



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
LQT – LABORATÓRIO DE QUIMIOMETRIA DO TRIÂNGULO

**USO DE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO
MÉDIO, CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA E SELEÇÃO DE
VARIÁVEIS NA QUANTIFICAÇÃO DE ADULTERANTES
EM BIODIESEIS E SUAS MISTURAS COM DIESEL**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
LETÍCIA MARIA DE SOUZA**

ORIENTADOR: Prof. Dr. WALDOMIRO BORGES NETO

UBERLÂNDIA – MG, FEVEREIRO DE 2014

LETÍCIA MARIA DE SOUZA

**USO DE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO, CALIBRAÇÃO
MULTIVARIADA E SELEÇÃO DE VARIÁVEIS NA QUANTIFICAÇÃO DE
ADULTERANTES EM BIODIESEIS E SUAS MISTURAS COM DIESEL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de Concentração: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto

UBERLÂNDIA, 2014



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 182/PPQUI.

DATA: 17/02/2014

DISCENTE: Letícia Maria de Souza

MATRÍCULA: 11212QMI010

TÍTULO DO TRABALHO: Uso de espectroscopia no infravermelho médio, calibração multivariada e seleção de variáveis na quantificação de adulterantes em biodiesel e suas misturas com diesel.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Espectroanalítica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Aplicação de espectroscopia na região do infravermelho médio (MIR) e método de calibração multivariada com seleção de variáveis por quadrados mínimos parciais por intervalos (iPLS) na determinação do teor de adulterantes em biodiesel.

Às quatorze horas do dia dezessete de fevereiro do ano dois mil e quatorze, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, Bloco 5I, no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Paulo Sérgio de Souza, da Universidade Federal de Goiás, Sebastião de Paula Eiras e Waldomiro Borges Neto, do Instituto de Química da UFU, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e Aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

mantido

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 16 horas e 30 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Paulo Sérgio de Souza
UFU

Prof. Dr. Sebastião de Paula Eiras
IQUFU

Orientador(a): Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto – IQUFU

**Este trabalho é dedicado especialmente
a Linamar, mulher maravilhosa que esteve
comigo em todos os momentos, a qual me
orgulho em chamar de mãe e a meu orientador,
sempre disposto a colaborar com meu
crescimento acadêmico e pessoal.**

AGRADECIMENTOS

- Ao Eterno, Infinito Bendito seja, do qual emana toda Luz e Sabedoria.
- Agradeço à Universidade Federal de Uberlândia e ao Instituto de Química pela disponibilidade de recursos e espaço físico que me possibilitaram desenvolver este trabalho.
- Ao Programa de Pós-Graduação em Química e Professores pela contribuição em minha formação acadêmica e ensinamentos relevantes.
- Ao Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto, pela orientação acadêmica, disposição, conselhos, paciência e amizade.
- A minha amada família, meu pai Alcides, minha mãe Linamar e minha irmã Rita, pelo amor, compreensão e apoio em todos os momentos.
- Ao meu amado esposo Cristiano, pelo amor, companheirismo, amizade e paciência.
- Aos colegas do Laboratório de Quimiometria do Triângulo, em especial Lucas, Eloiza, Bachion, Hery e Sarmento pela troca de conhecimentos e pela amizade.
- A CAPES pela concessão da Bolsa de Mestrado, durante grande parte da realização deste trabalho.
- A FAPEMIG, através do projeto de nº. 17.014/11.
- Aos funcionários, técnicos, colegas e amigos do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia pela colaboração.
- Por fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente em todas as etapas de realização desse trabalho.

“Se corpos sem mentes são coisas demasiadamente brutas, e mentes sem corpos demasiadamente etéreas, talvez não haja realmente como separar um do outro.

Talvez o mental seja, na verdade, uma propriedade básica do material e vice-versa.

*Talvez o material básico subjacente do Universo seja uma coisa só,
que possui dois aspectos.”*

Danah Zohar

RESUMO

Neste trabalho, a técnica de Espectroscopia no Infravermelho Médio aliada aos métodos de Calibração Multivariada por Quadrados Mínimos Parciais (PLS) e Quadrados Mínimos Parciais por Intervalos (iPLS) foi aplicada, visando desenvolver metodologia capaz de quantificar adulterações por óleo e alcoóis em Biodiesel de Soja e óleo residual e suas misturas com diesel, assim como quantificar adulterações por óleo lubrificante automotivo residual (OLAR) em amostras comerciais de diesel S-10 distribuído em postos de abastecimento no Brasil por Petrobrás S.A.

A maioria dos modelos de calibração multivariada com seleção de variáveis por iPLS gerados apresentou ganho de informação, diminuição no número de variáveis latentes e menores valores de erros quando comparados aos modelos PLS globais.

Todos os modelos construídos apresentaram valores de erros aceitáveis, com Erro Médio inferiores a **4,5%**, sendo que o valor aceito máximo, estabelecido por normas vigentes é de 10,0%. Desta forma, as metodologias propostas podem ser aplicadas no controle de qualidade destes biocombustíveis e suas misturas com diesel, uma vez que foram analiticamente validadas através do cálculo de Figuras de Mérito.

Palavras-chave: Biodiesel; Diesel S-10; MIR; PLS; Seleção de Variáveis; Validação Multivariada.

ABSTRACT

In this work, the technique of infrared spectroscopy coupled with Eastern methods of Multivariate Calibration Partial Least Squares (PLS) and Partial Least Squares Interval (iPLS) was applied in order to develop methodology capable of quantifying adulterations oil and alcohols in biodiesels Soy and residual oil and its blends with diesel , and to quantify adulterations residual oil lubricant automotive (RAL) in commercial samples of S-10 diesel at filling stations distributed in Brazil by Petrobras S.A.

Most multivariate calibration models with variable selection generated by iPLS presented information gain, decrease in the number of latent variables and lower error values when compared to global PLS models.

All models constructed showed values of acceptable errors with Medium Error below **4.5%**, while the maximum accepted value, determined by current standards is 10%. Thus, the proposed methodologies can be applied in quality control of these biodiesels and their blends with diesel as it were analytically validated by calculating Figures of Merit.

Keywords: Biodiesel; Diesel S-10; MIR; PLS; Variables Selection; Multivariate Validation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ANP** - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis;
- AS** - Pré-processamento autoescalar os dados;
- ASTM** - American Society for Testing and Materials;
- ATR** - Técnica de Reflectância Total Atenuada (do inglês, Attenuated Total Reflectance);
- B2** - Mistura em proporção volumétrica de 2% de biodiesel em 98% de diesel de petróleo;
- B5** - Mistura em proporção volumétrica de 5% de biodiesel em 95% de diesel de petróleo;
- B100** - Biodiesel não acrescido de óleo diesel de petróleo;
- BiPLS** - Quadrados Mínimos Parciais por Exclusão;
- CV** - Validação cruzada;
- CM** - Pré-processamento de centrar os dados na média;
- EM** - Média do erro relativo;
- FTIR** - Infravermelho com transformada de Fourier;
- FTMIR-HATR** - Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier com uso de Acessório de Refletância Total Atenuada;
- HATR** - Acessório Horizontal de Reflectância Total Atenuada;
- iPLS** - Quadrados mínimos parciais por intervalos;
- IR** - Espectroscopia no Infravermelho,
- MIR** - Infravermelho Médio;
- NAS** - Net Analyte Signal (Sinal Analítico Líquido);
- NIR** - Infravermelho Próximo;
- OLAR** - Óleo Lubrificante Automotivo Residual
- PLS** - Quadrados Mínimos Parciais;
- RMSEP** - Erro Quadrático Médio de Previsão;
- RMSEC** - Erro Quadrático Médio de Calibração;
- RMSECV** - Erro Quadrático Médio de Validação Cruzada;
- PNPB** - Programa Nacional de Uso e Produção de Biodiesel
- VL** - Variável Latente;

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Plantas de produção de biodiesel autorizadas pela ANP em funcionamento no Brasil.....	09
Tabela 2. Regiões do Infravermelho.....	16
Tabela 3. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado.....	43
Tabela 4. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado.....	48
Tabela 5. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de soja adulteradas com Etanol.....	52
Tabela 6. Distribuição de regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de soja, adulteradas com Metanol.....	53
Tabela 7. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelo PLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de soja adulteradas com Metanol.....	56
Tabela 8. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelos PLS e iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com óleo residual.....	61
Tabela 9. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelos PLS e iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de óleo residual adulteradas com óleo residual.....	64
Tabela 10. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelos PLS e iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas Etanol.....	68
Tabela 11. Distribuição de regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de óleo residual, adulteradas com Metanol.....	70

Tabela 12. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelo PLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de soja adulteradas com Metanol..... 73

Tabela 13. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelo PLS para amostras de diesel S-10 adulteradas com OLAR..... 80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura de consumo de combustíveis no Brasil em 2013.....	11
Figura 2. Reação de transesterificação de triacilglicerídeos para a síntese de ésteres.....	12
Figura 3. (a) Reflectância de radiação no interior do cristal de ZnSe; (b) Acessório de Reflectância Total Atenuada de ZnSe acoplado ao suporte FT-IR SpectrumTwo (Perkin Elmer).....	18
Figura 4. Regiões de absorvância de grupos funcionais no MIR para amostra de biodiesel etílico de soja	20
Figura 5. Organização do conjunto de dados em calibração multivariada	24
Figura 6. Representação da construção da matriz X para modelagem multivariada	25
Figura 7. Representação esquemática da decomposição em variáveis latentes da matriz X para o modelo PLS.....	27
Figura 8. Exemplo de gráfico de intervalos gerado pelo iPLS.....	31
Figura 9. Representação geométrica da decomposição do sinal analítico (NAS).....	32
Figura 10. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de soja adulteradas com óleo de soja refinado.....	42
Figura 11. Valores de Q residual versus leverage para amostras (grupo de calibração) de B5 de biodiesel etílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado.....	42
Figura 12. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado na região de 959 a 1012 cm ⁻¹	44

Figura 13. Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado na região de 959 a 1012 cm ⁻¹	45
Figura 14. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de soja adulteradas com óleo de soja refinado.....	46
Figura 15. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado na região de 874 a 970 cm ⁻¹	47
Figura 16. Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado na região de 874 a 970 cm ⁻¹	49
Figura 17. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de soja adulteradas com Etanol.....	50
Figura 18. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de soja adulteradas com Etanol na região de 954 a 1051cm ⁻¹	51
Figura 19. Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de soja, adulteradas com Etanol na região de 954 a 1051cm ⁻¹	52
Figura 20. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de soja adulteradas com metanol, subdividida em 25 intervalos	54
Figura 21. Ajuste do modelo PLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de soja adulteradas com Metanol.....	55
Figura 22. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com óleo residual.....	60
Figura 23. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com óleo residual na região de 1732 - 1812 cm ⁻¹	60

Figura 24. Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com óleo residual na região de 1732 - 1812 cm ⁻¹	62
Figura 25. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de óleo residual adulteradas com óleo residual.....	63
Figura 26. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de óleo residual adulteradas com óleo residual na região de 679 a 776 cm ⁻¹	64
Figura 27. Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de óleo residual adulteradas com óleo residual na região de 679 a 776 cm ⁻¹	65
Figura 28. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com Etanol.....	66
Figura 29. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com Etanol na região de 967 a 1119 cm ⁻¹	67
Figura 30. Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com Etanol na região de 967 a 1119 cm ⁻¹	69
Figura 31. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de óleo residual adulteradas com metanol.....	71
Figura 32. Ajuste do modelo PLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de óleo residual, adulteradas com metanol.....	72
Figura 33. Valores de Q residual contra leverage para o modelo PLS de adulteração por RAL em amostras de diesel S-10 com 95% confiança.....	76
Figura 34. Ajuste do modelo PLS para amostras de diesel S-10 adulteradas por OLAR.....	77
Figura 35. Erros absolutos de previsão da concentração de OLAR em amostras de diesel S-10 obtidos pelo modelo PLS.....	78

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	01
CAPÍTULO 1 - Biodiesel	07
1.1. Cenário do Biodiesel no Brasil	08
1.2. Produção de Biodiesel	11
1.3. Adulterações e Regulamentação de Parâmetros de Qualidade	13
CAPÍTULO 2 - Espectroscopia no Infravermelho	15
2.1. Princípios da Espectroscopia no Infravermelho	16
2.2. Aplicações da Espectroscopia no Infravermelho	20
CAPÍTULO 3 - Métodos Quimiométricos	22
3.1. Quimiometria e Calibração Multivariada	23
3.2. Quadrados Mínimos Parciais (PLS)	26
3.3. Quadrados Mínimos Parciais por Intervalos (iPLS)	30
3.4. Validação Multivariada de Metodologia Analítica	32
3.4.1. Sinal Analítico Líquido (NAS)	32
3.4.2. Calibração Multivariada utilizando o NAS	33
3.5. Figuras de Mérito	34
3.5.1. Exatidão	34
3.5.2. Seletividade.....	35
3.5.3. Sensibilidade.....	35
3.5.4. Sensibilidade Analítica.....	36
3.5.5. Razão Sinal/Ruído.....	36
3.5.6. Ajuste.....	36
3.5.7. Limites de Detecção e Quantificação.....	37
3.5.8. Teste bias para erros sistemáticos.....	37
CAPÍTULO 4 – Adulterações em Biodiesel de Soja e Misturas B5.....	39
4.1. Objetivos.....	40
4.2. Metodologia.....	40
4.3. Modelos iPLS de Quantificação de Óleo de Soja em Misturas B5 de Biodiesel etílico e metílico de soja em Diesel.....	41

4.4. Modelo iPLS de Quantificação de Óleo de Soja em Misturas B5 de Biodiesel metílico de soja em Diesel.....	45
4.5. Modelo iPLS de Quantificação de Etanol em B100 de Biodiesel etílico de soja.....	49
4.6. Modelo PLS de Quantificação de Metanol em B100 de Biodiesel metílico de soja.....	53
 CAPÍTULO 5 – Adulterações em Biodieseis de Óleo Residual e Misturas B5.....	
5.1. Objetivos	58
5.2. Metodologia	58
5.3. Modelo iPLS de Quantificação de Óleo Residual em Misturas B5 de Biodiesel etílico de óleo residual em Diesel.....	59
5.4. Modelo iPLS de Quantificação de Óleo Residual em Misturas B5 de Biodiesel metílico de óleo residual em Diesel.....	62
5.5. Modelo iPLS de Quantificação de Etanol em B100 de Biodiesel etílico de óleo residual.....	65
5.6. Modelo PLS de Quantificação de Metanol em B100 de Biodiesel metílico de óleo residual.....	69
 CAPÍTULO 6 – Adulteração por Lubrificante Residual em Diesel Comercial.....	
6.1. Objetivos.....	75
6.2. Metodologia.....	75
6.3. Modelo PLS de Quantificação de Óleo Lubrificante Automotivo Residual em Diesel S-10.....	76
 CONCLUSÕES.....	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

O aumento da demanda energética mundial é uma realidade e suprir esse crescente consumo tem se tornado um grande desafio para a sociedade moderna (BERGMANN et al., 2013). Uma possível crise energética futura, gerada pela escassez de combustíveis fósseis impulsiona a busca por alternativas que sejam menos prejudiciais ao meio ambiente e economicamente viáveis (BERGMANN et al., 2013). Fontes de energia renováveis, especialmente combustíveis de origem vegetal, surgiram como uma importante alternativa. Atualmente, cerca de 45,0% da energia e 18,0% dos combustíveis produzidos e consumidos no Brasil são renováveis, porém em um contexto mundial, 86,0% da energia vem de fontes não renováveis (MANDOLESI DE ARAÚJO et al., 2013).

O uso em larga escala da energia proveniente da biomassa é apontado como uma grande opção de contribuição no desenvolvimento sustentável das áreas ambiental, social e econômica. Pioneiro no uso de biocombustíveis, o Brasil alcançou uma posição almejada por muitos países na busca de fontes renováveis de energia, como alternativa para o petróleo e combustíveis de origem fóssil (ARAUJO; HAMACHER; SCAVARDA, 2010).

O processo de produção de biodiesel atualmente é subsidiado pelo governo brasileiro, uma vez que ainda utiliza de óleos vegetais refinados como matéria-prima principal, o que aumentam os custos da produção. Estas condições impulsionam grandes interesses políticos e investimentos em diversas regiões do país, tanto na implantação de usinas produtoras de biodiesel como no desenvolvimento científico visando melhorias em todas as etapas da cadeia produtiva (BERGMANN et al., 2013).

Concomitante a disseminação do biodiesel como fonte energética, surge uma nova preocupação para agências fiscalizadoras, relacionada a assegurar a qualidade deste combustível consumido no país. Para serem comercializados no Brasil, os biodiesel devem apresentar acima de 96,5% de ácidos graxos metílicos ou ésteres etílicos e obedecer as

especificações estabelecidas pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), órgão específico de regulação para petróleo, gás natural e biocombustíveis (**RESOLUÇÃO ANP Nº 42**, 2010).

Práticas irregulares relacionadas com a adição de óleos vegetais e residuais a mistura diesel/biodiesel podem ocorrer e são, na maioria das vezes fraudes econômicas, motivados pelo alto custo da produção do biodiesel em relação ao custo dos óleos e descarte de óleos residuais. Além disso, as semelhanças físico-químicas entre os óleos vegetais e o biodiesel também contribuem para este tipo de prática ilegal, que tem causado grandes prejuízos e afetado o mercado de combustíveis, fazendo-se necessário o desenvolvimento de metodologias acessíveis para identificação e quantificação de adulterações em misturas biodiesel/diesel, a fim de sujeitar os infratores às penalidades estabelecidas por lei. Outrossim, o monitoramento da proporção de alcoóis, resíduos do processo de produção ou provenientes de adulterações em biodiesel é de relevante importância, uma vez que a norma ABNT NBR15343 determina a proporção máxima de 0,2% (m/m) de etanol/metanol em biodiesel.

A técnica de Espectroscopia no Infravermelho Médio (MIR) vem sendo utilizada como uma alternativa rápida e eficiente em análises e controle de qualidade de combustíveis, dentre eles o diesel e biodiesel (DE VASCONCELOS et al., 2012; ZHANG, 2012), por tratar-se de uma técnica que permite a obtenção das informações espectrais através de amostragem direta, não destrutível e utilizando volume reduzido de amostra, quando utilizado em combinação com acessório horizontal de refletância total atenuada (HATR) (ANDRADE et al., 1997). Devido as semelhanças na natureza vibracional presentes tanto nas substâncias contaminantes quanto nas outras espécies componentes da mistura diesel/biodiesel, os espectros MIR apresentam elevado grau de sobreposição ao longo de toda região espectral e poucas regiões com variação nos valores de absorvância (ANDRADE et al., 1997). Assim, para quantificação é imprescindível o uso de métodos quimiométricos de quantificação (FORINA; LANTERI;

CASALE, 2007), como a calibração multivariada de regressão por quadrados mínimos parciais (PLS) (ANDERSEN et al., 2012).

O iPLS (quadrados mínimos parciais por intervalos) permite a seleção de um intervalo na região espectral, com a finalidade de melhorar significativamente o desempenho dos métodos de calibração multivariada em comparação a modelos construídos utilizando a informação de toda a região espectral. Esse método de seleção de variáveis excluem regiões específicas do espectro que não possuem informação relevante, gerando modelos mais estáveis, robustos e mais simples de interpretar. Na prática, a metodologia está baseada na identificação de um subconjunto dos dados inteiros que produzirão menores erros de previsão. Assim, em espectros vibracionais, por exemplo, podem ser eliminados os comprimentos de onda que apenas representam ruídos, informações irrelevantes ou não linearidades (BALABIN; SMIRNOV, 2011).

Nesse contexto, esta dissertação teve como objetivo a aplicação de métodos de calibração multivariada e de seleção de variáveis para quantificar adulterações em biodiesel produzidos a partir de óleo de soja e óleo residual, assim como diesel comercial S-10, distribuído no Brasil pela Petrobrás S.A. A eficiência dos modelos obtidos foi avaliada pelos valores de Erros, visando uma melhor relação entre as medidas espectroscópicas e a proporção de adulteração nas amostras.

A presente dissertação foi dividida em seis capítulos além de Conclusões e Referências bibliográficas. O primeiro capítulo, intitulado **Biodiesel**, apresenta as principais características do combustível, sua importância no cenário brasileiro e mundial, sua produção através de reações de transesterificação de óleos vegetais e residuais e normas que regem os parâmetros de qualidade de biodiesel.

O segundo capítulo denominado de **Espectroscopia no infravermelho** aborda uma breve descrição dos fundamentos da técnica de absorção de radiação na região do

infravermelho por um composto orgânico. Este capítulo trata ainda de algumas aplicações da técnica de Espectroscopia no Infravermelho (IR) nas mais variadas áreas, desde controle de qualidade de combustíveis a alimentos.

O terceiro capítulo intitulado **Métodos Quimiométricos** trata de forma concisa dos fundamentos quimiométricos para construção de modelos de calibração multivariada, em especial por quadrados mínimos parciais (PLS) com seleção de variáveis por intervalos (iPLS), cálculo do Sinal Analítico Líquido (NAS) e os cálculos das figuras de mérito para calibração multivariada.

A adulteração de biodiesel produzidos a partir de óleo de soja é discutida no capítulo 4, **Adulteração em Biodiesel de Soja**, através da construção de modelos PLS e iPLS para quantificar adulterações por alcoóis no biodiesel e por óleo em misturas B5, que consiste em 5% de biodiesel em 95% de diesel. Neste capítulo ainda são avaliados os valores de erros obtidos e realizada a validação dos modelos construídos, através do cálculo de NAS e figuras de mérito.

No Capítulo 5, denominado **Adulteração em Biodiesel de Óleo residual**, são apresentados modelos PLS e iPLS construídos com a finalidade de quantificar adulterações por alcoóis no biodiesel residual e por óleo residual em misturas B5 de biodiesel residual em diesel. Neste mesmo capítulo encontram-se os resultados dos valores de RMSEC, RMSECV, RMSEP, NAS e figuras de mérito, além da discussão em relação à validação do método de calibração multivariada desenvolvido.

A **Adulteração por Lubrificante Residual em Diesel Comercial** é discutida no Capítulo 6, através da construção de modelos PLS e iPLS para quantificar adulterações por óleo lubrificante automotivo residual em amostras de diesel S-10, produzidos e distribuídos pela Petrobrás S.A. Os valores de erros, de NAS e figuras de mérito obtidos para o modelo são também avaliados neste capítulo.

Esta Dissertação encerra-se com as **Conclusões** do trabalho, demonstrando as vantagens da aplicação da seleção de intervalos iPLS em calibração multivariada para análise de adulteração em biodieselos, assim como avaliando os resultados para as estimativas das figuras de mérito a fim de validar o novo método. Por fim, segue uma lista de **Referências Bibliográficas** em que são apresentados os trabalhos que contribuíram para a elaboração desta Dissertação.

CAPÍTULO 1 - BIODIESEL

1. BIODIESEL

1.1. Cenário do Biodiesel no Brasil

No Brasil, o primeiro histórico de utilização de óleos vegetais como combustível se deu em 1920, quando surgiram muitas iniciativas de investir em pesquisas utilizando óleos naturais misturados ao diesel de petróleo, gerando misturas combustíveis (MOURAD, 2008).

O uso do biodiesel no Brasil tornou-se mais efetivo a partir da década de 80, quando foram criados programas governamentais de incentivo. Nesta década, a secretaria de Tecnologia Industrial lançou o Programa Nacional de Energia a partir de Óleos Vegetais, que teve como finalidade testar a utilização de óleos vegetais em motores a diesel. Diversos estudos com biodiesel puro e com biodiesel B30 (70,0% diesel de petróleo e 30,0% de biodiesel) foram realizados, mas devido ao elevado custo, a produção em escala comercial de biodiesel não foi economicamente viável para a época. Contudo, devido à queda nos preços do diesel de petróleo em 1985, este programa foi abandonado (MEDRANO, 2007).

