

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

LUCAS NATÃ DE MELO

PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE MISTURAS DE ÓLEOS E ÓLEOS
INTERESTERIFICADOS: ESTUDO CINÉTICO DA REAÇÃO DE
TRANSESTERIFICAÇÃO

MACEIÓ – AL

2019

LUCAS NATÃ DE MELO

**PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE MISTURAS DE ÓLEOS E ÓLEOS
INTERESTERIFICADOS: ESTUDO CINÉTICO DA REAÇÃO DE
TRANSESTERIFICAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, Área Química Analítica, Linha de pesquisa Química Verde e Energia, da Universidade Federal de Alagoas como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Janaína Heberle Bortoluzzi

Coorientador: Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti

MACEIÓ – AL

2019

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho

L528p Melo, Lucas Natã de.

Produção de biodiesel a partir de misturas de óleos e óleos interesterificados : estudo cinético da reação de transesterificação / Lucas Natã de Melo. - 2019.
98 f. : il.

Orientador: Janaína Heberle Bortoluzzi.

Co-orientador: Mario Roberto Meneghetti.

Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia. Maceió, 2019.

Bibliografia: f. 86-98.

1. Biodiesel. 2. Óleo de rícino. 3. Transesterificação (Reações químicas).
4. Interesterificação. 5. Cromatografia gasosa. I. Título.

CDU: 543.544:62-634.5



PPGQB

Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email:ppgqb.ufal@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da comissão julgadora da defesa de dissertação de mestrado de **LUCAS NATÁ DE MELO**, intitulada: **“Produção de biodiesel a partir de misturas de óleos e óleos interesterificados: estudo cinético de reação de transesterificação”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, no dia 27 de março de 2019, às 14h, na sala de aulas do PPGQB.

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dra. Janaína Herbele Bortoluzzi
(Orientado (a) - PPGQB/IQB/UFAL);

Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti
(Coorientador (a) – PPGQB/UFAL);

Prof. Dra. Simoni Margareti Plentz Meneghetti
(PPGQB/IQB/UFAL);

Prof. Dr. Lucas Meili
(CTEC/UFAL).

AGRADECIMENTOS

À minha família, especialmente à minha mãe, Maria José e à minha namorada, Lenilda, pelo suporte e amor incondicional que foram e continuarão sendo essenciais na minha formação.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Janaína Heberle Bortoluzzi, por todo o conhecimento transmitido e atenção dedicada ao meu trabalho durante todos os anos em que tive o prazer de estar sob sua orientação.

Ao Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti, coorientador deste projeto, e à Prof.^a Dr.^a Simoni Margareti Plentz Meneghetti, pela gentileza e acolhimento no Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) desde a minha iniciação científica, além da contribuição essencial para o desenvolvimento deste trabalho.

À aluna de iniciação científica deste projeto de pesquisa, Letícia, pela dedicação e empenho essenciais para o andamento deste estudo.

A todos os amigos do GCaR, do presente e do passado, que contribuíram de alguma forma em minha trajetória, em especial aos amigos mais próximos da Química Analítica (Cristian, Débora, Filipe, Jailton) pelo apoio e pelos momentos de descontração.

Aos demais amigos e professores do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas com quem tive o prazer de dividir salas de aula.

À CAPES.

RESUMO

O biodiesel é um combustível produzido a partir de fontes renováveis, muitas delas encontradas em território brasileiro, por meio de diferentes processos, dentre os quais a transesterificação é o mais utilizado. A cromatografia gasosa é a técnica mais utilizada para a identificação e a quantificação do biodiesel formado, por ser bastante seletiva e eficiente. A determinação destes compostos é utilizada para avaliar a qualidade do biodiesel produzido e obter informações importantes a respeito da seleção da matéria-prima, do desempenho do biodiesel como combustível e, principalmente, da seleção do catalisador a ser empregado. Neste contexto, neste trabalho pretende-se estudar a cinética reacional da reação de transesterificação a partir de misturas de óleos (soja:mamona), e destas misturas previamente interesterificadas, ou seja, que tenham sofrido um processo de randomização do arranjo dos ácidos graxos dos triacilgliceróis (TAGs). Desta forma, será possível verificar se a presença e/ou localização dos ácidos graxos nos TAGs determinam o rendimento reacional. Para isto, foram utilizadas metodologias analíticas baseadas em cromatografia gasosa (GC-FID) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-UV) para a identificação dos novos TAGs formados e avaliar o rendimento reacional na formação de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) produzidos a partir da mistura física destes óleos e destas misturas interesterificadas. Análises por espectroscopia no infravermelho demonstraram que não ocorrem alterações de isomerização das insaturações *cis* dos ácidos graxos na interesterificação. A metodologia baseada em GC com injeção no modo *on-column* foi a mais apropriada para verificação da formação de mono e diacilgliceróis após interesterificação, uma vez que a metodologia com injeção no modo *split* mostrou-se associada à degradação térmica dos TAGs. O aumento da proporção mássica de óleo de mamona nas misturas de óleos proporcionou uma diminuição na eficiência da interesterificação com 0,4% (m:m) de catalisador, de forma que apenas a mistura soja:mamona 2:1 (m:m) apresentou mudanças significativas em termos de coloração, viscosidade e perfil cromatográfico, indicativos de que a interesterificação desta mistura foi bem sucedida. No entanto, baixos rendimentos em FAME foram obtidos a partir da transesterificação desta mistura interesterificada quando comparada à sua mistura física, um indicativo de que a localização dos fragmentos de ácido ricinoleico prevalece sobre a composição de ácidos graxos presentes na mistura reacional e é determinante para a cinética da transesterificação.

Palavras-chave: Biodiesel, óleo de mamona, transesterificação, interesterificação.

ABSTRACT

Biodiesel is a fuel produced from renewable sources, many of them found in Brazilian territory, through different processes, among which transesterification is the most used one. Gas chromatography is the most used technique for the identification and quantification of formed biodiesel, as it is a very selective and efficient technique. The determination of these compounds is used to evaluate the quality of the produced biodiesel and to obtain important information about the feedstock selection, the biodiesel performance as a fuel and, especially, the selection of the catalyst to be used. In this context, on this work it is intended to study the reaction kinetics of the transesterification of a mixture of oils (soybean:castor) and of the same mixture after interesterification, that is, the mixture underwent a randomization process of the arrangement of the fatty acids esterified to triacylglycerols (TAGs) molecules. Hence it will be possible to verify if the presence and /or location of fatty acids in TAG molecules determine the reaction yield. In this regard, analytical methodologies based on gas chromatography (GC-FID) and high performance liquid chromatography (HPLC-UV) were applied to identify the formation of the interesterified oils and evaluate the yield of fatty acid methyl esters (FAME) production from a simple blend of these oils and from interesterified oils. Infrared spectroscopic analysis showed that there is no isomerization of the *cis* insaturations of fatty acids after interesterification. The on-column injection methodology was the most suitable to verify the formation of mono- and diacylglycerols after interesterification, since the split-mode injection methodology was associated with the thermal degradation of TAGs. Increasing the amounts of castor oil in the blends provided a decrease in the efficiency of interesterification using 0,4% of catalyst, as only the soybean:castoroil 2:1 blend showed substantial changes in terms of color, viscosity and chromatographic profile, indicatives that interesterification was successful for this mixture. However, low FAME yield was obtained after transesterification of this interesterified blend when compared to its simple mixture, indicating that the location of the fatty acid moieties in TAG molecules prevails over the fatty acid composition of the reaction mixture and is determining for the transesterification kinetics.

Keywords: Biodiesel, castor oil, transesterification, interesterification.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Reação de transesterificação. R representa cadeias variadas de ácidos graxos. O álcool utilizado na produção de biodiesel é geralmente o metanol ($R' = CH_3$).	21
Figura 2	Processo de transesterificação comumente empregado na indústria.	23
Figura 3	Perfil de matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel no Brasil em janeiro de 2019.	24
Figura 4	Estrutura do glicerol e molécula genérica de triacilglicerol. R representa cadeias variadas de ácidos graxos.	31
Figura 5	Reação de interesterificação. R e R_1 representam cadeias variadas de ácidos graxos.	44
Figura 6	Mecanismo para interesterificação proposto por WEISS e colaboradores (1961).	46
Figura 7	Mecanismo para interesterificação proposto por COENEN (1974).	47
Figura 8	Comparação entre as misturas físicas OS:OM 2:1 (<i>a</i>), 1:1 (<i>b</i>) e 1:2 (<i>c</i>) e suas respectivas misturas interesterificadas: OS:OM 2:1 com 0,4% (<i>d</i>) e 1,2% (<i>e</i>) de catalisador; OS:OM 1:1 com 0,4% (<i>f</i>) e 1,2% (<i>g</i>) de catalisador e OS:OM 1:2 com 0,4% (<i>h</i>) e 1,2% (<i>i</i>) de catalisador.	57
Figura 9	Comparação da viscosidade cinmática das misturas físicas (em preto) e interesterificadas com 0,4% (em vermelho) e 1,2% (em azul) de catalisador.	60
Figura 10	Espectros de infravermelho dos óleos de soja e de mamona.	63
Figura 11	Espectros de infravermelho das misturas entre os óleos de soja e de mamona (OSOM 2:1, 1:1 e 1:2).	64
Figura 12	Espectros de infravermelho das misturas interesterificadas.	64
Figura 13	Cromatogramas das análises por GC-FID do óleo de soja (em preto) e do óleo de mamona (em cor-de-rosa).	65
Figura 14	Cromatogramas das análises por GC-FID do óleo de soja (em preto) e do óleo de mamona após derivatização (em cor-de-rosa).	66
Figura 15	Cromatogramas das análises por GC-FID das misturas OS:OM 2:1 física (em cor-de-rosa) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH_3OK .	67

Figura 16	Cromatogramas das análises por GC-FID das misturas OS:OM 1:1 física (em cor-de-rosa) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH ₃ OK.	67
Figura 17	Cromatogramas das análises por GC-FID das misturas OS:OM 1:2 física (em cor-de-rosa) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH ₃ OK.	68
Figura 18	Cromatogramas das análises por HPLC-UV do óleo de soja (em marrom), óleo de mamona (em azul) e da mistura OS:OM 1:1 (em preto).	69
Figura 19	Cromatogramas das análises por HPLC-UV das misturas OS:OM 2:1 física (em marrom) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH ₃ OK.	71
Figura 20	Cromatogramas das análises por HPLC-UV das misturas OS:OM 1:1 física (em marrom) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH ₃ OK.	71
Figura 21	Cromatogramas das análises por HPLC-UV das misturas OS:OM 1:2 física (em marrom) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH ₃ OK.	72
Figura 22	Cromatograma da análise por HPLC-UV de amostra contendo MAG, DAG e TAG provenientes do óleo de soja.	72
Figura 23	Cromatogramas das análises por GC-FID (<i>on-column</i>) dos padrões analíticos monoleína (em cor-de-rosa) e dioleína (em preto).	73
Figura 24	Cromatogramas das análises por GC-FID (<i>on-column</i>) das misturas interesterificadas na seguinte ordem de cima para baixo: OS:OM 2:1 interesterificada com 0,4% e 1,2% de catalisador, OS:OM 1:1 interesterificada com 0,4% e 1,2% de catalisador e OS:OM 1:2 interesterificada com 0,4% e 1,2% de catalisador.	74
Figura 25	Curvas cinéticas para as reações de transesterificação dos óleos de soja e de mamona.	75
Figura 26	Curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas físicas OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2.	76
Figura 27	Ampliação da região de controle cinético das curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas físicas OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2.	76
Figura 28	Curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas físicas OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2 com menores quantidades de catalisador e álcool.	77
Figura 29	Curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificada OS:OM 2:1.	79

- Figura 30 Ampliação da região de controle cinético para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificadas OS:OM 2:1. 79
- Figura 31 Curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificadas OS:OM 1:1. 80
- Figura 32 Ampliação da região de controle cinético para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificadas OS:OM 1:1. 80
- Figura 33 Curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificadas OS:OM 1:2. 81
- Figura 34 Ampliação da região de controle cinético para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificadas OS:OM 1:2. 82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação, estrutura e possíveis origens de ácidos graxos comuns.	32
Tabela 2	Parâmetros e aspectos da análise composicional de triacilgliceróis por cromatografia gasosa na última década.	38
Tabela 3	Parâmetros e aspectos da análise composicional de triacilgliceróis por cromatografia líquida de alta eficiência na última década.	40
Tabela 4	Parâmetros da matéria-prima e condições reacionais para a reação de interesterificação.	45
Tabela 5	Parâmetros e aspectos encontrados na literatura para reações de interesterificação.	48
Tabela 6	Valores de viscosidade cinemática, índice de acidez e densidade dos óleos de soja e de mamona e das misturas físicas e interesterificadas destes óleos.	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

^{13}C NMR	<i>Carbon-13 nuclear magnetic resonance</i> (Ressonância magnética nuclear de carbono-13)
^1H NMR	<i>Hydrogen-1 nuclear magnetic resonance</i> (Ressonância magnética nuclear de hidrogênio-1)
AG	Ácido graxo
ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
AOCS	<i>American Oil Chemists' Society</i> (Sociedade Americana de Oleoquímica)
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i> (Sociedade Americana para Testes e Material)
ATR	<i>Attenuated total reflectance</i> (Refletância total atenuada)
B10	Mistura de 90% de diesel fóssil e 10% de biodiesel
B20	Mistura de 80% de diesel fóssil e 20% de biodiesel
B100	Biodiesel com 100% em ésteres alquílicos
BP	<i>British Petroleum</i>
CEN	<i>Comité Européen de Normalization</i> (Comitê Europeu de Normalização)
CNPE	Conselho Nacional de Política Energética
DAG	Diacilglicerol
DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i> (Calorimetria exploratória diferencial)

DTA	<i>Differential thermal analysis</i> (Análise térmica diferencial)
ELSD	<i>Evaporative light scattering detector</i> (Detector evaporativo de espalhamento de luz)
EN	<i>European Normalization</i> (Norma Europeia)
FAME	<i>Fatty acid methyl esters</i> (Ésteres metílicos de ácidos graxos)
FID	<i>Flame ionization detector</i> (Detector por ionização em chama)
FTIR	<i>Fourier transform infrared spectroscopy</i> (Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier)
GC	<i>Gas chromatography</i> (Cromatografia gasosa)
GCaR	Grupo de Catálise e Reatividade Química
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> (Cromatografia líquida de alta eficiência)
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> (União Internacional da Química Pura e Aplicada)
MAG	Monoacilglicerol
MS	<i>Mass spectrometry</i> (Espectrometria de massas)
MSTFA	N-metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida
NC	Número total de carbono
OS:OM	Mistura dos óleos de soja e mamona
PA	Para análise

