

Artigo

Aplicação das Figuras de Mérito Multivariadas na Validação de Metodologias em Análises de Biocombustíveis empregando Espectroscopia no Infravermelho Médio e PLS

Guimarães, E.;* Santana, F. B.; Gontijo, L. C.; Mitsutake, H.; Santos, D. Q.; Borges Neto, W.

Rev. Virtual Quim., 2015, 7 (6), 2242-2254. Data de publicação na Web: 20 de agosto de 2015

<http://www.uff.br/rvq>

Application of Figures of Merit in Multivariate Methods Validation Biofuels Analysis using Middle Infrared Spectroscopy and PLS

Abstract: This paper aimed to apply the multivariate figures of merit to validate methodologies of quantification in biofuels analysis using mid-infrared (MIR) spectroscopy and multivariate calibration by partial least squares (PLS). This study validated PLS models to quantify methanol in methyl biodiesel produced from used frying oil (B100) in the concentration range from 0.14 to 1.00% (w/w) and quantify used frying oil in mixture B5 (5% biodiesel and 95% diesel) in the range from 1.00 to 30.00% (w/w). The methodologies were validated through the multivariate figures of merit accuracy, linearity, selectivity, sensitivity, analytical sensitivity, signal-noise rate, test for systematic errors, limit of detection and quantification, confidence interval and confidence ellipse. The results obtained were satisfactory, with values of root mean square error of prediction (RMSEP) below 0.17% (w/w) and mean relative error below 2.80% (w/w). The good correlation between actual values of concentration and predicted values by PLS models was verified through of correlation coefficients (R) above 0.99. The absence of systematic errors was by Student test, as established by ASTM E1655-05 standard. The other figures of merit also obtained excellent results, indicating that the methodologies developed in this paper can be implemented in the quality control of these fuels in relation to adulteration with methanol and used frying oil.

Keywords: Biodiesel; adulteration; infrared spectroscopy; multivariate calibration; PLS; analytical validation.

Resumo

Este trabalho teve por objetivo a aplicação de figuras de mérito multivariadas para validar metodologias de análises de controle de qualidade de biocombustíveis empregando espectroscopia no infravermelho médio (MIR) e calibração multivariada por quadrados mínimos parciais (PLS). Os modelos PLS foram construídos para quantificar metanol em biodiesel metílico produzido a partir de óleo de fritura usado (B100), na faixa de concentração de 0,14 a 1,00% (m/m) e quantificar óleo de fritura usado em mistura B5 (5% de biodiesel e 95% de diesel) na faixa de 1,00 a 30,00% (m/m). As metodologias foram validadas através das figuras de mérito multivariadas como exatidão, linearidade, seletividade, sensibilidade, sensibilidade analítica, razão sinal-ruído, teste para erro sistemático, limites de detecção e quantificação, intervalo de confiança e elipse de confiança. Os resultados obtidos foram satisfatórios, com valores de erro quadrático médio de previsão (RMSEP) abaixo de 0,17% (m/m) e erro médio relativo abaixo de 2,80% (m/m). A boa correlação entre os valores reais de concentração e os valores previstos pelos modelos PLS foi verificada através dos coeficientes de correlação ($R > 0,99$). A ausência de erros sistemáticos foi avaliada através do teste t-Student, conforme estabelecido pela norma ASTM E1655-05. As demais figuras de mérito apresentaram excelentes resultados indicando que as metodologias desenvolvidas empregando MIR e PLS podem ser implementadas no controle de qualidade destes combustíveis em relação às adulterações com metanol e óleo de fritura usado.

Palavras-chave: Biodiesel; adulteração; espectroscopia no infravermelho; calibração multivariada; PLS; validação analítica.

* Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Química, Campus Santa Mônica, CEP 38408-100, Uberlândia-MG, Brasil.

 eloizamestrado@hotmail.com

DOI: [10.5935/1984-6835.20150133](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150133)

Aplicação das Figuras de Mérito Multivariadas na Validação de Metodologias em Análises de Biocombustíveis empregando Espectroscopia no Infravermelho Médio e PLS

Eloiza Guimarães,^{a,*} Felipe B. Santana,^a Lucas C. Gontijo,^{a,b} Hery Mitsutake,^a Douglas Q. Santos,^c Waldomiro Borges Neto^a

^a Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Química, Campus Santa Mônica, CEP 38408-100, Uberlândia-MG, Brasil.

^b Instituto Federal Goiano de Educação, Ciências e Tecnologia, Rodovia Geraldo Silva Nascimento, km 2.5, CEP 75790-000, Urutaí-GO, Brasil.

^c Universidade Federal de Uberlândia, Escola Técnica de Saúde, Campus Umuarama, CEP 38400-902 Uberlândia-MG, Brasil.

* eloizamestrado@hotmail.com

Recebido em 10 de fevereiro de 2015. Aceito para publicação em 19 de agosto de 2015

1. Introdução

2. Parte Experimental

2.1. Produção de Biodiesel

2.2. Preparo de Amostras

2.3. Aquisição de Espectros

2.4. Análise Quimiométrica

3. Resultados e Discussão

4. Conclusão

1. Introdução

O biodiesel vem se destacando por ser um substituto ao diesel, uma vez que apresenta alto rendimento energético e contém quantidades insignificantes de enxofre. Além disso, este combustível pode ser misturado ao óleo diesel sem necessitar de alterações nos motores.^{1,2} No entanto, durante a sua produção pode ser encontrado excesso do álcool produto este indesejável para a

qualidade do biodiesel. Por outro lado, pode ocorrer adulteração pela adição fraudulenta de materiais miscíveis e com menor valor comercial como óleos vegetais. Portanto, em ambos casos, torna-se crucial o controle analítico desse combustível em sua forma pura ou em mistura com diesel.