Em 2003, o Ministério de Minas e Energia estabeleceu uma comissão para definir as bases para o PNPB (Programa Nacional de Uso e Produção de Biodiesel). Em 2005, o primeiro ano do programa PNPB, o Brasil produziu 736 mil litros de biodiesel e em 2010 aumentou a produção para 2,4 bilhões de litros (CUNHA, 2011).

Em 2008, o mundo enfrentou outra crise do petróleo e os preços tornaram-se abusivos e influenciados por este contexto econômico, o Brasil retomou os investimentos em pesquisa sobre combustíveis renováveis (CUNHA, 2011).

A Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, estabeleceu até 2008 a adição de no mínimo 2,0% de biodiesel ao diesel, mistura esta denominada B2 e a adição mínima de 5,0% (B5) até 2013.

A mistura B5 representou um volume de 2,4 bilhões de litros de biodiesel produzidos, já em 2010, sendo que a participação das energias renováveis na matriz energética do Brasil neste período foi de 47,5%. Destas fontes renováveis, 29,6% vieram de biomassa (ANP, 2013).

Atualmente, existem 68 plantas produtoras de biodiesel autorizadas ANP para operação no País, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Plantas de produção de biodiesel autorizadas pela ANP em funcionamento no Brasil.

	Quantidade	Capacidade de Produção (m ³ /dia)
Plantas autorizadas somente para operação	3	606,00
Plantas autorizadas para operação e comercialização	65	21.245,04
TOTAL	68	22.699,06

Fonte: Boletim mensal ANP, Outubro de 2013.

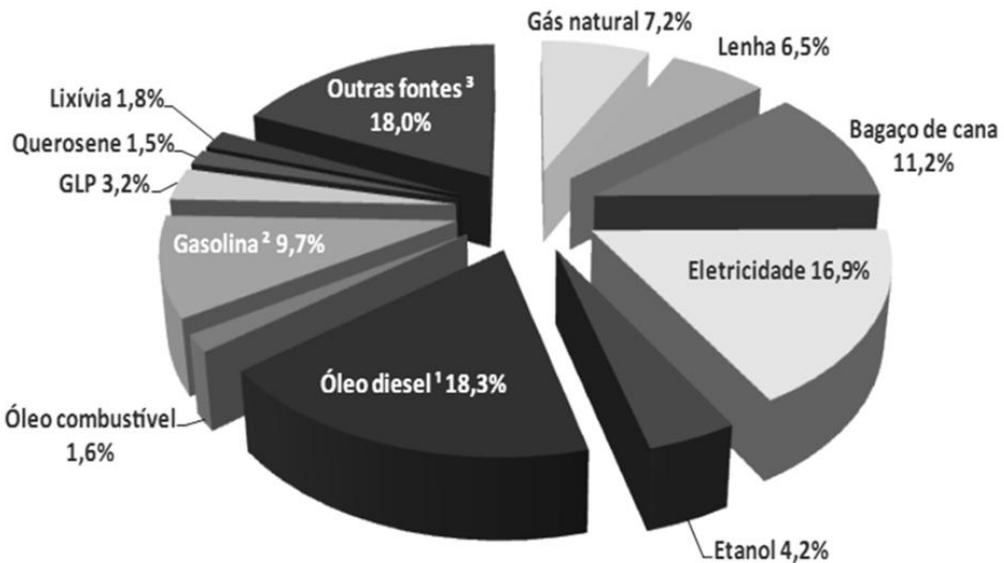
As principais fontes de matéria prima empregadas na produção de biodiesel são colza (canola), palma (óleo de dendê), girassol e soja (**Boletim Mensal do Biodiesel**, 2013). No entanto, a disponibilidade destas matérias-primas para serem utilizados na produção do biodiesel é limitada e dificultada devido à concorrência com os mercados de óleos comestíveis (ARAUJO et al., 2010), o que aumenta os custos da produção.

A Resolução ANP n° 25/2008, art. 14, § 1º, estabelece que as plantas produtoras de biodiesel só podem comercializar sua produção após a publicação no Diário Oficial da União, da Autorização para Comercialização do biodiesel produzido, condicionada à comprovação de sua qualidade.

Sendo assim, tal processo é subsidiado pelo governo brasileiro para viabilidade econômica, portanto, a busca de novas fontes de produção de biodiesel é necessária, tais como resíduos de óleo de fritura, que podem ser adquirido sem nenhum custo (ARAUJO et al., 2010).

A produção de biodiesel no Brasil é hoje subsidiada pelo governo, pois os custos de produção ainda são elevados, uma vez que é produzido principalmente a partir de óleo de soja e sebo animal por via metílica. Existe uma polêmica se a produção baseada nessa cultura contribuirá para o desenvolvimento sustentável do país, tomando em consideração aspectos sociais, econômicos, ambientais e estratégicos (MEDRANO, 2007). Por outro lado, há interesses por parte dos setores industriais e agroenergéticos no sentido de criar políticas públicas com intuito de substituir o metanol por etanol proveniente da cana-de-açúcar no processo produtivo de biodiesel. As razões são várias: ambientais, estratégicas e principalmente econômicas (ARAUJO et al., 2010). É em um cenário de sustentabilidade energética que o país busca novas alternativas de fontes de matéria-prima para a produção de biodiesel, visando a redução do custo final dos biodiesel produzidos. Desta forma, alguns tipos de plantas oleaginosas não comestíveis, como o pinhão manso, mamona e macaúba, assim como resíduos de óleos comestíveis podem desempenhar um papel importante no fornecimento de matéria-prima alternativa (MANDOLESI DE ARAÚJO et al., 2013). O uso de resíduos de óleos comestíveis podem reduzir os custos de produção de biodiesel em até 90,0% (CAVALETT; ORTEGA, 2010).

A partir de janeiro de 2013, passou a ser comercializado no Brasil pela Petrobrás S.A. o diesel denominado S-10, que consiste em uma mistura contendo 5,0% (m/m) de biodiesel, geralmente metílico de óleo de soja ou sebo animal, com teor máximo de enxofre de 10,0 mg kg⁻¹, desenvolvido com finalidade de emitir menores teores de poluição atmosférica por material particulado e óxidos de azoto (NOx) (CENPES, 2012). Atualmente no país, o óleo diesel é o mais consumido dentre as fontes energéticas, conforme apresentado no Balanço Energético Nacional de 2013 da ANP, exibido na Figura 1.



¹ Inclui biodiesel

² Inclui apenas gasolina A (automotiva)

³ Inclui gás de refinaria, coque de carvão mineral e carvão vegetal, dentre outros

Figura 1. Estrutura de consumo de combustíveis no Brasil em 2013.

Fonte: Empresa de Pesquisa Energética. *Balanço Energético Nacional 2013*

1.2. Produção de Biodiesel

Óleos vegetais e residuais não são utilizados como combustíveis, pois apresentam viscosidade até 17 vezes maior que o diesel de petróleo, o que pode provocar danos aos motores automotivos (BORGES, 2009). Assim, para reduzir a viscosidade, é necessário que os óleos sejam convertidos em biodiesel através de um processo de transesterificação. O biodiesel é uma mistura de alquil ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia longa, obtida da transesterificação de ácidos graxos, provenientes de gorduras de origem vegetal ou animal.

A estequiometria da reação requer um mol de triglicerídeo para três de álcool. No entanto, excesso de álcool é utilizado devido ao caráter reversível da reação, aumentando a conversão em ésteres monoalquilaicos.

O biodiesel produzido atualmente no país deve atender as especificações contidas no Regulamento Técnico da ANP nº 14 de 2012. Dentre os alcoóis empregados na

transesterificação de óleos e gorduras, os mais utilizados são metanol e etanol. O metanol é mais amplamente aplicado na produção de biodiesel em escala comercial e, por ser mais reativo, implica em menor temperatura e tempo de reação. No entanto, o metanol é obtido a partir de fonte fóssil e apresenta alta toxicidade, o que leva a necessidade de sua substituição por etanol (MEDRANO, 2007).

O etanol, além de ter produção consolidada no Brasil, é consideravelmente menos tóxico, obtido a partir de fontes renováveis e produz biodiesel com lubricidade mais semelhante a do diesel de petróleo, porém os biodieseis obtidos possuem maior dificuldade na separação com o glicerol devido a maior interação entre suas cadeias (VIANNA, 2006).

A transesterificação é o processo mais utilizado para a produção de ésteres alquilaicos a partir de óleos e gorduras, a qual consiste na reação do triglicerídeo com o álcool de preferência de cadeia pequena na presença de um catalisador (ácido ou básico), tendo o glicerol como subproduto (HOEKMAN et al., 2012), conforme demonstrado na Figura 2.

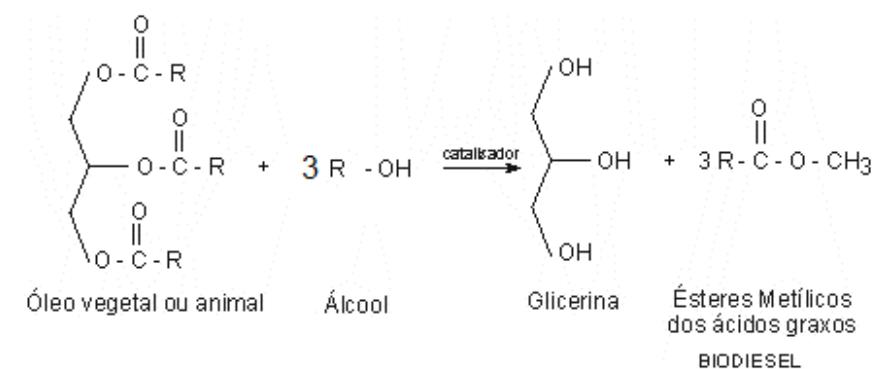


Figura 2. Reação de transesterificação de triacilglicerídeos para a síntese de ésteres.

Neste trabalho, o biodiesel de soja foi produzido a partir de transesterificação de óleo de soja refinado por via metílica, gerando o biodiesel de soja metílico e por via etílica, gerando o biodiesel de soja etílico.

Para produção do biodiesel de óleo residual, o óleo de frituras descartado pelo restaurante universitário da Universidade Federal de Uberlândia foi submetido a catálises

ácida e básica. A transesterificação se deu por via metílica e etílica, gerando biodiesel metílico de óleo residual e biodiesel etílico de óleo residual, respectivamente.

O óleo diesel automotivo S-10 foi obtido em postos de abastecimento da rede Petrobras S.A. na região de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

1.3. Adulterações e Regulamentação de Parâmetros de Qualidade

Em 2012, 20.786 mil ações de fiscalização da ANP identificaram mais de 4.000 infrações no mercado de abastecimento de combustíveis em todo o País (**Fiscalização do Abastecimento em Notícias - Balanço anual 2012**, 2012). No Brasil, a comercialização do biodiesel somente é realizada após o produto ser aprovado por um controle de qualidade, submetido a um conjunto de ensaios de laboratório, devendo apresentar características conforme as especificações das normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (**Biodiesel – Determinação da concentração de metanol e/ou etanol por cromatografia gasosa**, 2009; **Biosiesel - Determination of biodiesel content in diesel fuel oil by mid infrared spectroscopy**, 2008), das normas internacionais American Society for Testing and Materials (ASTM), da International Organization for Standardization (ISO) e do Comité Européen de Normalisation (CEN). Estas especificações demonstram as características que devem ser encontradas para o produto para que possa receber a denominação de “combustível biodiesel” ou “B100” ou para ser usado em misturas com diesel.

A resolução da ANP Nº 42, de 16/12/2009 - DOU 17.12.2009, retificada em 14/01/2010 determina, tendo em vista as disposições da Lei nº 9.478, de 06 de agosto de 1997, alterada pela Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, e com base na Resolução de Diretoria nº 1217, de 15 de dezembro de 2009, que compete à ANP implementar a política nacional do petróleo, gás natural e biocombustíveis, com ênfase na garantia do suprimento de derivados de

petróleo, gás natural e seus derivados, e de biocombustíveis, em todo o território nacional, e na proteção dos interesses dos consumidores quanto a preço, qualidade e oferta de produtos, bem como especificar a qualidade dos derivados de petróleo, gás natural e seus derivados e dos biocombustíveis.

A resolução ANP nº 14, de 11/05/2012, DOU 18/05/2012, considerando o disposto no inciso I, art. 8º da Lei nº 9.478, de 06 de agosto de 1997, alterada pela Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005 e com base na Resolução de Diretoria nº 390, de 10 de maio de 2012; define o biodiesel como um combustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão, que possa substituir parcial ou totalmente o óleo diesel de origem fóssil.

O monitoramento da proporção de alcoóis em biodiesel, sejam enquantos resíduos do processo de produção ou provenientes de adulterações é atualmente realizado por Cromatografia Gasosa, conforme a norma ABNT NBR15343, que determina a proporção máxima de 0,2% (m/m) de etanol/metanol em biodiesel. Porém, esta técnica oferece desvantagens, uma vez que necessita de reagentes tóxicos e onerosos, um elevado tempo de análise e não oferece a possibilidade de se realizar análises in situ.

A norma ASTM E1655-05 de 2012 descreve um guia prático de procedimentos para coleta e tratamento de dados para a calibração multivariada de dados de espectroscopia no infravermelho, aplicada na quantificação e determinação de características químicas e/ou físicas dos materiais. Estas práticas são aplicáveis para as análises realizadas nas regiões do NIR e MIR. Critérios para a validação do desempenho do modelo de calibração são também descritos nesta norma.

**CAPÍTULO 2 – ESPECTROSCOPIA
NO INFRAVERMELHO**

2. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

2.1. Princípios da Espectroscopia no Infravermelho

A região espectral do infravermelho abrange a radiação com números de onda no intervalo de aproximadamente 12.800 a 10 cm⁻¹ ou comprimento de onda de 780 a 100.000 nm. Do ponto de vista da aplicação e instrumentação, o espectro infravermelho é dividido em três faixas: radiação no infravermelho próximo (NIR, do inglês, Near Infrared), médio (MIR, do inglês, Middle Infrared) e distante (FIR, do inglês, Far Infrared) (SCHRADER, 1995; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002). A Tabela 2 apresenta os limites aproximados para cada região.

Tabela 2. Regiões do Infravermelho.

Região	Intervalo de número de onda (\bar{v}), cm ⁻¹	Região em comprimento de onda (λ), nm	Região de frequência (v), Hz
NIR	12.800 a 4.000	780 a 2.500	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$
MIR	4.000 a 200	2.500 a 5.000	$1,2 \times 10^{14}$ a $6,0 \times 10^{12}$
FIR	200 a 10	5.000 a 100.000	$6,0 \times 10^{12}$ a $3,0 \times 10^{11}$

Fonte: Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A. *Princípios de análise instrumental*.

Para absorver radiação infravermelha, uma molécula sofre uma variação no momento de dipolo como consequência do movimento vibracional ou rotacional, o campo elétrico alternado da radiação interage com a molécula e causa variações na amplitude de um de seus movimentos. O contato da molécula com a radiação infravermelha geralmente não provoca transições eletrônicas e por não ser energética o suficiente, a absorção desta radiação está muito restrita a espécies moleculares que têm diferenças de energia pequenas entre vários estados vibracionais e rotacionais. O momento dipolar é determinado pela magnitude da diferença de carga e a distância entre dois centros de carga. Quando uma molécula que possui

essa variação do momento dipolar vibra, uma variação regular do momento dipolar ocorre e surge um campo que pode interagir com o campo elétrico associado à radiação.

Se a frequência da radiação coincidir exatamente com a frequência vibracional natural da molécula, ocorre uma transferência de energia efetiva e resulta em uma variação da amplitude da vibração molecular; a consequência é a absorção de radiação. Do mesmo modo, a rotação de moléculas assimétricas em torno dos seus centros de massa resulta em uma variação periódica do dipolo que pode interagir com a radiação. Nenhuma variação efetiva no momento de dipolo ocorre durante a vibração ou rotação de uma molécula homonuclear, como O₂, N₂ ou Cl₂, consequentemente, essas substâncias não podem absorver no infravermelho (COATES, 2000; SKOOG et al., 2002).

Os espectros na região do infravermelho médio apresentam bandas intensas e os picos com absorvâncias bastante altas, o que facilita a interpretação dos espectros. A faixa dos espectros MIR conhecida como região de impressão digital (1200-600 cm⁻¹) é bastante útil para a identificação de compostos, visto que pequenas diferenças na estrutura e na constituição das moléculas resultam em mudanças significativas no perfil e na distribuição dos picos de absorção (SKOOG et al., 2002).

Os principais métodos de reflexão no infravermelho são o método por reflexão difusa, o método por reflexão espelhada (ou externa), método por reflexão interna e o método de reflexão total atenuada, sendo este último utilizado na aquisição dos dados espectrais neste trabalho. Com uso da técnica de reflectância total atenuada, conhecida pela sigla ATR (do inglês, Attenuated Total Reflectance) os espectros de absorção são obtidos de forma rápida para amostras sólidas ou líquidas com um mínimo de preparação prévia das amostras, sendo aplicável tanto para análises qualitativas quanto quantitativas (MÜLLER et al., 2011).

A técnica baseia-se no fato de que, embora ocorra reflexão interna total na interface dos dois meios, a radiação penetra determinada distância no meio menos denso, conforme

ilustrado na Figura 3. Essa radiação denominada onda evanescente pode ser parcialmente absorvida, colocando-se uma amostra em contato com meio mais denso. Se o meio menos denso absorve essa onda evanescente, ocorre atenuação do feixe nos comprimentos de onda das bandas de absorção. Esse meio mais denso é denominado prisma ou elemento de reflexão interna. Cristal de seleneto de zinco (ZnSe) é um dos materiais utilizados para reflectância total atenuada, pois é insolúvel em água, resistente a choques térmicos e pode ser aplicado a soluções ácidas, básicas e a solventes orgânicos (FRANCESQUETT et al., 2010).

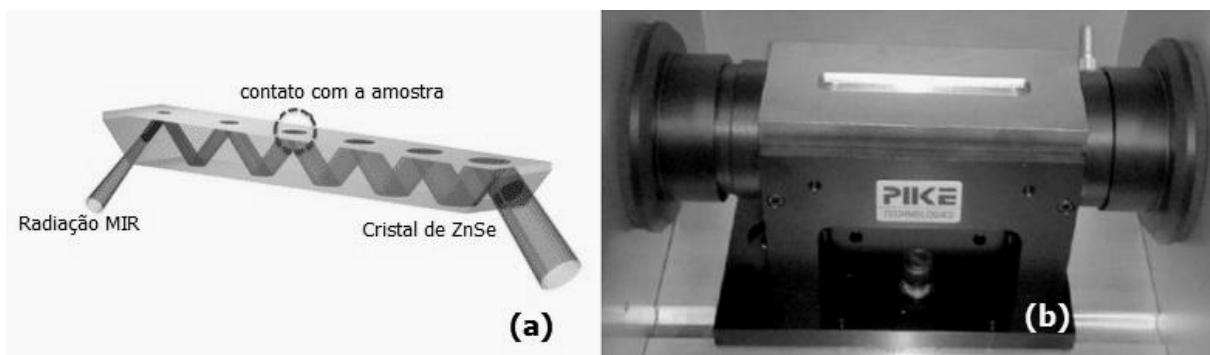


Figura 3. (a) Reflectância de radiação no interior do cristal de ZnSe; (b) Acessório de Reflectância Total Atenuada de ZnSe acoplado ao suporte FT-IR SpectrumTwo (Perkin Elmer).

A intensidade de uma banda de absorção no infravermelho é proporcional a concentração do componente que causou esta banda, desta forma, a quantidade de uma espécie presente em uma amostra pode ser determinada através de uma curva de calibração (intensidade da absorção versus concentração) construída a partir de amostras com concentrações conhecidas do composto em questão. No entanto, quanto mais complexa é a amostra, ou seja, quanto maior o número de interferentes presentes na mistura, mais difícil se torna a quantificação da espécie de interesse, fazendo-se necessário o uso de cálculos estatísticos mais robustos, como calibração multivariada (FILGUEIRAS, 2011).

Em um espectro de absorção de biodiesel, normalmente se observa duas fortes bandas de absorção do estiramento das ligações C=O e C-O características de ésteres. Na região de

1750 a 1735 cm⁻¹ ocorre a absorção do grupo carbonila (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

A vibração de estiramento da ligação C-O dos ésteres consiste em duas vibrações assimétricas acopladas: C-C(=O)-O e O-C-C, sendo a primeira mais importante. Estas bandas ocorrem na região de 1300 a 1100 cm⁻¹. A banda característica de C-C(=O)-O mostra-se com maior intensidade em 1210 a 1163 cm⁻¹; comumente mais larga e mais intensa do que a banda de estiramento de C=O. Se o éster for derivado de ácidos α, β - insaturados, ocorrem várias bandas na região de 1300 a 1160 cm⁻¹. A banda O-C-C de ésteres de alcoóis primários ocorre em 1164 a 1031 cm⁻¹, observada em biodieseis produzidos por via metílica e em 1100 cm⁻¹ para ésteres formados de alcoóis secundários, observada em biodieseis etílicos(SILVERSTEIN et al., 2005) como pode ser visto na Figura 4. Os ésteres metílicos de ácidos graxos de cadeias longas apresentam três bandas características na região de 1250 a 1175 cm⁻¹, sendo mais pronunciada em 1175 cm⁻¹.

As ligações C-H geram bandas de estiramento na região de 3000 a 2840 cm⁻¹. Para o grupo metil (CH₃), a banda de estiramento assimétrico ocorre em 2962 cm⁻¹, estiramento simétrico em 2872 cm⁻¹, torção simétrica em 1375 cm⁻¹, torção assimétrica em 1450 cm⁻¹ tesoura em 1439 a 1399 cm⁻¹. Para o grupo metíleno (CH₂) temos banda de estiramento assimétrico em 2926 cm⁻¹, de estiramento simétrico em 2853 cm⁻¹, de tesoura em 1465 cm⁻¹, de balanço em 720 cm⁻¹ e bandas fracas de torção e balanço em 1350 a 1150 cm⁻¹. Temos ainda, banda em 1667 a 1640 cm⁻¹ devido à ligação C=C sem conjugação e duas bandas em 1650 e 1600 cm⁻¹ para o grupo C=C-C=C (SILVERSTEIN et al., 2005).

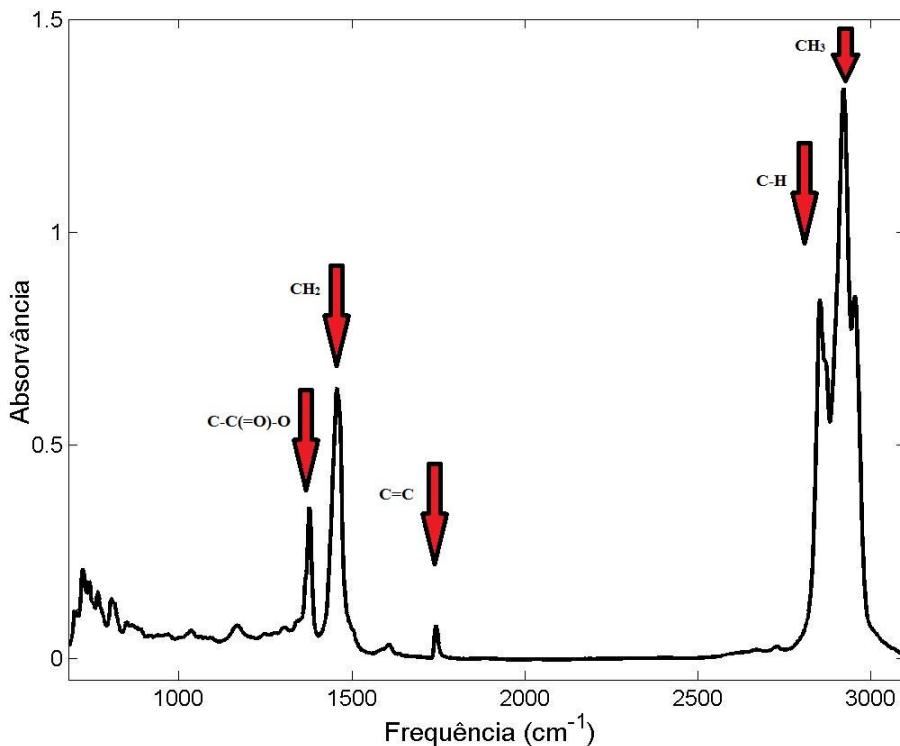


Figura 4. Regiões de absorvância de grupos funcionais no MIR para amostra de biodiesel etílico de soja.

