52,75	149400	52,55	0,39	---	148617	52,15	1,13	---	149337	52,47	0,5	---				
C18:0-Et		26640	9,37		3,61	27431	9,63		3,63	26093	9,17		3,62	3,62	0,01	0,3	0,02
C18:1-Et		154311	54,27		20,91	157545	55,29		20,84	151089	53,08		20,94	20,90	0,05	0,2	0,12
C18:2-Et		397951	139,97		53,94	406264	142,57		53,75	389885	136,98		54,03	53,91	0,14	0,3	0,36
C18:3-Et		48058	16,90		6,51	48606	17,06		6,43	47072	16,54		6,52	6,49	0,05	0,8	0,13
C20:0-Et		2428	0,85		0,33	2397	0,84		0,32	2344	0,82		0,32	0,32	0,01	1,9	0,02
C20:1-Et		1519	0,53		0,21	1248	0,44		0,17	1462	0,51		0,20	0,19	0,02	11,8	0,06
C22:0-Et		2728	0,96		0,37	2335	0,82		0,31	2671	0,94		0,37	0,35	0,04	10,1	0,09
C24:0-Et		1010	0,36		0,14	1031	0,36		0,14	991	0,35		0,14	0,14	0,00	0,3	0,00
Total					96,77				96,27				96,91	96,51	0,34	0,4	0,84

mp – Massas de Padrões. % - percentual em massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança. EP(%) – Erro de previsão

8.6 Precisão

Para avaliar a precisão da determinação dos ésteres através dos FRS_{Preditos}, foram realizadas 6 repetições da análise para amostras de ésteres metílicos e etílicos de dendê. Foi escolhido o dendê por apresentarem em sua composição os ácidos graxos láurico (C12:0) e mirístico (C14:0), que não estão comumente presentes em óleos como o da soja e do pinhão-manso. Embora os ésteres behenico (C22:0) e tetracosanóico (C24:0) possam estar presentes, já foi constatado nos estudos anteriores que os erros de predições para estes não são significativos nos níveis de concentração em que são comumente encontrados.

Conforme os resultados das análises do teor total de ésteres, expostos nas Tabelas 45 e 46, a variação mínima observada para as replicatas na análise dos ésteres metílicos de dendê foi de 0,06% e a máxima de 0,6%. Para os ésteres etílicos, a variação mínima foi de 0,01% e a máxima de 0,43%. Estas diferenças estão muito abaixo do valor máximo de 1,6%, que é recomendado pelo método oficial EN ISO 14103.

Tabela 45 – Análise da precisão na determinação de ésteres metílicos de dendê utilizando FRS_{Preditos}

Ésteres	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	6 %	% média	s	CV (%)	IC (±)
C12:0-Met	0,38	0,40	0,40	0,40	0,42	0,39	0,40	0,011	2,9	0,01
C14:0-Met	0,79	0,79	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,005	0,6	0,01
C16:0-Met	40,36	40,27	40,27	40,20	40,25	40,15	40,25	0,073	0,2	0,08
C16:1 -Met	0,19	0,20	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,007	3,4	0,01
C18:0-Met	5,52	5,52	5,54	5,52	5,54	5,51	5,52	0,011	0,2	0,01
C18:1-Met	42,05	42,02	41,78	41,81	41,84	41,66	41,86	0,149	0,4	0,16
C18:2-Met	9,96	9,96	9,95	9,91	9,93	9,93	9,94	0,021	0,2	0,02
C18:3-Met	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,28	0,27	0,006	2,0	0,01
C20:0-Met	0,35	0,35	0,34	0,36	0,37	0,35	0,35	0,010	2,8	0,01
C20:1-Met	0,12	0,13	0,14	0,13	0,13	0,15	0,13	0,011	8,7	0,01
Total	99,97	99,91	99,70	99,60	99,74	99,42	99,72	0,202	0,2	0,21

% - Percentual em Massa. s - Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança.