A maioria do biodiesel produzido mundialmente é oriundo de óleos vegetais, destacando-se a soja. No entanto, um dos principais obstáculos na produção de biodiesel proveniente de óleos vegetais

refinados é o alto custo da matéria-prima chegando a 70% do custo de produção.² Assim, é projetado um aumento no uso de outras matérias-primas para a produção desse biocombustível, destacando-se o sebo bovino e óleo de fritura usado.³ O volume de óleo de fritura atualmente utilizado ainda não representa o potencial desta matéria-prima que é, em sua maioria, descartada na rede de esgotos. Devido a sua baixa solubilidade em água, o óleo residual constitui um fator negativo para o meio ambiente no que se refere à sua degradação em unidades de tratamento de esgotos por processos biológicos e, quando presente em mananciais utilizados para abastecimento público, causa problemas no tratamento de água.⁴ Portanto, a produção de biocombustível a partir deste resíduo poderá trazer inúmeros benefícios para a sociedade pois reduz problemas relacionados ao seu descarte e seu aproveitamento diminui o custo quanto à matéria-prima.⁵ Assim, a produção⁶ e adição deste tipo de biodiesel ao diesel já é uma realidade. No caso do Brasil, é exigido por lei a adição de 7% de biodiesel ao diesel.⁷ No entanto muitos países como Chile, Equador, Fiji, Malásia, Tailândia, África do Sul e alguns países da União Europeia, continuam adotando a mistura B5.^{8,9} Assim, necessita-se realizar estudos sobre o controle da qualidade desse tipo de biocombustível.

A transesterificação de triglicerídeos é uma das rotas mais empregadas para produção do biodiesel e ocorre na presença de álcoois de cadeia curta, destacando-se o metanol, e de um catalisador ácido ou básico.¹⁰ De acordo com a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), a quantidade máxima de metanol no biodiesel puro (B100) é de 0,20% (m/m).¹¹ Este é um importante parâmetro de qualidade pois esta quantidade máxima visa controlar o ponto de fulgor e evitar corrosão nos motores.¹² Diversos estudos visando a quantificação de metanol são encontrados na literatura.¹²⁻¹⁵ Entre estes estudos, destacam-se Felizardo *et al.*¹² que usou a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) aliada a regressão por componentes principais (PCR) e por quadrados mínimos

parciais (PLS) para quantificar água e metanol em biodieseis de óleo de soja, palma e residual e Paraschivescu *et al.*¹³ que quantificaram metanol em biodiesel, na faixa de 0,0057 a 2,27% (m/m) empregando cromatografia gasosa.

Por outro lado, além de resíduos de álcoois pode ocorrer a adulteração de misturas biodiesel/diesel por óleos vegetais mais baratos devido às semelhanças entre as propriedades físico-químicas desta mistura e dos óleos vegetais.^{16,17,18} Esse tipo de adulteração pode causar: deposição de carbono, entupimento na bomba de injeção, aumento de viscosidade, dentre outros problemas, gerando danos aos motores dos automóveis e prejuízos financeiros ao consumidor.¹⁹ Dentre as metodologias propostas para a quantificação deste tipo de adulteração podemos destacar: Brandão *et al.*¹⁶ que aplicaram a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção ótica na região do ultravioleta associada a métodos quimiométricos de análise de componentes principais (PCA), k-vizinho mais próximo (KNN) e PLS para quantificar óleos de soja, milho, algodão, de fritura, óleo de palma e de babaçu em misturas com diesel. E, Soares *et al.*¹⁹ que empregaram a espectroscopia no infravermelho médio (MIR) aliada ao PLS e seleção de variáveis para quantificar óleo de soja na faixa de 1-40% (v/v) em diversos tipos de biodieseis.

Embora haja uma quantidade considerável de trabalhos envolvendo a quantificação de álcoois em biodiesel e óleos vegetais ou residuais como adulterantes em misturas biodiesel/diesel utilizando a espectroscopia no NIR e MIR aliada a métodos quimiométricos,^{12,17,19-22} várias metodologias foram validadas por meio de valores de R, RMSEs, erros médios e valores de inclinação e intercepto dos gráficos de valores reais versus valores previstos. Não encontrou-se na literatura trabalhos para esse tipo de metodologia envolvendo as figuras de mérito sensibilidade, sensibilidade analítica, razão sinal/ruído, seletividade, limite de detecção e quantificação para dados de primeira ordem. No entanto, com o

desenvolvimento do conceito do sinal analítico líquido (NAS), recomendado pela União Internacional da Química Pura e Aplicada (IUPAC)²³ torna-se necessário uma avaliação destas figuras de mérito (FOM) em modelos de calibração multivariada para análises de biocombustíveis. A validação através das FOM é uma importante etapa, pois através dela é possível atribuir a confiabilidade da metodologia desenvolvida.²³ Na literatura encontram-se validações de metodologias baseadas no infravermelho e PLS para quantificação de biodiesel em misturas biodiesel/diesel,²⁴ princípios ativos em medicamentos,^{25,26} etanol em óleo lubrificante,²⁷ ácidos graxos livres em óleo de oliva,²⁸ e açúcares (totais, polarizáveis e redutores) em caldo de cana de açúcar.²⁹

Assim, esse trabalho teve por objetivo aplicar as figuras de mérito multivariadas para validar metodologias empregando infravermelho médio (MIR) e regressão por quadrados mínimos parciais (PLS) para a quantificação de: (i) óleo de fritura usado como adulterante em mistura biodiesel/diesel B5 (BMR₅) e (ii) metanol em biodiesel metílico proveniente de óleo fritura usado (BMR₁₀₀).