Por se tratarem de dados multivariados, é imprescindível a utilização de Métodos Quimiométricos na obtenção de informações qualitativas e quantitativas a partir de espectros vibracionais de infravermelho (BORGES NETO, 2005).

2.2. Aplicações da Espectroscopia no Infravermelho

A técnica de Espectroscopia na Região do Infravermelho Médio (MIR) vem sendo amplamente utilizada como uma alternativa rápida e eficiente em análises de adulteração em produtos de diversos segmentos, como fármacos (MÜLLER et al., 2011; SILVA et al., 2012), alimentícios (KARTHEEK et al., 2011) aplicada a óleos vegetais comestíveis (ALVES et al., 2010; PEREIRA et al., 2008; QUIÑONES-ISLAS et al., 2013; ROHMAN; CHE MAN, 2011), frutas e vegetais (NICOLAI et al., 2007), para controle de qualidade de leite e

derivados (IÑÓN; GARRIGUES; DE LA GUARDIA, 2004; SANTOS; PEREIRA-FILHO; RODRIGUEZ-SAONA, 2013; SOUZA et al., 2011), dentre outros. Na área de combustíveis, diversos estudos propõe associação de Espectroscopia no IR aliada a ferramentas quimiométricas para controle de qualidade e quantificação de adulterações(ANDRADE et al., 1997; BALABIN; SMIRNOV, 2011; DE VASCONCELOS et al., 2012; FERNANDES et al., 2011; ZHANG, 2012).

A estabilidade oxidativa, índice de acidez, e conteúdo de água do biodiesel foi avaliada aplicando NIR e MIR associados a calibração multivariada e seleção de variáveis, obtendo eficiência comparável com a do método padrão correspondente para cada propriedade estudada (DE LIRA et al., 2010).

Foi investigado o potencial do uso das técnicas FT-NIR e FT-MIR com regressão por PLS para a quantificação do óleo vegetal no diesel e blendas de biodiesel, os modelos gerados apresentaram ótima correlação (0,999) (GAYDOU; KISTER; DUPUY, 2011).

Utilizou-se NIR e calibração multivariada com seleção de variáveis em amostras de diversos combustíveis, os resultados são apresentados no intuito de auxiliar na escolha de uma técnica para dados de NIR (BALABIN; SMIRNOV, 2011).

Foi proposta a determinação do teor de enxofre total em biodiesel, utilizando FTMIR-ATR, em associação com métodos quimiométricos e obtiveram resultados satisfatórios (MULLER et al., 2012).

Foi aplicada as técnicas de MIR e calibração multivariada para quantificar teor de biodiesel em amostras de diesel de petróleo, construindo modelos PLS de acordo com a norma da ASTM E1655-05 e observaram correlação de 0.9999 entre os valores reais de proporção e os valores previstos pelo modelo (GONTIJO et al., 2014).

CAPÍTULO 3 – MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS

3. MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS

3.1. Quimiometria e Calibração Multivariada

A partir da década de 70 começaram a serem empregados métodos estatísticos e matemáticos no tratamento, classificação e análise de dados complexos, otimização de processos e resolução de problemas de origem química, o que deu origem a subárea da Química Analítica denominada Quimiometria (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006). Dentro da Quimiometria, duas vertentes de grande interesse são a classificação e a calibração multivariada (FORINA et al., 2007; MILDNER-SZKUDLARZ; JELEŃ, 2008).

A quimiometria objetiva o estudo de medidas analíticas baseando-se na observação indireta, relacionando essas medidas à composição química de uma substância e deduzindo o valor de uma propriedade de interesse através de uma relação matemática (BRUNS; FAIGLE, 1985).

A calibração multivariada pode ser classificada como de primeira, segunda, terceira, quarta ou n-ordem, de acordo com a forma em que o conjunto de dados se apresenta, como uma matriz, um tensor ou conjunto de dados multi-way, como representado na Figura 5 (ESCANDAR et al., 2007; FORINA et al., 2007).

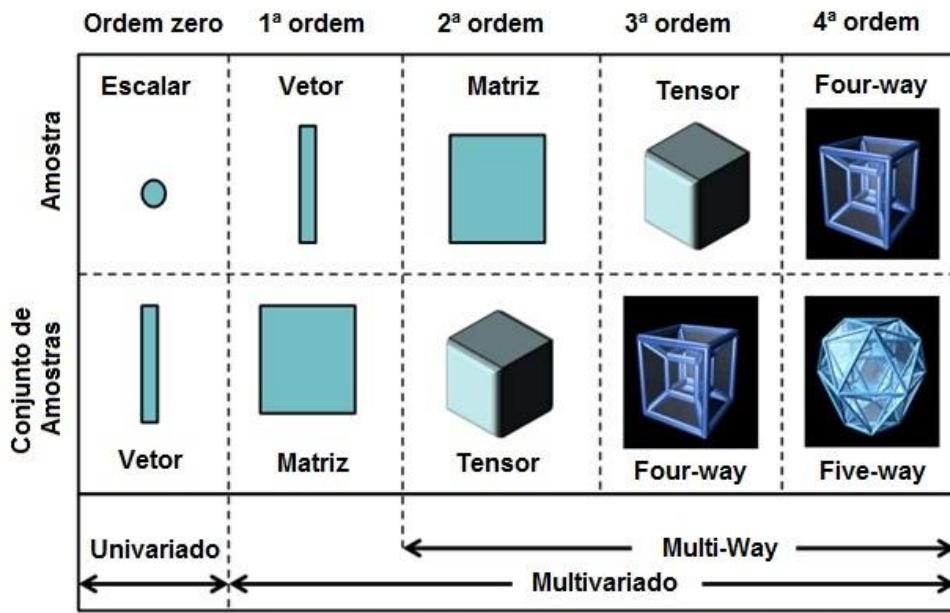


Figura 5. Organização do conjunto de dados em calibração multivariada.

Para calibração multivariada de primeira ordem, os dados são apresentados em forma de uma matriz \mathbf{X} , constituída de inúmeras medidas instrumentais de mesma natureza, como vários dados espectrais, obtidos para diversos padrões de uma ou mais espécies de interesse, em que cada amostra representa um vetor, enquanto a propriedade de interesse, determinada por uma metodologia padrão, é representada por um vetor \mathbf{y} . Então é proposto um modelo matemático que melhor correlacione a matriz de resposta \mathbf{Y} , ou vetor das concentrações \mathbf{y} com a matriz \mathbf{X} (FERREIRA et al., 1999; WOLD; SJOSTROM; ERIKSSON, 2001). A Figura 6 ilustra como uma matriz de dados \mathbf{X} de dimensão $n \times m$, ou seja, n espectros e m variáveis (números de onda) pode ser construída a partir de um vetor de respostas instrumental para calibração multivariada de primeira ordem.

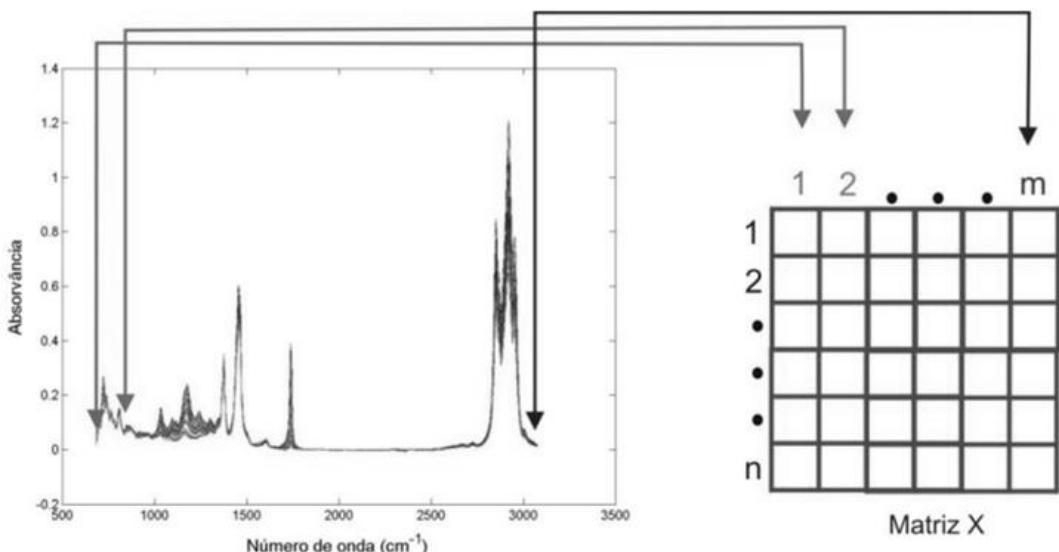


Figura 6. Representação da construção da matriz **X** para modelagem multivariada.

A validação é o passo seguinte, onde amostras com concentrações conhecidas são inseridas para avaliar a eficiência do modelo criado. Os dois métodos comuns para a condução do processo de validação são por meio da validação interna, quando as próprias amostras de calibração são usadas para a validação e através da validação externa, em que é usado um conjunto distinto, mas com valores Y ainda conhecidos (MARTENS; NAES, 1996). Neste trabalho, os modelos de calibração multivariada de primeira ordem foram submetidos a validação externa.

Na etapa de previsão, a resposta de interesse para uma amostra desconhecida é obtida utilizando o modelo matemático construído na etapa de calibração e validado posteriormente.

Em geral, as matrizes de dados de natureza multivariada necessitam de tratamentos matemáticos que possibilitem reduzir fontes de variação não informativa para o modelo, estas manipulações são conhecidas como pré-tratamento dos dados. O objetivo é remover matematicamente fontes de variação indesejáveis que não serão removidas naturalmente durante a análise dos dados e que podem influenciar prejudicando os resultados finais, já que os sinais medidos consistem de sinal relevante e ruídos aleatórios (BORGES NETO, 2005).

Em medidas baseadas em espectros MIR, geralmente é possível observar ruído aleatório e variação da linha de base. O método mais simples para suavizar tais variações não informativas é a correção da linha de base, realizada neste trabalho pelo programa baseline do PLS_Toolbox versão 3.5 (Eigenvector Research) para Matlab 6.5 (MathWorks).

Os dados experimentais originais podem não ter uma distribuição adequada para a análise, como medidas em diferentes unidades e variáveis com diferentes variâncias, o que dificulta a extração de informações relevantes e interpretação destes, nestes casos, alguns pré-processamentos fazem-se necessários (FERREIRA et al., 1999).

Os métodos de pré-processamento mais utilizados consistem basicamente em centrar na média ou autoescalar os dados. Para que os dados sejam centrados na média, calcula-se a média das intensidades para cada comprimento de onda e subtrai-se cada intensidade do respectivo valor médio. Autoescalar os dados significa centrar na média e dividir pelo respectivo valor do desvio padrão, este procedimento é indicado quando se quer dar a mesma importância para todas as variáveis. No caso de calibração multivariada aplicada a dados espectroscópicos, recomenda-se centrar os dados na média. A centralização na média dos dados consiste em obter, para cada coluna da matriz \mathbf{X} o valor médio e, em seguida, subtrai-se este valor de cada variável dessa mesma coluna. Desta forma, ocorre a mudança do sistema de coordenadas para o centro dos dados (FERREIRA et al., 1999).

Neste trabalho, os modelos de calibração multivariada foram estabelecidos centrando os dados na média para a matriz \mathbf{X} (valores de absorvância) e autoescalando os dados para o vetor de concentrações (vetor \mathbf{y}).

3.2. Quadrados Mínimos Parciais (PLS)

O método desenvolvido por H. Wold (WOLD et al., 2001) conhecido como PLS (regressão por Quadrados Mínimos Parciais) é considerado o algoritmo de regressão mais

utilizado para a construção de modelos de calibração multivariada a partir de dados de primeira ordem. Este método não requer um conhecimento exato de todos os componentes presentes nas amostras, podendo realizar a previsão de amostras mesmo na presença de interferentes, desde que estes também estejam presentes na construção do modelo (WOLD et al., 2001).

O PLS retira para construção do modelo, informações de absorvância do conjunto de dados da matriz espectral (matriz \mathbf{X}) e as correlaciona, através de operações matemáticas com as informações retiradas do conjunto de dados de referência (vetor \mathbf{y}). Através de combinações lineares dos dados espectroscópicos da matriz \mathbf{X} e dos dados de concentração, do vetor \mathbf{y} , se obtém as variáveis latentes (VL), novas variáveis que tem por finalidade alcançar a covariância máxima entre os espectros e a concentrações da espécie de interesse.

As informações de \mathbf{y} são incorporadas, de forma que cada componente principal do modelo, chamada agora de VL, é modificada para que a covariância entre a matriz \mathbf{X} e o vetor concentração da espécie de interesse \mathbf{y} seja maximizada. É usado para construção do modelo de calibração um número de VL que proporcione o menor erro possível de previsão, ou seja, que as diferenças entre os valores de referência e valores de previstos pelo modelo sejam as menores (ANDERSEN et al., 2012; WOLD et al., 2001). A matriz \mathbf{X} é decomposta de acordo com o esquema apresentado na Figura 7.

$$\begin{matrix} m \\ \mathbf{X} \\ n \end{matrix} = \sum_{i=1}^{i=A} \begin{matrix} l \\ \mathbf{t}_i \\ n \end{matrix} \begin{matrix} m \\ \mathbf{p}_i^T \\ l \end{matrix} + \begin{matrix} m \\ \mathbf{E} \\ n \end{matrix}$$

Figura 7. Representação esquemática da decomposição em variáveis latentes da matriz \mathbf{X} para o modelo PLS.

O PLS permite a identificação de amostras anômalas pelos valores de resíduais de Q, quando a amostra está fora do limite de confiança de 95,0%, e pelo valor limite de leverage (três vezes o número de variáveis latentes dividido pelo número de amostras) (MARBACH; HEISE, 1990).

A norma ASTM E1655-05 define leverage como a medida da influência da amostra no modelo de calibração multivariada, a localização do vetor espectral x dentro do multi-espacô de parâmetros de variáveis utilizadas no modelo, utilizado também para detecção de amostras anômalas (outliers) e para a estimativa da incerteza para um valor previsto pelo modelo.

A decomposição da matriz \mathbf{X} pode ser feita utilizando diversos algoritmos, como *NIPALS* (Nonlinear Iterative Partial Least Squares) ou *SIMPLS* (Straightforward Implementation of a Statistically Inspired Modification of the PLS) (JONG, 1993). No presente trabalho utilizou-se para a construção dos modelos o algoritmo SIMPLS, que considera um vetor \mathbf{y} que contém as concentrações da propriedade de interesse para determinar os pesos e scores.

O RMSEC (do inglês, Root Mean Square Error of Calibration) (POPPI, R. J.; BRAGA, J. W.; VALDERRAMA, P., 2009a) ou raiz quadrada do erro médio quadrático de calibração fornece informação sobre o ajuste do modelo em relação aos dados de calibração, obtido através da Equação 1.

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_{prev} - y_{real})^2}{n_{cal}}} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde y_{prev} é o valor de concentração da espécie de interesse previsto, y_{real} o valor real de concentração da espécie de interesse presente na amostra e n_{cal} o número de amostras presentes no grupo de calibração.

Para a determinação do número correto de VL, o método mais utilizado consiste na Validação Cruzada (CV – do inglês, Cross Validation), o qual se baseia na habilidade de previsão de um modelo construído por parte de um conjunto de dados seguido pela previsão do restante do conjunto de dados, que é realizada pelo modelo construído. A validação cruzada pode ser realizada em blocos, ou seja, um número determinado de amostras é deixado de fora no processo de construção do modelo e a seguir essas amostras são previstas pelo modelo construído, ou ainda por um procedimento conhecido como “leave one out” (deixe um fora), onde uma amostra é deixada de fora no processo de construção do modelo e a seguir essa amostra é prevista pelo modelo construído. Em ambos os casos, o processo é repetido até que todas as amostras tenham sido previstas e o erro quadrático médio da validação cruzada (RMSECV – do inglês, Root Mean Square Error of Cross Validation) é calculado conforme Equação 2.

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y_P - Y_R)^2}{n}} \quad (\text{Equação 2})$$

Como pode ser observado na Equação 2, n é o número de amostras do conjunto de calibração, Y_R é o valor de referência, e Y_P é o valor previsto pelo modelo para a i-ésima amostra.

A Média do erro relativo (EM) fornece uma importante informação sobre a eficiência do modelo, sendo calculada pela média dos valores obtidos para RMSEC, RMSECV e RMSEP.

3.3. Quadrados Mínimos Parciais por Intervalos (iPLS)

O método iPLS é uma extensão iterativa para o PLS, que desenvolve modelos PLS em subintervalos equidistantes ao longo de toda a região do espectro. Seu principal objetivo é prever informação relevante do espectro global nas diferentes subdivisões, de modo que as regiões espectrais cujas variáveis se apresentam como supostamente de menor relevância e/ou interferentes possam ser removidas e um novo modelo PLS construído a partir das variáveis selecionadas.

Os modelos do iPLS são desenvolvidos em subintervalos do espectro e a previsão destes modelos locais é comparado aos resultados do modelo global. A comparação é baseada no parâmetro de validação RMSECV e também no coeficiente de correlação (R) e inclinação da reta do gráfico dos valores reais e previstos pelo modelo (HOSKULDSSON, 2001).

O gráfico de regiões espectrais gerados pelo iPLS correlaciona os valores de RMSECV do PLS construído para cada região com o valor de RMSECV para PLS calculado a partir de toda a região espectral, assim variáveis não informativas são salientada pelo gráfico de intervalos, conforme Figura 8 (MEHMOOD et al., 2012).

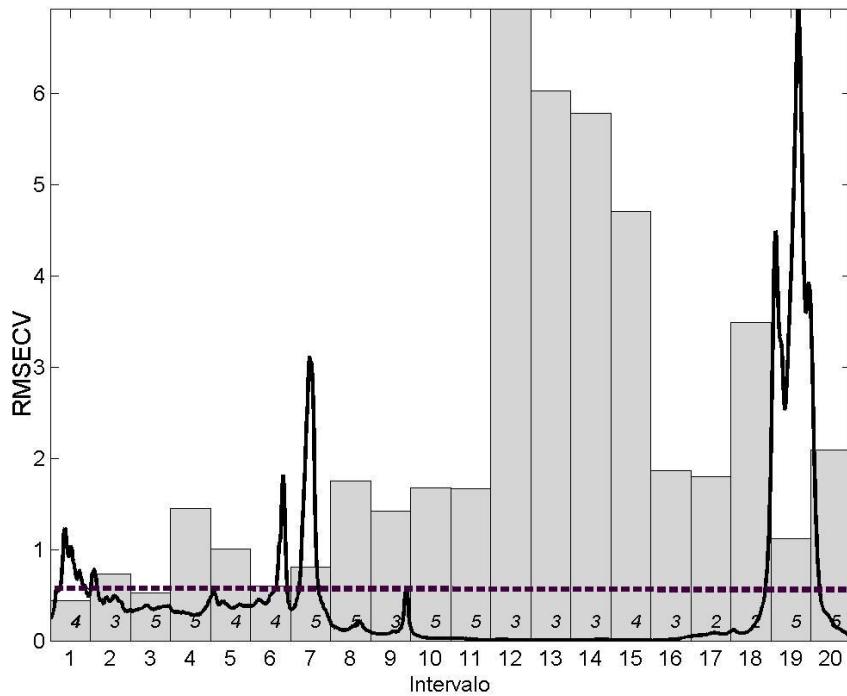


Figura 8. Exemplo de gráfico de intervalos gerado pelo iPLS.

As regiões espectrais com valores de parâmetro de RMSECV menores que o valor para o modelo global, representado na figura pela linha pontilhada, são selecionadas como candidatas para a construção de modelos PLS que são então comparados com a eficiência do modelo PLS global tornando os modelos de calibração mais eficientes e robustos (MEHMOOD et al., 2012).

Os números no interior dos intervalos presentes no gráfico gerado pelo iPLS, exemplificado na Figura 8, são uma estimativa dos melhores números de VL, indicados pelo modelo iPLS para serem usados na construção dos modelos PLS com as variáveis selecionadas em cada intervalo. Nota-se que na figura, o 1º intervalo é o que possui menor valor de RMSECV, quando comparado ao valor de RMSECV obtido no modelo global (linha pontilhada no gráfico) e por isso seria a melhor opção de escolha de região para construção do modelo.

Para realizar esta seleção, foi utilizado o programa iPLS (Lars Nørgaard, Chemometrics Group - KVL, Dinamarca, 2004) do iToolbox para Matlab 6.5 (MathWorks).

3.4. Validação Multivariada de Metodologia Analítica

3.4.1. Sinal Analítico Líquido (NAS)

O sinal analítico líquido, do inglês "Net analyte signal", foi definido por Lorber (LORBER; FABER; KOWALSKI, 1997) como sendo a parte do sinal analítico que é ortogonal às contribuições de outros possíveis constituintes presentes na amostra como mostrado na Figura 9.

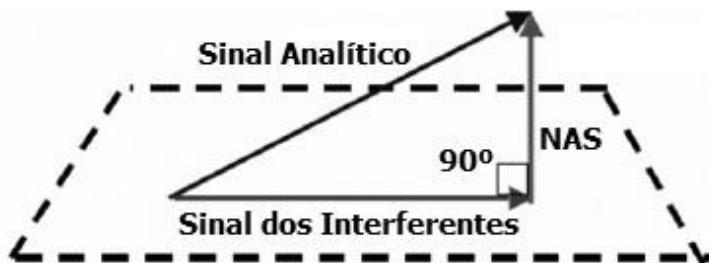


Figura 9. Representação geométrica da decomposição do sinal analítico (NAS).

Com o uso do NAS é possível calcular um valor escalar livre de interferentes a partir do vetor sinal analítico, o que torna possível a construção de uma nova forma de calibração, em que o modelo multivariado pode ser representado de uma forma pseudo-univariada. Para o cálculo do NAS usa-se a matriz de dados reconstruída com A variáveis latentes através do algoritmo SIMPLS.

Neste trabalho, o NAS para o analito a (r_a^*) foi calculado conforme Equação 3, onde $P_{\text{NAS},a}$ é a matriz ortogonal de projeção para um determinado vetor para o espaço NAS, a identifica o analito de interesse e r representa o espectro de uma determinada amostra. R_{-a} é

uma matriz dos sinais espectrais gerados por todos os outros analitos, exceto a, I representa o número de amostras de calibração e $(R_{-a})^+$ é a pseudo-inversa de R_{-a} usualmente calculada por decomposição em valores singulares utilizando A fatores (ROCHA; NOGUEIRA; VAZ, 2012).

$$\mathbf{r}_a^* = \mathbf{P}_{\text{NAS},a} \mathbf{r} = [\mathbf{I} - \mathbf{R}_{-a}(\mathbf{R}_{-a})^+] \cdot \mathbf{r} \quad (\text{Equação 3})$$

3.4.2. Calibração Multivariada utilizando o NAS

O conceito do NAS é comumente aplicado a validação de modelos PLS para determinações diretas de espécies presentes em amostras a partir de dados espectrais (FABER; KOWALSKI, 1997). O cálculo do NAS para dados analíticos de primeira ordem está presente nas recomendações da IUPAC para cálculo da incerteza e estimativa de figuras de mérito em calibração multivariada publicada em 2006 (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2006).