Tabela 46 – Análise da precisão na determinação de ésteres etílicos de dendê utilizando FRS_{Preditos}

Éster	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	6 %	% média	s	CV (%)	IC (±)
C12:0-Et	0,32	0,32	0,32	0,33	0,31	0,32	0,32	0,004	1,2	0,00
C14:0-Et	0,75	0,77	0,75	0,77	0,76	0,74	0,76	0,013	1,7	0,01
C16:0-Et	39,08	39,06	38,92	39,09	38,97	39,02	39,02	0,068	0,2	0,07
C16:1 -Et	0,11	0,12	0,11	0,12	0,12	0,13	0,12	0,007	5,9	0,01
C17:0-Et	0,13	0,12	0,13	0,12	0,12	0,11	0,12	0,007	6,1	0,01
C18:0-Et	5,89	5,92	5,90	5,93	5,90	5,88	5,90	0,020	0,3	0,02
C18:1-Et	42,00	42,05	41,92	42,14	42,22	42,04	42,06	0,105	0,2	0,11
C18:2-Et	10,50	10,50	10,46	10,51	10,49	10,48	10,49	0,020	0,2	0,02
C18:3-Et	0,26	0,27	0,28	0,26	0,27	0,28	0,27	0,009	3,4	0,01
C20:0-Et	0,40	0,37	0,39	0,38	0,36	0,38	0,38	0,015	4,1	0,02
C20:1-Et	0,14	0,12	0,18	0,14	0,10	0,13	0,14	0,026	19,1	0,03
Total	99,59	99,62	99,36	99,79	99,63	99,51	99,58	0,142	0,1	0,15

% - Percentual em Massa. s – Desvio Padrão. CV(%) – Coeficiente de variância. IC - Intervalo de confiança.

9. Considerações finais

No trabalho apresentado, uma nova estratégia para determinação do teor de ésteres em biodiesel foi proposta buscando incluir a quantificação de alquil ésteres com cadeias menores que 14 átomos de carbono, além de evitar a interferência devido a sobreposição de picos dos padrões internos com os componentes da amostra. Novos padrões internos foram escolhidos com base na resolução dos picos, no baixo custo e na sua estabilidade.

Os fatores de correção *split* (FRS) dos alquil ésteres estudados mostraram uma correlação linear com as suas massas molares. Esta propriedade permitiu a previsão destes fatores com base nos resultados de apenas três padrões. Os FRS mostraram-se eficientes na correção das respostas diferenciadas dos alquil ésteres, ocasionadas pelo efeito da discriminação de massas no injetor *split* e pela deficiência de carbono que afeta a detecção no FID. Consequentemente, os erros de previsão obtidos foram menores que os obtidos com o método oficial, principalmente na quantificação dos ésteres mais leves e os mais pesados.

Os valores de sensibilidade e LD e LQ observados para o método proposto são compatíveis com a finalidade de determinação do teor de ésteres em biodiesel. Foram observadas diferenças entre a determinação do teor de ésteres através dos FRS e pelo C17:0-Me apenas para os ésteres principais C16:0, C18:0, C18:1 e C18:0. Segundo o método oficial EN ISO 14103, no entanto, os resultados dos teores de ésteres obtidos através dos FRS preditos e via C17:0-Me são considerados similares, tendo em vista as diferenças observadas terem sido menores que 1,6%. Esta constatação foi verificada tanto para o teor total em ésteres metílicos quanto etílicos e também percebida na avaliação da repetitividade do método proposto.

Mesmo utilizando três padrões para previsão dos FRS, observou-se um custo relativo a gastos com padrões inferior ao método oficial. Para determinação em biodiesel metílico, o valor é significativamente mais baixo, aproximadamente dez vezes menor que o necessário pelo método oficial. Além da redução de custos, a aplicação dos FRS proporcionou quantificação dos ésteres mais leves com sensibilidade, precisão e exatidão satisfatórios. Da mesma forma, ésteres podem ser determinados em amostras de biodiesel, nas quais o heptadecanoato de metila

venha estar presente, a exemplo do biodiesel de sebo bovino. Estes resultados demonstram que o método proposto contribui de forma significativa para diversificação de matéria-prima para produção de biodiesel, estando, portanto, em plena conformidade com o Programa Nacional de Produção de Biodiesel.

10. Perspectivas

Todo o trabalho foi realizado em um cromatógrafo Varian, portanto, os resultados apresentados refletem a realidade do injetor *Split* Varian CP 1177. Estudos de reprodutibilidade em diferentes equipamentos deverão ser realizados buscando avaliar a influência do desenho do injetor *split* na determinação dos FRS. Para tanto, diante das limitações do nosso laboratório, parcerias com outras Universidades deverão ser firmadas.

Como a estratégia apresentada permitiu a quantificação de C17:0-Me em biodiesel, um novo trabalho já está sendo elaborado visando a determinação do teor de éster em biodiesel de sebo bovino. No sebo bovino, o teor de C17:0 está presente em quantidade significativa, acarretando em concentrações subestimadas dos ésteres quando determinados pelo método oficial EN ISO 14103. Com aplicação do método proposto será possível, quantificar também o C17:0-Me, obtendo valores mais confiáveis para os teores dos ésteres.