2. Parte Experimental

2.1. Produção de Biodiesel

O diesel puro utilizado no preparo de amostras foi cedido pela Transpetro S/A localizada em Uberlândia, estado de Minas Gerais, Brasil. O óleo de fritura usado, matéria-prima empregada na síntese do biodiesel, foi adquirido em residências e restaurantes locais. Primeiramente foi feita uma filtração do óleo de fritura usado. O biodiesel foi sintetizado na razão de massa 5:1 (óleo/metanol). O catalisador utilizado foi o hidróxido de potássio na proporção de 1%. O tempo de reação foi de aproximadamente 80 minutos e conduzida a temperatura

ambiente (25 °C ± 2). Após o tempo de reação, a mistura reacional foi deixada em repouso até a separação de fases; a fase glicerínica foi removida e o biodiesel lavado com água quente (aproximadamente 80 °C) para retirada das impurezas. A etapa de secagem do biodiesel foi realizada empregando evaporador rotativo por 1 hora a 82 rpm e 80 °C.

2.2. Preparo de Amostras

As misturas B5 foram preparadas adicionando-se biodiesel ao diesel (95% de diesel e 5% de biodiesel). A estas misturas adicionou-se a massa correspondente de óleo de fritura usado em concentrações que variaram de 1,00% a 30,00% (m/m), tais amostras foram denominadas de BMR₅. Foram utilizadas 38 amostras no conjunto de calibração e 24 no conjunto de validação. Para as adulterações do biodiesel B100 com metanol, adicionou-se a massa correspondente de adulterante na faixa de 0,14% a 1,00% (m/m), tais amostras foram denominadas de BMR₁₀₀. Para este modelo, foram preparadas 36 amostras para o conjunto de calibração e 23 para o conjunto de validação.

2.3. Aquisição dos Espectros

Os espectros foram obtidos em quintuplicata na região entre 600 e 4000 cm⁻¹ em equipamento Perkin Elmer Spectrum Two usando acessório horizontal de Reflectância Total Atenuada (ATR) formado de cristal de ZnSe (Pike Technologies), resolução 4 cm⁻¹ e 16 varreduras. A correção dos espectros foi feita através do método *baseline* empregando as faixas de 1850–2570 cm⁻¹ e 3600–4000 cm⁻¹.

As curvas de calibração foram construídas através da regressão por quadrados mínimos parciais (PLS) utilizando Matlab 6.1 (The Mathworks Inc., Natick, MA, USA) e

PLS_Toolbox 3.5 (Eigenvector Research Inc., Wenatchee, WA, USA).

2.4. Análise Quimiométrica

A validação das metodologias foi desenvolvida através dos cálculos das seguintes FOM: exatidão (erro relativo e erros quadráticos médios de calibração - RMSEC, validação cruzada - RMSECV, previsão - RMSEP e elipse de confiança), seletividade (SEL), sensibilidade (SEN), sensibilidade analítica (γ), linearidade, intervalo de confiança, bias, limites de detecção e quantificação (LOD e LOQ, respectivamente) e razão sinal/ruído (S/R).

Os cálculos para a obtenção das FOM seletividade, sensibilidade, γ , linearidade, LOD, LOQ, e S/R estão bem descritos na literatura,^{24-26,29,30} e portanto, não serão detalhados. A avaliação da exatidão por meio dos erros quadráticos incorpora tanto os erros sistemáticos quanto aleatórios, enquanto a elipse de confiança (EJCR) é livre dos erros sistemáticos.^{31,32} Nesse método, o intercepto e a inclinação do gráfico dos valores reais versus valores previstos são comparados com valores ideais (0 e 1, respectivamente), onde o limite da elipse é determinado em relação a magnitude dos erros experimentais e grau de confiança escolhido, de acordo com a Eq. 1 no conjunto de validação.^{28,33}

$$n(b - \beta)^2 + 2(\sum y_i)(b - \beta)(a - \alpha) + \sum y_i^2 (a - \alpha)^2 = 2s^2 F_{2,d} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde n é o número de amostras, y_i são as concentrações reais, s^2 é a variância da regressão e $F_{2,d}$ é o nível crítico de F com 2 e $d=n-2$ graus de liberdade a um dado nível de confiança, que, neste trabalho, foi de 95%.

A presença de erro sistemático e os intervalos de confiança foram avaliados segundo descrito na norma ASTM E1655-05.³⁴ O bias médio foi calculado a partir do conjunto de validação, através da Eq. 2.

$$\text{bias} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i) \quad \text{Eq. 2}$$

Onde \hat{y}_i são os valores previstos. A partir desse valor de bias obtido, calcula-se o desvio padrão de validação (SDV), e por último é calculado o valor de t , utilizando as Eqs. 3 e 4, respectivamente.

$$\text{SDV} = \sqrt{\frac{\sum[(\hat{y}_i - y_i) - \text{bias}]^2}{n-1}} \quad \text{Eq. 3}$$

$$t = \frac{|\text{bias}| - \sqrt{n}}{\text{SDV}} \quad \text{Eq. 4}$$

O valor de t calculado é comparado ao valor de t crítico de Student a 95% de confiança e n graus de liberdade.

Para calcular o intervalo de confiança, primeiro estima-se o erro padrão de calibração (SEC) através da Eq. 5.

$$\text{SEC} = \sqrt{\frac{(\hat{y} - y)^t (\hat{y} - y)}{d}} \quad \text{Eq. 5}$$

Onde d é o grau de liberdade dado por $n_1 - k - 1$, onde n_1 é o número de amostras do conjunto de calibração, k é o número de variáveis latentes do modelo, \hat{y} é o valor estimado para as amostras de calibração e y são os valores reais.