Em calibração multivariada de primeira ordem, a concentração de a em amostras desconhecidas ($\mathbf{Y}_{un,a}$) é obtida r conforme Equação 4.

$$\mathbf{Y}_{un,a} = \frac{\mathbf{s}_a^T \mathbf{P}_{\text{NAS},a} \mathbf{r}}{\mathbf{s}_a^T \mathbf{P}_{\text{NAS},a} \mathbf{s}_a} = \frac{\mathbf{s}_a^T \mathbf{P}_{\text{NAS},a} \mathbf{P}_{\text{NAS},a} \mathbf{r}}{\mathbf{s}_a^T \mathbf{P}_{\text{NAS},a} \mathbf{P}_{\text{NAS},a} \mathbf{s}_a} = \frac{(\mathbf{s}_a^*)^T \mathbf{r}_a^*}{\|\mathbf{s}_a^*\|^2} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde $\mathbf{P}_{\text{NAS},a}$ é a matriz ortogonal de projeção para um determinado vetor para o espaço NAS, a identifica o analito de interesse, \mathbf{s}_a é um espectro contendo analito a , \mathbf{s}_a^T sua correspondente NAS e \mathbf{r} representa o espectro de uma determinada amostra (ROCHA et al., 2012).

3.5. Figuras de Mérito

Quando um novo método analítico é desenvolvido existe a necessidade da existência de agências reguladoras tais como o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), International Conference on Harmonization (ICH) e American Society for Testing & Materials (ASTM) para certificar se o método apresenta uma performance adequada nas condições em que será aplicado. Esse processo de averiguação é denominado validação.

A validação é feita através da determinação de diversos parâmetros conhecidos como figuras de mérito, as principais são exatidão, ajuste ou linearidade, seletividade, sensibilidade, sensibilidade analítica, razão sinal/ruído, teste para erro sistemático (bias), limite de detecção e limite de quantificação.

A maneira pela qual essas figuras de mérito devem ser determinadas é estabelecida pelos órgãos de fiscalização e encontra-se descrita em normas específicas, guias de validação e trabalhos científicos.

3.5.1. Exatidão

Expressa o grau de concordância entre o valor estimado ou medido e o valor tido como verdadeiro ou de referência. Comumente em aplicações com calibração multivariada, a exatidão é estimada através da raiz quadrada do RMSEP (ROCHA et al., 2012). A eficiência de previsão dos modelos construídos neste trabalho foi avaliada através da análise dos valores de erro RMSEC (Equação 1), RMSECV (Equação 2) e RMSEP (Equação 5), e através da determinação dos coeficientes de correlação (R) para previsão (ROCHA et al., 2012).

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n_{\text{prev}}}} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde y_i é o vetor referência que contém a concentração do analito de interesse e \hat{y}_i é o vetor que contém os valores previstos da concentração dada pelo modelo, n_{prev} é o número de amostras do grupo de previsão.

3.5.2. Seletividade

Consiste na capacidade do modelo multivariado em distinguir a espécie de interesse em uma mistura na presença de componentes que possam interferir em sua determinação. É a medida do grau de sobreposição entre o sinal da espécie de interesse e os interferentes presentes na amostra e indica a parte do sinal que é perdida por essa sobreposição. Para modelos de calibração multivariada esse parâmetro é definido pela Equação 6, onde $\|s_a^*\|$ é o escalar NAS em relação a espécie a (ROCHA et al., 2012).

$$sel = \frac{\|s_a^*\|}{\|s_a\|} \quad (\text{Equação 6})$$

3.5.3. Sensibilidade

É definida como fração de sinal responsável pelo acréscimo de uma unidade de concentração da propriedade de interesse (INMETRO, 2007). Para modelos de calibração multivariada, é determinada pela Equação 7.

$$sen = \|s_a^*\| \quad (\text{Equação 7})$$

3.5.4. Sensibilidade Analítica

É definida como a razão entre a sensibilidade e uma estimativa do desvio padrão para a flutuação do sinal analítico (δx), calculado de acordo com a Equação 8 (POPPI et al., 2009a).

$$\gamma = \frac{\|s_a^*\|}{\|\delta x\|} \quad (\text{Equação 8})$$

3.5.5. Razão Sinal/Ruído

Trata-se da razão entre o sinal analítico da propriedade de interesse (NAS) e o sinal do ruído instrumental (desvio padrão), que é estimado pela flutuação do sinal do “branco”. Neste trabalho, utilizou-se a média da informação de 9 espectros obtidos a partir de amostras dos biodieselos de soja, de óleo residual e diesel S-10 sem adulterante para construção do “branco”(POPPI, R. J.; BRAGA, J. W. B.; VALDERRAMA, P., 2009b).

3.5.6. Ajuste

O ajuste relaciona-se a linearidade do modelo, é estimado pela correlação entre os valores de referência da propriedade de interesse e os valores estimados pelo modelo de calibração multivariada, através da determinação por mínimos quadrados da reta que melhor se ajusta aos valores de referência e os valores estimados pelo modelo. É possível também determinar o ajuste do modelo através da reta que melhor descreva a relação dos valores de NAS contra a concentração de referência da propriedade de interesse. Qualitativamente, o gráfico dos resíduos para as amostras de calibração e validação pode indicar se os dados seguem um comportamento linear se a distribuição destes resíduos for aleatória (FERRÉ, J. et al., 1997; VALDERRAMA; BRAGA; POPPI, 2007).

3.5.7. Limites de Detecção e Quantificação

São definidos como Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) as menores proporções da propriedade de interesse que podem ser detectadas e previstas, respectivamente, pelo modelo de calibração multivariada.

Nos modelos gerados, o LD foi calculado através da Equação 9, enquanto o LQ foi obtido a partir da Equação 10.

$$LD = 3,3\delta_x \frac{1}{\|s_a^*\|} \quad (\text{Equação 9})$$

$$LQ = 10\delta_x \frac{1}{\|s_a^*\|} \quad (\text{Equação 10})$$

3.5.8. Teste bias para erros sistemáticos

Segundo a IUPAC (THOMPSON et al., 2006), o termo bias é atribuído a erros sistemáticos que são calculados pela diferença entre a média e o valor verdadeiro para a espécie de interesse, correspondendo as componentes de erro que não são aleatórias. A norma ASTM E1655-05 aborda a investigação desse parâmetro através de um teste-t para as amostras de validação no nível de 95,0% de confiança, para avaliar se o “bias” incluso no modelo é significativo.

O bias médio para o conjunto de previsão é calculado pela Equação 11 (POPPI et al., 2009a).

$$bias = \frac{\sum_{i=1}^{n_{prev}} (y_i - \hat{y}_i)}{n_{prev}} \quad (\text{Equação 11})$$

O valor de desvio padrão dos erros de validação (SDV – standard deviation of validation) foi obtido para o modelo a partir da Equação 12 (FERRÉ, J. et al., 1997).

$$SDV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_{prev}} (y_i - \hat{y}_i)^2}{n_{prev}-1}} \quad (\text{Equação 12})$$

Finalmente, o valor de t_{bias} foi calculado, de acordo com a Equação 13. Caso o valor encontrado apresente resultado maior do que $t_{crítico}$ tabelado para $n_{prev}-1$ graus de liberdade do modelo, é um indicativo de que erros sistemáticos presentes no modelo multivariado são significativos, não há exatidão no modelo.

$$t_{bias} = \frac{\left| \sum_{i=1}^{n_{prev}} (y_i - \hat{y}_i) \right|}{SDV} \quad (\text{Equação 13})$$

**CAPÍTULO 4 – ADULTERAÇÕES EM
BIODIESEIS DE SOJA E MISTURAS B5**

4. ADULTERAÇÕES EM BIODIESEIS DE SOJA E MISTURAS B5

4.1. Objetivos

Construir modelos de calibração multivariada com seleção de variáveis para quantificar adulterações por óleo vegetal refinado em amostras de B5 metílico e etílico de soja, na faixa de concentração de 1,00 a 30,00% (m/m) de adulteração e etanol em B100 etílico de soja e metanol em B100 metílico de soja em proporções de 0,14 a 1,00% a partir de espectros MIR;

Validar os modelos PLS com seleção de variáveis por iPLS conforme recomendações da norma ASTM E1655-05 e através do cálculo das figuras de mérito. (fica aqui ou vai p/ introdução)

4.2. Metodologia

As amostras de biodiesel de soja utilizadas para construção dos modelos PLS e iPLS foram obtidas pela transesterificação por via etílica e metílica de óleo de soja refinado, sendo a proporção da reação 5:1 óleo/álcool (m/m) na presença de 1,0% (m/m) de Hidróxido de Potássio com pureza de 85,5% como catalisador. O tempo de reação para as rotas metílica e etílica foi de aproximadamente 80 minutos. Em seguida o produto foi submetido a repouso para que a fase mais densa, constituída em sua maior parte por glicerol pudesse ser removida. Após sucessivas lavagens a quente, a etapa de secagem do biodiesel foi realizada empregando evaporador rotativo por 1 hora a 88 rpm e 80 °C. O óleo diesel de petróleo foi fornecido pela TRANSPETRO S/A. Após o preparo das misturas fraudadas de B5 e B100, as amostras foram submetidas a agitação magnética e colocadas em repouso por um período de 36 horas ao abrigo da luz, conforme recomendação da norma ABNT NBR15568.

Os espectros foram obtidos usando um espetrômetro FT-IR SpectrumTwo (Perkin Elmer) utilizando um acessório horizontal de reflectância total atenuada (HATR) de Seleneto de Zinco (ZnSe) com as seguintes configurações: região de 4000 a 600 cm⁻¹, resolução de 4 cm⁻¹ e 16 varreduras por espectro. Foram obtidos espectros de MIR em triplicata para cada amostra, para obtenção dos modelos PLS e iPLS.

Os espectros obtidos tiveram suas linhas de base corrigidas utilizando Baseline nas regiões espectrais de 1850 a 2650 e de 3200 a 4000 cm⁻¹ e foram analisados com PLS toolbox 3.5 (Eigenvector Research) e pacote iToolbox em ambiente MATLAB 6.5 (MathWorks Inc.). Nos modelos construídos, o conjunto de dados foi dividido em um grupo para calibração e outro para previsão. Os grupos de amostras foram centrados na média e empregou-se validação cruzada por “leave one out”.

Para escolha por iPLS dos melhores intervalos para modelagem, a região espectral foi dividida desde 5 até 50 regiões equidistantes, sendo escolhida a região que apresentou menor valor de RMSECV, menor número de VL e maior ajuste.

4.3. Modelo iPLS de Quantificação de Óleo de Soja em Misturas B5 de Biodiesel etílico de soja em Diesel

A Figura 10 apresenta a distribuição de regiões espectrais geradas pelo iPLS. Para construção do modelo foi escolhido o intervalo de nº 2, que apresentou menores valores de RMSECV e R em relação ao modelo PLS global, correspondendo a região espectral de 959 a 1012 cm⁻¹, com 3 VL, com 41 amostras compondo o grupo de calibração e 21 o grupo de previsão.

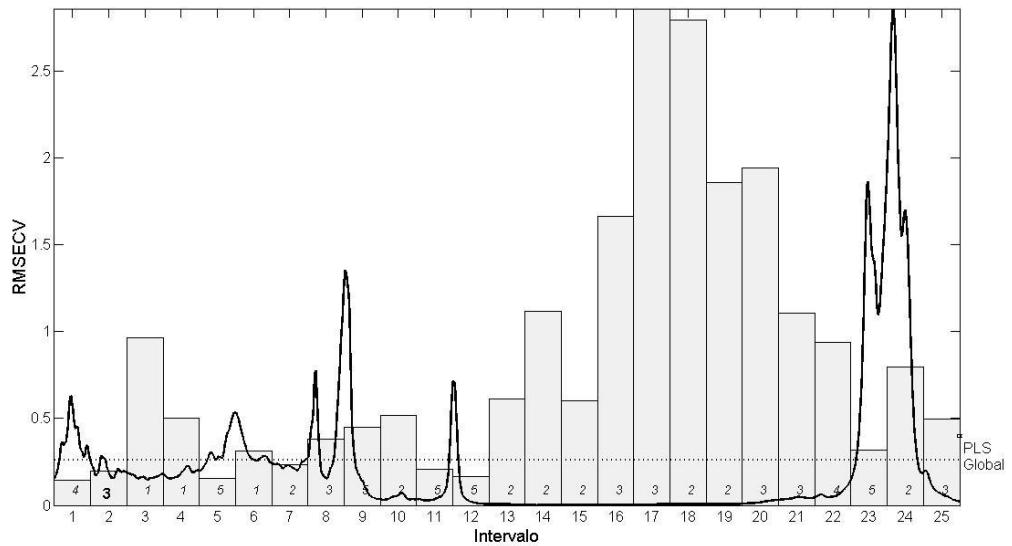


Figura 10. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de soja adulteradas com óleo de soja refinado.

Amostras anômalas foram investigadas por meio da análise do gráfico dos valores de resíduos não modelados por valores de leverage para cada amostra, conforme Figura 11. Nenhuma amostra foi considerada outlier para um limite de confiança de 95,0%.

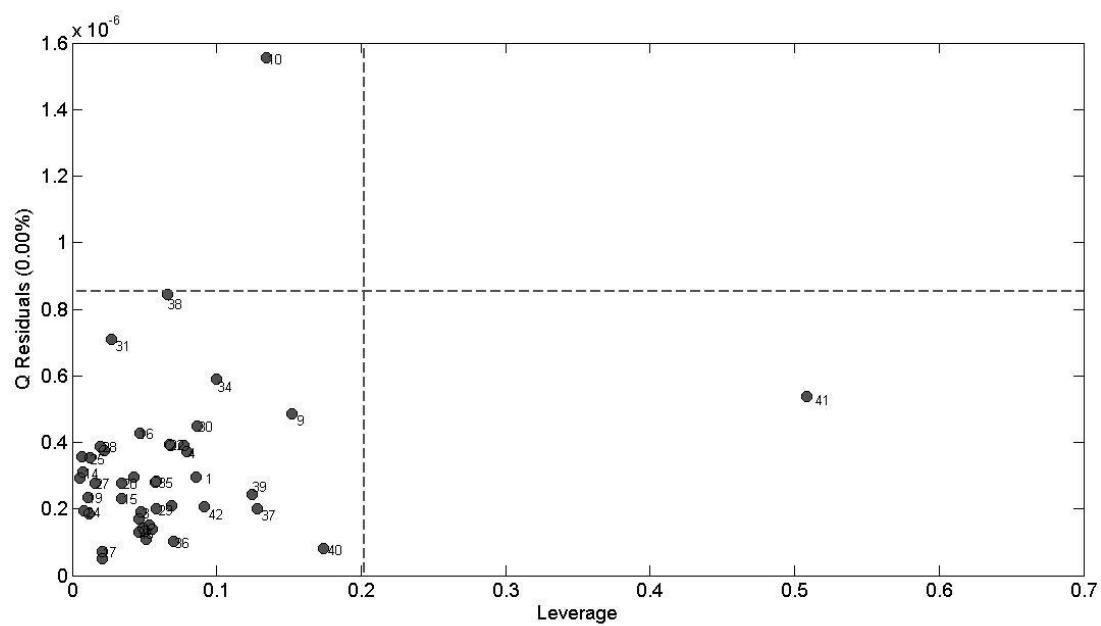


Figura 11. Valores de Q residual versus leverage para amostras (grupo de calibração) de B5 de biodiesel etílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado.

O modelo PLS construído a partir de toda a região espectral utilizou 4 VL, desta forma a escolha do intervalo trouxe ganho ao modelo, resultando em menores valores de RMSEC, RMSECV e RMSEP. Os resultados obtidos para os modelos PLS e iPLS são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado.

Figuras de Mérito	Parâmetros	Valores para PLS	Valores para iPLS
Exatidão	RMSEC (%)	0,23	0,16
	RMSECV (%)	0,18	0,18
	RMSEP (%)	0,21	0,19
	EM (%)	1,12	1,04
Limite de Detecção			0,1807% (m/m)
Limite de Quantificação			0,7596% (m/m)
Seletividade			0,0885
Sensibilidade			0,0347
Sensibilidade Analítica			5,6831
Inverso da Sensibilidade			0,1759
Analítica			
Erros Sistemáticos	Bias		0,0192
	Desvio Padrão		0,1876
	Graus de Liberdade		21
	t_{calc}		0,4242
	t_{crit}		2,0595

Avaliando-se o ajuste do modelo apresentado na Figura 12, pode-se inferir que o modelo iPLS apresentou boa correlação entre os dados de referência e os dados calculados pelo modelo (0,9999).

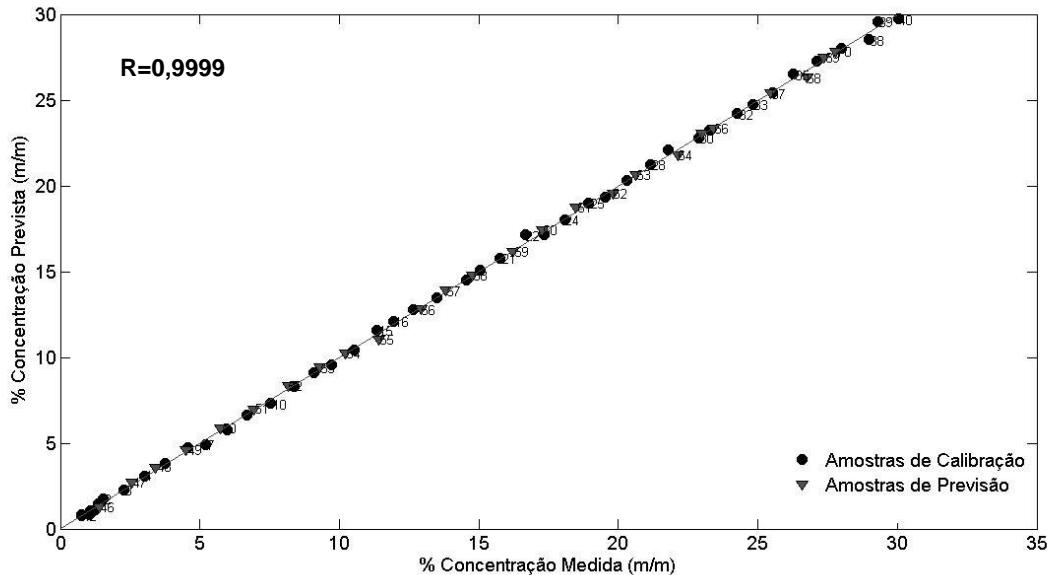


Figura 12. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado na região de 959 a 1012 cm⁻¹.

Os valores calculados para Seletividade, Sensibilidade assim como para as demais figuras de mérito são apresentados na Tabela 3. Segundo o valor calculado para o inverso da sensibilidade analítica, o modelo é capaz de distinguir entre amostras com diferença de concentração da ordem de 0,17% (m/m). Em relação aos erros sistemáticos, no modelo proposto verifica-se, conforme exposto na Tabela 3, que t_{calc} é menor do que t_{crit} , logo, o modelo não apresenta erros sistemáticos, razão pela qual se pode dizer que a construção do modelo apresentado, da fase experimental até o cálculo das figuras de mérito, foi realizada de forma adequada. Pode-se observar também, através da Figura 13, que a distribuição dos erros acontece de forma aleatória no modelo PLS construído na região de 959 a 1012 cm⁻¹, indicando a validade da relação linear para o modelo.

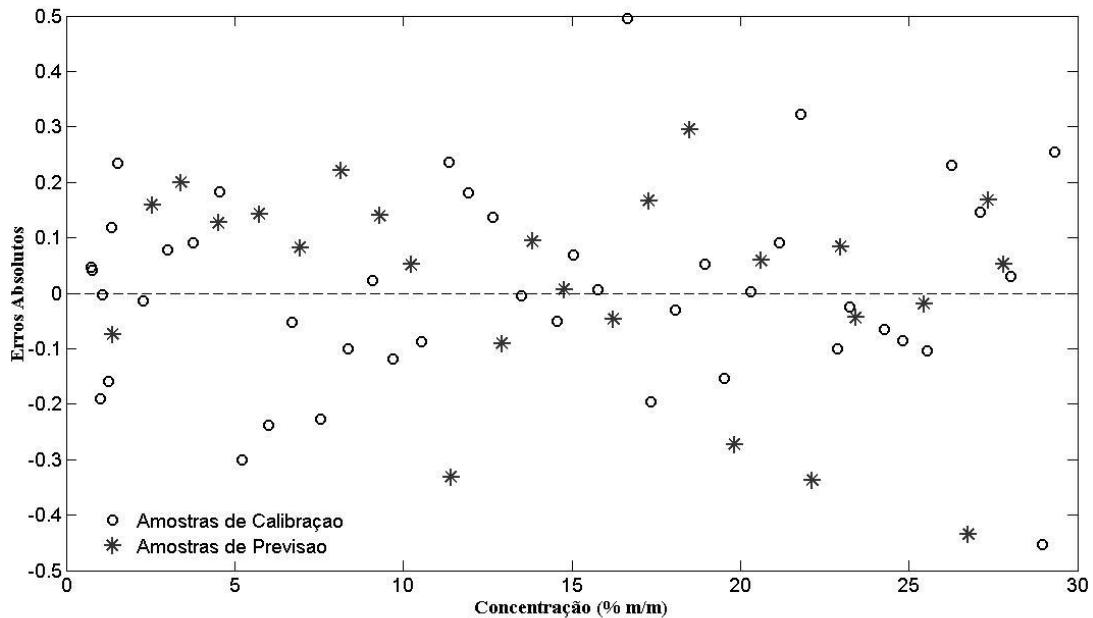


Figura 13. Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado na região de 959 a 1012 cm⁻¹.

4.4. Modelo iPLS de Quantificação de Óleo de Soja em Misturas B5 de Biodiesel metílico de soja em Diesel

A distribuição de regiões espectrais geradas pelo iPLS é mostrada na Figura 14. Para construção do modelo foi escolhido o intervalo de nº3, correspondente a região de 874 a 970 cm⁻¹, com 3 VL, com 47 amostras compondo o grupo de calibração e 31 o grupo de previsão. Esta região apresentou o menor valor de RMSECV e menor número de VL em relação as demais regiões geradas pelo iPLS.