PTV	<i>Programmable temperature vaporizer</i> (Vaporizador com temperatura programável)
RI	<i>Refractive index</i> (Índice de refração)
SFC	<i>Supercritical fluid chromatography</i> (Cromatografia com fluido supercrítico)
TLC	<i>Thin layer chromatography</i> (Cromatografia em camada delgada)
TAG	Triacilglicerol
UFOP	<i>Union zur Förderung von Oel- und Proteinpflanzen</i> (União pela Promoção de Plantas Oleaginosas e Proteicas)
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	OBJETIVOS	18
2.1.	Objetivo Geral	18
2.2.	Objetivos Específicos.....	18
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
3.1.	Biodiesel e sua produção	19
3.1.1.	Transesterificação.....	20
3.1.2.	Matérias-primas e produção de biodiesel no Brasil e no mundo	22
3.1.3.	Óleo de mamona como matéria-prima para a produção de biodiesel	25
3.2.	Métodos baseados em cromatografia gasosa para quantificação de ésteres alquílicos em biodiesel	26
3.3.	Estudos cinéticos da reação de transesterificação	28
3.4.	Triacilgliceróis	30
3.4.1.	Análise composicional de triacilgliceróis (TAGs)	Erro! Indicador não definido.
3.4.2.	Cromatografia gasosa (GC).....	33
3.4.3.	Derivatização em cromatografia gasosa.....	35
3.4.4.	Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....	36
3.4.5.	Outras técnicas cromatográficas.....	37
3.4.6.	Outras técnicas analíticas	39
3.4.7.	Propriedades físico-químicas de triacilgliceróis (TAGs) de origem vegetal	42
3.5.	Interesterificação	43
4.	METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	50
4.1.	Materiais e reagentes.....	50
4.2.	Reações de interesterificação.....	50

4.3.	Identificação de triacilgliceróis (TAGs) utilizando metodologias cromatográficas	51
4.3.1.	Reações de derivatização.....	52
4.3.2.	Caracterização dos óleos de soja e de mamona e de suas misturas físicas e interesterificadas	52
4.3.3.	Identificação de mono e diacilgliceróis (MAGs e DAGs) nas misturas interesterificadas.....	53
4.4.	Determinação de parâmetros físico-químicos dos óleos	53
4.5.	Caracterização dos óleos por espectroscopia no infravermelho	54
4.6.	Reações de transesterificação	55
4.7.	Determinação de teor de ésteres metílicos por cromatografia gasosa	55
4.7.1.	Estudo cinético da reação de transesterificação	56
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1.	Reações de interesterificação.....	57
5.2.	Determinação de parâmetros físico-químicos dos óleos	58
5.2.1.	Viscosidade cinemática	58
5.2.2.	Índice de acidez	60
5.2.3.	Densidade ou massa específica	61
5.3.	Caracterização dos óleos por espectroscopia no infravermelho	62
5.4.	Caracterização dos óleos de soja e de mamona e de suas misturas físicas e interesterificadas.....	65
5.4.1.	Cromatografia gasosa (GC) com injeção <i>split</i>	65
5.4.2.	Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....	68
5.4.3.	Identificação de mono e diacilgliceróis (MAGs e DAGs) nas misturas interesterificadas por cromatografia gasosa (GC) com injeção <i>on-column</i>	72
5.5.	Estudo cinético da reação de transesterificação	74
6.	CONCLUSÕES	83
7.	PERSPECTIVAS	85
	REFERÊNCIAS	86

1. INTRODUÇÃO

O biodiesel, combustível líquido produzido a partir de fontes renováveis, tem capacidade de substituir o diesel derivado do petróleo parcial ou totalmente, tanto em setores de transporte quanto de energia, reduzindo a dependência de combustíveis fósseis sem necessidade de alterações nos motores a diesel. Além disso, existem benefícios ambientais relacionados à substituição do diesel de origem fóssil pelo biodiesel (COSTA *et al.*, 2013). No Brasil, o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) autorizou em outubro de 2018 a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) a fixar o percentual em até 15%, em volume, do biodiesel adicionado ao óleo diesel convencional comercializado até o ano de 2023, após testes e ensaios em motores, com previsão de aumento de 10% para 11% em junho de 2019, nos termos da Lei nº 13.263 de 2016 (BRASIL, 2018; BRASIL, 2016).

A transesterificação, reação na qual um éster derivado de um ácido carboxílico e um álcool reagem para formar um novo éster, é o método mais comum para a produção de biodiesel, diminuindo a viscosidade de óleos e gorduras vegetais e/ou animais de partida (DIJKSTRA, 2008; VAN GERPEN e KNOTHE, 2005). Nesta reação, ocorre a quebra das moléculas dos triacilgliceróis (TAGs) pela ação de monoálcoois de cadeia curta na presença de catalisador, em três reações consecutivas e reversíveis, nas quais são formados di- e monoacilgliceróis (DAGs e MAGs) como intermediários, gerando ésteres alquílicos (conhecidos como biodiesel) dos ácidos graxos correspondentes e tendo como coproduto o glicerol. O desempenho da reação pode ser influenciado por fatores como origem da matéria-prima, tipo de álcool, proporções molares TAGs:álcool, presença de água e ácidos graxos livres, temperatura, tempo de reação e tipo de catalisador (ARANSIOLA *et al.*, 2014; MENEGHETTI *et al.*, 2013; ISSARIYAKUL e DALAI, 2014; RAMOS *et al.*, 2011; MA e HANNA, 1999).

Outra reação que envolve ésteres é a interesterificação e diferentemente da transesterificação, na qual ésteres de ácidos graxos reagem com álcoois, na interesterificação a reação se dá entre dois ésteres. Em reações de interesterificação que envolvem TAGs, não ocorrem alterações nos ácidos graxos, mas os mesmos são redistribuídos nas moléculas dos triacilgliceróis, resultando na modificação do posicionamento dos mesmos, cuja característica final é totalmente determinada pela composição total em ácidos graxos das matérias-primas de partida. Desta forma, nesta reação ocorrem quebras simultâneas de ligações éster existentes e formação de novas ligações nas moléculas dos acilgliceróis. Vale salientar que nesse

processo não há isomerização das duplas ligações dos ácidos graxos envolvidos, nem modificação do grau de saturação destes (HAAS, 2005; LIU, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2007; DIJKSTRA, 2008).

Na literatura não são relatados muitos estudos acerca da transesterificação de óleos interesterificados ou da comparação da cinética da produção do biodiesel a partir da mistura de óleos e de misturas interesterificadas dos mesmos, ainda que um grande número de estudos tenha sido desenvolvido na produção de biodiesel a partir do óleo de soja, óleo de mamona ou mesmo de sua mistura (ISSARIYAKUL e DALAI, 2014). O óleo de soja tem sua composição em termos de ácidos graxos dividida entre quatro ácidos majoritários: linoleico, oleico, palmítico e linolênico. Por outro lado, o óleo de mamona tem mais de 90% do ácido ricinoleico em sua composição, um ácido graxo com propriedades distintas dos ácidos presentes nos TAGs do óleo de soja por se tratar de um composto hidroxilado. Tal característica faz com que a produção de biodiesel a partir deste óleo exija condições mais drásticas quando comparado ao óleo de soja (BARBOSA *et al.*, 2010; SERRA *et al.*, 2011). A utilização do óleo de mamona junto a outros óleos ou gorduras em processos de interesterificação tem o potencial de redistribuir os fragmentos de ácido ricinoleico entre mais moléculas de TAGs, gerando novos óleos com propriedades diferentes das apresentadas originalmente. Desta forma, a preponderância da posição destes fragmentos nos TAGs sobre a composição original deste ácido na transesterificação de misturas de diferentes proporções mássicas dos óleos de soja e de mamona e a viabilidade da produção de biodiesel a partir de misturas interesterificadas destes óleos poderão ser avaliadas.

Neste sentido, neste trabalho foram utilizadas metodologias analíticas baseadas em cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência para a identificação dos novos TAGs formados após a reação de interesterificação dos óleos de soja e mamona, e com isto, caracterizar e comprovar a formação de um novo óleo, sendo este diferente da simples mistura destes óleos.

O estudo cinético da reação de transesterificação foi feito para comparar a cinética desta reação entre a simples mistura de óleos e dos óleos interesterificados em três diferentes proporções mássicas dos óleos de soja e de mamona, permitindo verificar se a posição dos ácidos graxos na cadeia do TAG influencia no rendimento reacional. Para isto, foi utilizada uma metodologia cromatográfica previamente desenvolvida e validada no Grupo de Catálise e Reatividade Química por SILVA e colaboradores (2018).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Estudar comparativamente a cinética da transesterificação com metanol de misturas físicas e misturas interesterificadas dos óleos de soja e de mamona em diferentes proporções.

2.2. Objetivos Específicos

- Estudar o processo de interesterificação de TAGs da mistura dos óleos de soja e de mamona (OS:OM);
- Analisar as características físico-químicas dessas misturas e os produtos das interesterificações por densidade, viscosidade, índice de acidez e espectroscopia no infravermelho;
- Utilizar metodologias cromatográficas para a identificação e confirmação da formação de novos TAGs;
- Analisar comparativamente a cinética de transesterificação da mistura física dos óleos de soja e de mamona, e destas misturas interesterificadas utilizando cromatografia gasosa para quantificação de ésteres alquílicos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Biodiesel e sua produção

Fatores como a possibilidade de esgotamento de combustíveis fósseis convencionais e seu reflexo na economia, preocupações sobre mudanças climáticas e emissões de gases do efeito estufa e o interesse pela utilização de fontes de energia renováveis e sustentáveis, proporcionando um suprimento doméstico e mais seguro de combustíveis, têm desencadeado o desenvolvimento de pesquisas quanto à utilização de fontes de energias alternativas derivadas de fontes biológicas, dentre elas material como gorduras e óleos (ISSARIYAKUL e DALAI, 2014; HOEKMAN *et al.*, 2012; RAMOS *et al.*, 2011; KNOTHE, 2010).

Neste contexto, o biodiesel, considerado uma das fontes de energias renováveis mais promissoras do Século XXI, apresenta-se como um combustível alternativo ao diesel de origem fóssil (ISSARIYAKUL e DALAI, 2014). KNOTHE (2010) apresenta as seguintes definições para o termo “biodiesel”: combustível composto por ésteres monoalquílicos de ácidos graxos (AGs) de cadeia longa derivados de óleos vegetais e gorduras animais, designado “B100” pela Sociedade Americana para Testes e Material (ASTM, do inglês *American Society for Testing and Material*) ou ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME, do inglês *fatty acid methyl esters*), como definido pelo Comitê Europeu de Normalização (CEN, do francês *Comité Européen de Normalization*).

Este combustível renovável é capaz de substituir o diesel derivado do petróleo parcial ou totalmente, tanto em setores de transporte quanto de energia, reduzindo a dependência de combustíveis fósseis sem necessidade de alterações nos motores a diesel. Além disso, existem benefícios ambientais relacionados à substituição do diesel de origem fóssil pelo biodiesel (COSTA *et al.*, 2013).

SRIVASTAVA e PRASAD (2000) destacam que combustíveis para motores a diesel têm função essencial na economia industrial de um país, uma vez que são utilizados em caminhões, ônibus de transporte urbano, locomotivas, equipamentos agrícolas dentre outros. Desta forma, combustíveis alternativos para motores a diesel devem ser tecnicamente aceitáveis, competitivos economicamente, adequados ao meio ambiente e de fácil disponibilidade. Deste ponto de vista, combustíveis derivados de óleos vegetais ou gorduras animais têm grande disponibilidade de uma variedade de fontes, têm quantidades de enxofre próximas de zero em suas composições e sua utilização contribui para a diminuição dos valores de dióxido de carbono na atmosfera.

De acordo com KNOTHE (2005), a conformidade do biodiesel como combustível está relacionada a similaridades em características como índice de cetano, calor de combustão, ponto de fluidez, ponto de turvação, viscosidade cinemática e estabilidade oxidativa que este combustível renovável apresenta quando comparado ao diesel derivado do petróleo. Além disso, a utilização do biodiesel apresenta vantagens em relação ao petrodiesel, como:

- Redução da dependência do petróleo, uma vez que o biodiesel é um combustível derivado de fontes renováveis;
- Biodegradabilidade;
- Redução de emissões de gases de escape (com exceção de óxidos de nitrogênio, NO_x);
- Maior ponto de fulgor, proporcionando manuseio e armazenamento mais seguros;
- Excelente lubricidade (a adição de biodiesel recupera a lubricidade do diesel de baixo teor de enxofre).

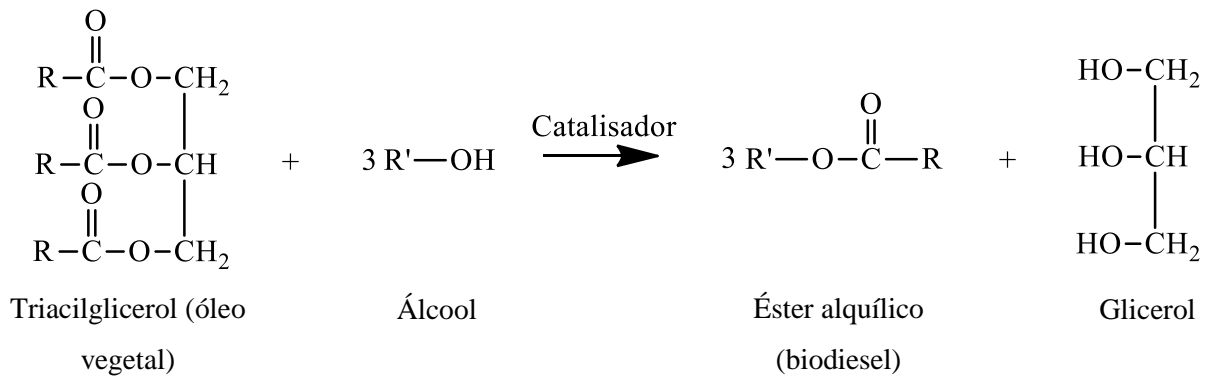
Historicamente, as investigações quanto ao uso de óleos vegetais como combustível são contemporâneas ao desenvolvimento do motor a diesel por Rudolf Diesel (1858-1973), o qual realizou testes com óleo de amendoim como combustível em seus motores (KNOTHE, 2005; ISSARIYAKUL e DALAI, 2014). Nas décadas de 1930 e 1940, óleos vegetais eram utilizados em motores a diesel, geralmente em situações emergenciais. No entanto, existiam preocupações quanto a questões econômicas e problemas nos motores associados a baixas volatilidades e à alta viscosidade cinemática destes óleos, a qual pode causar pobre atomização, combustões incompletas e formação de sedimentos nos motores. Desta forma, fizeram-se necessárias modificações nestes óleos, de forma a diminuir sua viscosidade cinemática. Pelo menos quatro rotas são sugeridas com este objetivo: transesterificação, pirólise, diluição com combustíveis fósseis e emulsificações (MA e HANNA, 1999; SCHWAB *et al.*, 1987). O provável primeiro uso de combustível de origem vegetal que atende às atuais definições de biodiesel foi documentado por CHAVANNE (1937), o qual depositou uma patente referente à produção de ésteres etílicos a partir da transesterificação ácida do óleo de palma (KNOTHE, 2005; KNOTHE, 2010).

3.1.1. Transesterificação

A transesterificação, também chamada alcoólise, é seguramente o método mais comum para diminuir a viscosidade de óleos vegetais e gorduras animais e permitir seu uso em motores a diesel (VAN GERPEN e KNOTHE, 2005). Nesta reação, TAGs, principais componentes de óleos e gorduras, reagem com um álcool de cadeia curta na presença de

catalisador para formar ésteres alquílicos de AGs e glicerol. A reação ocorre em três etapas consecutivas partindo de TAG para DAG, DAG para MAG e MAG para o glicerol. Em cada etapa, a reação consome um mol de álcool e produz um mol de éster. No total, um mol de TAG reage com três mols de álcool, produzindo três mols de ésteres e um mol de glicerol (Figura 1). Fatores como tipo de álcool, proporções molares TAG:álcool:catalisador, presença de água e AGs livres, temperatura, tempo reação e tipo de catalisador exercem influência no desempenho da reação (ARANSIOLA *et al.*, 2014; MENEGHETTI *et al.*, 2013; ISSARIYAKUL e DALAI, 2014; RAMOS *et al.*, 2011; MA e HANNA, 1999).