A partir do valor de SEC, o intervalo de confiança (IC) para cada amostra é dado pela Eq. 6.

$$\text{IC} = \hat{y} \pm t_c \times \text{SEC} \times \sqrt{1 + h} \quad \text{Eq. 6}$$

Onde t_c é o valor de t de Student a 95% de confiança para $n_1 - k - 1$ graus de liberdade, e h

é o valor de leverage para a amostra.³⁴

3. Resultados e Discussão

A Figura 1 apresenta os espectros de infravermelho médio obtidos das amostras preparadas no conjunto de calibração e validação para (a) misturas B5 adulteradas com óleo residual e (b) biodiesel metílico residual adulterado com metanol. Analisando os espectros da Figura 1(a), as regiões de

maior variação são a região da impressão digital, correspondente aos números de onda compreendidos entre 1165 cm^{-1} e 1265 cm^{-1} , e a região das vibrações das ligações C=O (grupo carbonila) que ocorrem entre 1735 cm^{-1} e 1750 cm^{-1} . Já na Figura 1(b) observa-se como destaque uma pequena variação (banda larga e de baixa intensidade) que ocorre na região de 3100 a 3600 cm^{-1} referente as vibrações de deformação axial dos grupos OH resultantes da adulteração com álcool.

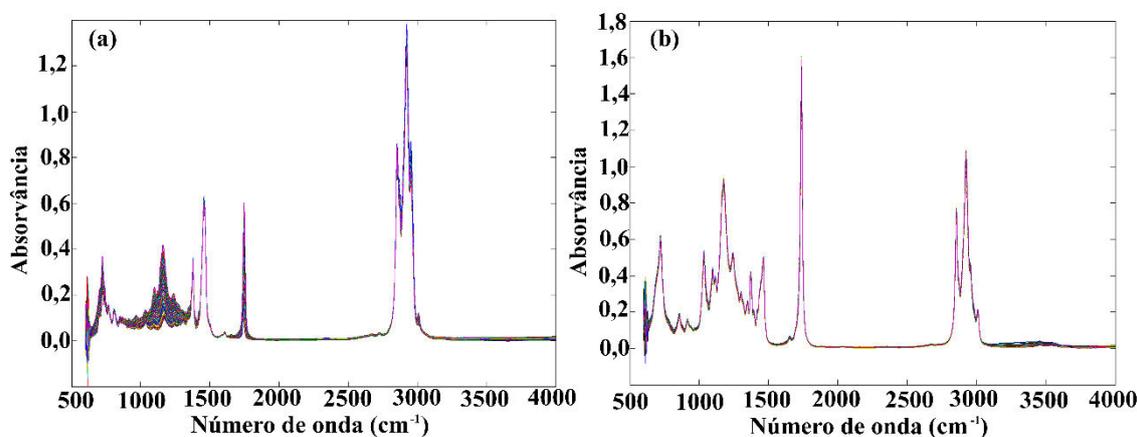


Figura 1. Espectros MIR das amostras preparadas. (a) misturas B5 adulteradas com óleo de fritura usado (BMR_5) na faixa de concentração de 1,0 a 30,0% (m/m) e (b) biodiesel metílico residual adulterado com metanol (BMR_{100}) na faixa de concentração de 0,14 a 1,0% (m/m).

Na construção dos modelos PLS a escolha das variáveis latentes (VLs) foi baseada no gráfico dos valores de RMSECV versus o número de variáveis latentes (Figura 2) em comparação conjunta com a variância capturada nos blocos **X** e **Y** (Tabela 1). Tanto para o modelo PLS que quantifica óleo de fritura usado em mistura B5 quanto no modelo que quantifica metanol em B100 foram utilizadas 5 VLs. De acordo com a

norma ASTM E1655-05, o número de amostras de calibração e de validação devem ser iguais a $6(k+1)$ e $4k$, respectivamente, onde k é igual ao número de variáveis latentes escolhidas para construção dos modelos PLS.³⁴ Portanto, de acordo com o número de amostras usados na construção dos modelos apresentados na Tabela 1, verifica-se que ambos atendem as exigências desta norma.

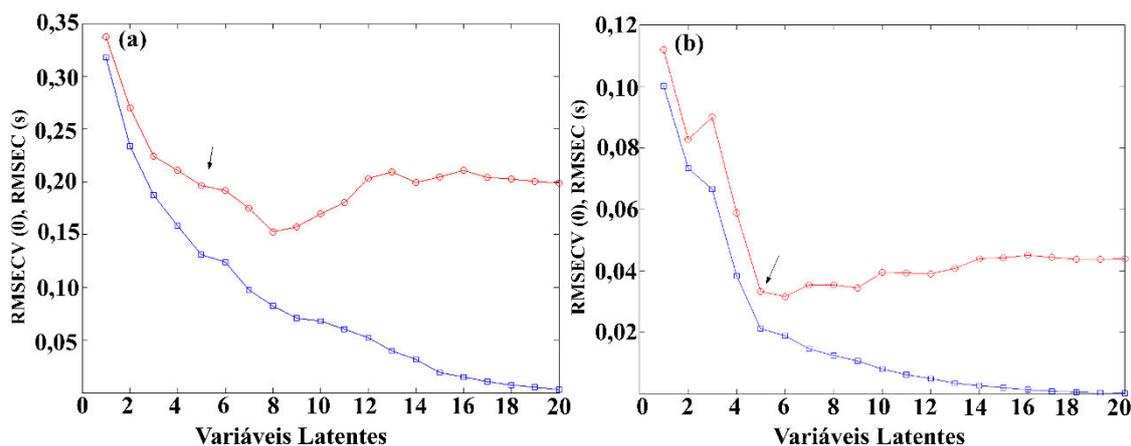


Figura 2. Gráfico de RMSECV versus número de variáveis latentes para os modelos PLS. (a) BMR₅ e (b) BMR₁₀₀