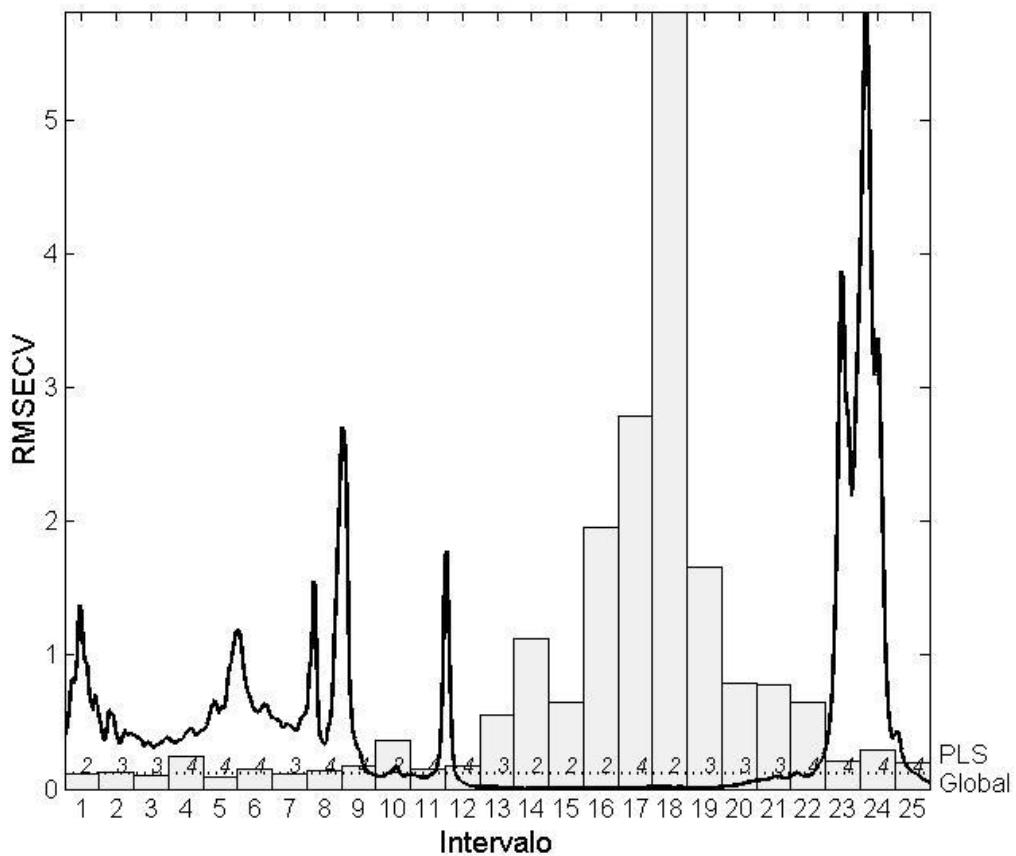


Figura 14. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de soja adulteradas com óleo de soja refinado.

No grupo de calibração, nenhuma amostra foi considerada anômala por meio da análise dos valores de resíduos não modelados por valores de leverage para um limite de confiança de 95,0% para cada amostra. No grupo de previsão foram retiradas 3 amostras que apresentaram valores de erro de previsão maiores que 3 vezes o valor de RMSECV.

A correlação encontrada entre os dados de referência e os dados calculados pelos modelos foi de 0,9998 para o modelo iPLS (Figura 15), melhor que 0,9994 obtido para o PLS global.

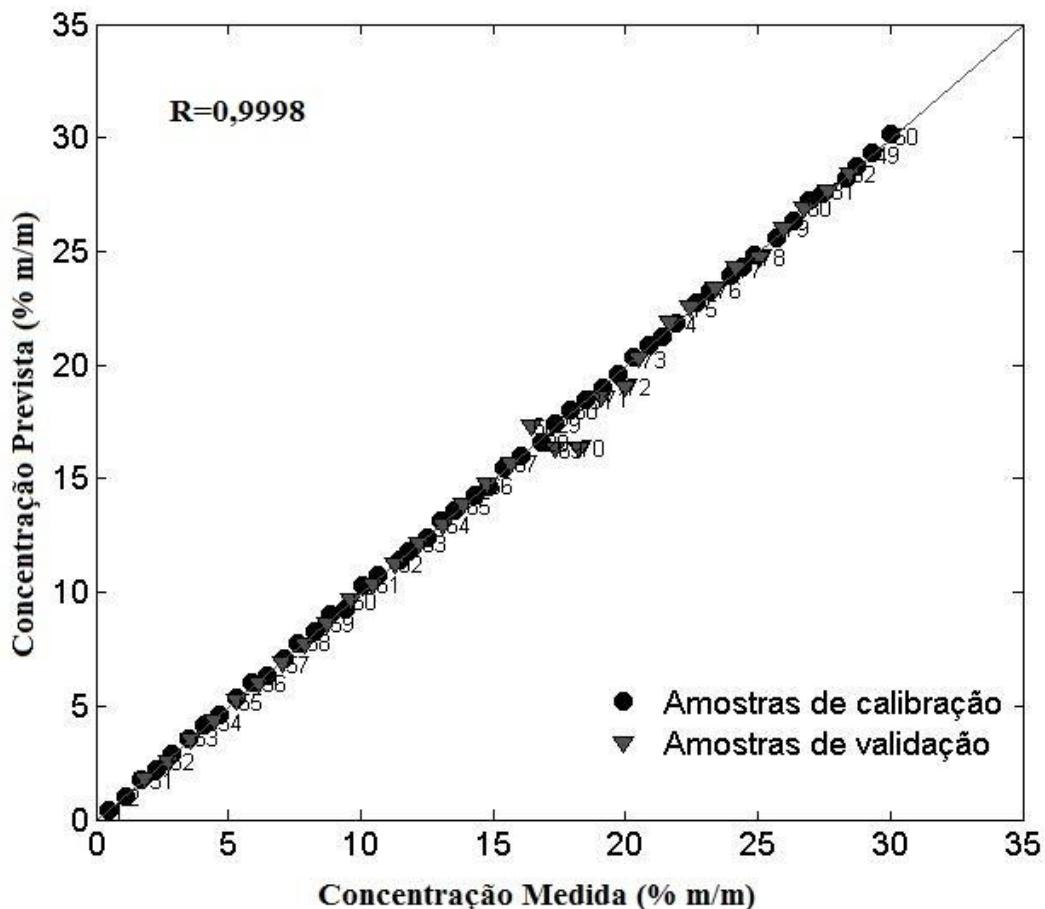


Figura 15. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado na região de 874 a 970 cm⁻¹.

Os valores de figuras de mérito e resultados obtidos e os do modelo PLS construído para a região de 874 a 970 cm⁻¹, comparados aos valores do PLS global são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de soja, adulteradas com óleo de soja refinado.

Figuras de Mérito	Parâmetros	Valores para PLS	Valores para iPLS
Exatidão	RMSEC (%)	0,36	0,09
	RMSECV (%)	0,20	0,11
	RMSEP (%)	0,39	0,26
	EM (%)	1,41	1,29
Limite de Detecção			0,1943% (m/m)
Limite de Quantificação			0,5887% (m/m)
Seletividade			0,0067
Sensibilidade			0,0186
Sensibilidade Analítica			16,9876
Inverso da Sensibilidade			0,0588
Analítica			
Erros Sistemáticos	Bias		0,0616
	Desvio Padrão		0,4411
	Graus de Liberdade		28
	t_{calc}		1,3635
	t_{crit}		2,0369

Foi realizado o teste-t proposto pela norma ASTM E1655-05, observou-se que o modelo não apresenta erros sistemáticos, uma vez que t_{calc} apresentou valor menor do que t_{crit} para o grau de liberdade igual a 28. O modelo apresentou erros de previsão distribuídos de forma aleatória, sinal da ausência de erros sistemáticos, conforme exposto na Figura 16.

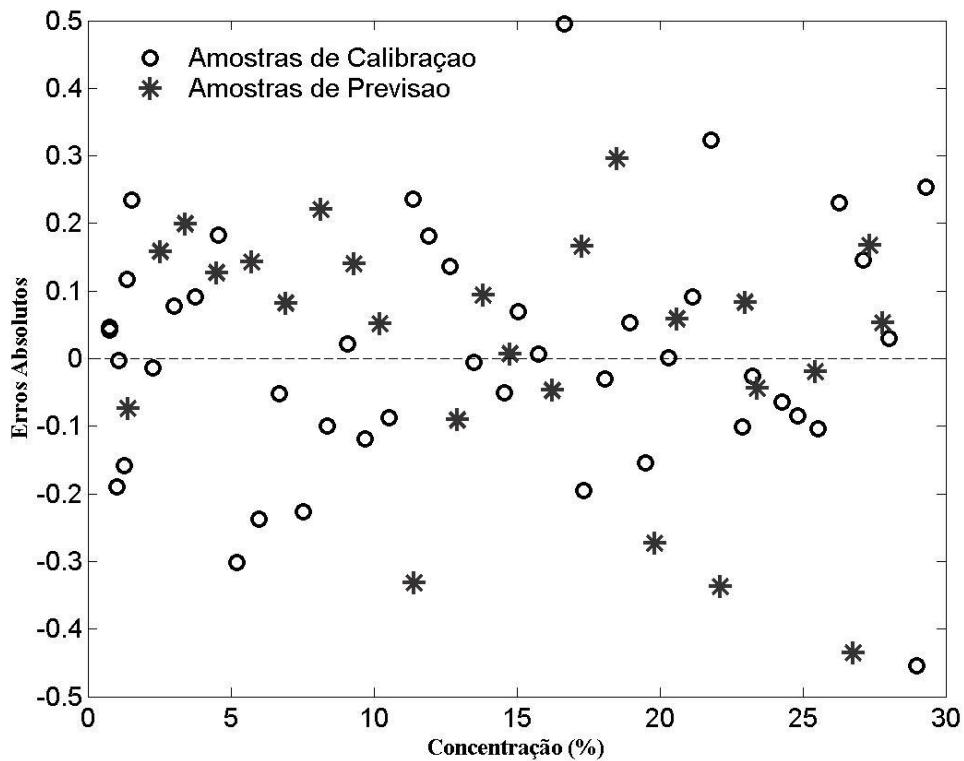


Figura 16. Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de soja, adulteradas com óleo de soja na região de 874 a 970 cm⁻¹.

O modelo iPLS apresentou maior valor de RMSEP quando comparado ao valor para o modelo PLS global, isso se dá devido a perda de informações necessárias para a previsão que ocorreu com a seleção de variáveis.

4.5. Modelo iPLS de Quantificação de Etanol em B100 de Biodiesel etílico de soja

O modelo iPLS foi construído com 4 VL, com 42 amostras compondo o grupo de calibração e 25 o grupo de previsão, dividindo toda a região espectral em 25 regiões. Para construção do modelo foi escolhido o intervalo de nº4 que corresponde a região espectral de 954 a 1051cm⁻¹, conforme mostrado pela Figura 17. Para construção do modelo PLS foram usadas 5 VL.

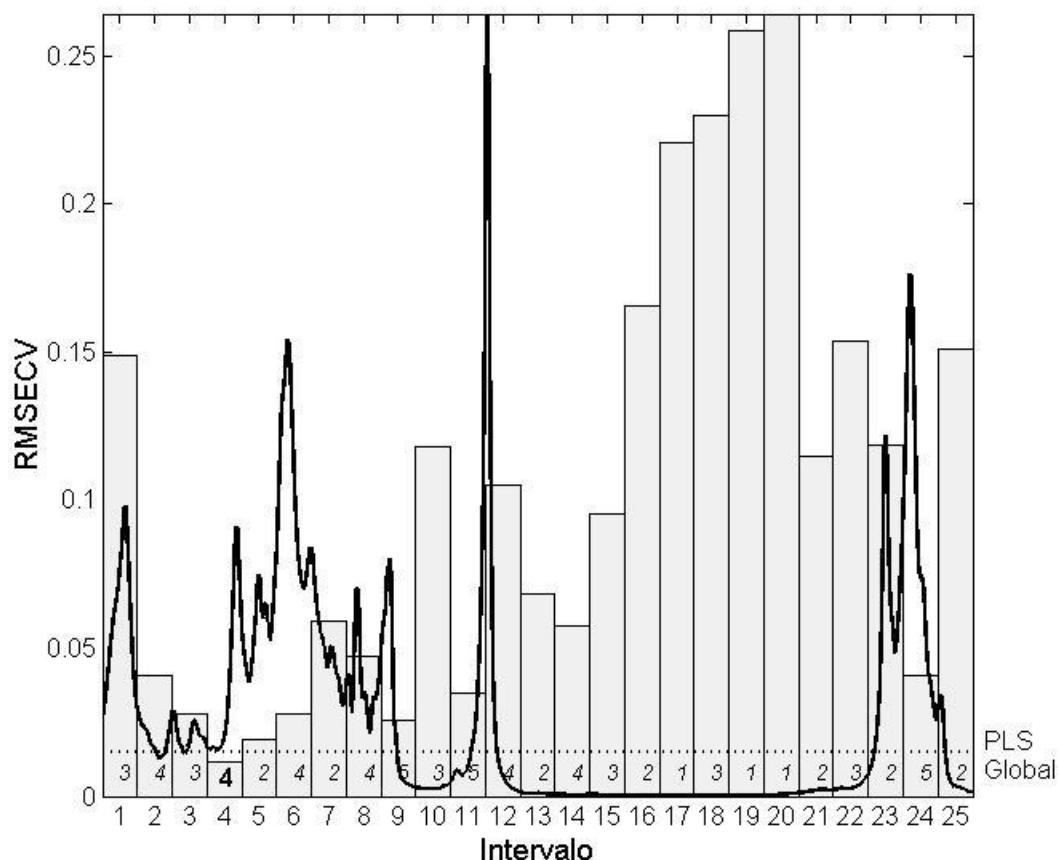


Figura 17. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de soja adulteradas com Etanol.

A Figura 18 apresenta o ajuste do modelo iPLS construído para a região de 954 a 1051 cm⁻¹. A correlação encontrada entre os dados de referência e os dados calculados pelos modelos foi de 0,9975 para o modelo iPLS em comparação a 0,9953, obtido para o PLS global.

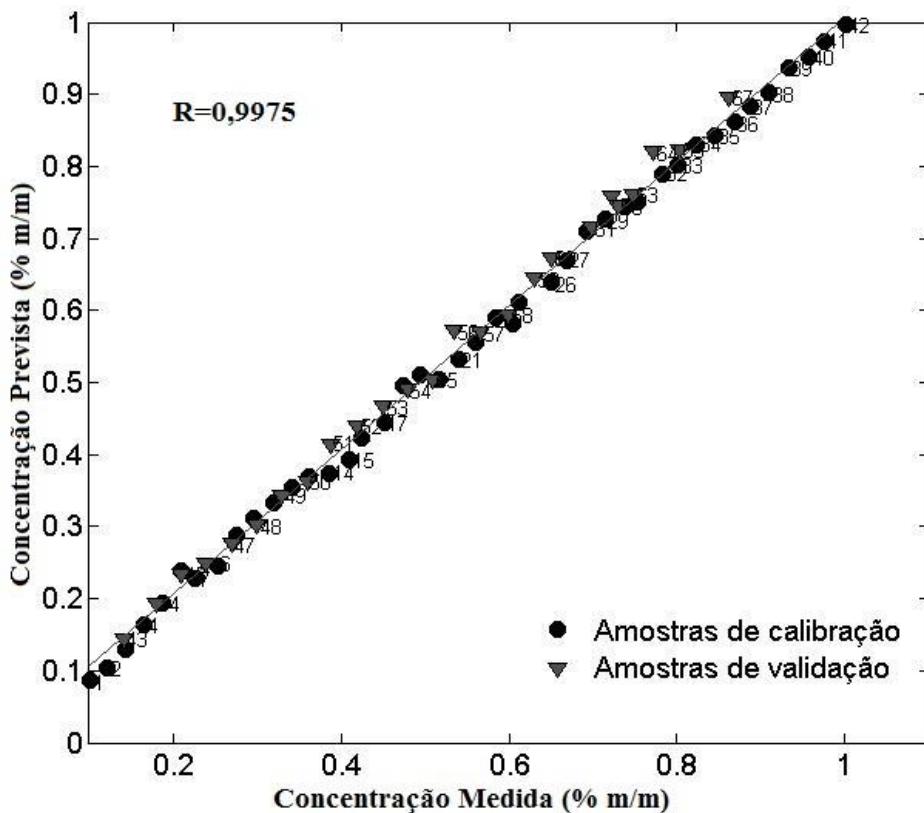


Figura 18. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de soja adulteradas com Etanol na região de 954 a 1051 cm⁻¹.

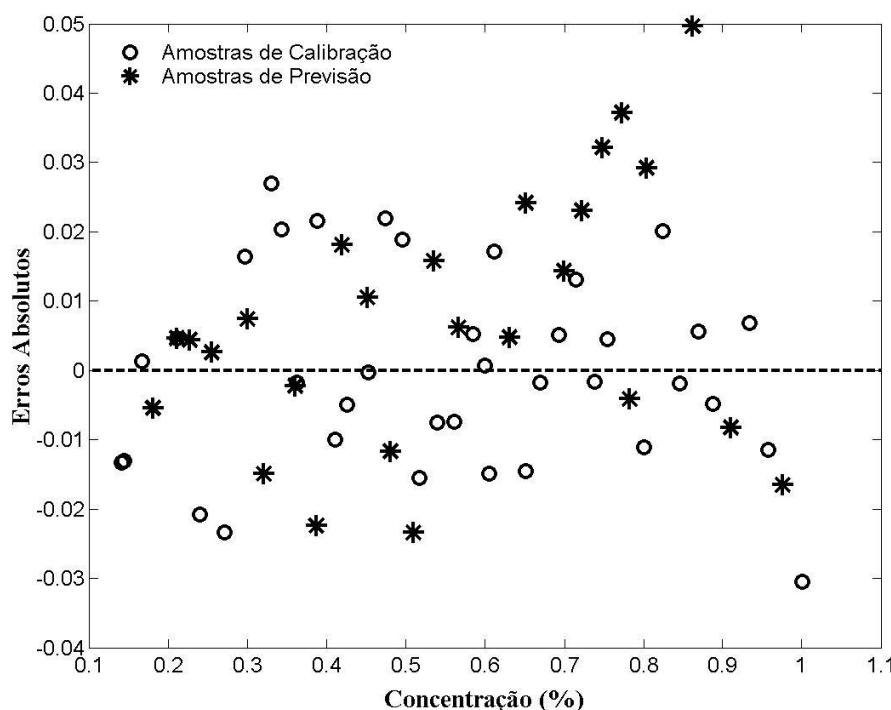
Nenhuma amostra do grupo de calibração foi considerada anômala por meio da análise dos valores de resíduos não modelados por valores de leverage para um limite de confiança de 95,0% para cada amostra. No modelo PLS foram retiradas 6 amostras e no modelo iPLS 4 amostras que apresentaram valores de erro de previsão maiores que 3 vezes o valore de RMSEP.

A Tabela 5 apresenta os valores de figuras de mérito para o modelo construído na região de 954 a 1051 cm⁻¹, também são comparados os valores de erros obtidos com os valores do modelo PLS global.

Tabela 5. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de soja adulteradas com Etanol.

Figuras de Mérito	Parâmetros	Valores para PLS	Valores para iPLS
Exatidão	RMSEC (%)	0,013	0,009
	RMSECV (%)	0,020	0,012
	RMSEP (%)	0,019	0,018
	EM (%)	2,83	2,37
Limite de Detecção			0,0208% (m/m)
Limite de Quantificação			0,0630% (m/m)
Seletividade			0,0149
Sensibilidade			0,0157
Sensibilidade Analítica			15,8591
Inverso da Sensibilidade			0,0630
Analítica			
Erros Sistemáticos	Bias		0,0115
	Desvio Padrão		0,0132
	Graus de Liberdade		21
	t_{calc}		1,2233
	t_{crit}		2,0595

Como t_{calc} apresentou valores menores que t_{crit} para 21 graus de liberdade, o modelo não apresenta erros sistemáticos, o que também pode ser comprovado pela distribuição aleatória dos erros, observada na Figura 19.

**Figura 19.** Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de soja, adulteradas com Etanol na região de 954 a 1051 cm⁻¹.

4.6. Modelo PLS de Quantificação de Metanol em B100 de Biodiesel metílico de soja

Na Tabela 6 observa-se os melhores valores de RMSECV e R para modelos PLS construídos no melhor intervalo para cada distribuição de número de intervalos das regiões espectrais geradas pelo iPLS, de 5 a 50 intervalos.

Tabela 6. Distribuição de regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de soja, adulteradas com Metanol.

Nº de Intervalos	V.L.	Variáveis selecionadas (cm^{-1})	RMSECV	R
PLS Global	5	669 a 3099	0,0220	0,9948
5	5	669 - 1156	0,0241	0,9954
10	5	669 - 913	0,0297	0,9936
15	4	833 - 994	0,0363	0,9895
20	4	792 - 913	0,0252	0,9949
25	3	964 - 1061	0,0339	0,9908
30	4	833 - 913	0,0399	0,9872
35	5	810 - 879	0,0373	0,9890
40	5	1097 - 1157	0,0356	0,9902
45	3	995 - 1048	0,0344	0,9906
50	5	1013 - 1061	0,0283	0,9937

Não foi observado intervalo espectral em que os valores de RMSECV e R fossem menores que os valores obtidos para o modelo PLS global, como demonstrado na Figura 20. Neste caso, a seleção de um intervalo não é indicada.

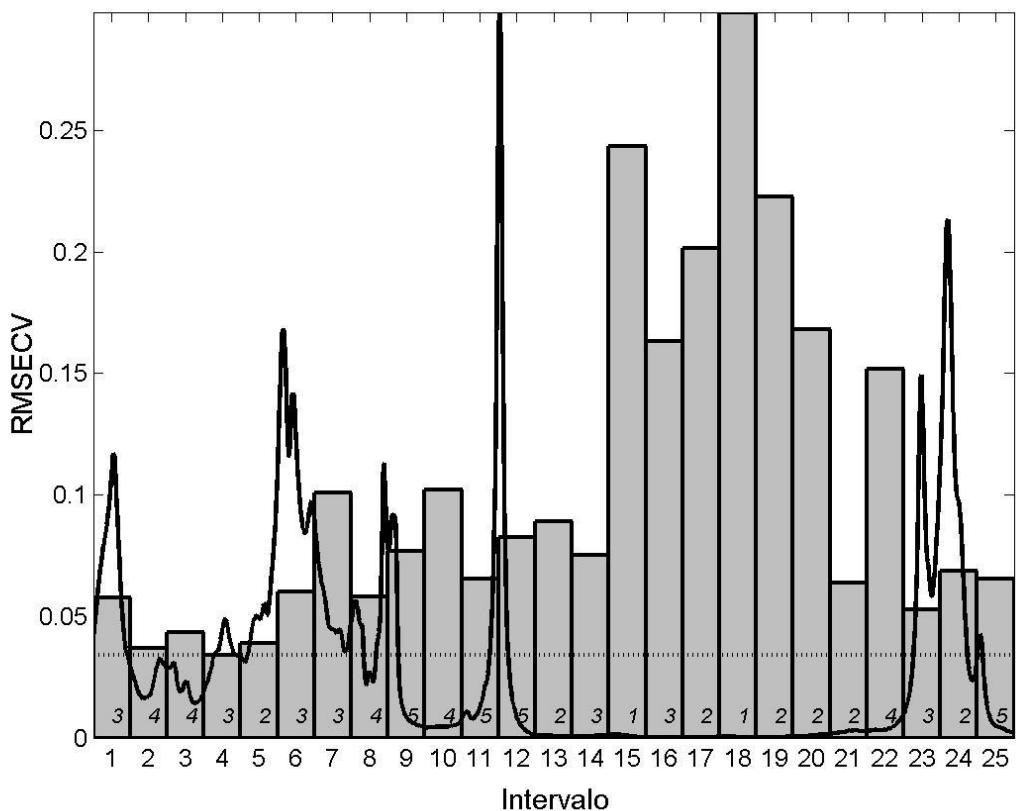


Figura 20. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de soja adulteradas com metanol, subdividida em 25 intervalos.

Para construção do modelo PLS utilizou-se 5 VL, com 36 amostras compondo o grupo de calibração e 20 o grupo de previsão. A correlação encontrada entre os dados de referência e os dados calculados pelos modelos foi de 0,9948 para o modelo PLS global, conforme mostrado na Figura 21.