Figura 1 – Reação de transesterificação. R representa cadeias variadas de ácidos graxos. O álcool utilizado na produção de biodiesel é geralmente o metanol (R' = CH₃).



Fonte: adaptado de KNOTHE, 2005.

Dentre os álcoois de cadeia curta, como etanol e metanol, o último apresenta menor custo no mercado internacional e tem propriedades físico-químicas vantajosas, como alta polaridade e menor cadeia de carbono, sendo assim o mais utilizado em reações de transesterificação no Brasil e no mundo (LEUNG *et al.*, 2010; RAMOS *et al.*, 2017; MA e HANNA, 1999).

No geral, existem três tipos de catalisadores utilizados na produção de biodiesel por meio de transesterificação: bases, ácidos e enzimas, sendo o primeiro o tipo mais difundido (LEUNG *et al.*, 2010; MA e HANNA, 1999). As categorias de catálise em transesterificação com bases e ácidos podem ser separadas em homogênea e heterogênea. Na transesterificação com catálise homogênea são obtidas rápidas e altas conversões de TAGs em ésteres, porém o catalisador não pode ser recuperado. Por outro lado, catalisadores heterogêneos podem ser reutilizados, no entanto apresentam conversões moderadas (LEUNG *et al.*, 2010; LAM *et al.*, 2010; HELWANI *et al.*, 2009). RAMOS e colaboradores (2011) destacam que os catalisadores homogêneos alcóxidos metálicos são os mais utilizados na transesterificação, de

forma que podem ser adicionados ao meio reacional de forma direta ou produzidos *in situ* ao realizar dissolução de hidróxido de sódio ou potássio no álcool utilizado na reação.

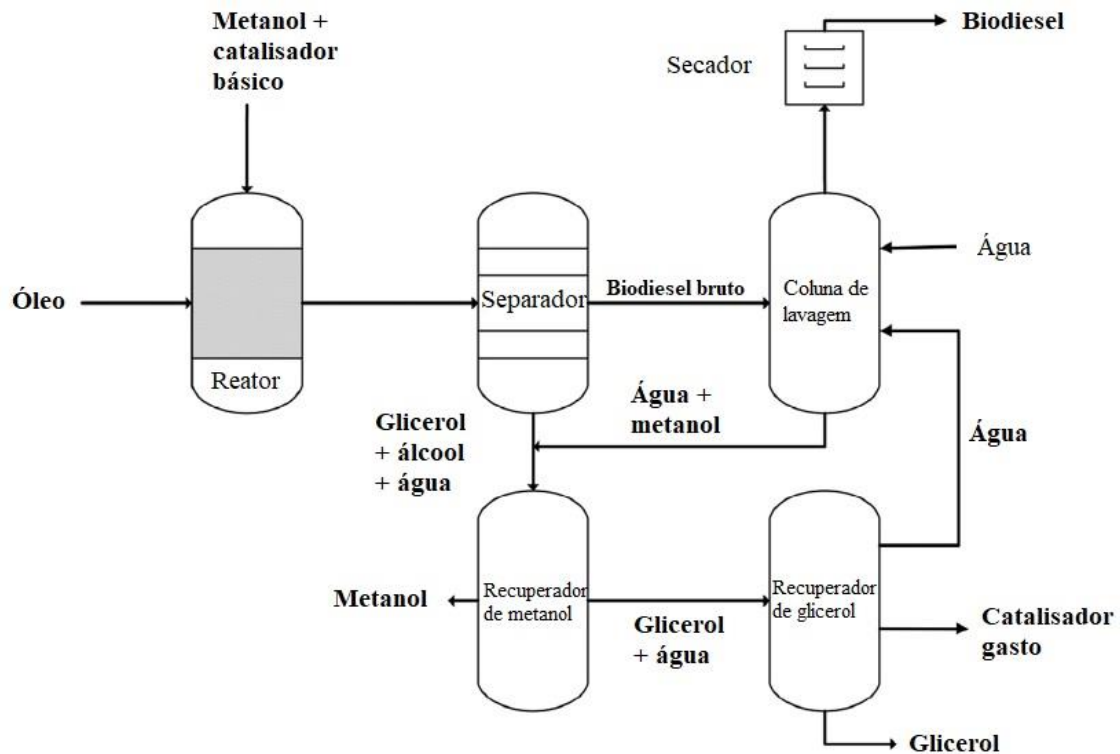
Tais considerações quanto ao uso de metanol e catalisadores básicos podem ser observadas na Figura 2, a qual ilustra o processo convencional para produção de biodiesel (KNOTHE e RAZON, 2017). O biodiesel formado no reator após adição de óleo, álcool e catalisador é separado do glicerol em um separador. Em seguida, o combustível passa por processo de lavagem com água para eliminação de álcool e é secado antes de sua comercialização. O álcool que não reagiu no processo é recuperado após separação da mistura entre metanol, água e glicerol.

3.1.2. Matérias-primas e produção de biodiesel no Brasil e no mundo

O biodiesel pode ser produzido a partir de uma variedade de matérias-primas, incluindo óleos vegetais comuns (soja, mamona, algodão, coco, girassol dentre outros), gorduras animais, como sebo bovino e gordura de frango, e óleos residuais. A escolha da matéria-prima para produção de biodiesel tem grande dependência de questões geográficas, climáticas e econômicas, ou seja, a depender da origem e da qualidade da matéria-prima, fazem-se necessárias mudanças nos processos de produção (KNOTHE, 2005). KNOTHE e RAZON (2017) destacam que as matérias-primas mais comumente utilizadas para produção de biodiesel são óleos vegetais considerados *commodity*, como colza, soja, palma e coco, porém, apesar de óleos de plantas terem a comum característica de possuir seu perfil de AGs composto pelos cinco ácidos graxos mais usuais (palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico), as quantidades destes ácidos variam de acordo com o tipo de óleo. Desta forma, as propriedades do biodiesel são diferentes a depender da matéria-prima utilizada. Por outro lado, existem oleaginosas, como a mamona, por exemplo, as quais possuem outros tipos de AGs como componente principal, influenciando significativamente nas propriedades do combustível derivado destes óleos (KNOTHE e RAZON, 2017). Mais recentemente, outras fontes lipídicas como microalgas, cianobactérias e fungos têm sido estudadas na produção de biodiesel (ROSSI *et al.*, 2011; HOEKMAN *et al.*, 2012; ISSARIYAKUL e DALAI, 2014).

De acordo com o relatório sobre o mercado global de abastecimento da União pela Promoção de Plantas Oleaginosas e Proteicas (UFOP, do alemão *Union zur Förderung von Oel- und Proteinpflanzen*), referente aos anos de 2016 e 2017, os óleos vegetais mais importantes para produção de biodiesel são os óleos de palma, soja e colza (UFOP, 2017).

Figura 2 – Processo de transesterificação comumente empregado na indústria.



Fonte: adaptado de KNOTHE e RAZON, 2017.

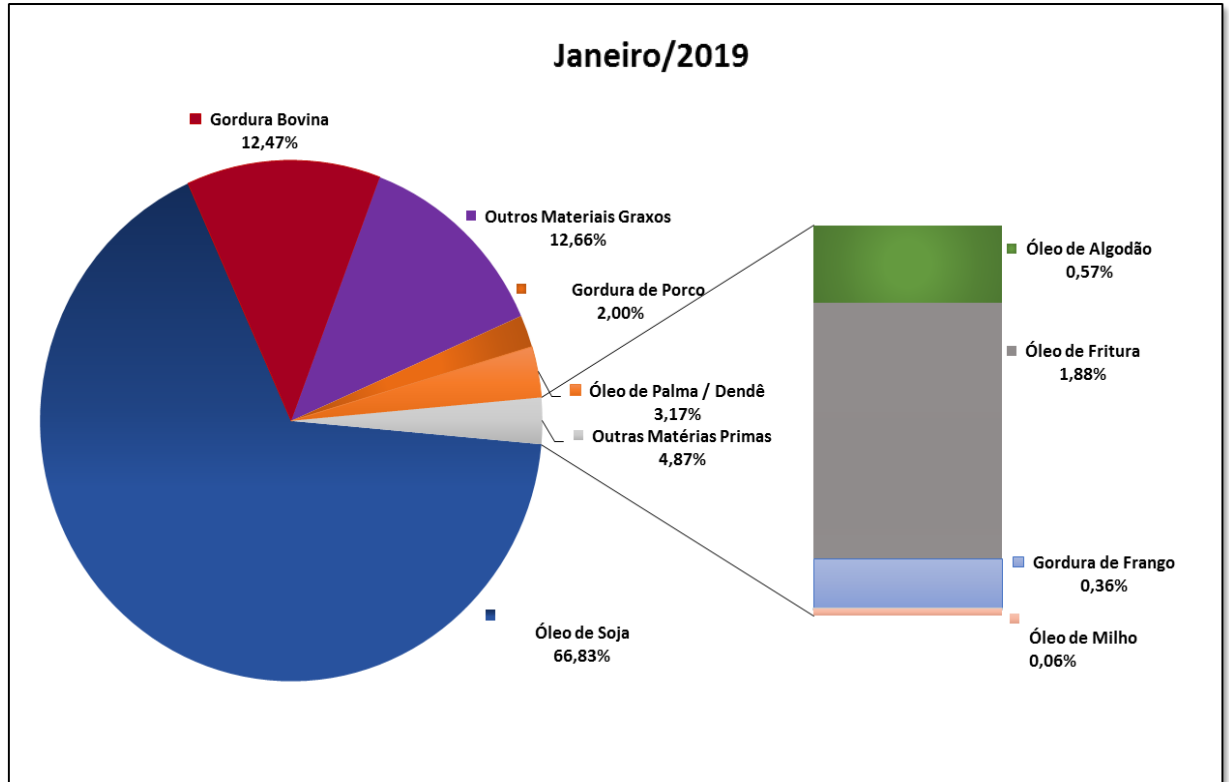
A Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), divulgou em sua página oficial boletins da produção de biodiesel, com o perfil de matérias-primas utilizadas no Brasil para produção de biodiesel no ano de 2018 e nos primeiros meses do ano de 2019. No mês de janeiro de 2019, 66,83% do biodiesel no Brasil foram produzidos a partir do óleo de soja, seguido por outros materiais graxos (12,66%) e gorduras bovinas (12,47%) (Figura 3), perfil similar ao da produção deste combustível renovável no ano de 2018. A região Centro-Oeste foi responsável pela produção da maior parte do biodiesel nacional em 2018, com uma média de produção mensal de 183469 m³ de biodiesel produzidos, seguida pelas regiões Sul (183277 m³), Sudeste (38148 m³), Nordeste (31361 m³) e Norte (8445 m³). O estado do Mato Grosso detém o maior número de indústrias produtoras de biodiesel, com 16 usinas instaladas (ANP, 2019).

Em 2018, na produção de biodiesel na região Nordeste do Brasil destacaram-se o óleo de soja, responsável por uma média de 39,71% do biodiesel produzido na região, seguido por gordura bovina (24,45%) e óleo de palma/dendê (15,33%) (ANP, 2019).

Dados da Revisão Estatística da Energia Global da *British Petroleum* (BP) indicam que, no ano de 2017, o Brasil foi o segundo maior produtor mundial de biocombustíveis, com

18,5 milhões de toneladas produzidas, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (36,9 milhões de toneladas) e seguido pela Alemanha (3,3 milhões de toneladas) (BP, 2018).

Figura 3 – Perfil de matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel no Brasil em janeiro de 2019.



Fonte: ANP, 2019.

No Brasil, após aprovação do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) em outubro de 2018, a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) fixou o percentual de até 15%, em volume, do biodiesel adicionado ao óleo diesel convencional comercializado até 2023, após testes e ensaios em motores, com previsão de aumento de para 11% em junho de 2019, nos termos da Lei nº 13.263 de 2016, a qual, atualmente, regulamenta que o petrodiesel comercializado no país deve conter 10% de biodiesel (v:v) (BRASIL, 2018; BRASIL, 2016). De acordo com o Ministério de Minas e Energia, no Brasil, a produção de biodiesel chegou ao maior nível nos últimos dez anos, com 1,13 bilhões de litros produzidos nos três primeiros meses de 2018, 32% a mais que o registrado no mesmo período de 2016. (GOVERNO DO BRASIL, 2018).

3.1.3. Óleo de mamona como matéria-prima para a produção de biodiesel

A mamona (*Ricinus communis*) é um vegetal oleaginoso pertencente à família Euphorbiaceae. Entre os óleos não comestíveis, o óleo de mamona é o mais utilizado para a produção de uma vasta gama de insumos industriais, com aplicações nas áreas de cosméticos, medicamentos e variados produtos químicos (BIANCHI *et al.*, 2011). Este óleo vegetal tem como principal constituinte o ácido ricinoleico (ácido 12-hidroxi-9(Z)-octadecenóico), um AG hidroxilado (KNOTHE *et al.*, 2012).

Em 2004, com a criação do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel, a utilização de oleaginosas como palma e mamona foi incentivada no Brasil, com intuito de promover a inclusão social, uma vez que foi priorizado um regime de agricultura familiar. No entanto, o alto valor internacional atribuído à mamona tornou esta matéria-prima atraente ao mercado exterior (COSTA *et al.*, 2013). Em estudo sobre a competitividade dos óleos de soja e mamona no Nordeste brasileiro, VAZ e colaboradores (2010) indicam que, apesar de maior resistência da mamona a períodos de seca, a soja é a matéria-prima mais apropriada para atender ao programa.

Os ésteres alquílicos produzidos a partir do óleo de mamona, um óleo de elevada viscosidade cinemática, têm como principais desvantagens a alta viscosidade e o índice de cetano insuficiente quando comparados ao biodiesel produzido a partir de outras matérias-primas, não estando de acordo com limites regulamentados por normas americanas e europeias (RAMOS *et al.*, 2017; KNOTHE *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2009).

ISLAM e colaboradores (2014) realizaram estudo sobre emissões e desempenho de motores a diesel utilizando biodiesel derivado do óleo de mamona, chegando à conclusão de que uma mistura de 80% de diesel convencional e 20% de biodiesel (B20) seria uma alternativa adequada para motores a diesel. Em estudos similares, MONTEIRO e colaboradores (2013) concluíram que ambas as misturas B10 e B20 demonstraram resultados satisfatórios para o mesmo fim, enquanto que KANWAR e colaboradores (2017) citam que a utilização da mistura B10 proporciona bom desempenho e redução de emissões poluentes.

A etanólise alcalina do óleo de mamona foi estudada por MENEGHETTI e colaboradores (2006) e SILVA e colaboradores (2009). No primeiro trabalho, foi realizado estudo comparativo entre metanólise e etanólise do óleo de mamona, no qual se verificou que utilizando álcool metílico foram obtidas porcentagens similares de biodiesel com menores tempos em comparação a reações que fizeram uso do álcool etílico. No segundo trabalho, os autores obtiveram 99% de conversão em ésteres alquílicos ao realizar etanólise do óleo de

mamona com temperatura de 30°C, 1% (m:m) de etóxido de sódio, proporção molar óleo:álcool de 1:16 e 30 minutos de reação.

De acordo com o estudo de SÁNCHEZ e colaboradores (2015), no qual foi utilizado o método de superfície de resposta, a metanólise alcalina do óleo de mamona é influenciada principalmente pelos fatores proporção molar óleo:álcool e concentração do catalisador.