Tabela 1. Número de amostras nos conjuntos de calibração e previsão, VL e variância capturada para os modelos BMR₁₀₀ e BMR₅

MODELO	BMR ₁₀₀	BMR ₅
Número de amostras no conjunto de calibração	36 (36)*	38 (36)*
Número de amostras no conjunto de previsão	23 (20)*	24 (20)*
VL	5	5
Variância capturada em X %	97,84	99,94
Variância capturada em Y %	99,22	99,98

* os valores entre parênteses referem-se aos números de amostras exigidas pela norma ASTM E1655-05

Em relação à linearidade dos modelos PLS uma das formas de avaliar é através da verificação do ajuste do modelo a partir do valor do coeficiente de correlação (R) obtido entre os valores reais versus os valores previstos. Assim, observa-se na Figura 3 que os coeficientes de correlação apresentaram excelentes resultados ($R > 0,99$). A outra possibilidade é através da distribuição

aleatória dos erros absolutos das amostras, porém é apenas uma avaliação qualitativa. A Figura 4 apresenta a distribuição aleatória dos erros, demonstrando a ausência de tendências, desvios de linearidades, amostras atípicas ou erros correlacionados.^{25,27,35} Portanto, com base no ajuste e na distribuição aleatória dos erros os modelos PLS construídos são considerados lineares.

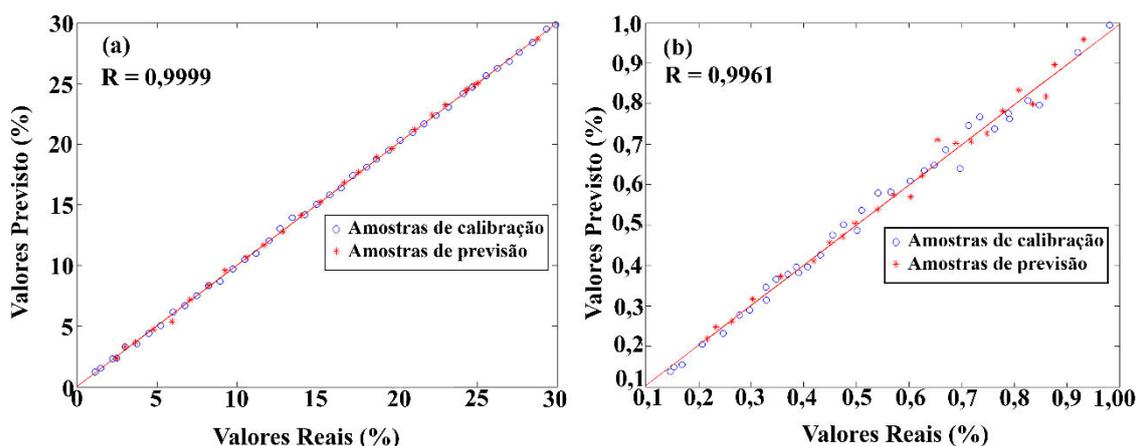


Figura 3. Ajuste para: (a) amostras de B5 adulteradas com óleo, BMR₅ e (b) adulteradas com álcool, BMR₁₀₀

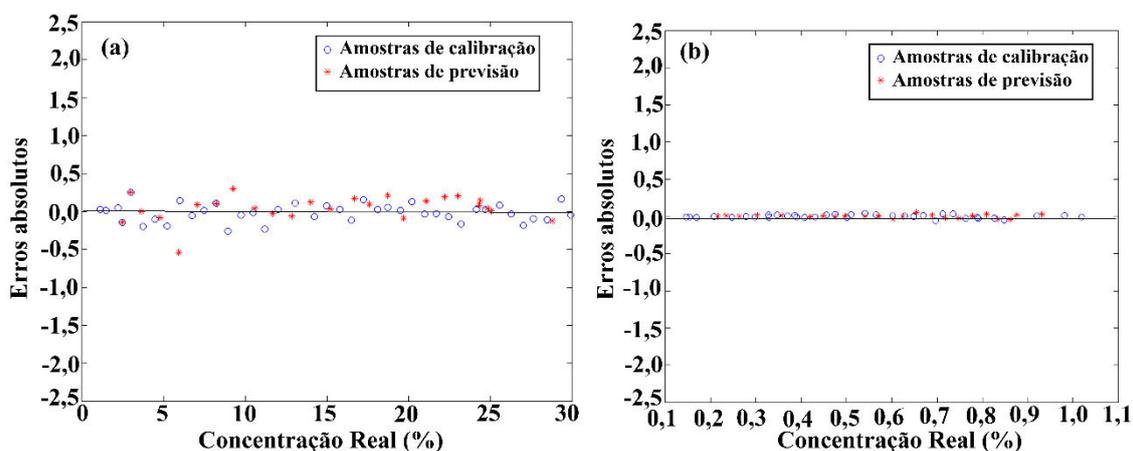


Figura 4. Gráfico de valores reais (% m/m) dos adulterantes versus erros absolutos de previsão para as (•) amostras de calibração e (*) amostras de previsão de (a) BMR₅ e (b) BMR₁₀₀

A Tabela 2 resume as figuras de mérito calculadas para cada uma das metodologias propostas. Os modelos mostraram uma boa exatidão, com baixos valores de erro médio (EM), RMSEC e RMSEP de no máximo 2,76%, 0,13 e 0,16, respectivamente. A pequena diferença observada entre os RMSEC e RMSEP indica que não houve sobre ajuste nos modelos construídos.³⁶ A seletividade (SEL) é uma FOM que indica quanto do sinal instrumental é único para o analito de interesse e, portanto, varia de 0 a 1. Embora os valores de seletividade mostrados na Tabela 2 sejam baixos, isso é comum em casos de calibrações multivariadas, uma vez que estes métodos são usados em sinais

pouco seletivos, não tendo necessidade de se estabelecer um limite crítico para o valor de SEL.^{25,27} Já a sensibilidade indica a fração do sinal analítico que altera em uma unidade a concentração do analito de interesse; nesse caso, ela foi calculada como o inverso da norma do vetor dos coeficientes b . Porém, uma FOM em que o significado é mais fácil de ser visualizado é sensibilidade analítica (γ), cujo inverso (γ^{-1}) fornece a menor diferença de concentração entre as amostras que pode ser distinguida pelo método considerando que a única fonte de erro nesse caso é o ruído instrumental.²⁶ Assim, no caso da adulteração com metanol, o menor valor discernível entre as concentrações foi de

0,005, enquanto para a adulteração com óleo de fritura usado o valor mínimo foi de 0,09.