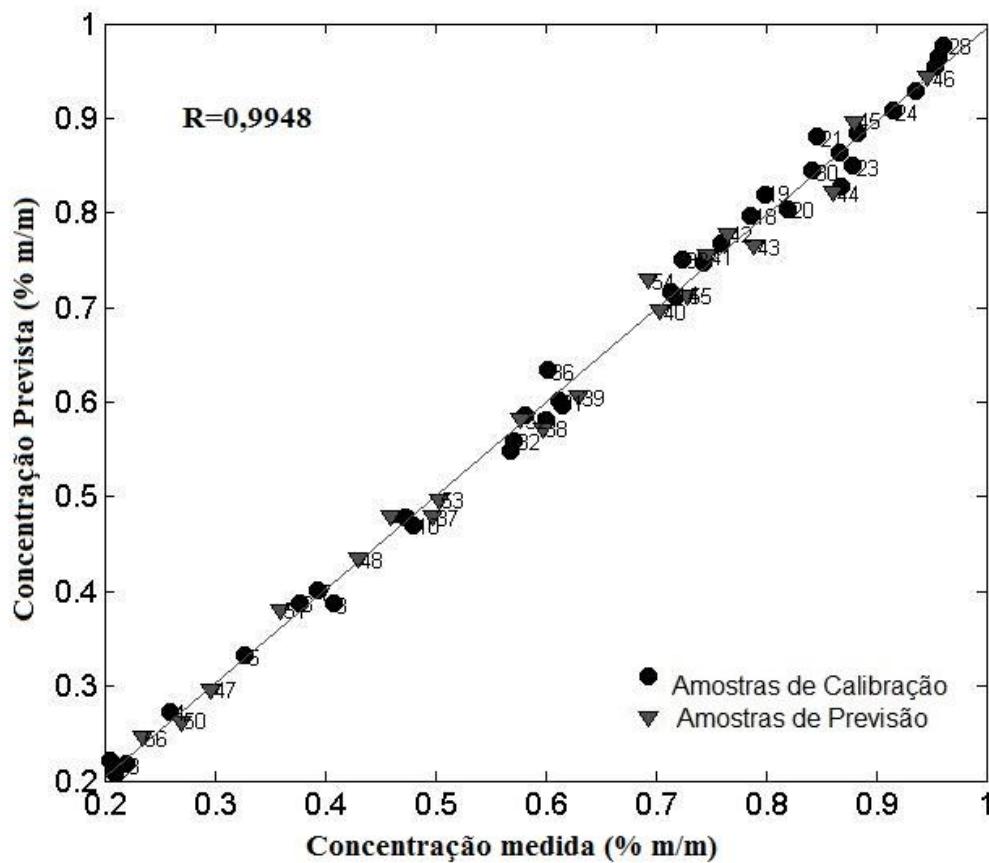


Figura 21. Ajuste do modelo PLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de soja adulteradas com Metanol.

Nenhuma amostra foi considerada anômala por meio da análise dos valores de resíduos não modelados por valores de leverage para um limite de confiança de 95,0% para cada amostra.

O modelo não apresentou erro sistemático, de acordo com o teste-t proposto pela norma ASTM E1655-05, apresentando valores de figuras de mérito aceitáveis, conforme disposto na Tabela 7.

Tabela 7. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelo PLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de soja adulteradas com Metanol.

Figuras de Mérito	Parâmetros	Valores para PLS
Exatidão	RMSEC (%)	0,01
	RMSECV (%)	0,02
	RMSEP (%)	0,01
	EM (%)	2,69
Limite de Detecção		0,0093% (m/m)
Limite de Quantificação		0,0134% (m/m)
Seletividade		0,0297
Sensibilidade		0,2539
Sensibilidade Analítica		7,6635
Inverso da Sensibilidade Analítica		0,1304
Erros Sistemáticos	Bias	-0,0012
	Desvio Padrão	0,0189
	Graus de Liberdade	20
	t_{calc}	0,3029
	t_{crit}	2,0860

Os resultados obtidos para cada modelo de adulteração de biodiesel de óleo de soja e suas misturas B5 com diesel foram comparados e observou-se que houve ganho na seleção de intervalos espectrais, uma vez que todos os parâmetros de eficiência (RMSEC, RMSECV, RMSEP e E.M.) apresentaram valores numéricos menores quando comparados aos modelos construídos para todas as faixas espectrais. Para o modelo de adulteração por metanol, foi utilizada toda a região espectral.

**CAPÍTULO 5 – ADULTERAÇÕES EM
BIODIESEIS DE ÓLEO RESIDUAL E MISTURAS B5**

5. ADULTERAÇÕES EM BIODIESEIS DE ÓLEO RESIDUAL E MISTURAS B5

5.1. Objetivos

Quantificar adulterações por óleo residual e alcoóis (Metanol e Etanol) em B5 e B100 de óleo residual utilizando modelos de calibração multivariada com seleção de variáveis a partir de espectros MIR;

Quantificar óleo residual em amostras de B5 metílico e etílico de óleo residual, na faixa de concentração de 1,00 a 30,00% (m/m) de adulteração;

Quantificar etanol em B100 etílico de óleo residual e metanol em B100 metílico de óleo residual em proporções de 0,14 a 1,00%;

Validar os modelos iPLS conforme recomendações da ASTM E1655-05 e através do cálculo das figuras de mérito.

5.2. Metodologia

Os biodieselos de soja residual etílico e metílico usados para construção dos modelos foram produzidos a partir de óleo residual descartado pelo restaurante universitário da Universidade Federal de Uberlândia. Na esterificação por catálise ácida, utilizou-se 0,5% de Ácido Sulfúrico P.A. por via etílica e metílica, sendo a proporção da reação 5:1 óleo/álcool (m/m), em seguida, o produto foi submetido a transesterificação na presença de 1,0% (m/m) de Hidróxido de Potássio com 85,5% de pureza como catalisador básico. O tempo de reação para as rotas metílica e etílica foi em ambos os casos de aproximadamente 50 minutos. As etapas de lavagens a quente e secagem dos biodieselos de óleo residual produzidos se deu da mesma forma que para a produção de biodieselos de soja.

Foram realizadas medições de MIR em espectrômetro FT-IR SpectrumTwo (Perkin Elmer) utilizando HATR de Seleneto de Zinco (ZnSe) com as seguintes configurações:

varredura 4000 a 600 cm^{-1} , resolução 4 cm^{-1} e 16 varreduras por espectro. Foram obtidos espectros de MIR em triplicata para cada amostra dos quatro grupo de amostras, obtendo um total de 222 espectros de amostras de B5 de biodiesel etílico e de B5 de biodiesel metílico para obtenção de cada um dos modelos de calibração multivariada.

Para cada modelo foram preparadas 80 amostras, sendo estas amostras divididas em dois grupos: 50 amostras para calibração (construção do modelo) e 30 amostras para validação (verificação da capacidade de prever do modelo construído). As 50 amostras utilizadas na calibração tiveram suas concentrações variando uniformemente dentro da faixa de modelagem de 1,0 a 20,0% (m/m) para adulterações em B5 e 0,1 a 1,0% (m/m) para adulterações em B100. As 30 amostras utilizadas na validação tiveram suas concentrações variando uniformemente dentro da mesma faixa de modelagem com o cuidado de evitar a mesma concentração das amostras de calibração. Após o preparo todas as amostras foram submetidas a agitação magnética e colocadas em repouso por um período de 36 horas ao abrigo da luz, conforme recomendação da norma ABNT NBR15568.

A escolha dos intervalos por iPLS para modelagem se deu pela divisão da região espectral de 5 até 50 regiões equidistante, sendo escolhida a região que apresentou menor valor de RMSECV, menor número de VL e maior ajuste.

5.3. Modelo iPLS de Quantificação de Óleo Residual em Misturas B5 de Biodiesel etílico de óleo residual em Diesel

Na Figura 22 observa-se a distribuição de regiões espetrais geradas pelo iPLS, para construção do modelo. O intervalo escolhido foi o de nº 4, que corresponde a região de 1732 - 1812 cm^{-1} , com 3 VL e com 46 amostras compondo o grupo de calibração e 28 o grupo de previsão.

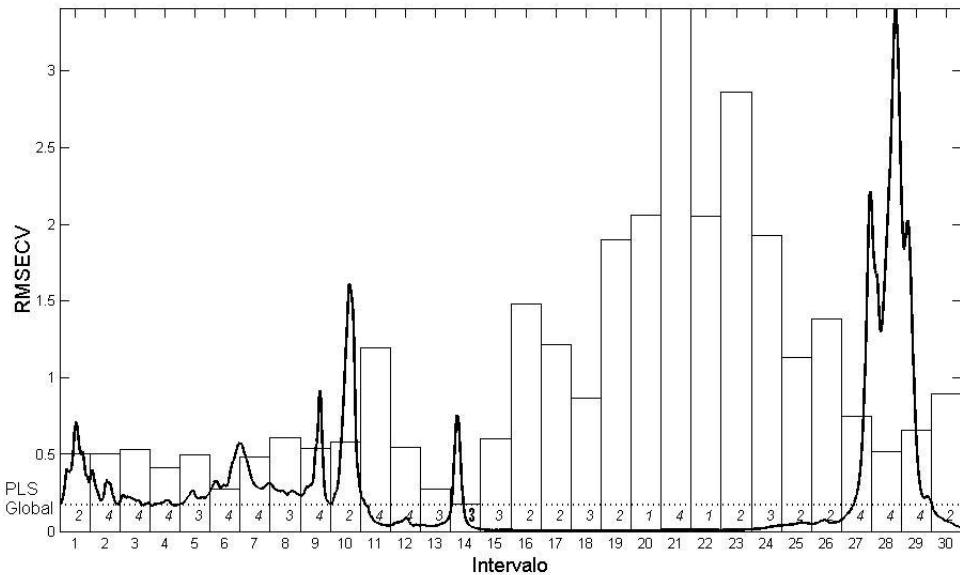


Figura 22. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com óleo residual.

O modelo PLS global utilizou 4 VL. A correlação obtida para o modelo iPLS foi de 0,9998 (Figura 23), enquanto para o modelo PLS global obteve-se 0,9996.

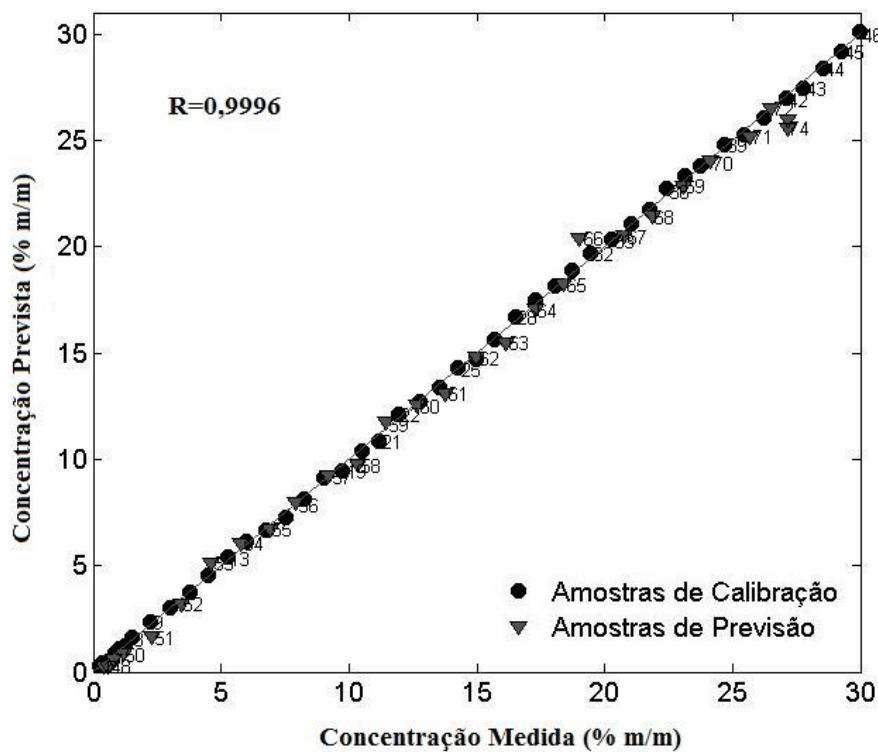


Figura 23. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com óleo residual na região de 1732 a 1812 cm^{-1} .

No grupo de calibração, nenhuma amostra foi considerada anômala por meio da análise dos valores de resíduos não modelados por valores de leverage para um limite de confiança de 95,0% para cada amostra, no entanto, no grupo de previsão foram retiradas 10 amostras que apresentaram valores de erro de previsão maiores que 3 vezes o valore de RMSEP.

A Tabela 8 traz a comparação entre os valores de RMSEC, RMSECV, RMSEP e EM entre o modelo PLS global e o modelo construído no intervalo escolhido e apresenta os valores de figuras de mérito.

Tabela 8. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelos PLS e iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com óleo residual.

Figuras de Mérito	Parâmetros	Valores para PLS	Valores para iPLS
Exatidão	RMSEC (%)	0,17	0,13
	RMSECV (%)	0,26	0,16
	RMSEP (%)	0,37	0,22
	EM (%)	1,83	1,12
Limite de Detecção			0,0090% (m/m)
Limite de Quantificação			0,0272% (m/m)
Seletividade			0,0730
Sensibilidade			0,0864
Sensibilidade Analítica			11,5781
Inverso da Sensibilidade			0,0863
Analítica			
Erros Sistemáticos	Bias		-0,0717
	Desvio Padrão		0,5623
	Graus de Liberdade		18
	t_{calc}		1,5899
	t_{crit}		2,0687

Pela diminuição nos valores de erro e no número de variáveis latentes, pode concluir que houve ganho na eficiência do modelo construído no intervalo selecionado. Os erros de previsão se apresentaram distribuídos de forma aleatória, como mostrado na Figura 24, os modelos PLS e iPLS não apresentaram erros sistemáticos.

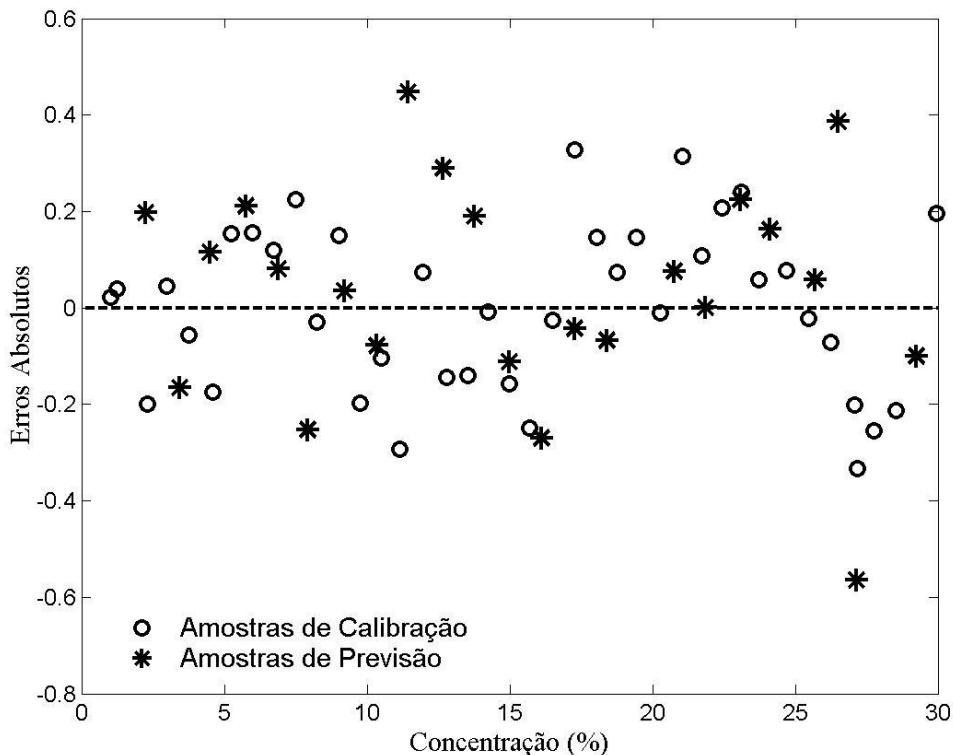


Figura 24. Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com óleo residual na região de $1732 - 1812 \text{ cm}^{-1}$.

Houve ganho em relação a diminuição do número de VL e valores de RMSEC, RMSECV e RMSEP quando comparados os resultados do modelo iPLS ao PLS global.

5.4. Modelo iPLS de Quantificação de Óleo Residual em Misturas B5 de Biodiesel metílico de óleo residual em Diesel

Para construção do modelo iPLS, a região espectral foi dividida em 25 intervalos com o mesmo número de variáveis, conforme mostra a Figura 25. O intervalo escolhida foi o de nº 1, que corresponde a região de 679 a 776 cm^{-1} , com 3 VL e com 46 amostras compondo o grupo de calibração e 28 o grupo de previsão, sendo que o modelo PLS global utilizou 5 VL.

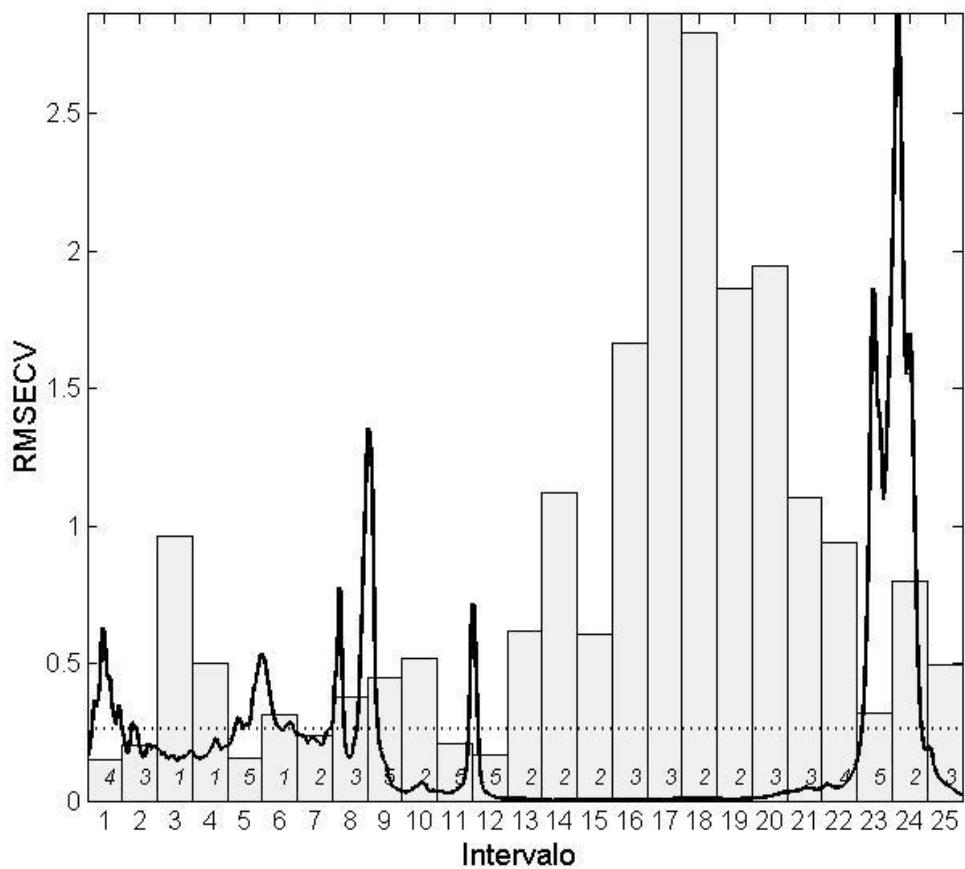


Figura 25. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de óleo residual adulteradas com óleo residual.

A correlação obtida para o modelo iPLS foi de 0,9999 (Figura 26), enquanto para o modelo PLS global obteve-se 0,9998.

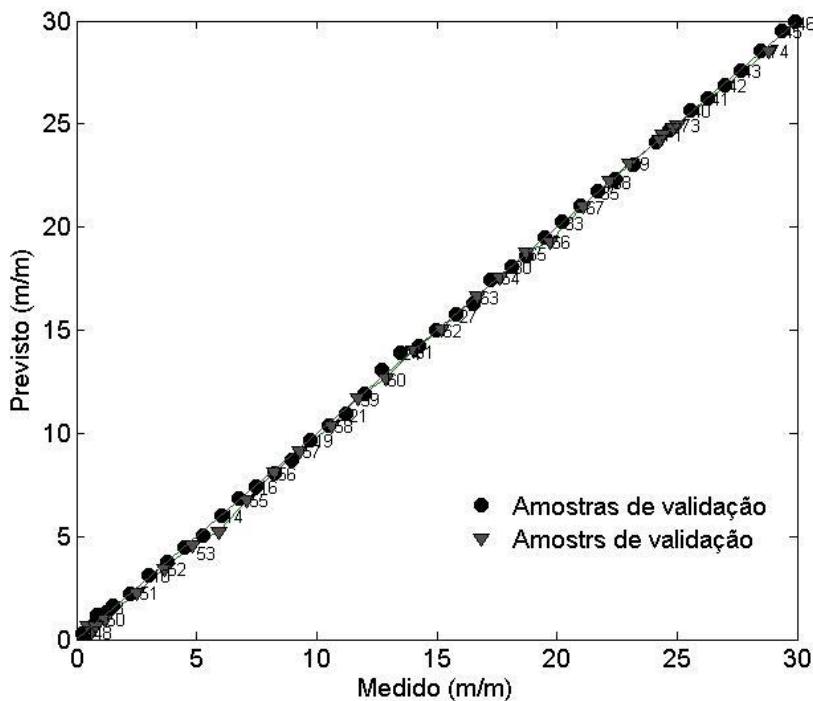


Figura 26. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de óleo residual adulteradas com óleo residual na região de 679 a 776 cm⁻¹.

No grupo de calibração, nenhuma amostra foi considerada anômala por meio da análise dos valores de resíduos não modelados por valores de leverage para um limite de confiança de 95,0% para cada amostra.

Tabela 9. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelos PLS e iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de óleo residual adulteradas com óleo residual.

Figuras de Mérito	Parâmetros	Valores para PLS	Valores para iPLS
Exatidão	RMSEC (%)	0,14	0,13
	RMSECV (%)	0,19	0,15
	RMSEP (%)	0,21	0,15
	EM(%)	1,24	1,09
Limite de Detecção			0,1203% (m/m)
Limite de Quantificação			0,3646% (m/m)
Seletividade			0,0954
Sensibilidade			0,1645
Sensibilidade Analítica			27,4291
Inverso da Sensibilidade			0,0364
Analítica			
Erros Sistemáticos	Bias		-0,0826
	Desvio Padrão		0,1813
	Graus de Liberdade		24
	t _{calc}		2,0108
	t _{crit}		2,0484

Os erros de previsão se apresentaram distribuídos de forma aleatória, como mostrado na Figura 27, os modelos PLS e iPLS não apresentaram erros sistemáticos. Houve ganho em relação a diminuição do número de VL e valores de RMSEC, RMSECV e RMSEP quando comparados os resultados do modelo iPLS ao PLS global.