A produção de biodiesel utilizando misturas de diferentes óleos contendo o óleo de mamona foi estudada por diferentes autores. Ao realizarem metanólise alcalina de misturas em diferentes proporções de óleo de mamona adicionado aos óleos de algodão e de soja, bem como dos óleos individualmente, MENEGHETTI e colaboradores (2007) concluíram que, sob as condições reacionais empregadas (proporção molar óleo:álcool:NaOH de 6:34:1, temperatura de ebulição do álcool e tempos de reação entre 1 e 10 horas), não houve tendência de que a transesterificação ocorresse preferencialmente em nenhum dos óleos, uma vez que rendimentos similares de FAME foram obtidos independentemente da proporção de óleos utilizada. Por outro lado, ao realizarem etanólise de misturas dos óleos de soja e mamona em diferentes proporções para a produção de biodiesel sob as mesmas condições utilizadas por MENEGHETTI e colaboradores (2006), BARBOSA e colaboradores (2010) obtiveram maiores rendimentos em ésteres etílicos e processos de purificação mais eficientes relacionados diretamente com a proporção de óleo de soja presente na mistura reacional. Resultados semelhantes foram obtidos por SERRA e colaboradores (2011), os quais compararam a metanólise de misturas dos óleos de soja e mamona na presença de catalisadores à base de estanho sob diferentes condições reacionais. Os autores concluíram que os rendimentos obtidos com a metanólise do óleo de mamona são geralmente menores do que quando o óleo de soja é utilizado.

3.2. Métodos baseados em cromatografia gasosa para quantificação de ésteres alquílicos em biodiesel

O biodiesel necessita passar por controle de qualidade para que seja comercializado de forma segura no mercado. Tal controle é realizado ao limitar-se a presença de material contaminante que possa influenciar negativamente as propriedades e o desempenho do combustível. Na transesterificação, TAGs são convertidos a ésteres alquílicos em diferentes etapas, havendo formação dos intermediários DAGs e MAGs, bem como do glicerol como coproduto. A formação de cada um destes compostos deve ser monitorada. Vários métodos têm sido desenvolvidos com o intuito de monitorar a produção de B100. As técnicas cromatográficas são as mais utilizadas para este tipo de análise. No entanto, técnicas

espectroscópicas também têm sido empregadas para a análise de ésteres alquílicos formados na transesterificação (MAHMUDUL *et al.*, 2017; MONTEIRO *et al.*, 2008; LÔBO e FERREIRA, 2009; ISSARIYAKUL e DALAI, 2014; KNOTHE e RAZON, 2017).

Tanto a ASTM quanto o CEN têm publicações referentes às especificações que o biodiesel comercializado em misturas com o petrodiesel deve obedecer. Estas especificações referenciam métodos analíticos específicos que incluem, por exemplo, cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*) para determinação de ésteres alquílicos, metanol, glicerol, MAGs, DAGs e TAGs, análise elementar e outras técnicas que caracterizam as propriedades físico-químicas do combustível (PAULS, 2011).

No Brasil, a ANP regulamenta o uso da norma europeia EN 14103 para quantificação de ésteres alquílicos em biodiesel. Esta norma aponta que o limite mínimo de ésteres alquílicos no biodiesel deve ser de 96,5% (m:m). No método descrito pela norma, baseado em GC com detecção por ionização em chama (FID, do inglês *flame ionization detector*), são utilizados coluna capilar de 30 metros de comprimento e padronização interna (ANP, 2014; CEN, 2001). Tal técnica cromatográfica tem sido a mais utilizada para análise de biodiesel devido à sua alta exatidão na quantificação de componentes em baixas concentrações. A maior parte dos trabalhos desenvolvidos para determinação de B100 utilizam GC-FID, no entanto, o uso de detecção por espectrometria de massas (MS, do inglês *mass spectrometry*) elimina dúvidas quanto à natureza dos eluentes (KNOTHE, 2005; KNOTHE, 2006).

FREEDMAN e colaboradores (1986) realizaram o primeiro estudo a utilizar GC para determinação de B100 (juntamente com MAGs, DAGs e TAGs). O óleo de soja foi utilizado como matéria-prima e as amostras passaram por processo de sililação previamente à análise cromatográfica. Os autores utilizaram coluna capilar de 100%-dimetilpolissiloxano, alcançando uma completa separação dos compostos em 12 minutos de análise, com rampa de aquecimento do forno de 160 a 350 °C.

ANTONIOSI FILHO e colaboradores (1995) utilizaram GC-FID em estudo que visou o desenvolvimento de um programa de computador para a previsão da composição de TAGs em óleos vegetais através de suas composições em termos de AGs. Neste trabalho, os autores compararam resultados obtidos ao utilizarem-se colunas de 5%-fenil-95%-metilpolissiloxano (separação em termos de número total de carbono) e 50%-fenil-50%-metilpolissiloxano (separação em termo de polaridade dos AGs) com os resultados calculados por computador. TIYAPONGPATTANA e colaboradores (2008) descreveram a utilização de GC em duas dimensões com detecção por FID (GC x GC FID) para determinação de FAME

em amostras de B100 e B5. Os autores utilizaram um arranjo crescente de polaridade composto por coluna de 5%-fenil-95%-metilpolissiloxano conectada à coluna de polietilenoglicol, resultando na eluição de FAME insaturados antes de seus isômeros saturados na primeira coluna, porém após os FAME saturados na coluna polar.

PAULS (2011) utilizou coluna cromatográfica de pequeno diâmetro interno para determinação da distribuição de FAME por meio de *Fast GC*. Neste estudo foram alcançados tempos de análise entre 4 e 5 minutos, a depender da composição da amostra. O autor utilizou coluna de polietilenoglicol e obteve resultados concordantes com os obtidos por metodologias convencionais. GODING e colaboradores (2013) fizeram estudo comparativo de diferentes fases estacionárias para determinação de variados ésteres alquílicos em biodiesel por GC-MS, no qual as melhores resoluções para isômeros geométricos foram obtidas ao utilizar-se coluna de 70%-cianopropil-30%-polidimetilssiloxano.

SILVA e colaboradores (2018) validaram metodologia baseada em GC-FID para determinação de ésteres metílicos e etílicos produzidos a partir de óleo de soja utilizando coluna curta, padronização interna e fator de resposta. Os autores utilizaram coluna apolar de 100%-dimetilpolissiloxano (2,2m x 0,25 mm x 0,25 μ m), injeção em modo *split* (1:80) com temperatura de 240 °C, FID a 250 °C e programação de aquecimento do forno de 50 a 340 °C. O tempo total de análise foi de aproximadamente 21 minutos.

3.3. Estudos cinéticos da reação de transesterificação

Estudos de cinéticas reacionais são essenciais para análise, *design*, simulação e controle de reatores e processos (SUPRARUKMI *et al.*, 2015; REYERO *et al.*, 2015). Em reações de transesterificação, fatores como presença de AGs livres, umidade, tipo e concentração de catalisador, proporção molar óleo vegetal:álcool e temperatura podem afetar o processo (FREEDMAN *et al.*, 1984; RICHARD *et al.*, PRAT, 2013). Na literatura são encontrados muitos relatos que objetivam estudar de que forma estes tipos de fatores influenciam na formação de todos os compostos envolvidos na transesterificação (TAGs, álcool, DAGs, MAGs, ésteres alquílicos e glicerol) através de estudos cinéticos desta reação. Para tal, variados autores realizam estudos voltados para a modelagem cinética da reação (FREEDMAN *et al.*, 1986; KOMERS *et al.*, 2002; XIAO *et al.*, 2010; ILGEN e AKIN, 2012; MAGALHÃES, 2010; NAWARATNA e FERNANDO, 2013).

VICENTE e colaboradores (2005) analisaram a cinética da metanólise do óleo de girassol ao avaliar efeitos produzidos pela velocidade de agitação, concentração de catalisador e temperatura, concluindo que aumentos dos dois últimos fatores influenciam na velocidade

de reação de forma diretamente proporcional. A etanólise do mesmo óleo foi alvo de estudo de REYERO e colaboradores (2015), os quais concluíram que razões molares óleo:álcool e concentração do catalisador exercem grande influência no desempenho do sistema.

FREEDMAN e colaboradores (1986) estudaram a cinética da transesterificação do óleo de soja com etanol e 1-butanol na presença de catalisadores alcalinos. Efeitos da razão molar óleo:álcool, de tipo e quantidade de catalisador e da temperatura foram estudados no trabalho, concluindo que as reações diretas são de pseudo-primeira ordem ou de segunda ordem, a depender dos parâmetros avaliados. MORGENSTERN e colaboradores (2006) determinaram a cinética da produção de biodiesel a partir de óleo de soja e metanol, com hidróxidos de sódio e de potássio como catalisadores. Os autores concluíram que a velocidade de formação de FAME é maior do que a de consumo total de todas as espécies de acilgliceróis do meio. TRENTIN (2010) desenvolveu modelo cinético para produção de ésteres etílicos de AGs do mesmo óleo utilizando etanol supercrítico com a adição de CO₂ como co-solvente ao meio reacional a fim de aumentar a solubilidade mútua entre óleo e álcool. O autor concluiu que os melhores rendimentos em ésteres alquílicos foram alcançados ao utilizarem-se temperatura acima do ponto crítico do etanol, pressão de 20 MPa, proporção molar óleo:álcool de 1:20 e razão mássica CO₂:substrato de 0,2:1.

ROMERO (2003) estudou a cinética da reação de transesterificação do óleo de mamona com metanol e hidróxido de sódio como catalisador para obtenção de biodiesel. O autor destaca que a ordem de reação das três etapas consecutivas da transesterificação depende da proporção óleo:álcool empregada. RAMEZANI e colaboradores (2010) investigaram os parâmetros que afetam a metanólise do mesmo óleo, testando variados catalisadores alcalinos e determinando que condições reacionais ótimas para produção de FAME: 0,5% (m:m) de metilato de potássio como catalisador, proporção molar óleo:álcool de 1:8, 65°C, 400 r.p.m de intensidade de agitação, durante 2 horas de reação. ANDRADE e colaboradores (2017) estudaram modelagens cinéticas da metanólise do óleo de mamona utilizando enzimas líquidas como catalisadores. Os autores concluíram que, ao utilizar este tipo de catalisador, altas velocidades da formação de mono e diacilgliceróis indicam que a transesterificação prevalece sobre possível hidrólise dos TAGs.

Os trabalhos desenvolvidos por BARBOSA e colaboradores (2010) e KEERA e colaboradores (2018) apresentam similaridades ao alvo de estudo do presente trabalho em termos de análise comparativa da cinética reacional da transesterificação. Os primeiros autores compararam o rendimento em ésteres alquílicos da etanólise alcalina de misturas dos óleos de soja e mamona em função de diferentes tempos reacionais ao variar as proporções

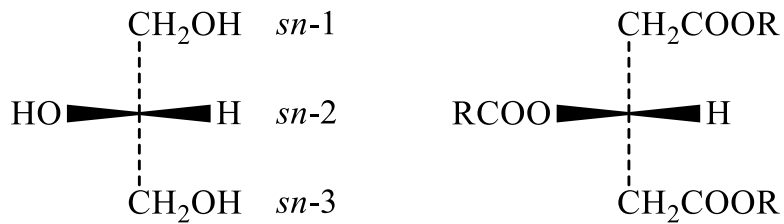
soja:mamona sob as mesmas condições reacionais. Os perfis cinéticos obtidos demonstraram que o rendimento em ésteres etílicos mostrou-se dependente da composição da mistura de óleos vegetais, com decréscimo gradual ao aumentar a proporção de óleo de mamona. Os segundos autores, os quais desenvolveram trabalho baseado na otimização da produção de biodiesel a partir do óleo de mamona e metanol, variaram de forma univariada quantidade de catalisador, proporção óleo:álcool e temperatura para avaliar o rendimento em FAME em função de diferentes tempos de reação. Os autores obtiveram os melhores rendimentos ao utilizar 1% (m:m) de catalisador, razão molar óleo:álcool de 1:9 e temperatura de 30°C.

3.4. Triacilgliceróis

Triacilgliceróis (TAGs), também denominados triglicerídeos ou triacilglicerídeos, consistem em três ácidos graxos (AGs) esterificados com o glicerol. Estes compostos proporcionam uma importante fonte de armazenamento de energia em animais e plantas, uma vez que são os principais componentes de óleos e gorduras, influenciando em propriedades físicas dos mesmos, como aparência, textura, plasticidade, morfologia e reologia (THOMAS, 2012; SATO e UENO, 2005). Como destacado por BUCHGRABER e colaboradores (2004), as estruturas moleculares das espécies individuais de TAGs podem ser descritas a partir de suas características em termos de: número total de carbono (NC) (soma dos átomos de carbonos presentes em cada um dos AGs); grau de insaturação do AG e posição e configuração das duplas ligações em cada AG. Além disso, TAGs também podem ser diferenciados em termos da posição exata (*sn-1*, *sn-2*, *sn-3*, do inglês *stereospecifically numbered*, como recomendado pela IUPAC) na qual o AG encontra-se esterificado com o esqueleto de glicerol (regioespecificidade) (Figura 4) (SCRIMGEOUR, 2005; IUPAC-IUB, 1978).

Os AGs são componentes essenciais da molécula de TAG. A maioria dos AGs pode ser definida como ácidos carboxílicos alifáticos de cadeia linear, sendo os mais encontrados na natureza os AG com NC entre 4 e 22, e aqueles que contêm NC = 16 ou 18 (C16 ou C18) são os mais comuns. Por esta razão, os AGs que possuem cadeias menores que NC = 16-18 são classificados como AGs de cadeia curta ou média, enquanto os AGs com cadeia acima desta faixa são denominados de AGs de cadeia longa. Um grande número de AGs resulta da mesma rota biossintética, na qual a cadeia é construída a partir de duas unidades de carbono, e ligações duplas *cis* são inseridas por enzimas desaturases em posições específicas da cadeia. Tal fato explica o característico número par para o NC da maioria dos AGs (SCRIMGEOUR, 2005).

Figura 4 – Estrutura do glicerol e molécula genérica de triacilglicerol. R representa cadeias variadas de ácidos graxos.



Fonte: adaptado de SCRIMGEOUR, 2005.

Uma maneira comum de classificação dos AGs é dada por dois números separados por dois pontos, fornecendo, respectivamente, o tamanho da cadeia e o número de insaturações. A posição da insaturação é geralmente explicitada após a primeira classificação. Por exemplo, o ácido oleico, o qual possui $NC = 18$, com uma insaturação no carbono 9, é descrito por 18:1 9c. A Tabela 1 apresenta a classificação de alguns AGs comuns, bem como sua estrutura e sua origem (KNOTHE *et al.*, 2006; SCRIMGEOUR, 2005).

3.4.1. Análise composicional de triacilgliceróis (TAGs)

LITCHFIELD (1972), em sua publicação *Analysis of Triglycerides*, destacou os principais desafios encontrados à época na análise química objetivando a caracterização de misturas complexas de TAGs. Entre tais desafios, destacam-se o número extremamente grande de espécies de TAGs devido às várias possíveis combinações de AGs esterificados com o esqueleto do glicerol a depender da composição em termos de AGs da mistura de TAGs e a similaridade das propriedades químicas e físicas da maioria destas moléculas. Desta forma, técnicas clássicas como cristalização fracionada e oxidação com permanganato não permitem uma separação completa de diferentes grupos de TAGs, tornando este tipo de análise semi-quantitativa. O desenvolvimento de novas técnicas analíticas, dentre as quais podemos destacar as cromatográficas e as enzimáticas, ajudou a superar tais dificuldades. No que diz respeito aos dias atuais, avanços na tecnologia operacional de técnicas cromatográficas bem como o uso de modos sofisticados de detecção facilitam ainda mais a análise estrutural de TAGs (LITCHFIELD, 1972; RUIZ-SAMBLÁS *et al.*, 2015).