Os valores de máximo e mínimo S/R mostrados na Tabela 2 indicam quanto o sinal relacionado ao analito (isto é, o NAS) está acima do ruído instrumental. Assim, como o mínimo encontrado foi de 125,15 para o modelo BMR₁₀₀, isso indica que o sinal do analito é 125,15 vezes superior ao ruído, ou seja, a metodologia consegue diferenciar muito bem o analito em relação ao ruído instrumental.

Os valores de LOD e LOQ foram calculados a partir da relação entre o desvio padrão do

branco (9 replicatas) e a sensibilidade.³⁰ Em todos os casos, esses valores calculados estavam abaixo da faixa de concentração usada na calibração, indicando que não houve extrapolação da curva de calibração.

No que se refere a erros sistemáticos, a norma ASTM E1655 recomenda a realização de teste t para avaliar se a tendência inerente do modelo é significativa. Ambos os modelos indicaram que t_{bias} está abaixo $t_{\text{crítico}}$ (Tabela 2). Assim, os modelos não apresentam quaisquer erros sistemáticos e estão em conformidade com as recomendações da norma ASTM E1655.

Tabela 2. Parâmetros estimados para as principais FOM dos modelos PLS

Parâmetros	Modelos PLS	
	BMR ₁₀₀	BMR ₅
RMSECV % (m/m)	0,03	0,20
RMSEC % (m/m)	0,02	0,13
RMSEP % (m/m)	0,02	0,16
EM (%)	2,76	1,24
Seletividade	0,02	0,21
Sensibilidade (% m/m) ⁻¹	0,22	0,07
Sensibilidade analítica (% m/m)	186,90	11,45
Inverso da sensibilidade analítica (% m/m) ⁻¹	0,005	0,09
Máximo sinal-ruído	288,42	514,23
Mínimo sinal-ruído	125,15	168,09
Limite de Detecção (% m/m)	0,02	0,29
Limite de Quantificação (% m/m)	0,05	0,87
t_{bias}	0,4698	1,3784
$t_{\text{crítico}}$	2,0860	2,0639

A Figura 5 mostra os gráficos com os intervalos de confiança para os modelos calculados com 95% de confiança. Como menos que 5% dos valores de referência estavam fora dos intervalos calculados, esses

limites são considerados confiáveis.³⁴ Além disso, como os intervalos de confiança são pequenos, indica-se que os desvios padrões das amostras foram baixos, o que corrobora aos resultados de boa exatidão.

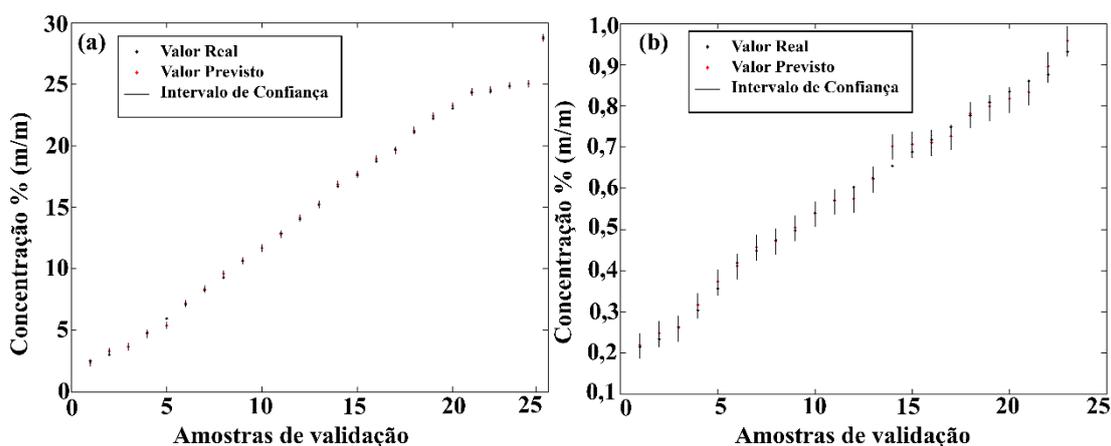


Figura 5. Intervalos de confiança para as amostras de validação. (a) BMR₅ e (b) BMR₁₀₀

O teste da EJCR (com 95% de confiança), mostrados na Figura 6, são testes gráficos para o intercepto e inclinação da regressão entre os valores reais versus previstos. Como o ponto ideal (1,0) se encontra dentro da

EJCR calculada, pode-se dizer que, estatisticamente, ele é equivalente ao encontrado nas regressões, e que não há diferença significativa entre os valores reais e previstos.^{27,28}