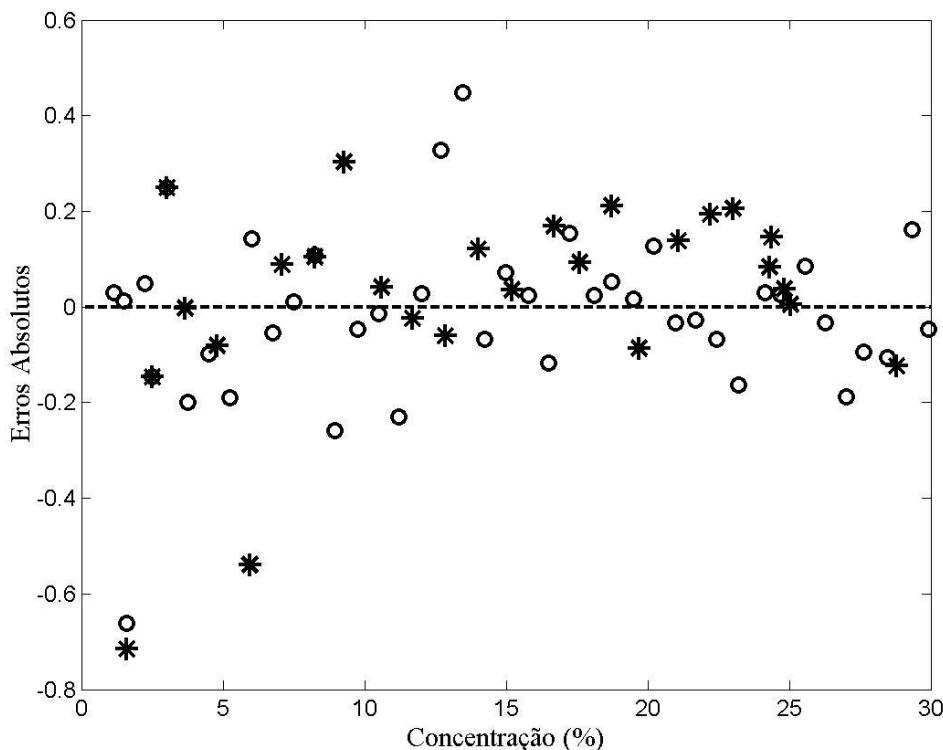


Figura 27. Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B5 de biodiesel metílico de óleo residual adulteradas com óleo residual na região de 679 a 776 cm^{-1} .

5.5. Modelo iPLS de Quantificação de Etanol em B100 de Biodiesel etílico de óleo residual

O modelo iPLS foi construído dividindo toda a região espectral em 20 regiões com o mesmo número de variáveis (Figura 28). Foi escolhido o intervalo de nº 3, que corresponde a região de 967 a 1119 cm^{-1} , com 3 VL e com 37 amostras compondo o grupo de calibração e 24 o grupo de previsão.

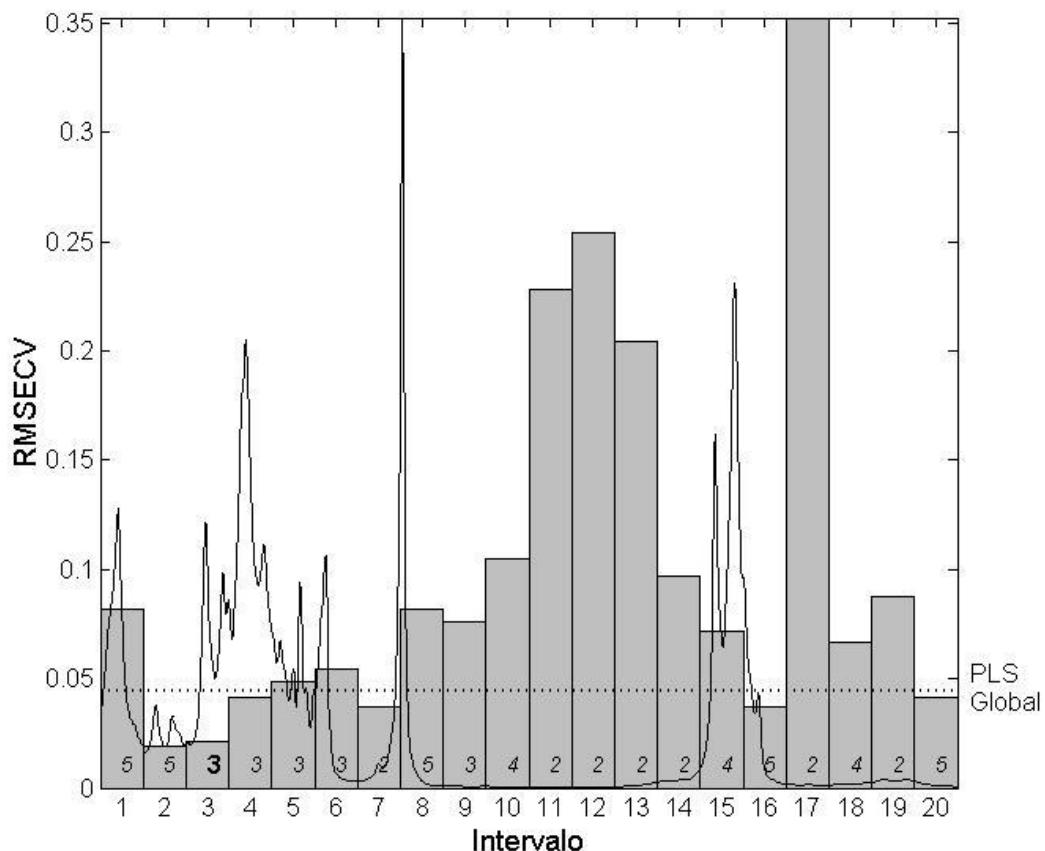


Figura 28. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com Etanol.

O modelo PLS global utilizou 4 VL. A correlação obtida para o modelo iPLS foi de 0,9968, conforme ajuste observado na Figura 29, enquanto para o modelo PLS global obteve-se 0,9941.

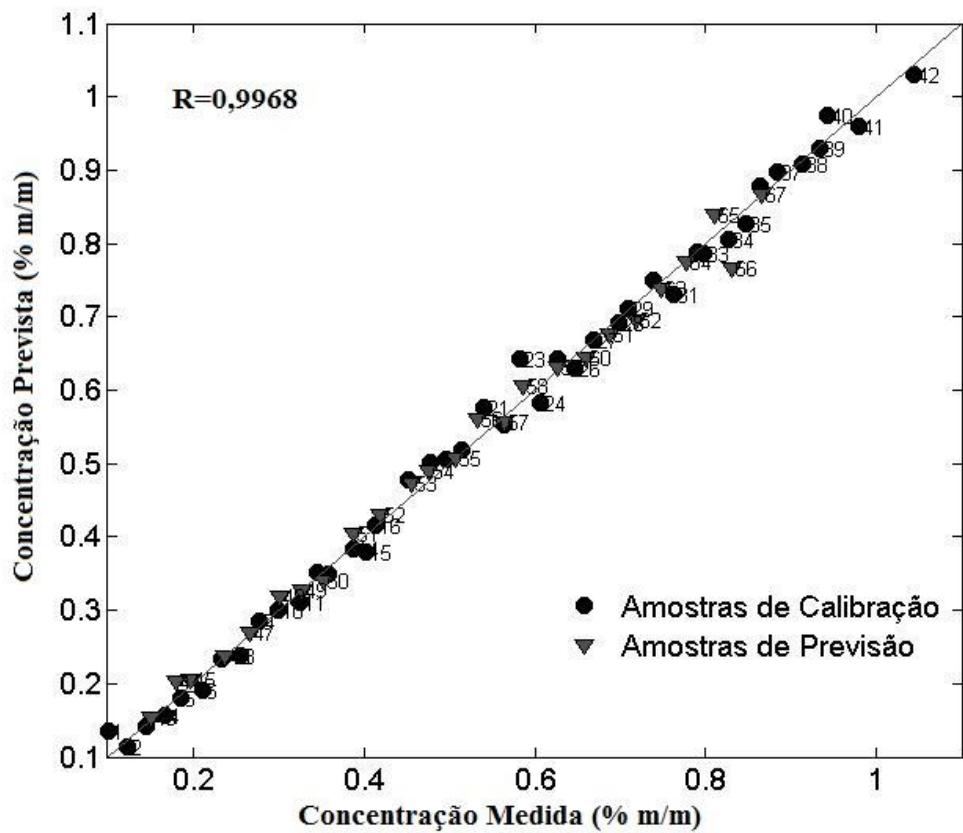


Figura 29. Ajuste do modelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com Etanol na região de 967 a 1119 cm⁻¹.

No grupo de calibração, nenhuma amostra foi considerada anômala por meio da análise dos valores de resíduos não modelados por valores de leverage para um limite de confiança de 95,0% para cada amostra.

Houve ganho em relação a diminuição do número de VL e valores de RMSEC, RMSECV e RMSEP quando comparados os resultados do modelo iPLS ao PLS global, conforme resultados de erros apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelos PLS e iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas Etanol.

Figuras de Mérito	Parâmetros	Valores para PLS	Valores para iPLS
Exatidão	RMSEC (%)	0,018	0,014
	RMSECV (%)	0,022	0,022
	RMSEP (%)	0,025	0,019
	EM (%)	4,01	3,17
Limite de Detecção			0,0540% (m/m)
Limite de Quantificação			0,1637% (m/m)
Seletividade			0,0141
Sensibilidade			0,0327
Sensibilidade Analítica			61,1015
Inverso da Sensibilidade			0,0163
Analítica			
Erros Sistemáticos	Bias		0,0028
	Desvio Padrão		0,0197
	Graus de Liberdade		21
	t_{calc}		0,7334
	t_{crit}		2,0595

Os erros de previsão se apresentaram distribuídos de forma aleatória, como mostrado na Figura 30, os modelos PLS e iPLS não apresentaram erros sistemáticos. Os modelos apresentaram valores de figuras de mérito aceitáveis.

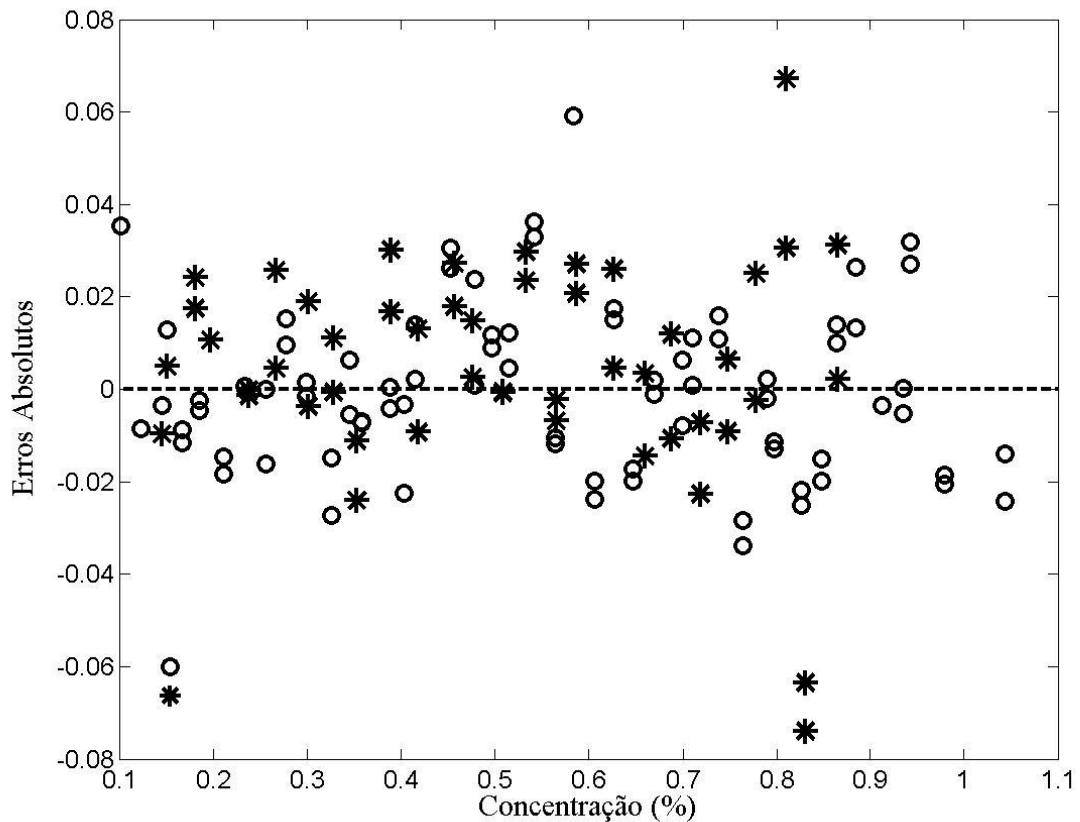


Figura 30. Erros absolutos de previsão do modelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel etílico de óleo residual adulteradas com Etanol na região de 967 a 1119 cm⁻¹.

5.6. Modelo PLS de Quantificação de Metanol em Misturas B100 de Biodiesel metílico de óleo residual em Diesel

A região espectral foi dividido de 5 a 50 intervalos equidistantes, com o mesmo número de variáveis e para cada região foi construído um modelo PLS, sendo os resultados comparados aos valores obtidos para o PLS global. Na Tabela 11 observa-se a distribuição de regiões espectrais geradas pelo iPLS e os respectivos valores de RMSECV e R para cada divisão.

Tabela 11. Distribuição de regiões espetrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de óleo residual, adulteradas com Metanol.

Nº de Intervalos	V.L	Variáveis selecionadas (cm ⁻¹)	RMSECV	R ²
PLS Global	5	659 - 3749	0,0332	0,9910
5	3	659 - 1278	0,0434	0,9867
10	4	970 - 1278	0,0418	0,9877
15	3	867 - 1072	0,0424	0,9873
20	3	970 - 1124	0,0396	0,9891
25	4	1032 - 1155	0,0460	0,9852
30	5	970 - 1072	0,0419	0,9878
35	3	1016 - 1104	0,0462	0,9849
40	2	1050 - 1127	0,0461	0,9859
45	3	1005 - 1073	0,0461	0,9853
50	5	1094 - 1155	0,0433	0,9868

Como apresenta a Figura 31, mesmo o intervalo de nº 3 sendo um candidato, não foi observada região espectral em que os valores de RMSECV e R fossem menores que os valores obtidos para o modelo PLS global. Neste caso, a seleção de um intervalo para construção do modelo não é indicado.

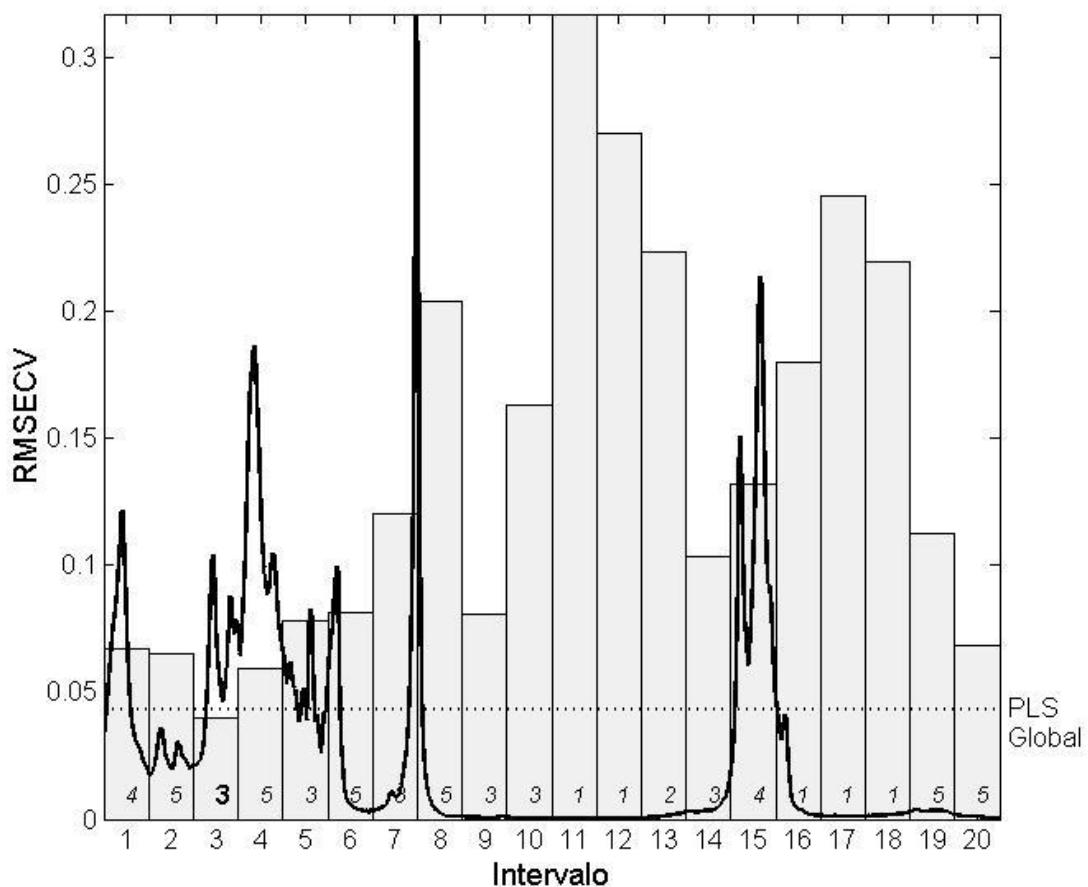


Figura 31. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de óleo residual adulteradas com metanol.

Para construção do modelo PLS utilizou-se 5 VL, com 42 amostras compondo o grupo de calibração e 25 o grupo de previsão. A correlação encontrada entre os dados de referência e os dados calculados pelo modelo foi de 0,991 para o modelo PLS global, conforme mostrado na Figura 32.

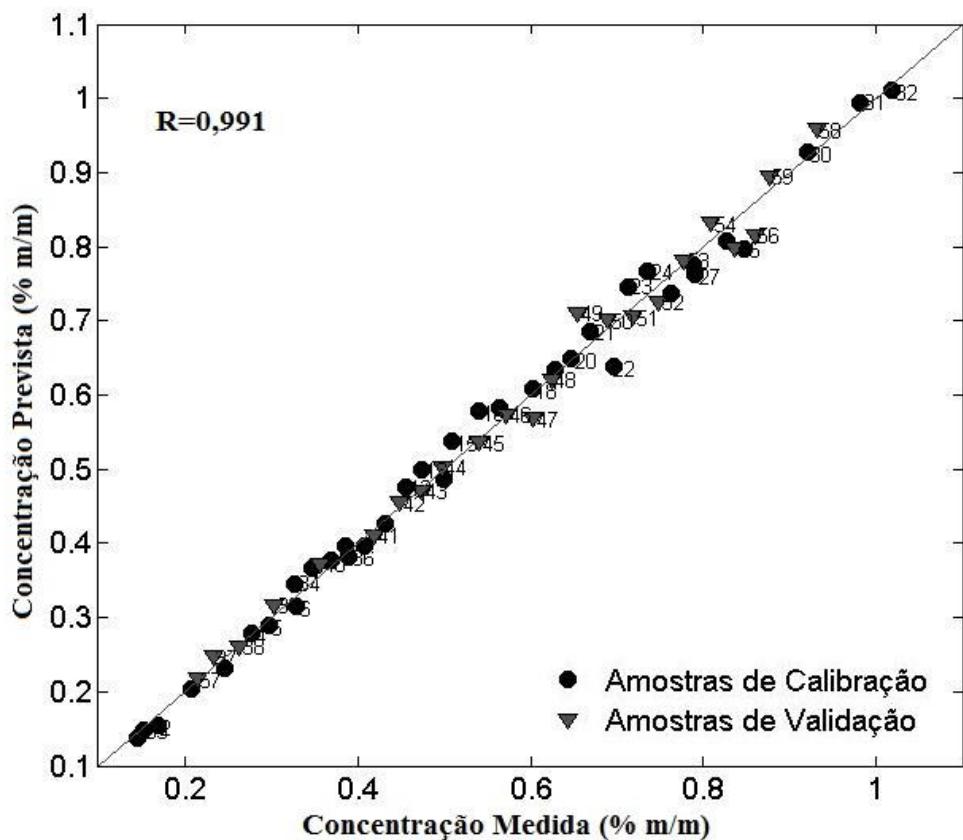


Figura 32. Ajuste do modelo PLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de óleo residual, adulteradas com metanol.

Nenhuma amostra foi considerada anômala por meio da análise dos valores de resíduos não modelados por valores de leverage para um limite de confiança de 95,0% para cada amostra.

O modelo não apresentou erro sistemático, de acordo com o teste-t proposto pela norma ASTM E1655-05, apresentando valores de figuras de mérito aceitáveis, conforme disposto na Tabela 12.

Tabela 12. Valores de Figuras de mérito calculados para modelo PLS para amostras de B100 de biodiesel metílico de soja adulteradas com Metanol.

Figuras de Mérito	Parâmetros	Valores para PLS
Exatidão	RMSEC (%)	0,02
	RMSECV (%)	0,03
	RMSEP (%)	0,02
	EM (%)	2,75
Limite de Detecção		0,0177% (m/m)
Limite de Quantificação		0,0535% (m/m)
Seletividade		0,0563
Sensibilidade		0,2182
Sensibilidade Analitica		186,9008
Inverso da Sensibilidade Analitica		0,0053
Erros Sistemáticos	Bias	0,0021
	Desvio Padrão	0,0222
	Graus de Liberdade	17
	t_{calc}	0,4698
	t_{crit}	2,0687

**CAPÍTULO 6 – ADULTERAÇÃO POR
LUBRIFICANTE RESIDUAL EM DIESEL
COMERCIAL**

6. ADULTERAÇÃO POR LUBRIFICANTE RESIDUAL EM DIESEL COMERCIAL

6.1. Objetivos

Quantificar a presença de óleo lubrificante automotivo residual (OLAR) em amostras de diesel comercial S-10, adulteradas artificialmente na proporção de 1,75 a 30,00% (m/m);

Construir os modelos segundo orientações da norma(ASTM, 2012) ASTM E1655-05 e validar através do cálculo das figuras de mérito, com base no vetor de sinal analítico líquido (NAS) (BRO; ANDERSEN, 2003):(FERRÉ, JOAN; BROWN; RIUS, 2001).

6.2. Metodologia

Para preparação das amostras, utilizou-se Diesel S-10, distribuído por Petróleo Brasileiro S.A. (Petrobrás) e óleo lubrificante automotivo semissintético residual SAE 20W-50, obtido a partir da troca de óleo de automóveis da região de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Foram preparadas 87 amostras de diesel S-10, adulteradas com proporções conhecidas de OLAR, partindo de uma proporção de 1,75% (m/m) de adulterante até uma proporção final de adulteração de 30,0% (m/m). As amostras foram mantidas em repouso por um período de 36 horas, conforme recomendação da ABNT NBR15568 em temperatura ambiente e sob abrigo de incidência de luz.

6.3. Modelo PLS de Quantificação de Óleo Lubrificante Automotivo Residual em Diesel S-10

A distribuição de regiões espectrais geradas pelo iPLS para cada divisão não permitiu observar intervalo espectral em que os valores de RMSECV e R fossem menores que os valores obtidos para o modelo PLS global, como mostrado na Figura 33. Neste caso, a seleção de um intervalo espectral não é indicada.

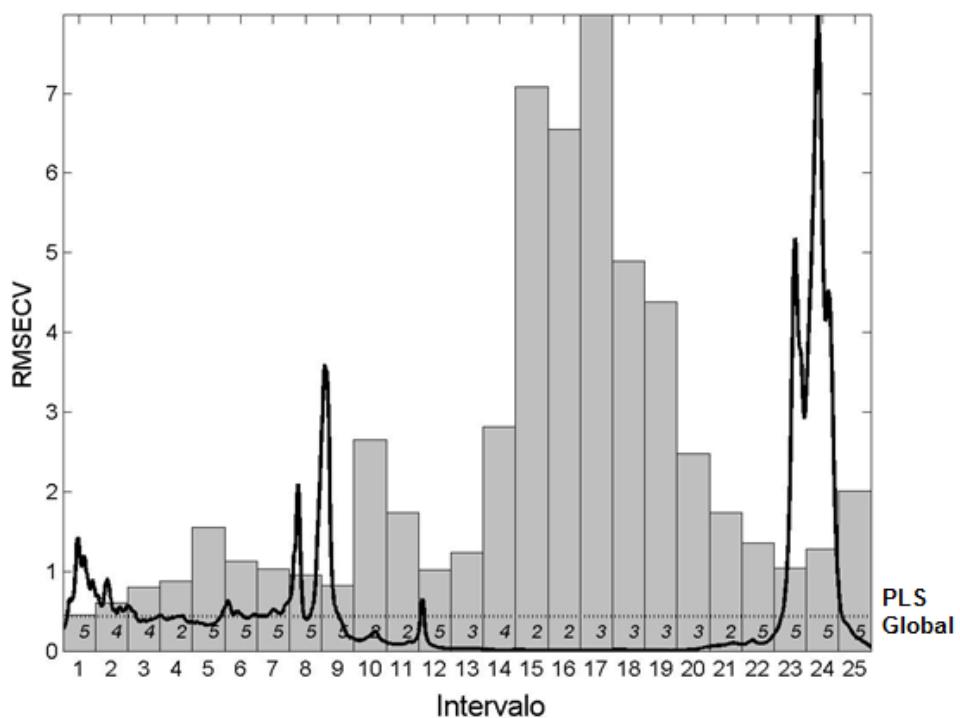


Figura 33. Regiões espectrais geradas pelo iPLS para amostras de diesel S-10 adulteradas com OLAR.