11. Referência Bibliográfica

ACKMAN, R.G.; SIPOS, J.C. Application of specific response factors in the gas chromatographic analysis of methyl esters of fatty acids with flame ionization detectors, *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 41, p.377-378, 1964.

AOCS (American Oil Chemists' Society), **The AOCS Lipid Library: Lipid Chemistry, Biology, Technology & Analysis**, disponível em : http://lipidlibrary.aocs.org/lipids/fa_sat/index.htm, acessado em 25/01/2011.

AKBAR, E.; YAAKOB, Z.; KAMARUDIN, S. K.; ISMAIL, M.; SALIMON, J. Characteristic and Composition of *Jatropha Curcas* Oil Seed from Malaysia and its Potential as Biodiesel Feedstock Feedstock, *European Journal of Scientific Research*, v. 29, n., p. 396-4033, 2009.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, **Resolução ANP Nº 07/2008**, disponível em: www.anp.gov.br, Acesso em: 16 jan 2010.

ATADASHI, I.M.; AROUA, M.K., ABDUL AZIZ, A. High quality biodiesel and its diesel engine application: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 14, p. 1999–2008, 2010.

BAILEY, R. Injectors for capillary gas chromatography and their application to environmental analysis, *Journal of Environmental Monitoring*, v. 7, p. 1054 – 1058, 2005.

BANNON, C. D.; CRASKE, J. D.; HILLIKER, A. E. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. V. Validation of theoretical relative response factors of unsaturated esters in the flame ionization detector, *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 63, n. 1, p. 105-110, 1986.

BONDIOLI, P.; BELLA, L. D. An alternative spectrophotometric method for the determination of free glycerol in biodiesel, *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 107, p. 153 – 157, 2005.

BRASIL. Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis nºs 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. **Diário Oficial {da} República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 jan. 2005. Seção 1, p. 8.

BUSER, H.; HAGLUND, P.; MÜLLER, M. D.; POIGER, T.; RAPPE, C. Discrimination and thermal degradation of toxaphene compounds in capillary gas chromatography when using split/splitless and on-column injection, *Chemosphere*, v.41, p. 473 -479, 2000.

CANAKCI, M. The potential of restaurant waste lipids as biodiesel feedstocks, *Bioresource Technology*, v. 98, p. 183–190, 2007.

CHRISTIE, W.W. **Gas Chromatography and Lipids**, Bridgwater, The Oily Press Ltd, 1989: Disponível em: <http://lipidlibrary.aocs.org/>

- CORRÊA, S. M.; ARBILLA, G. Aromatic hydrocarbons emissions in diesel and biodiesel exhaust, *Atmospheric Environment*, v. 40, p. 6821–6826, 2006.
- DEMIRBAS, A. Biodiesel fuels from vegetable oils via catalytic and non-catalytic supercritical alcohol transesterifications and other methods: a survey, *Energy Conversion and Management*, v. 44, p. 2093–2109, 2003.
- DEMIRBAS, M. F.; BALAT, M. Recent advances on the production and utilization trends of bio-fuels: A global perspective, *Energy Conversion and Management*, v. 47, p. 2371–2381, 2006.
- DESTAILLATS, F.; CRUZ-HERNANDEZ, C. Fast analysis by gas–liquid chromatography Perspective on the resolution of complex fatty acid compositions, *Journal of Chromatography A*, v. 1169, p. 175–178, 2007.
- FREEDMAN, B.; KWOLEK, W. F.; PRYDE, E.H. Quantitation in the analysis of transesterified soybean oil by capillary gas chromatography, *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 63, p. 1370-1375, 1986.
- 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*, v. 61, n. 7, p. 1215-1220, 1984.
- FURUTA, S.; MATSUHASHI, H.; ARATA, K. Biodiesel fuel production with solid amorphous-zirconia catalysis in fixed bed reactor, *Biomass and Bioenergy*, v. 30, p. 870–873, 2006.
- GROB, K.; M. BIEDERMANN, Video-taped sample evaporation in hot chambers simulating gas chromatography split and splitless injectors II. Injection with band formation, *Journal of Chromatography A*, v. 897, p. 247–258, 2000.
- GROB, K. **Split and Splitless Injection for Quantitative Gas Chromatography: Concepts, Processes, Practical Guidelines, Sources of Error**, 4^a Ed, WILEY-VCH, Weinheim 2001.
- GROB, R.L.; BARRY, E.F. **Modern Practice of Gas Chromatography**, 4^a Ed, John Wiley, Hoboken, New Jersey, 2004.
- HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa**, 7^a Ed, LTC, Rio de Janeiro, 2008.
- HAYASHI, K.; TAKAGI, T. Occurrence of Branched- and Odd-chain Fatty Acids in a Mud-feeding Sea Urchin, *Strongylocentrotus franciscanus*, *Bulletin of the Faculty of Fisheries Hokkaido University*, v. 28, n. 1, p. 40-46, 1977.
- HEEB, N.V.; SCHMID, P.; KOHLER, M.; GUJER, E.; ZENNEGG, M.; WENGER, D.; WICHSER, A.; ULRICH, A.; GFELLER, U.; HONEGGER, P.; ZEYER, K.; EMMENEGGER, L.; PETERMANN, J.; CZERWINSKI, J.; MOSIMANN, T.; KASPER, M.; MAYER, A. Impact of Low- and High-Oxidation Diesel Particulate Filters on Genotoxic Exhaust Constituents, *Environmental Science. Technology*, v. 44, p. 1078–1084, 2010
- HELWANI, Z.; OTHMAN, M.R.; AZIZ, N.; FERNANDO, W.J.N.; KIM, J. Technologies for production of biodiesel focusing on green catalytic techniques: A review, *Fuel Processing Technology*, v. 90, p. 1502–1514, 2009.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**, 6ª Ed., Bookman, Porto Alegre, 2009.