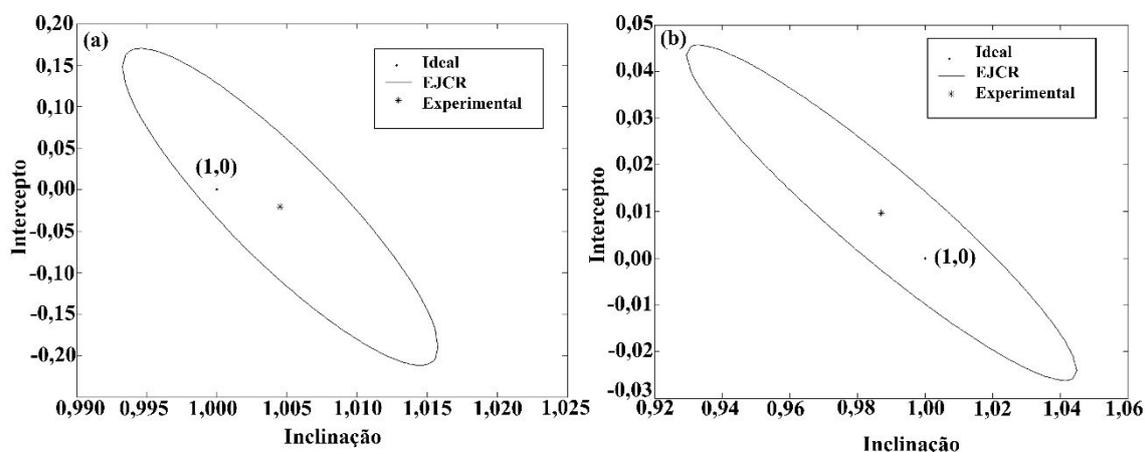


Figura 6. EJCR para os modelos PLS. (a) BMR₅ e (b) BMR₁₀₀

4. Conclusão

As metodologias desenvolvidas neste trabalho empregando a espectroscopia no infravermelho médio aliada a regressão por quadrados mínimos parciais (PLS), mostraram-se eficientes na quantificação de adulterantes em biodiesel metílico de óleo residual e suas misturas com diesel. Estas metodologias foram validadas através da

aplicação das figuras de mérito multivariadas recomendadas pela IUPAC e ASTM e, com base nos resultados obtidos, as mesmas mostraram-se lineares, exatas, sensíveis e confiáveis nas faixas de concentrações estudadas. Todas as figuras de mérito obtidas, tanto para quantificação de metanol quanto óleo de fritura usado, apresentaram ótimos resultados demonstrando que as metodologias propostas podem ser empregadas no controle de qualidade de biocombustíveis.

Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro da CAPES, FAPEG e CNPq e à companhia Transpetro S/A por fornecer as amostras de diesel.

Referências Bibliográficas

- ¹ Monteiro, M. R.; Ambrozini, A. R. P.; Lião, L. M.; Ferreira, A. G. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. *Talanta* **2008**, *77*, 593. [CrossRef]
- ² Kwon, E. E.; Jeon, E.-C.; Yi, H.; Kim, S. Transforming duck tallow into biodiesel via noncatalytic transesterification. *Applied Energy* **2014**, *116*, 20. [CrossRef]
- ³ Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE). Desmistificando o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel. A visão da indústria brasileira de óleos vegetais. Daniel Furlan Amaral Economista, MSc. São Paulo – Brasil - Agosto de 2009. [Link]
- ⁴ Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE). Disponível em: <www.abiove.com.br>. Acesso em: 30 de novembro 2013.
- ⁵ Sabudak, T.; Yildiz, M. Biodiesel production from waste frying oils and its quality control. *Waste Management* **2010**, *30*, 799. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶ Uzun, B. B.; Kılıç, M.; Özbay, N.; Pütün, A. E.; Pütün, E. Biodiesel production from waste frying oils: Optimization of reaction parameters and determination of fuel properties. *Energy* **2012**, *44*, 347. [CrossRef]
- ⁷ Ministério de Minas e Energia - MME, Lei No. 13033, Diário Oficial da União, Brasília, 2014. [Link]
- ⁸ Australian Government. Department of the Environment. Biodiesel fuel quality standard. Disponível em: <http://www.environment.gov.au/topics/environment-protection/fuel-quality/standards/biodiesel>. Acesso em: 21 julho 2015.
- ⁹ UNITED STATES. Department of Agriculture. GAIN Reports, Global Agricultural Information Network Online. 2012. Disponível em: <http://gain.fas.usda.gov/Lists/Advanced%20Search/AllItems.aspx>. Acesso em: 21 julho 2015.
- ¹⁰ Lima, S. M.; Silva, B. F. A.; Pontes, D. V.; Pereira, C. F.; Stragevitch, L.; Pimentel, M. F. In-line monitoring of the transesterification reactions for biodiesel production using NIR spectroscopy. *Fuel* **2014**, *115*, 46. [CrossRef]
- ¹¹ Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Resolução nº 14 de 11/05/2012. Disponível em: http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2012/maio/ranp%2014%20-%202012.xml. Acesso em: 21 julho 2015.
- ¹² Felizardo, P.; Baptista, P.; Menezes, J. C.; Correia, M. J. N. Multivariate near infrared spectroscopy models for predicting methanol and water content in biodiesel. *Analytica Chimica Acta* **2007**, *595*, 107. [CrossRef] [PubMed]
- ¹³ Paraschivescu, M. C.; Alley, E. G.; French, W. T.; Hernandez, R.; Armbrust, K. Determination of methanol in biodiesel by headspace solid phase microextraction. *Bioresource Technology* **2008**, *99*, 5901. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴ Balabin, R. M.; Lomakina, E. I.; Safieva, R. Z. Neural network (ANN) approach to biodiesel analysis: Analysis of biodiesel density, kinematic viscosity, methanol and water contents using near infrared (NIR) spectroscopy. *Fuel* **2011**, *90*, 2007. [CrossRef]
- ¹⁵ Babaei, M.; Alizadeh, N. Methanol selective gas sensor based on nano-structured conducting polypyrrole prepared by electrochemically on interdigital electrodes for biodiesel analysis. *Sensors and Actuators B* **2013**, *183*, 617. [CrossRef]
- ¹⁶ Brandão, L. F. P.; Braga, J. W. B.; Suarez, P. A. Z. Determination of vegetable oils and fats adulterants in diesel oil by high performance liquid chromatography and multivariate methods. *Journal of Chromatography A* **2012**, *1225*, 150. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁷ Vasconcelos, F. V. C.; Souza Jr, P. F. B.; Pimentel, M. F.; Pontes, M. J. C.; Pereira, C. F. Using near-infrared overtone regions to determine biodiesel content and adulteration