Tabela 1 – Classificação, estrutura e possíveis origens de ácidos graxos comuns.

AG	Nome comum	Fórmula	Tamanho da cadeia	Origem
4:0	Butírico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$	Curta	Manteiga, laticínios
6:0	Capróico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CO}_2\text{H}$	Curta	Coco, amêndoa de palma
8:0	Caprílico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO}_2\text{H}$	Curta/média	Babaçu, amêndoa de palma, milho
10:0	Cáprico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CO}_2\text{H}$	Média	Manteiga, babaçu, amêndoa de palma, milho
12:0	Láurico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CO}_2\text{H}$	Média	Coco, babaçu, amêndoa de palma
14:0	Mirístico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CO}_2\text{H}$	Média	Manteiga, babaçu, amêndoa de palma, milho
16:0	Palmítico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}_2\text{H}$		Manteiga, manteiga de cacau, algodão.
18:0	Estearico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$		Sebo bovino
18:1 9c	Oleico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{CO}_2\text{H}$		Farelo de arroz, oliva, gergelim.
18:2 9c12c	Linoleico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{CO}_2\text{H}$		Milho, algodão, soja, girassol
18:3 9c12c15c	Linolênico	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{CO}_2\text{H}$		Linhaça
20:1 13c	Erúcido	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{CO}_2\text{H}$	Longa	Colza com alto teor erúcido
20:5 5c8c11c 14c17c	Eicosapenta-enóico	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_5(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$	Longa	Peixes e gorduras animais
22:6 4c7c10c 13c16c19c	Docosa-hexaenóico	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_6\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$	Longa	Peixes e gorduras animais

Fonte: Autor, 2019.

A determinação qualitativa e quantitativa de misturas de TAGs tem grande importância nos mais variados campos da ciência e indústria. Ao longo dos anos, por exemplo, a análise composicional de TAGs presentes em óleos e gorduras comestíveis tem possibilitado o conhecimento sobre o padrão de TAGs que determinadas misturas possuem. Estas informações são de suma importância para a indústria alimentícia no que diz respeito a análises químicas que visam à confirmação de autenticidade, detecção de adulteração e descoberta da composição de novas misturas. Estes procedimentos são de grande utilidade tanto do ponto de vista econômico quanto de saúde humana. Outro exemplo da importância da análise composicional de TAGs é o entendimento do metabolismo de lipídeos de um ponto de vista bioquímico, com a adição de determinados AGs em específicas posições no esqueleto do

glicerol a partir de sínteses enzimáticas, contrastando com sínteses químicas; além da percepção de propriedades físicas de óleos e gorduras, as quais dependem significativamente da composição dos mesmos em termos de TAGs. Informações composicionais de TAGs em uma mistura, por exemplo, são essenciais para o controle de reações industriais como hidrogenação e interesterificação, através das quais ocorrem alterações de composição de TAGs (BUCHGRABER *et al.*, 2004).

Diversas revisões presentes na literatura mostram que as principais técnicas utilizadas para determinação de TAGs são a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*) e GC, combinadas ou não com detecção por MS (BUCHGRABER *et al.*, 2004; ANDRIKOPOULOS *et al.*, 2004; LIPP, 1995; RUIZ-SAMBLÁS *et al.*, 2015; RUIZ-GUTIÉRREZ e BARRON, 1995). Além das técnicas cromatográficas, técnicas espectroscópicas, como espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier transform infrared*) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio-1 ou de carbono-13 (^1H NMR ou ^{13}C NMR, do inglês *Hydrogen-1/carbon-13 nuclear magnetic resonance*), também podem ser utilizadas na caracterização de óleos e gorduras (ANDRIKOPOULOS, 2002).

3.4.2. Cromatografia gasosa (GC)

BUCHGRABER e colaboradores (2004) destacaram que uma nítida vantagem do uso de GC para análise de TAGs é a disponibilidade de um detector simples e universal – o FID. O primeiro estudo baseado em GC para análise de TAGs de origens naturais foi publicado por KUKSIS e MCCARTHY (1962), os quais fizeram uso de colunas de aço empacotadas. A utilização de colunas capilares de sílica foi revisada pela primeira vez por SCHOMBURG e colaboradores (1977). Algumas das vantagens do uso de colunas capilares em detrimento das empacotadas são: separações mais eficientes proporcionadas pela possibilidade do uso de colunas mais longas (~30 m), recuperações quantitativas, reprodutibilidade, análises mais rápidas e maior tempo de vida das fases estacionárias. A alta eficiência na separação de TAGs individuais em colunas capilares se dá pela aplicação de fases estacionárias estáveis termicamente, baseadas em grupos metila, fenila ou cianopropila ligados a polissiloxano. Inicialmente, colunas capilares de polissiloxano ligados a grupos não polares eram as mais difundidas, permitindo separação dos TAGs apenas de acordo com seu NC. No entanto, o uso de colunas resistentes a altas temperaturas (365-390 °C) revestidas com fases mais polares, como as que contêm altas proporções de grupos fenila, melhorou a eficiência de separação de

TAGs, uma vez que as insaturações em AGs contribuem na separação nesse tipo de coluna (BUCHGRABER *et al.*, 2004).

ANEJA e colaboradores (1980) determinaram a composição de TAGs totalmente saturados em diferentes óleos e gorduras por GC-FID após etapa de purificação por cromatografia em camada delgada (TLC, do inglês *thin layer chromatography*). Para tal, os pesquisadores utilizaram coluna capilar de 50%-difênil-50%-dimetilpolissiloxano. Por outro lado, RUÍZ-GUTIÉRREZ e colaboradores (1992 e 1993), IMBS e colaboradores (1998) e DEPETERS e colaboradores (2001) utilizaram coluna capilar de 65%-difênil-35%-dimetilpolissiloxano como fase estacionária para determinação por GC-FID da composição de TAGs em amostras de tecido adiposo e lipoproteínas de origem humana, de sementes de espécie de pinheiro e de gordura de leite bovino, respectivamente.

Na grande maioria dos estudos da última década que fizeram uso da técnica de GC para a análise composicional de TAGs, nas mais diversas amostras de óleos ou gorduras, foi utilizada detecção por FID e MS (Tabela 2). YOSHINAGA e colaboradores (2017) utilizaram FID equipado com coluna capilar de 65%-difênil-35%-dimetilpolissiloxano e injeção *split* para determinação estrutural de TAGs presentes em gorduras e óleos comestíveis. RIBEIRO e colaboradores (2009) também fizeram uso do modo de injeção *split*, porém a separação foi feita em coluna capilar de 50%-fenil-50%-metilpolissiloxano com o intuito de caracterizar TAGs formados após interesterificação entre óleos de canola e de algodão totalmente hidrogenado e relacionar composição de TAGs com outras propriedades físicas e químicas, como comportamento térmico, polimorfismo e cristalização. Outros dois estudos similares utilizaram FID para análise de TAGs pós-interesterificação, simultaneamente a propriedades físico-químicas como ponto de fusão e índice de saponificação. Enquanto CHIU e colaboradores (2008) realizaram interesterificação envolvendo gordura de frango, estearina e TAGs de cadeia média, MASUCHI e colaboradores (2014) modificaram estruturalmente óleos de girassol com alto teor oleico e de palma totalmente hidrogenado. Ambos utilizaram condições cromatográficas similares às de RIBEIRO e colaboradores (2009). SOARES e colaboradores (2013) utilizaram coluna capilar de caráter apolar (5%-fenil-95%-metilpolissiloxano) para caracterização de TAGs encontrados em microalgas, visando posterior utilização dos mesmos para produção de biodiesel.

Outros dois trabalhos levaram em consideração um importante aspecto discutido na literatura: o modo de injeção em GC para análise de TAGs. As técnicas de injeção em GC utilizando colunas capilares podem ser divididas em injeção direta na coluna (*on-column*) e injeção em um vaporizador com ou sem divisão de fluxo (*split/splitless*). As altas massas

moleculares das moléculas de TAGs requerem a utilização de elevadas temperaturas para que sejam vaporizadas e eluídas. Métodos de injeção *split/splitless* em altas temperaturas estão muitas vezes associados à degradação térmica das moléculas de TAGs, a qual pode ser evitada ao utilizar-se a injeção *on-column* em baixas temperaturas ou a injeção com temperatura de vaporização programável do injetor (PTV, do inglês *programmed temperature vaporizer*) (HINSHAW e SEFEROVIC, 1986; LOZADA *et al.*, 1995; BUCHGRABER *et al.*, 2004). Como destacado por MATISOVA e DOMOTOROVA (2003), a maioria das análises realizadas por GC convencional em colunas capilares proporcionam tempos de análises entre 10 e 60 minutos, a depender do tipo de análise, do número de componentes a serem analisados e das condições experimentais utilizadas. Visando uma análise em menores tempos, PAVOLO e CONTARINI (2009) propõem a utilização de *Fast GC* para determinação de TAGs em gorduras de amostras de leite, com injeção em temperatura mais amena em injetor PTV, com tempo total de análise de 3,5 min. Por outro lado, MOLDOVEANU e CHANG (2011) além de realizarem análise de TAGs de algumas matérias-primas comuns com temperatura inicial de injeção *on-column* de 130 °C, também propuseram uma análise dual, utilizando FID para quantificação e MS para identificação dos TAGs.

3.4.3. Derivatização em cromatografia gasosa

Quando a amostra a ser analisada por cromatografia gasosa não é um gás nem é composta por substâncias voláteis, como ocorre com compostos contendo grupos funcionais de alta polaridade, faz-se necessária a derivatização, também conhecida como derivação (COLLINS *et al.*, 2006). Grupos funcionais polares hidroxila presentes em moléculas de acilglicerídeos exige a preparação de derivativos voláteis não polares destes compostos previamente à análise por GC. A baixa volatilidade destas substâncias está associada às forças intermoleculares por meio de ligações de hidrogênio existente entre os grupamentos polares destas moléculas (CHRISTIE, 1989).

Geralmente, sistemas simples de mistura entre amostra e agente derivatizante são utilizados para a realização de reações de derivatização no preparo de amostras para análise em cromatografia gasosa. No entanto, reações lentas podem ser aceleradas através de aquecimento (COLLINS *et al.*, 2006).

Compostos contendo grupos trimetilsilil (TMS) estão entre os reagentes derivatizantes mais comumente utilizados para reagir com moléculas contendo um grupo funcional

protônico. Esta reação de sililação deve ser feita na ausência rigorosa de água (COLLINS *et al.*, 2006). Derivativos TMS podem ser produzidos a partir de agentes derivatizantes como N-O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) (BRENGARTNER, 1985) ou N-metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida (MSTFA) (DIAS *et al.*, 2012).

3.4.4. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

HPLC é uma das técnicas mais utilizadas para análise de óleos e gorduras (ANDRIKOPOULOS, 2002). A separação de TAGs por HPLC é majoritariamente realizada em fase reversa, uma vez que a utilização de HPLC em fase normal para este tipo de análise tem eficácia limitada (PLATTNER e PAYNE-WAHL, 1979; RHODES e NETTING, 1988). Em fase reversa, as separações são obtidas pela partição entre fases estacionárias apolares, como C₁₈, e fases móveis polares, em sua maioria misturas de acetonitrila com acetona ou solventes clorados (BUCHGRABER *et al.*, 2004).

WADA e colaboradores (1977) aplicaram HPLC com detecção por índice de refração (RI, do inglês *refractive index*) na análise dos TAGs do óleo de soja utilizando mistura de metanol e clorofórmio como fase móvel. Os autores concluíram que o uso desta técnica combinada à GC pode fornecer informações mais detalhadas a respeito da composição de TAGs. HIERRO e colaboradores (1992) determinaram a composição de TAGs em óleo de abacate por HPLC e detector evaporativo de espalhamento de luz (ELSD, do inglês *evaporative light scattering detector*). Os autores utilizaram duas colunas de C₁₈ em série e gradiente dos solventes acetonitrila e acetona como fase móvel. PARCERISA e colaboradores (1994) e DÍAZ e colaboradores (1996) estudaram a composição de TAGs em frações lipídicas de sementes de avelã e de gordura suína, respectivamente. Os primeiros autores utilizaram gradiente de acetona e acetonitrila e RI como detector. Os segundos autores substituíram a acetona por diclorometano no gradiente da fase móvel e utilizaram detecção por ELSD.

Na última década, a maioria das referências fez uso de HPLC em fase reversa com coluna de C₁₈ quimicamente ligado à sílica. Em HPLC em fase reversa, a qual se caracteriza pelo uso de fase estacionária apolar e fase móvel polar, os mecanismos de separação de TAGs envolvem tamanho da cadeia e grau de insaturação dos AGs. Na Tabela 3 são encontrados parâmetros e aspectos da literatura referente à utilização de HPLC para análise da composição de TAGs na última década. Acetonitrila foi utilizada como constituinte da fase móvel em todos os estudos citados, mesmo que a eluição tenha sido realizada de forma isocrática ou em gradiente, com adição de diferentes solventes atuando como modificador da fase móvel. Com

exceção de GUAN e colaboradores (2016), HOLCAPEK e LISA (2009), LISA e HOLCAPEK (2008), GAO e colaboradores (2016), os quais usaram detecção por UV e MS em série e APPAIAH e colaboradores (2014), JEYARANI e REDDY (2010), KIM e MARANGONI (2017), os quais usaram detecção por RI, os demais autores fizeram uso de ELSD. Valores de temperatura da coluna cromatográfica, quando especificados, variaram entre 20 e 40 °C. Dentre os objetivos buscados pela análise estrutural de TAGs nos trabalhos citados, podem ser destacados: caracterização de TAGs formados após interesterificação entre diferentes matérias-primas e possível relação da composição de TAGs com outras propriedades físicas e químicas (JEYARANI e REDDY, 2010; XIE e CHEN, 2014; AHMADI *et al.*, 2008; XIE e QI, 2013); investigação de propriedades de matérias-primas pouco estudadas, e comprovação de adulteração e modificação de alimentos e óleos (GAO *et al.*, 2016; BARREIRA *et al.*, 2009; LEE *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2014).

3.4.5. Outras técnicas cromatográficas

TLC é uma técnica bem estabelecida para análise de óleos e gorduras, combinando baixo custo, análises rápidas, separações efetivas e recuperação dos produtos separados. No entanto, há a desvantagem da baixa reprodutibilidade. Tal técnica, em fases normal ou reversa ou por meio de formação de complexos com íons prata, é um método clássico de isolamento e purificação de frações de TAGs (ANDRIKOPOULOS, 2002; BUCHGRABER *et al.*, 2004). Neste contexto, a utilização de TLC como forma de isolamento de TAGs em frações para subsequente elucidação composicional por outras técnicas analíticas é bem reportada na literatura (CHRISTIE e MOORE, 1972; ANEJA *et al.*, 1980; IMBS *et al.*, 1998).

Tabela 2 - Parâmetros e aspectos da análise composicional de triacilgliceróis por cromatografia gasosa na última década.