KESSIDES, I.N. Nuclear Power and Sustainable Energy Policy: Promises and Perils, *The World Bank Research Observer* (2009), doi:10.1093/wbro/lkp010

KNOTHE, G. Analyzing Biodiesel: Standards and Other Methods, *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 83, n. 10, p. 823 – 833, 2006.

KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters, *Fuel Processing Technology*, v. 86, p. 1059– 1070, 2005.

LAM, M.K.; LEE, K.T.; MOHAMED, A.R. Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review, *Biotechnology Advances* (2010), doi: 10.1016/j.biotechadv.2010.03.002

LEUNG, D.Y.C.; KOO, B.C.P.; GUO Y. Degradation of biodiesel under different storage conditions; *Bioresource Technology*, v. 97, p. 250 – 256, 2006.

LEUNG, D.Y.C.; WU, X.; LEUNG, M.K.H. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification, *Applied Energy*, v. 87, p. 1083–1095, 2010.

Li, L.; Du, W.; Liu, D.; Wang, L.; Li, Z. Lipase-catalyzed transesterification of rapeseed oils for biodiesel production with a novel organic solvent as the reaction medium, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 43, p. 58–62, 2006.

LIMA, J. R. O.; SILVA, R. B.; SILVA, C. C. M.; SANTOS, L. S. S.; SANTOS JUNIOR., J. R.; MOURA, E. M.; MOURA, C. V. R. Biodiesel de babaçu (*orbignya* sp.) obtido por via etanólica, *Química Nova*, v. 30, n. 3, p. 600-603, 2007.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S.L.C.; da CRUZ, R.S. Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos, *Química Nova*, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.

LUCKING, A.J.; LUNDBACK, M.; MILLS, N.L.; FARATIAN, D.; BARATH, S.L.; POURAZAR, J.; Cassee, F.R.; Donaldson, K.; BOON, N.A.; BADIMON, J.J.; SANDSTROM, T.; BLOMBERG, A.; NEWBY, D.E. Diesel exhaust inhalation increases thrombus formation in man, *European Heart Journal*, v. 29, p. 3043–3051, 2008

MANDALAKIS, M.; GUSTAFSSON, O.; REDDY, C. M.; XU, L. Radiocarbon Apportionment of Fossil versus Biofuel Combustion Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Stockholm Metropolitan Area, *Environment Science Technology*, v. 38, p. 5344-5349, 2004.

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 metílico de soja por cromatografia gasosa utilizando oleato de etila como padrão interno, *Química Nova*, v. 33, n. 4, p. 978-980, 2010.

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.

METHANOL INSTITUTE. **A Biodiesel Primer: Market & Public Policy Developments, Quality, Standards & Handling**. Disponível em: <http://www.methanol.org/>. Acesso em 16 jan 2007.

MME- Ministério de Minas e Energia, **Balço Energético Nacional 2009 - Relatório Parcial**, disponível em: www.mme.gov.br, acesso em: 18/01/2010.