- of diesel/biodiesel blends with vegetable oils. *Analytica Chimica Acta* **2012**, *716*, 101. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁸ Corgozinho, C. N. C.; Pasa, V. M. D.; Barbeira, P. J. S. Determination of residual oil in diesel oil by spectrofluorimetric and chemometric analysis. *Talanta* **2008**, *76*, 479. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁹ Soares, I. P.; Rezende, T. F.; Silva, R. C.; Castro, E. V. R.; Fortes, I. C. P. Multivariate calibration by variable selection for blends of raw soybean oil/biodiesel from different sources using fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectral data. *Energy & Fuels* **2008**, *22*, 1405. [[CrossRef](#)]
- ²⁰ Soares, I. P.; Rezende, T. F.; Fortes, I. C. P. Study of the behavior changes in physical-chemistry properties of diesel/biodiesel (B2) mixtures with residual oil and its quantification by Partial Least-Squares Attenuated Total Reflection-Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (PLS/ATR-FTIR). *Energy & Fuels* **2009**, *23*, 4143. [[CrossRef](#)]
- ²¹ Oliveira, F. C. C.; Brandão, C. R. R.; Ramalho, H. F.; Costa, L. A. F.; Suarez, P. A. Z.; Rubim, J. C. Adulteration of diesel/biodiesel blends by vegetable oil as determined by Fourier transform (FT) near infrared spectrometry and FT-Raman spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* **2007**, *587*, 194. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²² Pontes, M. J. C.; Pereira, C. F.; Pimentel, M. F.; Vasconcelos, F. V. C.; Silva, A. G. B. Screening analysis to detect adulteration in diesel/biodiesel blends using near infrared spectrometry and multivariate classification. *Talanta* **2011**, *85*, 2159. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²³ Olivieri, A. C.; Faber, N. M.; Ferré, J.; Boqué, R.; Kalivas, J. H.; Mark, H. Uncertainty estimation and figures of merit for multivariate calibration (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* **2006**, *78*, 633. [[CrossRef](#)]
- ²⁴ Rocha, W. F. C.; 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* **2012**, *26*, 456. [[CrossRef](#)]
- ²⁵ Silva, M. A. M.; Ferreira, M. H.; Braga, J. W. B.; Sena, M. M. Development and analytical validation of a multivariate calibration method for determination of amoxicillin in suspension formulations by near infrared spectroscopy. *Talanta* **2012**, *89*, 342. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁶ Ferreira, M. H.; Braga, J. W. B.; Sena, M. M. Development and validation of a chemometric method for direct determination of hydrochlorothiazide in pharmaceutical samples by diffuse reflectance near infrared spectroscopy. *Microchemical Journal* **2013**, *109*, 158-164. [[CrossRef](#)]
- ²⁷ Hatanaka, R. R.; Sequinel, R.; Gualtieri, C. E.; Tercini, A. C. B.; Flumignan, D. L.; Oliveira, J. E. Development and validation of an environmentally friendly attenuated total reflectance in the mid-infrared region method for the determination of ethanol content in used engine lubrication oil. *Talanta* **2013**, *109*, 191. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁸ Olivieri, A. C.; Goicoechea, H. C.; Iñón, F. A. MVC1: an integrated MatLab toolbox for first-order multivariate calibration. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **2004**, *73*, 189. [[CrossRef](#)]
- ²⁹ 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, *55*, 8331. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁰ Gontijo, L. C.; Guimarães, E.; Mitsutake, H.; Santana, F. B.; Santos, D. Q.; Borges Neto, W. Development and Validation of PLS Models for Quantification of Biodiesels Content from Waste Frying Oil in Diesel by HATR-MIR. *Revista Virtual de Química* **2014**, *5*, 1517. [[CrossRef](#)]
- ³¹ Ferré, J.; Boqué, R.; Fernández-Band, B.; Larrechi, M. S.; Rius, F. X. Figures of merit in multivariate calibration. Determination of four pesticides in water by flow injection analysis and spectrophotometric detection.

Analytica Chimica Acta **1997**, *348*, 167. [\[CrossRef\]](#)

³² Valderrama, P.; Braga, J. W.; Poppi, R. J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. *Química Nova* **2009**, *32*, 1278. [\[CrossRef\]](#)

³³ Alves, J. C.; Poppi, R. J. Simultaneous determination of hydrocarbon renewable diesel, biodiesel and petroleum diesel contents in diesel fuel blends using near infrared (NIR) spectroscopy and chemometrics. *Analyst* **2013**, *138*, 6477. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

³⁴ ASTM Standard E1655. Standard practices for infrared multivariate quantitative

analysis. ASTM International, West Conshohocken, PA, 2005. Disponível em: <http://www.astm.org/>, Acesso em: 21 julho 2015.

³⁵ Ribeiro, F. A. L.; Ferreira, M. M. C.; Morano, S. C.; Silva, L. R.; Schneider, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Química Nova* **2008**, *31*, 164. [\[CrossRef\]](#)

³⁶ Jiang, L.; Liu, F.; He, Y. A non-destructive distinctive method for discrimination of automobile lubricant variety by visible and short-wave infrared spectroscopy. *Sensors*, **2012**, *12*, 3498. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)