Amostra	Dimensões e fase estacionária da coluna Modo de injeção	Rampa de aquecimento do forno	Referência
Mistura interesterificada de gordura de frango, estearina e TAGs de cadeia média	15m x 0,25 mm x 0,15 µm, 50%-fenil-50%-metilpolissiloxano <i>Split</i> (1:30)	250 °C → 350 °C (5 °C/min)	CHIU <i>et al.</i> , 2008
Mistura interesterificada de óleo de canola e óleo de algodão	15 m x 0,25 mm x 0,15 µm, 50%-fenil-50% -metilpolissiloxano, <i>Split</i> (1:100)	250 °C → 350 °C (5 °C/min)	RIBERO <i>et al.</i> , 2009
Gorduras do leite	2,5 m x 0,32 mm x 0,05 µm, 100% dimetilpolissiloxano PTV	250 °C → 350 °C (60 °C/min)	POVOLO e CONTARINI, 2009
Óleos de referência, comerciais e extratos de sementes	30 m x 0,25 mm x 0,10 µm, 65% difenil-35%-metilpolissiloxano <i>On-column</i>	130 °C → 300 °C (30 °C/min) 300 °C → 365 °C (4 °C/min) 7 min	MOLDOVEANU e CHANG, 2011
Óleos de micro algas	8 m x 0,25 mm x 0,10 µm, 5%-fenil-95% -metilpolissiloxano <i>Split</i> (1:10)	360 °C → 370 °C (5 °C/min) 370 °C → 390 °C (20 °C/min) 2 min	SOARES <i>et al.</i> , 2013
Mistura interesterificada de óleo de girassol e óleo de palma	15 m x 0,25 mm x 0,15 µm, 50%-fenil-50% -metilpolissiloxano <i>Split</i> (1:100)	250 °C → 350 °C (5 °C/min)	MASUCHI <i>et al.</i> , 2014
Óleos de sésamo, amendoim e açafrão	30 m x 0,32 mm x 0,15 µm, 50%-fenil-50% -metilpolissiloxano <i>Split</i> (1:30)	NR	KIM e MARANGONI, 2017
Manteiga de cacau, óleos de palma e canola	30 m x 0,25 mm x 0,10 µm, 65% difenil-35%-metilpolissiloxano <i>Split</i> (1:50)	250 °C → 360 °C (4 °C/min) 25 min	YOSHINAGA <i>et al.</i> , 2017

Fonte: Autor, 2019.

PTV = injeção com temperatura de vaporização programável. NR = dados não citados na referência.

A utilização de íons prata em fases estacionárias de colunas cromatográficas faz com que TAGs possam ser separados de acordo com seu grau de insaturação. A base para a separação de TAGs nesse tipo de fase estacionária é a habilidade dos elétrons π das ligações duplas das cadeias de AGs em interagir com os íons prata e formar complexos polares estáveis (RUIZ-GUTIÉRREZ e BARRON, 1995). Os íons prata são geralmente imobilizados na fase estacionária em sílica gel ou material de troca catiônica e servem de fase estacionária para TLC ou HPLC (BUCHGRABER *et al.*, 2004). Estudos relatam o uso de cromatografia com íons prata colunas de HPLC ou em placas de TLC, sendo utilizada para análise composicional de variadas espécies de TAGs, subseguida ou não por outras técnicas analíticas, como GC e HPLC (AMIDZHIN e NIKOLOVA-DAMYANOVA, 1988; MACHER e HOLMQVIST, 2001; ADLOF *et al.*, 2002).

Outra técnica cromatográfica que pode ser destacada na literatura quanto à sua utilização para determinação composicional de TAGs é a cromatografia em fluido supercrítico (SFC, do inglês *supercritical fluid chromatography*). Tal técnica acoplada à MS foi utilizada por GAO e colaboradores (2017) e ZHOU e colaboradores (2014) para determinação da composição de TAGs em amostras de óleos comestíveis e gorduras do leite de vaca, respectivamente. Em ambos os estudos, foi utilizada coluna de C18 e misturas binárias ou ternárias como fase móvel tendo dióxido de carbono como principal componente. TU e colaboradores (2017) desenvolveram um método baseado em SFC-MS para determinar comparativamente a composição de TAGs de leite humano em diferentes estágios de lactação, bem como de fórmulas infantis, com coluna de 2-etilpiridina.

3.4.6. Outras técnicas analíticas

Além das técnicas cromatográficas, outras técnicas de análise direta e indireta também podem ser aplicadas para análise composicional de TAGs. Para análise direta de TAGs, a literatura apresenta estudos da determinação destes compostos através do uso de técnicas como FTIR, ^1H e ^{13}C NMR, análise térmica diferencial (DTA, do inglês *differential thermal analysis*), calorimetria exploratória diferencial (DSC, do inglês *differential scanning calorimetry*) e MS com variados tipos de ionização (MOSSOBA *et al.*, 1996; KALO *et al.*, 1996; MAVROMOUSTAKOS *et al.*, 1997; GOLBORN, 1968; TAN e CHE MAN, 2000; KRIST *et al.*, 2006).

Tabela 3 – Parâmetros e aspectos da análise composicional de triacilgliceróis por cromatografia líquida de alta eficiência na última década.

Amostra	Dimensões, fase estacionária, temperatura da coluna	Fase móvel	Fluxo (mL/min)	Detector	Tempo de análise e nº de TAGs identificados	Referência
Mistura interesterificada de óleos de canola e girassol	250 x 4,6 mm 5 µm; C18; NR	Acetonitrila-clorofórmio	NR	ELSD	NR 15 TAGs	AHMADI <i>et al.</i> , 2008
Óleos vegetais de importância industrial	300 x 3,9 mm; 150 x 3,9 mm 4 µm; C18; 25 °C	Acetonitrila; isopropanol	1,0	UV-MS	110 min 264 TAGs	LISA e HOLCAPEK, 2008
93 óleos vegetais	300 x 3,9 mm; 150 x 3,9 mm 4 µm; C18; 25 °C	Acetonitrila; isopropanol	1,0	MS	110 min 355 TAGs	HOLCAPEK e LISA, 2009
Óleo de castanha	250 x 4,6 mm 5 µm; C18; 20 °C	Acetona-acetonitrila	1,0	ELSD	NR 13 TAGs	BARREIRA <i>et al.</i> , 2009
Manteiga de cacau	250 x 4,6 mm 5 µm; C18; 30 °C	Clorofórmio-acetonitrila-acetona	NR	ELSD	NR 11 TAGs	MARTY e MARANGONI, 2009
Mistura interesterificada de óleos vegetais	300 x 3,9 mm 5 µm; C18; 36 °C	Acetona-acetonitrila	1,0	RI	NR 10 TAGs	JEYARANI e REDDY, 2010
Óleo de sésamo	250 x 4,6 mm 5 µm; C30; NR	Acetonitrila; isopropanol	1,2	ELSD	60 min 14 TAGs	LEE <i>et al.</i> , 2013
Mistura interesterificada de banha e óleo de soja	150 x 4,6 mm 4 µm; C18; 40 °C	Diclorometano; acetonitrila	1,2	ELSD	45 min 20 TAGs	XIE e QI, 2013
Mistura interesterificada de banha e óleo de soja	150 x 4,6 mm 4 µm; C18; 40 °C	Diclorometano; acetonitrila	NR	ELSD	45 min 20 TAGs	XIE e CHEN, 2014
Cogumelos comestíveis	250 x 4,6 mm 5 µm; C18; 20 °C	Acetona-acetonitrila	1,0	ELSD	NR 12 TAGs	FERNANDES <i>et al.</i> , 2014

Óleo de coco	250 x 4,0 mm 5 µm; C18; NR	Acetona- acetonitrila	1,0	RI	30 min 20 TAGs	APPAIAH <i>et al.</i> , 2014
Óleo de semente de cenoura	250 x 4,6 mm 5 µm; C18; NR	Metanol- acetonitrila; isopropanol	1,0	UV-MS	30 min 8 TAGs	GAO <i>et al.</i> , 2016
Lactícínios	250 x 4,6 mm 5 µm; C18; NR	Acetona- acetonitrila- clorofórmio	NR	ELSD	156 min 13 TAGs	VIEITEZ <i>et al.</i> , 2016
Óleo de colza	150 x 4,6 mm 5 µm; C18; 35 °C	Acetonitrila; isopropanol	1,0	MS/MS	28 min 41 TAGs	GUAN <i>et al.</i> , 2016
Óleos de sésamo, amendoim e açafrão	250 x 4,6 mm 5 µm; C18; 40 °C	Acetona- acetonitrila	1,0	RI	NR 18 TAGs	KIM ^e MARANGONI, 2017
Fórmulas infantis	250 x 4,6 mm 5 µm; C18; NR	Acetonitrila; isopropanol	0,8	ELSD-MS	120 min 58 TAGs	SUN <i>et al.</i> , 2018

Fonte: Autor, 2019.

NR = dados não citados na referência. ELSD = detector evaporativo de espalhamento de luz. UV = ultravioleta. MS = espectrometria de massas.

RI = índice de refração. TAGs = triacilgliceróis.

Um método indireto comumente utilizado para determinação composicional de TAGs, pela elucidação estereoespecífica quanto à posição no esqueleto de glicerol na qual os AGs podem estar esterificados, é realizado através de reação de hidrólise enzimática. O princípio deste método baseia-se em teorias propostas por VANDER WAL (1960) e COLEMAN e FULTON (1961) as quais assumem que: (1) as posições *sn*-1 e *sn*-3 são equivalentes; (2) a composição de AG na posição *sn*-2 e nas posições *sn*-1 e *sn*-3 é diferente e independente; (3) os AGs ocupando a posição *sn*-2 bem como os que ocupam as posições *sn*-1 e *sn*-3 são distribuídos aleatoriamente. A utilização de lipases pancreáticas possibilitam uma hidrólise seletiva dos AGs nas posições *sn*-1,3 dos TAGs, produzindo 2-monoacilgliceróis e AGs. A molécula de 2-monoacilglicerol formada pode ser separada e convertida a FAME para posterior análise cromatográfica. O procedimento é então confirmado pela comparação da composição de AGs do TAG original e dos que restam após hidrólise parcial. Tal método, seguido de etapa de transesterificação e análise por GC, simultaneamente ou não a técnicas cromatográficas para análise composicional de TAGs, foi utilizado por KUKSIS e colaboradores (1972), TSYDENDAMBAEV e VERESHCHAGIN (2003), GAO e colaboradores (2016), XIE e CHEN (2014) e XIE e QI (2013).

3.4.7. Propriedades físico-químicas de triacilgliceróis (TAGs) de origem vegetal

As propriedades físico-químicas dos AGs variam de acordo com o tamanho da cadeia de carbonos, insaturações, grupos substituintes e variações de temperatura. Em termos de TAGs e, conseqüentemente, de óleos vegetais como os óleos de soja e de mamona, estas propriedades refletem, deste modo, suas composições em termos de AGs, de modo que os grandes tamanhos moleculares de TAGs em óleos vegetais resultam em altos valores de densidade e viscosidade (ESTEBAN *et al.*, 2012; SCHASCHKE *et al.*, 2006; HAMMOND *et al.*, 2005). O controle de qualidade de óleos inclui a análise de parâmetros físico-químicos como a densidade, a viscosidade cinemática e o índice de acidez (ZAHIR *et al.*, 2017; ZENEBON *et al.*, 2008).

A densidade ou massa específica é uma importante característica física de qualquer substância e representa uma medida da massa por unidade de volume da mesma. A densidade de óleos vegetais decresce linearmente com o aumento da temperatura (ESTEBAN *et al.*, 2012). A densidade em determinada temperatura é indicada pela pesagem de volume conhecido, pela determinação da flutuabilidade ou pela excitação eletromagnética da frequência natural da amostra (THOMAS, 2012).

A viscosidade é a medida da resistência oferecida por um fluído ao escoamento. De acordo com KRISNANGKURA e colaboradores (2006), esta propriedade pode ser considerada a integral das forças de interação das moléculas do fluído. Quando calor é aplicado ao fluído, as moléculas deslizam umas sobre as outras, diminuindo a viscosidade do líquido (ESTEBAN *et al.*, 2012). A viscosidade de um óleo pode ser determinada por viscosímetro de fluxo, capilaridade, queda ou cisalhamento (THOMAS, 2012).

A determinação da acidez pode fornecer um dado importante na avaliação do estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio. A decomposição dos acilgliceróis é acelerada por aquecimento e pela luz, sendo a rancidez quase sempre acompanhada pela formação de AGs livres, os quais são frequentemente expressos em termos de índice de acidez (ZENEBOON *et al.*, 2008). THOMAS (2012) define por valor de acidez o número de miligramas de hidróxido de potássio requerido para neutralizar 1 g do óleo ou gordura.

MENEGHETTI e colaboradores (2013) destacam que a utilização de catalisadores básicos na reação de transesterificação requer o emprego de matérias-primas com baixos teores de AGs livres, e, conseqüentemente, baixos valores de índice de acidez. Óleos com altos teores de AGs livres podem reagir com o catalisador, levando à formação de sabões.

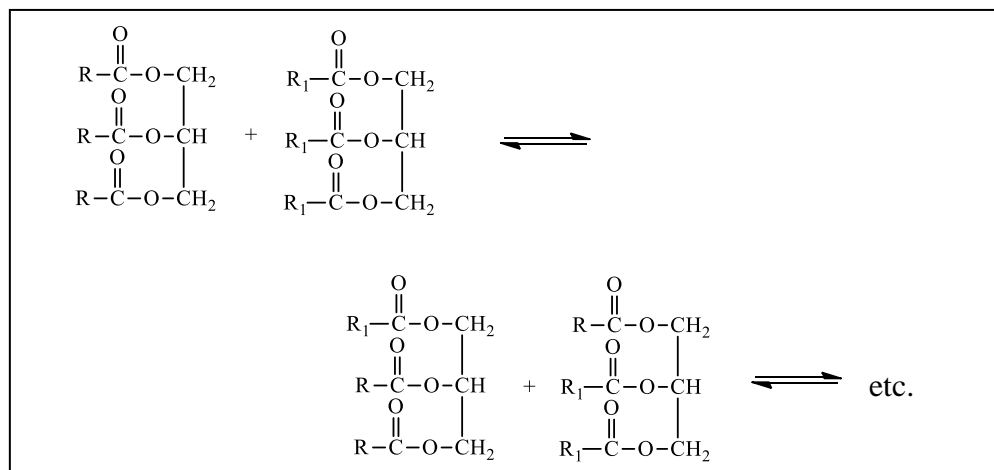
3.5. Interesterificação

A interesterificação é uma importante tecnologia de modificação de óleos a qual pode ser aplicada diretamente em óleos e gorduras naturais ou ainda em óleos fracionados ou hidrogenados. Este processo é utilizado para modificar as propriedades físicas de óleos e/ou gorduras por meio de rearranjo dos AGs nas diferentes moléculas de TAGs (Figura 5) (SREENIVASAN, 1978; KELLENS, 2000). HAAS (2005) destaca que, apesar de este tipo de reação ocorrer na ausência de catalisadores em temperaturas suficientemente altas, estes são empregados na indústria para acelerar o processo, reduzindo o tempo de reação e possíveis degradações térmicas das amostras. Os catalisadores mais comumente utilizados, em concentrações de 0,05 a 0,1% (m:m), são alcalinos, como méóxido ou etóxido de sódio ou de potássio e ligas destes metais, ou enzimáticos (lipases). Como estes tipos de catalisadores podem reagir com água, AGs livres e produtos oxidados, é importante o uso de matérias-primas puras e sem umidade. As reações podem ser realizadas em reatores em batelada ou contínuos, com temperaturas aproximadas a 100 °C. Quando em batelada, os tempos de

reação são tipicamente menores que 1 hora. A reação pode ser terminada por adição de água, ácido ou silicato à solução (HAAS, 2005; KELLENS, 2000; LIU, 2004; DIJKSTRA, 2015).