MOTA, C. J. A.; DA SILVA, C. X. A.; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da Glicerina de produção de biodiesel, *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 639-648, 2009.

NIE, K.; XIE, F.; WANG, F.; TAN, T. Lipase catalyzed methanolysis to produce biodiesel: Optimization of the biodiesel production, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 43, p. 142–147, 2006.

NOCI, F.; FRENCH, P.; MONAHAN F. J.; MOLONEY A. P. The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of grazing heifers supplemented with plant oil-enriched concentrates, *Journal of Animal Science*, v. 85, p. 1062-1073, 2007.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I.C.S.F.; Melo, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos, *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIVALDI, J. D.; SARROUH, B. F.; FIORILO, R.; DA SILVA, S. S. Glicerol de biodiesel: Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel, *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, n. 37, p. 44 -51, 2007.

ROOD, D. **The Troubleshooting and Maintenance Guide for Gas Chromatographers**, 4ª Ed, Germany, Wiley-VCH, 2007.

SARTBAEVA, A.; KUZNETSOV, V. L.; WELLSB S. A.; EDWARDS, P. P. Hydrogen nexus in a sustainable energy future, *Energy & Environmental Science*, v. 1, p. 79–85, 2008.

SCHOBBER, S.; SEIDL, I.; MITTELBAACH, M. Ester content evaluation in biodiesel from animal fats and lauric oils, *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 108, p. 309 – 314, 2006.

SCHREINER, M.; HULAN, H.W. Determination of the carbon deficiency in the flame ionization detector response of long-chain fatty acid methyl esters and dicarboxylic acid dimethyl esters, *Journal of Chromatography A*, v. 1045, p. 195-202, 2004.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELIA, R.; VARGAS, R. M. Transesterification of Vegetable Oils: a Review, *Journal Brazilian Chemical Society*, v. 9, n. 1, p. 199-210, 1998.

SCOTT, R.P.W. Split /Splitless Injector, **Encyclopedia of Chromatography**, New York, New York, Marcel Dekker, Inc. DOI: 10.1081, 2004.

SERRANO-RUIZ, J.C.; WEST, R.M.; DUMESIC, J.A. Catalytic Conversion of Renewable Biomass Resources to Fuels and Chemicals, *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, v. 1, p. 79-100, 2010.

SHARMA, Y.C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S.N. Advancements in development and characterization of biodiesel: A review, *Fuel*, v. 87, p. 2355–2373, 2008.

SHIMADZU, Analysis of 37 FAMEs using 6 Types of Capillary Columns, *Shimadzu Application News*, n.G252, Disponível em: www2.shimadzu.com/applications/gc/g252.pdf, acessado em 28/01/2010.

SIGMA-ALDRICH, Disponível em www.sigmaaldrich.com, Acesso em 12 de fevereiro, 2010.

THORNLEY, P. Increasing biomass based power generation in the UK, *Energy Policy*, v. 34, p. 2087–2099, 2006.

TREVISANI, L.; FABBRI, M.; NEGRINI, F.; RIBANI, P.L. Advanced energy recovery systems from liquid hydrogen, *Energy Conversion and Management*, v. 48, p. 146–154, 2007.

ULBERTH, F.; GABERNIG, R. G.; SCHRAMMEL, F. Flame-Ionization detector response to methyl, ethyl, propyl, and butyl esters of fatty acids, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 76, n. 2, p. 263-266, 1999.

UNANDER, F., **Energy indicators and sustainable development: the International Energy Agency approach**, Natural Resources Forum, vol. 29, 377 – 391, 2005.

VIANNI, R.; BRAZ-FILHO, R. Ácidos graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos, *Química Nova*, v. 19, n. 4, p. 400-407, 1995.

YUWONO, M.; INDRAYANTO, G. On-Column Injection for GC, **Encyclopedia of Chromatography**, New York, New York, Marcel Dekker, Inc. DOI: 10.1081, 2004.

ZAMBIAZI, R.C.; PRZYBYLSKI, R.; ZAMBIAZI, M.W.; MENDONÇA, C.B. Fatty acid composition of vegetable oils and fats, *Boletim do Centro de Pesquisas e Processamento de Alimentos*, Curitiba, v. 25, n. 1, p. 111-120, 2007.

ZENG, J.; DU, W.; LIU, X.; LIU, D.; DAÍ, L. Study on the effect of cultivation parameters and pretreatment on *Rhizopus oryzae* cell-catalyzed transesterification of vegetable oils for biodiesel production, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 43, p. 15–18, 2006.