O modelo PLS construído com 5 VL a partir das amostras de diesel S-10 adulteradas com OLAR na proporção de 1,00 a 30,00% (m/m) exibiu valores de RMSEC e RMSECV com magnitude semelhante, conforme exigido na norma ASTM E1655-05, assim como valores de RMSEP maiores que os de RMSEC, não ultrapassando este primeiro 3 vezes o valor de RMSEC.

Nenhuma amostra foi considerada anômalas por meio da análise dos valores de resíduos não modelado por valores de leverage para um limite de confiança de 95,0% para o grupo de calibração, conforme mostra a Figura 34.

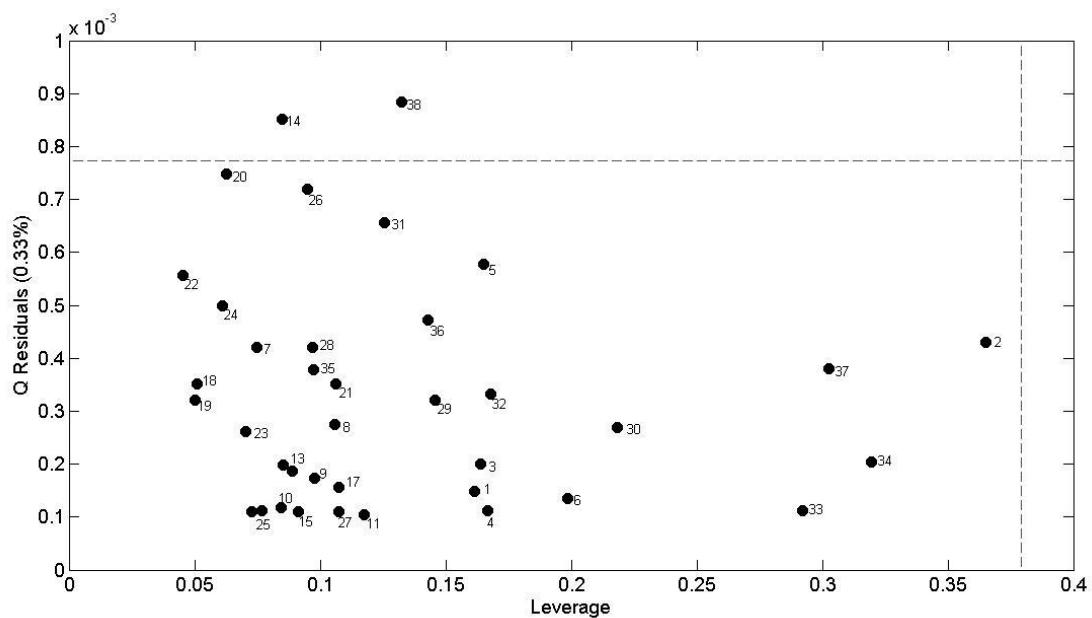


Figura 34. Valores de Q residual contra leverage para o modelo PLS de adulteração por OLAR em amostras de diesel S-10 com 95,0% confiança.

A eficiência de previsão do modelo foi avaliada através da análise dos loading vectors, da detecção de amostras anômalas, dos valores de RMSEC, RMSECV, RMSEP e através da determinação dos coeficientes de correlação (R) para calibração e previsão.

O ajuste dos modelos PLS foi avaliado através da correlação entre os valores reais versus valores previstos do conjunto de previsão. A correlação obtida para o modelo PLS foi de 0,9991, conforme Figura 35.

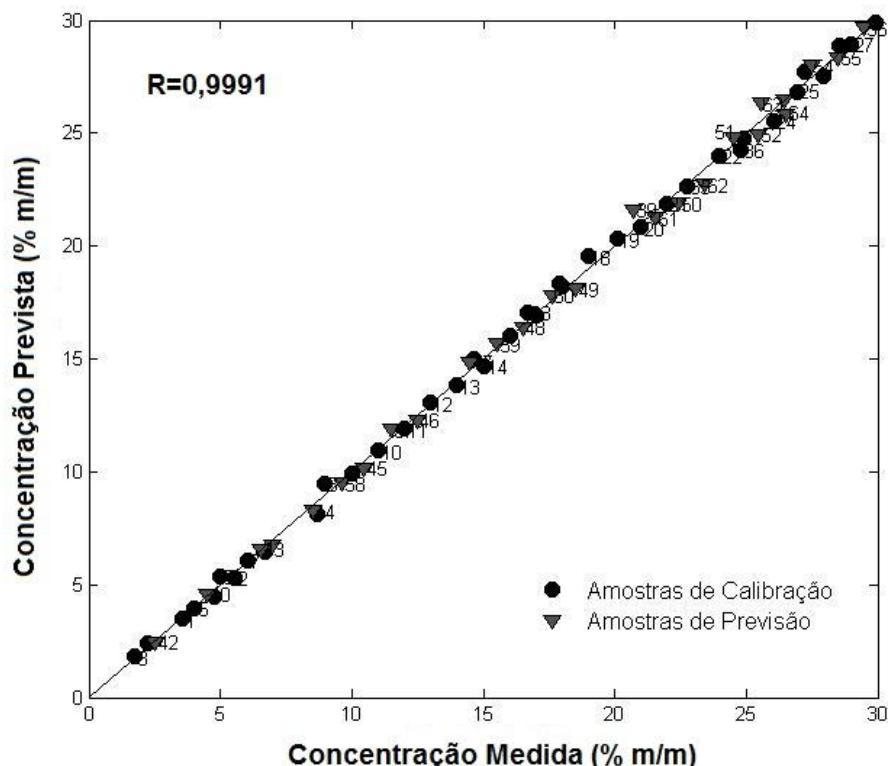


Figura 35. Ajuste do modelo PLS para amostras de diesel S-10 adulteradas por OLAR.

O modelo proposto apresentou valor numérico de sensibilidade 0,076% (m/m), que em parte é decorrência do pré-processamento utilizado. O valor para o inverso da sensibilidade analítica pode ser interpretado de forma mais clara, por sua relação direta com a concentração. Segundo esse valor, o modelo é capaz de distinguir entre amostras com diferença de concentração da ordem de 0,24% (m/m). Já no que se refere à seletividade do modelo, o valor encontrado foi de 0,004. Isso significa que, em média, menos que 0,4% da informação do analito contido no espectro da amostra não é ortogonal aos interferentes. Deve-se ressaltar que esse valor de seletividade não se refere à seletividade no seu significado físico, que é em geral

empregado em Química Analítica. Este indica que cerca de 0,4% do sinal foi retirado na etapa de aniquilação de posto realizado durante o cálculo do NAS.

A existência de erros sistemáticos foi avaliada de acordo com a norma ASTM E1655-05 aplicando o teste t. Em relação aos erros sistemáticos a ASTM E1655-05 sugere o teste-t para avaliar se o “bias” incluso no modelo é significativo. No modelo proposto verifica-se que t_{calc} (0.054) é menor do que t_{crit} (2.055), para o grau de liberdade (GL) igual a 20. Logo, o modelo não apresenta erros sistemáticos, razão pela qual se pode dizer que a construção do modelo apresentado, da fase experimental até o cálculo das figuras de mérito, foi realizada de forma adequada.

A Tabela 14 apresenta os valores de erros e figuras de mérito calculadas para o modelo PLS para amostras de diesel S-10 adulteradas com OLAR.

Tabela 13. Valores de Figuras de Mérito calculados para modelo PLS para amostras de diesel S-10 adulteradas com OLAR.

Figuras de Mérito	Parâmetros	Valores para PLS
Exatidão	RMSEC (%)	0.2796
	RMSECV (%)	0.3650
	RMSEP (%)	0.3963
	EM(%)	3,09
Limite de Detecção		0.1371% (m/m)
Limite de Quantificação		0.4156% (m/m)
Seletividade		0.0046
Sensibilidade		0.0764
Sensibilidade Analítica		24.0627
Inverso da Sensibilidade Analítica		0.0415
Erros Sistemáticos	Bias	0.0040
	Desvio Padrão	0.4041
	Graus de Liberdade	31
	t_{calc}	0.0543
	t_{crit}	2.0390

CONCLUSÕES

No presente trabalho, foram desenvolvidas metodologias baseadas na utilização da técnica de Espectroscopia na região do Infravermelho Médio aliada ao método de calibração multivariada por Quadrados Mínimos Parciais e seleção de variáveis visando à quantificação de adulterações em Biodiesel de soja e óleo residual oriundos das rotas etílica e metílica, assim como em diesel S-10.

O uso de HATR-ZnSe acoplado ao equipamento MIR foi vantajoso, pois possibilitou uma amostragem direta, sem necessidade de pré-tratamento das amostras, análises rápidas, um reduzido volume de amostra gasto, de aproximadamente 0,5mL por amostra.

De acordo com os resultados apresentados, constatou-se que os modelos de calibração por PLS apresentaram valores de erros satisfatórios abaixo de 4,5%, alta linearidade e eficiência na previsão das concentrações de adulterações por alcoóis e óleos presentes nas amostras. Os modelos de calibração com seleção de variáveis por iPLS, quando aplicáveis, apresentaram vantagens em relação aos por PLS uma vez que houve redução do número de Variáveis Latentes e melhora nos parâmetros de eficiência dos modelos, com redução dos valores numéricos de Erro Médio, RMSEC, RMSECV e RMSEP.

Foi possível observar que, nos modelos de adulteração por metanol em biodiesel B100, onde a variação espectral dos valores de absorvância é mínima, a seleção de variáveis não trouxe ganhos consideráveis aos modelos, pois nestes casos a informação de variação de toda a região espectral é importante para previsão da concentração das espécies de interesse, sendo nestes casos, adotado o modelo PLS global.

As metodologias desenvolvidas apresentam como uma alternativa viável, eficiente e promissora no controle de qualidade de Biodiesel, misturas B5 e Diesel S-10, podendo ser adotadas por órgãos de fiscalização como a ANP. Com a seleção de variáveis por iPLS,

vislumbra a possibilidade do desenvolvimento de equipamentos detectores mais simples e portáteis para a análise de combustíveis in situ, no sistema produtivo, transporte e nos próprios postos de abastecimento, tornando a análise mais rápida e economicamente viável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, J. O. et al. Extra virgin (EV) and ordinary (ON) olive oils: distinction and detection of adulteration (EV with ON) as determined by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry and chemometric approaches. **Rapid Commun Mass Spectrom**, v. 24, n. 13, p. 1875-80, Jul 15 2010.

ANDERSEN, A. H. et al. Partial least squares for discrimination in fMRI data. **Magn Reson Imaging**, v. 30, n. 3, p. 446-52, Apr 2012.

ANDRADE, J. M. et al. A review of the main factors influencing the FT-IR-PLS abilities exemplified with petrochemical qualimetric applications. **Talanta**, v. 44, p. 2167–2184, 1997.

ANP. Relatório de produção de biodiesel B100 no período de 2005 a 2013, ANP. Brasil, 2013. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?dw=8739>>. Acesso em: 20/10/2013.

ARAUJO, V. K.; HAMACHER, S.; SCAVARDA, L. F. Economic assessment of biodiesel production from waste frying oils. **Bioresour Technol**, v. 101, n. 12, p. 4415-22, Jun 2010.

ASTM. **Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis. ASTM E1655-05**. ASTM 2012.

BALABIN, R. M.; SMIRNOV, S. V. Variable selection in near-infrared spectroscopy: benchmarking of feature selection methods on biodiesel data. **Anal Chim Acta**, v. 692, n. 1-2, p. 63-72, Apr 29 2011.

Balanço Energético Nacional 2013. ENERGÉTICA, E. D. P. e AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, G. N. E. B. Brasil 2013.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. 25 ANOS DE QUIMIOMETRIA NO BRASIL. **Quim. Nova**, v. 29, n. 6, p. 1401 - 1406, 2006.

BERGMANN, J. C. et al. Biodiesel production in Brazil and alternative biomass feedstocks. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 21, p. 411-420, 2013.

Biodiesel – Determinação da concentração de metanol e/ou etanol por cromatografia gasosa. ABNT NBR 15343. TÉCNICAS, A. B. D. N. E. Brasil. ABNT NBR 15343 2009.

Biosiesel - Determination of biodiesel content in diesel fuel oil by mid infrared spectroscopy. Brasil 2008.

Boletim Mensal do Biodiesel. ANP e SUPERINTENDÊNCIA DE REFINO, P. D. G. N. E. P. D. B. Brasil 2013.

BORGES, J. L. B. Avaliação de Desempenho de um motor de ciclo Diesel alimentado por misturas ternárias de biocombustíveis contendo biodiesel, Etanol e óleo vegetal. 2009.

(Mestrado). Pós Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

BORGES NETO, W. **Parametros de qualidade de lubrificantes e óleo de oliva através de espectroscopia vibracional, calibração multivariada e seleção de variáveis.** 2005. (Doutorado). Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.

BRO, R.; ANDERSEN, C. M. Theory of net analyte signal vectors in inverse regression. **J. Chemometrics**, v. 17, p. 646 - 652, 2003.

BRUNS, R. E.; FAIGLE, J. F. G. Quimiometria. **Quim. Nova**, v. 7, p. 85 - 99, 1985.

CAVALETT, O.; ORTEGA, E. Integrated environmental assessment of biodiesel production from soybean in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, v. 18, n. 1, p. 55-70, 2010.

CENPES. **Manual Técnico Diesel S-10.** Petrobrás - BR. 2012

COATES, J. **Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach, Encyclopedia of Anal. Chem.** Chichester: John Wiley & Sons Inc., 2000.

CUNHA, M. P. D. **Avaliação Socioeconômica e Ambiental de Rotas de Produção de Biodiesel no Brasil.** 2011. 244 FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA
COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

DE LIRA, L. F. B. et al. Infrared spectroscopy and multivariate calibration to monitor stability quality parameters of biodiesel. **Microchemical Journal**, v. 96, n. 1, p. 126-131, 2010.

DE VASCONCELOS, F. V. et al. Using near-infrared overtone regions to determine biodiesel content and adulteration of diesel/biodiesel blends with vegetable oils. **Anal Chim Acta**, v. 716, p. 101-7, Feb 24 2012.

ESCANDAR, G. M. et al. Second- and third-order multivariate calibration: data, algorithms and applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 7, p. 752-765, 2007.

FABER, K.; KOWALSKI, B. R. Net Analyte Signal Calculation in Multivariate Calibration. **Anal. Chem.**, v. 69, p. 1620-1626, 1997.

FERNANDES, D. D. et al. Determination of biodiesel content in biodiesel/diesel blends using NIR and visible spectroscopy with variable selection. **Talanta**, v. 87, p. 30-4, Dec 15 2011.

FERRÉ, J. et al. Figures of merit in multivariate calibration. Determination of four pesticides in water by flow injection analysis and spectrophotometric detection **Analytica Chimica Acta** v. 348, p. 167 - 175, 1997 1997.

FERRÉ, J.; BROWN, S. D.; RIUS, F. X. Improved calculation of the net analyte signal in inverse multivariate calibration. **Journal of Chemometrics**, v. 15, n. 6, p. 537-553, 2001.

FERREIRA, M. M. C. et al. Quimiometria I: Calibração Multivariada, um Tutorial. **Quim. Nova**, v. 22, n. 5, p. 724 - 731, 1999.

FILGUEIRAS, P. R. **Determinação da composição de blends de petróleos utilizando FTIR-ATR e Calibração Multivariada**. 2011. 113 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brasil.

Fiscalização do Abastecimento em Notícias - Balanço anual 2012. AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, G. N. E. B. e SFI, S. D. F. D. A.-. Brasil 2012.

FORINA, M.; LANTERI, S.; CASALE, M. Multivariate calibration. **J Chromatogr A**, v. 1158, n. 1-2, p. 61-93, Jul 27 2007.

FRANCESQUETT, J. Z. et al. Modelos de regressão multivariada empregando seleção de intervalos para a quantificação do biodiesel em blendas biodiesel/diesel **TECNO-LÓGICA**, v. 14, p. 87 - 92, 2010.

GAYDOU, V.; KISTER, J.; DUPUY, N. Evaluation of multiblock NIR/MIR PLS predictive models to detect adulteration of diesel/biodiesel blends by vegetal oil. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 106, n. 2, p. 190-197, 2011.

GONTIJO, L. C. et al. Quantification of soybean biodiesels in diesel blends according to ASTM E1655 using mid-infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Fuel**, v. 117, p. 1111-1114, 2014.

HOEKMAN, S. K. et al. Review of biodiesel composition, properties, and specifications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 143 - 169, 2012.

HOSKULDSSON, A. Variable and subset selection in PLS regression. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 55, p. 23 - 38, 2001.

INMETRO. DOQ-CGC-008, ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE ENSAIOS QUÍMICOS 2007.

ÍÑÓN, F. A.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. Nutritional parameters of commercially available milk samples by FTIR and chemometric techniques. **Analytica Chimica Acta**, v. 513, n. 2, p. 401-412, 2004.

JONG, S. T. SIMPLS: an alternative approach to partial least squares regression **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 18, p. 251 - 263, 1993.

KARTHEEK, M. et al. Determination of Adulterants in Food: A Review. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 2, p. 629 - 636, 2011.

LEI Nº 9.478, DE 06 DE AGOSTO DE 1997. Brasil: Conselho Nacional de Política Energética e a Agência Nacional do Petróleo 1997.

LEI Nº 11.097, DE 13 DE JANEIRO DE 2005. Brasil: República Federativa do Brasil 2005.

- LORBER, A.; FABER, K.; KOWALSKI, B. R. Net Analyte Signal Calculation in Multivariate Calibration. **Anal. Chem.**, v. 69, p. 1620-1626, 1997.
- MANDOLESI DE ARAÚJO, C. D. et al. Biodiesel production from used cooking oil: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 445-452, 2013.
- MARBACH, R.; HEISE, H. M. Calibration Modeling by Partial Least-Squares and Principal Component Regression and its Optimization Using an Improved Leverage Correction for Prediction Testing. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 9, n. 45 - 63, 1990.
- MARTENS, H.; NAES, T. **Multivariate calibration**. New York: Wiley, 1996.
- MEDRANO, M. F. **Avaliação da Sustentabilidade do Biodiesel de Soja no Brasil**. 2007. 98 (Mestrado). Centro de Desenvolvimento Sustentável, Universidade de Brasília, Brasília, DF.
- MEHMOOD, T. et al. A review of variable selection methods in Partial Least Squares Regression. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 118, p. 62-69, 2012.
- MILDNER-SZKUDLARZ, S.; JELEN, H. H. The potential of different techniques for volatile compounds analysis coupled with PCA for the detection of the adulteration of olive oil with hazelnut oil. **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 751-761, 2008.
- MOURAD, A. L. **Avaliação da Cadeia Produtiva de biodiesel a partir da Soja**. 2008. 123 (Doutorado). Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- MULLER, A. L. et al. Total sulfur determination in residues of crude oil distillation using FT-IR/ATR and variable selection methods. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v. 89, p. 82-7, Apr 2012.
- MÜLLER, A. L. H. et al. Attenuated Total Reflectance with Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR/FTIR) and Different PLS Algorithms for Simultaneous Determination of Clavulanic Acid and Amoxicillin in Powder Pharmaceutical Formulation. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. Vol. 22, n. No. 10, p. 1903-1912, 2011.
- NICOLAI, B. M. et al. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR Spectroscopy: A review. **Postharvest Biology and Technology** v. 46, p. 99 - 118, 2007.
- PEREIRA, A. F. C. et al. NIR spectrometric determination of quality parameters in vegetable oils using iPLS and variable selection. **Food Research International**, v. 41, n. 4, p. 341-348, 2008.
- POSSI, R. J.; BRAGA, J. W.; VALDERRAMA, P. ESTADO DA ARTE DE FIGURAS DE MÉRITO EM CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA. **Quim. Nova**, v. Vol. 32, n. No. 5, p. 1278-1287, 2009a.
- POSSI, R. J.; BRAGA, J. W. B.; VALDERRAMA, P. State of the Art of Figures of Merit in Multivariate Calibration. **Quim. Nova**, v. Vol. 32, n. No. 5, p. 1278-1287, 2009b.

QUIÑONES-ISLAS, N. et al. Detection of adulterants in avocado oil by Mid-FTIR spectroscopy and multivariate analysis. **Food Research International**, v. 51, p. 148 - 154, 2013.

RESOLUÇÃO ANP Nº 14. Brasil: AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. RANP 14/2012 2012.

RESOLUÇÃO ANP Nº 25. Brasil: Agência Nacional de Petróleo Gás natural e Biocombustíveis 2008.

RESOLUÇÃO ANP Nº 42. Brasil: AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS 2010.

ROCHA, W. F.; NOGUEIRA, R.; VAZ, B. G. Validation of model of multivariate calibration: an application to the determination of biodiesel blend levels in diesel by near-infrared spectroscopy. **Journal of Chemometrics**, v. 26, n. 8-9, p. 456-461, 2012.

ROHMAN, A.; CHE MAN, Y. B. The use of Fourier transform mid infrared (FT-MIR) spectroscopy for detection and quantification of adulteration in virgin coconut oil. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 583-588, 2011.

SANTOS, P. M.; PEREIRA-FILHO, E. R.; RODRIGUEZ-SAONA, L. E. Rapid detection and quantification of milk adulteration using infrared microspectroscopy and chemometrics analysis. **Food Chem**, v. 138, n. 1, p. 19-24, May 1 2013.

SCHRADER, B. **Infrared and Raman Spectroscopy: methods and applications**. Weinheim: VCH, 1995.

SILVA, M. A. et al. Development and analytical validation of a multivariate calibration method for determination of amoxicillin in suspension formulations by near infrared spectroscopy. **Talanta**, v. 89, p. 342-51, Jan 30 2012.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. New Jersey: John Wiley and Sons Inc., 2005.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. São Paulo: Bookman, 2002.

SOUZA, S. S. et al. Monitoring the authenticity of Brazilian UHT milk: A chemometric approach. **Food Chemistry**, v. 124, n. 2, p. 692-695, 2011.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. The International Harmonized Protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 78, n. 1, p. 145-196, 2006.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W.; POPPI, R. J. Variable Selection, Outlier Detection, and Figures of Merit Estimation in a Partial Least-Squares Regression Multivariate Calibration Model. A Case Study for the Determination of Quality Parameters in the Alcohol Industry by Near-Infrared Spectroscopy. **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 8331–8338, 2007.

VIANNA, F. C. **Análise de Ecoeficiência: Avaliação do Desempenho Econômico-Ambiental do Biodiesel e Petrodiesel.** 2006. 205 (Mestrado). Departamento de Engenharia Química, Universidade de São Paulo, Brasil.

WOLD, S.; SJOSTROM, M.; ERIKSSON, L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 58, p. 109–130, 2001.

ZHANG, W.-B. Review on analysis of biodiesel with infrared spectroscopy. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 8, p. 6048-6058, 2012.