O tipo mais simples de interesterificação é denominado não direcionado. Neste tipo de reação, AGs são rearranjados entre as espécies de TAGs, alcançando um produto totalmente randômico. Isto pode ser útil para modificar desempenho e propriedades de óleos e gorduras que contêm preponderância de uma espécie de TAG. Por esta razão, este tipo de interesterificação tem sua maior aplicação na modificação de banhas na indústria alimentícia, ao diminuir a proporção de ácido palmítico na posição *sn*-2 de seu TAGs e produzir mistura de acilgliceróis com duas saturações e menor ponto de fusão que a banha original, melhorando suas propriedades de cozimento. Na Tabela 4 estão demonstrados os típicos parâmetros industriais para a interesterificação randômica com metóxido de sódio como catalisador (HAAS, 2005; KELLENS, 2000).

Figura 5 – Reação de interesterificação. R e R₁ representam cadeias variadas de ácidos graxos.



Fonte: adaptado de THOMAS (2012).

Na interesterificação de modo direcionado, o curso da reação de formação de produto totalmente randômico é alterado pela modificação das condições reacionais a fim de remover seletivamente do meio reacional determinadas espécies de acilgliceróis que são formadas. Este processo envolve a condução da reação em temperaturas suficientemente baixas, levando à precipitação os acilgliceróis com ponto de fusão acima da temperatura utilizada. Este tipo de reação é utilizado para remoção de espécies de TAGs totalmente saturadas do líquido reacional, prevenindo a precipitação de seus AGs no processo de randomização dos AGs. Assim, a composição de acilgliceróis no meio reacional tende a ser de espécies insaturadas, onde a distribuição final de espécies depende também da temperatura e do tempo de reação.

Deve-se ressaltar, porém, que a reação não é realizada com o intuito de levar todos os AGs saturados do meio à precipitação. A reação é conduzida até que sejam alcançadas as propriedades de desempenho do produto desejado. Interesterificações direcionadas podem ser aplicadas para elevar o conteúdo sólido de banhas em altas temperaturas, garantindo a plasticidade do produto em maiores faixas de temperatura (HAAS, 2005).

Tabela 4 – Parâmetros da matéria-prima e condições reacionais para a reação de interesterificação.

Matéria-prima:		
Mistura de óleos/gorduras semi-refinados (neutralizados/descoloridos)		
- Água:	< 0,02% (m:m)	prefer. < 0,01% (m:m)
- AGs livres:	< 0,1% (m:m)	prefer. < 0,05% (m:m)
- Valor de peróxidos:	< 3 meq O ₂ /kg	prefer. < 1 meq O ₂ /kg
- Fosfatídeos:	< 0,01% (m:m)	
Condições:		
- Catalisador:	0,05 – 0,1% (m:m) CH ₃ ONa	
- Temperatura:	90 – 150 °C	
- Pressão:	< 50 mbar	
- Tempo de reação:	15 – 60 min	

Fonte: Adaptado de KELLENS (2000).

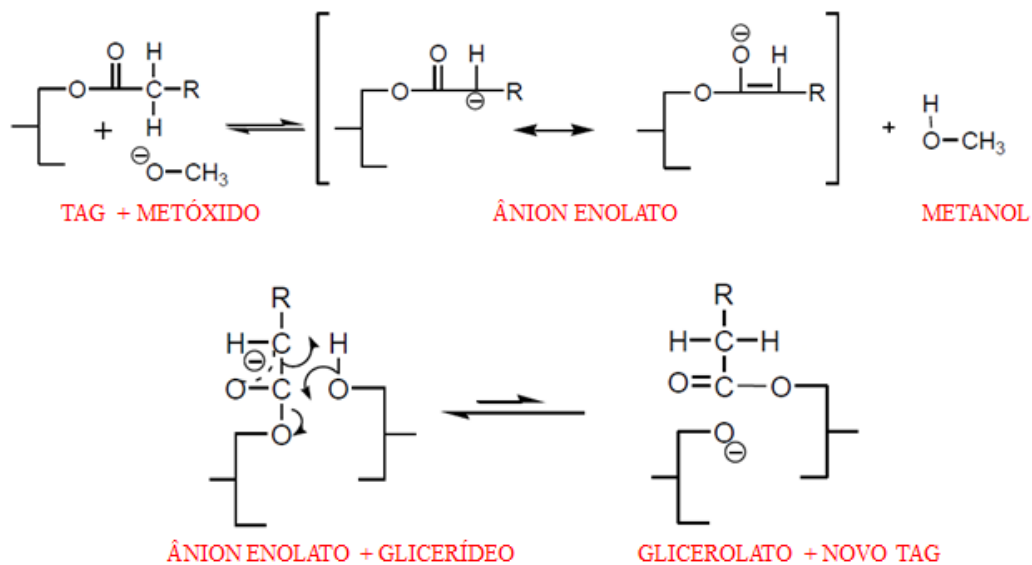
Reações de interesterificação podem ser conduzidas entre duas fontes lipídicas de naturezas diferentes, como óleo e gordura. Este processo é uma forma de introduzir AGs saturados aos TAGs de óleos vegetais, sendo uma alternativa para produção de gorduras plásticas, como a margarina, já que processos de hidrogenação levam à formação de AGs insaturados *trans* (gorduras *trans*) (LIU, 2004; HAAS, 2005; RIBEIRO *et al.*, 2007).

Ambos os processos de interesterificação citados acima, direcionado e não direcionado, fazem uso de catalisadores alcalinos e englobam-se no que é chamada interesterificação química (LIU, 2004). LIU (2004) desenvolveu estudo com intuito de elucidar os mecanismos de iniciação da interesterificação química. O pesquisador destaca que dois mecanismos foram propostos para este problema. WEISS e colaboradores (1961) propuseram que a interesterificação inicia quando o metóxido abstrai o hidrogênio α de um grupo éster para formar o ânion enolato, que então forma um β -cetoéster via condensação de Claisen. A reação então ocorre por repetitivas substituições nucleofílicas de β -cetoéster por diacilgliceróis no carbono dos grupos cetona ou acil até que seja atingido o equilíbrio termodinâmico (Figura 6). Por outro lado, COENEN (1974) propôs que a iniciação da interesterificação química se dá por adição e substituição nucleofílicas do metóxido

diretamente ao carbono do grupo acil esterificado ao glicerol, formando o ânion diglicerinato (glicerolato). A reação então ocorre por repetitivas substituições nucleofílicas de diglicerinatos em carbonos de grupamentos acil dos TAGs (Figura 7). LIU (2004), ao utilizar ésteres de diferentes ácidos carboxílicos como substratos em reações catalisadas por metóxido, obteve resultados que indicam que os mecanismos propostos por WEISS e colaboradores (1961) são satisfatórios. De forma semelhante, estudos de DIJKSTRA (2005 e 2008) também corroboraram tal mecanismo para a iniciação da interesterificação.

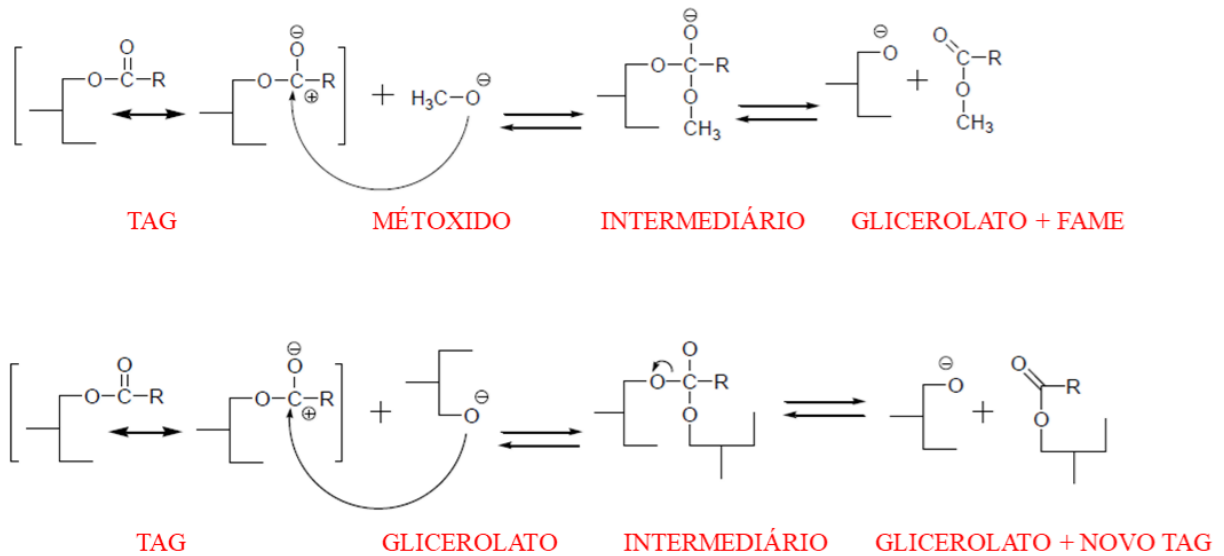
Catalisadores biológicos também podem ser utilizados em reações de interesterificação. As lipases são enzimas produzidas pela maioria dos seres vivos para catalisar a hidrólise das ligações de ésteres de óleos e gorduras, o primeiro passo do metabolismo dos mesmos. Porém, em condições anidras ou de pouca percentagem de água, as lipases também catalisam reações de interesterificação. O uso de lipases como catalisador oferece vantagens sobre catalisadores não enzimáticos: estas enzimas são ativas em temperatura e pressão ambientes, o que diminui a necessidade de aplicação de energia, permitindo reações com lipídeos instáveis, uma vez que baixas temperaturas podem evitar degradações térmicas. Várias lipases exibem especificidade de substrato, incluindo especificidade em relação a tamanho, grau de insaturação do AG que as mesmas aceitam como substrato ou posição da molécula de glicerol na qual atuarão. Sendo assim, estas enzimas podem ser aplicadas em interesterificações direcionadas envolvendo seletividade posicional e de AGs (HAAS, 2005).

Figura 6 – Mecanismo para interesterificação proposto por WEISS e colaboradores (1961).



Fonte: Adaptado de DIJKSTRA (2008).

Figura 7 – Mecanismo para interesterificação proposto por COENEN (1974).



Fonte: Adaptado de DIJKSTRA (2008).

DIJKSTRA (2015) revisou vantagens e desvantagens do uso industrial das interesterificações química e enzimática. O pesquisador conclui que os processos de interesterificação química tendem a ser mais vantajosos em termos de flexibilidade operacional e econômica quando aplicados de forma apropriada.

A literatura apresenta um grande número de investigações acerca da randomização de misturas de óleos e/ou gorduras por meio de interesterificação. A ampla maioria dos trabalhos objetiva relacionar possíveis alterações estruturais dos TAGs com suas propriedades físico-químicas. Na Tabela 5 estão compiladas algumas destas publicações e os parâmetros utilizados nas reações de interesterificação.

LAGO e HARTMAN (1986) estudaram a interesterificação direcionada de óleo de palma na presença de liga de sódio e potássio (NaK, 0,5% m:m) como catalisador, obtendo uma fração líquida e outra sólida após a redistribuição dos AGs, as quais apresentaram características que permitiram sua utilização como azeite e como matéria-prima para margarinas, respectivamente.

HURTOVA e colaboradores (1996) obtiveram gorduras apropriadas para uso na indústria alimentícia após interesterificação não direcionada de mistura dos óleos de girassol e de colza e da mesma mistura após processo de total hidrogenação. Os autores destacam que, ao comparar com o uso de métoxido de sódio, a utilização de hidróxido de sódio como catalisador apresentou resultados satisfatórios na obtenção de gorduras com as propriedades físicas e nutricionais desejadas no estudo.

Tabela 5 – Parâmetros e aspectos encontrados na literatura para reações de interesterificação.

Matérias-primas	Catalisador (m:m)	Tempo Temperatura	Técnica utilizada para análise de TAGs	Referência
Óleos vegetais e óleos totalmente hidrogenados	NaOH (1%) CH ₃ ONa (0,5%)	60 min 120 °C 30 min 90 °C	GC e HPLC	HURTOVA <i>et al.</i> , 1996
Óleo de soja e óleo de soja totalmente hidrogenado	CH ₃ ONa (0,4%)	5-40 min 100 °C	GC	RIBEIRO <i>et al.</i> , 2009
Óleo de mamona e óleos com AGs saturados	Lipase de <i>Mucor miehei</i> (10%)	5 h 60 °C	Apenas propriedades físico-químicas	GHOSH e BHATTACHARYYA, 1999
Óleo de palma	NaK (0,5%)	2 h 30 °C	HPLC	LAGO e HARTMAN, 1986
Manteiga e óleo de canola	CH ₃ ONa (0,5%) Lipase de <i>Rhizopus arrhizus</i> (2%)	30 min 80 °C 24 h 50 °C	GC	ROUSSEAU e MARANGONI, 1999
Estearina de palma e óleo de palma	CH ₃ ONa (0,2%)	60 min 110 °C	HPLC	NORIZZAH <i>et al.</i> , 2004
Óleo de buriti e gordura de murumuru	Lipase de <i>Rhizopus sp.</i> e <i>T. lanuginosa</i> (2,5-10%)	24 h 40 °C	Algoritmo matemático	SPERANZA <i>et al.</i> , 2016

Fonte: Autor (2018).

TAGs = triacilgliceróis. AGs = ácidos graxos. NaOH = hidróxido de sódio. CH₃ONa = metóxido de sódio. NaK = liga de sódio e potássio. GC = cromatografia gasosa. HPLC = cromatografia líquida de alta eficiência.

GHOSH e BHATTACHARYYA (1999) e SPERANZA e colaboradores (2016) realizaram estudos quanto à utilização de lipases em reações de interesterificação. Os primeiros autores aplicaram lipase de *Mucor miehei* (10% m:m) na interesterificação do óleo de mamona com óleos de alto teor de AGs saturados a fim de introduzir estes AGs não oxigenados nos TAGs do óleo de mamona e avaliar propriedades dos produtos. Os produtos obtidos apresentaram redução em termos de ponto de fusão e viscosidade cinemática quando comparados com as misturas de partida e com o óleo de mamona, respectivamente. Os segundos autores utilizaram dois tipos de lipases em três tipos de sistemas diferentes para redistribuir os AGs de TAGs de óleos e gorduras de origem amazônica. Os autores obtiveram produtos com níveis reduzidos de TAGs totalmente saturados ou insaturados, os quais apresentaram potencial de aplicação em indústrias de cosméticos e farmacêuticas.

ROUSSEAU e MARANGONI (1999) compararam processos químicos (CH_3ONa 0,5% m:m) e enzimáticos (lipase de *Rhizopus arrhizus* 2% m:m) na interesterificação de misturas de manteiga e óleo de canola. Os autores concluíram que a interesterificação química propiciou maiores alterações em propriedades físicas e sensoriais das misturas de partida, uma vez que a composição de TAGs e o teor de gorduras sólidas sofreram menores modificações através da interesterificação enzimática.

NORIZZAH e colaboradores (2004) estudaram os efeitos da interesterificação química (CH_3ONa 0,2% m:m) em propriedades físico-químicas de misturas de estearina de palma e óleo de semente de palma, a fim de produzir óleos apropriados para a indústria alimentícia. Os resultados obtidos pelos autores indicaram que as misturas interesterificadas apresentaram menores pontos de fusão e teores de gorduras sólidas do que as misturas de partida, ou seja, a interesterificação levou ao desaparecimento dos TAGs com elevadas temperaturas de fusão.

RIBEIRO e colaboradores (2009) investigaram a influência do tempo de reação na interesterificação química da mistura de óleo de soja e óleo de soja totalmente hidrogenado. Sob as condições utilizadas (CH_3ONa 0,4% m:m, 100°C), os autores concluíram por meio de análises de composição, de teor de gorduras sólidas e de ponto de fusão dos TAGs que a reação atinge equilíbrio após 5 minutos.

4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

4.1. Materiais e reagentes

Todas as etapas do trabalho foram realizadas no Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR), no Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. As análises cromatográficas foram realizadas utilizando um cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu (Japão), modelo GC-2010, com detecção por FID e um cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Shimadzu, com detecção por UV. As análises de FTIR foram realizadas utilizando espectrômetro Nicolet IR200 (Thermo Fisher, Estados Unidos).

No preparo de amostras foram utilizados: balança analítica da marca Shimadzu, agitador magnético com aquecimento modelo C-MAG HS7 da marca IKA (Brasil) e centrífuga Universal 320 (Hettich, Alemanha).

Os solventes utilizados com grau de pureza HPLC foram: n-heptano da marca Sigma-Aldrich (Estados Unidos), metanol, isopropanol e hexano da marca Dinâmica (Brasil). Em reações de transesterificação foi utilizado metanol grau PA da marca Dinâmica. Como catalisador nas reações de transesterificação foi utilizado hidróxido de sódio grau PA da marca Dinâmica. Em reações de interesterificação, foi utilizado como catalisador metóxido de potássio (CH_3OK , pureza $\geq 97\%$) da marca Merck (Alemanha). Em reações de derivatização foi utilizada piridina grau PA da marca Sigma-Aldrich (Estados Unidos).

Os padrões analíticos utilizados, todos com grau de pureza maior ou igual a 99%, foram: mono-, di- e trioleína da marca Nu-Chek Prep, Inc. (Estados Unidos) e tricaprilina (glicerol trictanoato) da marca Sigma-Aldrich. Como agente derivatizante, N-metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida (MSTFA) da marca Sigma-Aldrich foi aplicado. Hexano e sulfato de magnésio grau PA da marca Dinâmica foram utilizados no processo de lavagem e remoção de umidade das amostras de óleos interesterificados, respectivamente. Foram utilizados óleo de mamona adquirido da empresa Sucroquímica Ind. Com. Ltda. (Brasil) e óleo de soja comercial da marca Soya (Bunge Alimentos, Brasil).

4.2. Reações de interesterificação

As reações de interesterificação foram realizadas com as misturas físicas (60 g) de óleo de soja (OS) e óleo de mamona (OM) em proporções (m:m) 2:1 (OS:OM 2:1), 1:1 (OS:OM 1:1) e 1:2 (OS:OM 1:2), em sistema fechado, sob vácuo, em balão de fundo redondo (100 mL) imerso em banho de óleo a 120 °C, com agitação constante durante 180 minutos.

Com o intuito de evitar a presença de água em meio reacional, previamente ao início da reação, a mistura de óleos foi mantida sob vácuo e agitação constante a 100 °C entre 10 e 15 minutos. Para fins de melhorar a solubilidade do catalisador metóxido de potássio na mistura de óleos, uma alíquota desta mistura foi retirada do sistema reacional e utilizada para dissolver o catalisador em um béquer com auxílio de bastão de vidro. O catalisador dissolvido na alíquota de óleo foi adicionado ao meio reacional sob atmosfera de argônio (ultra puro, LINDE, Brasil).

Ao todo, foram realizadas seis reações de interesterificação entre os óleos de soja e de mamona. Em três reações foi utilizada proporção de 0,4% (m:m) de catalisador, de acordo com estudos da literatura (HURTOVA *et al.*, 1996; ROUSSEAU e MARANGONI, 1999; RIBEIRO *et al.*, 2009; ROCHA, 2015). Nas demais reações, foi utilizado excesso de catalisador, em proporção de 1,2% (m:m), a fim de verificar uma possível maior eficiência da reação de interesterificação.

Após as reações, os produtos reacionais foram lavados com solução aquosa de ácido fosfórico 5% (v:v) e salmoura com o intuito de ajustar a acidez da amostra interesterificada de acordo com sua respectiva mistura física, além de remover impurezas. As amostras foram então centrifugadas a 5000 r.p.m. antes e após a adição de sulfato de magnésio com o intuito de remoção de umidade.

4.3. Identificação de triacilgliceróis (TAGs) utilizando metodologias cromatográficas

Metodologias baseadas GC e HPLC foram utilizadas com o objetivo de identificar os TAGs dos óleos utilizados no trabalho, tanto de forma individual quanto em misturas dos mesmos antes e após reação de interesterificação, possibilitando a confirmação da formação de novos TAGs e outros produtos, como DAGs e MAGs, após randomização dos ácidos graxos.

Esta parte do trabalho pode ser dividida em duas etapas: 1) caracterização dos óleos de soja e de mamona (antes e após derivatização) bem como de suas misturas físicas e interesterificadas (GC-FID com injeção *split* e HPLC-UV) e 2) verificação da presença de MAGs e DAGs nas misturas interesterificadas (GC-FID com injeção *on-column*). Em análises por GC-FID, o gás de arraste utilizado foi o hidrogênio (ultra puro, LINDE, Brasil), com fluxo de 1 mL min⁻¹ e as amostras não derivatizadas foram preparadas em solução de n-heptano em concentração de 50000 µg mL⁻¹. Injeções em modo *split* e *on-column* foram realizadas com volumes de 1,0 µL e 0,1 µL, respectivamente.

4.3.1. Reações de derivatização

A presença de grupos hidroxila provenientes do alto teor de ácido ricinoleico presente no óleo de mamona exigiu que as amostras contendo este óleo passassem por processo de derivatização previamente a análises por GC-FID, a fim de facilitar a vaporização dos analitos para posterior eluição pela coluna capilar.

Foram preparadas em piridina soluções individuais de concentração $200000 \mu\text{g mL}^{-1}$ do óleo de mamona e das misturas físicas e interesterificadas OS:OM 2:1, OS:OM 1:1, OS:OM 1:2. Foram adicionados MSTFA e n-heptano a alíquotas destas soluções, alcançando concentração final de $50000 \mu\text{g mL}^{-1}$. As reações foram realizadas com agitação constante e temperatura de $60 \text{ }^\circ\text{C}$ em banho de óleo, durante 10 minutos, em frascos de vidro de 4 mL devidamente vedados, adaptado de metodologia utilizada por MELO (2016).

4.3.2. Caracterização dos óleos de soja e de mamona e de suas misturas físicas e interesterificadas

Os óleos de soja e de mamona e suas misturas físicas e interesterificadas foram caracterizadas tanto por meio de GC-FID quanto HPLC-UV. A metodologia baseada em GC-FID, adaptada de SOARES e colaboradores (2013), foi empregada com injeção em modo *split* (1:20) a fim de posterior utilização do método em análises por GC/MS para confirmar as estruturas dos TAGs nas misturas de óleos. Foi utilizada coluna capilar VF-5MS (Agilent Technologies) (5%-fenil-95%-dimetilpolissiloxano) com 15 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,10 μm de espessura de filme. A temperatura do forno iniciou a $300 \text{ }^\circ\text{C}$ e foi aumentada até $325 \text{ }^\circ\text{C}$ (temperatura máxima suportada pela coluna) a uma taxa de aquecimento de $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, a fim de obter eficientes separações entre os picos cromatográficos, permanecendo nesta temperatura por 75 minutos e totalizando em 80 minutos de análise. Injetor e detector foram mantidos na temperatura de $325 \text{ }^\circ\text{C}$.

Além de GC-FID, foi realizada a identificação de TAGs dos óleos de soja e de mamona em suas formas individuais e em misturas dos mesmos antes e após interesterificação, bem como de amostra contendo MAGs e DAGs característicos de óleo de soja por meio de HPLC em fase reversa, com o intuito de alcançar melhores observações quanto à formação de novos TAGs. Foi utilizada adaptação de uma metodologia utilizada no GCaR para a determinação simultânea de FAME, MAGs, DAGs e TAGs, a qual foi desenvolvida por CARVALHO e colaboradores (2012). As análises foram realizadas em um equipamento de HPLC da marca Shimadzu com detector UV ajustado na faixa de 205 nm.

Como fase móvel foi utilizado um gradiente de metanol com uma mistura de isopropanol-hexano 5:4 (v:v). O gradiente de fase móvel iniciou com 100% de metanol, chegando em 50% de metanol e 50% de isopropanol-hexano em 20 minutos e foi mantido com eluição isocrática por 10 minutos. Foi empregada uma coluna apolar Nucleodur 100-5 C18 ec (Macherey-Nagel, Alemanha, 250 mm x 4,6 mm, 5 μm), mantida à temperatura constante de 40 °C. O volume de injeção foi de 20 μL e fluxo de 1 mL min^{-1} . O tempo total de análise foi de 33 minutos. As amostras de óleos foram preparadas dissolvendo-se 25 μL das mesmas em 2 mL da mistura isopropanol-hexano. Antes da injeção, estas amostras foram filtradas com filtros de politetrafluoroetileno com 0,45 mm de tamanho de poro da marca Millipore (Estados Unidos).

4.3.3. Identificação de mono e diacilgliceróis (MAGs e DAGs) nas misturas interesterificadas.

Com o intuito de verificar se houve a formação de MAGs e DAGs após reações de interesterificação, foram realizadas análises por GC-FID com injeção *on-column*/PTV a fim de garantir que MAGs e DAGs identificados não são provenientes da degradação térmica dos TAGs no injetor. Foi utilizada coluna capilar NST-05 (Nano Separation Technologies, Brasil) (5%-fenil-95%-dimetilpolissiloxano) com 15 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,10 μm de espessura de filme. A programação de aquecimento do injetor e do forno iniciou a 50 °C, onde permaneceu por 2 minutos, em seguida foi aumentada até 300 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1} e até 370 °C a uma taxa de aquecimento de 2,5 °C min^{-1} , permanecendo nesta temperatura por 5 minutos e totalizando em 60 minutos de análise. O detector foi programado para temperatura de 370 °C. Além das misturas interesterificadas, foram analisados por esta metodologia padrões analíticos de MAGs (monoleína) e DAGs (dioleína).

4.4. Determinação de parâmetros físico-químicos dos óleos

Os óleos de soja e de mamona, bem como as misturas OS:OM 2:1, OS:OM 1:1 e OS:OM 1:2 (antes e após interesterificação) foram caracterizadas em termos dos parâmetros físico-químicos densidade ou massa específica, viscosidade cinemática e índice de acidez.

As determinações de densidade foram realizadas à temperatura ambiente a partir da massa de amostra suficiente para preencher até o menisco um balão volumétrico de 5 mL. Foi utilizada balança analítica da marca Shimadzu, com análises realizadas em triplicata após lavagem e secagem do balão.

A viscosidade cinemática dos óleos foi determinada em banho termostático da marca Julabo (Alemanha) a 40 °C de acordo com a norma ASTM D445-12, com auxílio de viscosímetros capilares Cannon-Fenske (Cannon, Estados Unidos). Foram depositados nos viscosímetros 8,5 mL da amostra e o tempo que o líquido levou para atravessar o espaço entre o menisco superior e o menisco inferior foi cronometrado. Cada viscosímetro apresenta uma constante expressa em $\text{cSt s}^{-1} (\text{mm}^2 \text{s}^{-1})$, a qual é utilizada na obtenção do valor da viscosidade do óleo a partir do tempo cronometrado. As análises foram realizadas em triplicata (ASTM, 2012).

O índice de acidez (IA) dos óleos foi determinado em triplicata a partir de uma adaptação de metodologia oficial da Sociedade Americana de Oleoquímica (AOCS, do inglês *American Oil Chemists' Society*) (AOCS, 2017). Inicialmente foram pesados 0,5 gramas dos óleos e em seguida as amostras foram dissolvidas em 10 mL de uma mistura dos solventes hexano:álcool etílico 2:1 (v:v) e foram adicionadas 2 gotas de fenolftaleína (indicador químico) à solução previamente à titulação. O titulante foi uma solução padronizada hidróxido de potássio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. O índice de acidez, expresso em mg de KOH por g de óleo, é obtido pela Equação 01:

$$\text{IA} = [(V - \text{PB}) \times M \times \text{MM}_{\text{KOH}}] / m, \quad (01)$$

onde V é o volume de KOH consumido na titulação da amostra (mL), PB é o volume de KOH consumido na titulação do branco (mL), M é a molaridade da solução padronizada de KOH (mmol mL^{-1}), MM_{KOH} é a massa molecular do hidróxido de potássio (mg mmol^{-1}) e m é a massa do óleo (g).

4.5. Caracterização dos óleos por espectroscopia no infravermelho

Foram realizadas análises de FTIR com o intuito de caracterizar os óleos de soja e de mamona, as misturas destes óleos (OS:OM 2:1, OS:OM 1:1 e OS:OM 1:2) e todas as amostras interesterificadas, bem como observar se após o processo de interesterificação houve a isomerização das duplas ligações dos AGs envolvidos no processo.

Para a realização das análises, uma gota de amostra foi colocada sobre o cristal de diamante do equipamento, por meio da técnica de refletância total atenuada (ATR, do inglês *attenuated total reflectance*).

4.6. Reações de transesterificação

Inicialmente, foram produzidas amostras individuais de biodiesel com aproximadamente 100% de conversão em ésteres metílicos (B100), a partir das três misturas físicas dos óleos de soja e mamona (OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2), necessárias para obtenção de fator de resposta utilizado na determinação de ésteres alquílicos pelo método cromatográfico utilizado no estudo da cinética da transesterificação. Para tal, foi utilizada proporção molar 1,0:9,0:0,2 (óleo:álcool:catalisador), adaptada de KEERA e colaboradores (2018), onde o hidróxido de sódio foi utilizado como catalisador. As reações foram realizadas com 20 g dos óleos, em sistema fechado, sob refluxo, em balão de fundo redondo (50 mL) acoplado a condensador e imerso em banho de óleo à temperatura de 70 °C, aproximadamente 5 °C acima do ponto de ebulição do metanol, com agitação constante durante 120 minutos.

Para o estudo cinético da reação de transesterificação, as amostras interesterificadas passaram por processo de remoção de ácido e umidade provenientes da lavagem anterior, a fim de evitar a desativação do catalisador alcalino (hidróxido de sódio). As amostras foram dissolvidas em 50 mL de hexano e lavadas com salmoura em funil de separação. A fase orgânica foi então centrifugada a 5000 r.p.m. e o solvente foi evaporado em rota evaporador. As amostras foram então levadas ao vácuo antes da reação com o intuito de eliminar resquícios de umidade ou do solvente orgânico.

As reações de transesterificação dos óleos individuais e das misturas físicas e interesterificadas (8 g) OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2 com metanol, utilizadas no estudo cinético comparativo da reação, foram realizadas em sistema fechado semelhante ao descrito acima, porém em balão de fundo redondo de duas bocas (50 mL) e proporção molar óleo:álcool:catalisador de 1,00:5,00:0,06, a fim de obter-se conversões intermediárias em ésteres metílicos. Alíquotas foram retiradas do meio reacional em tempos de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20 e 30 minutos.

Ao término das reações ou retirada das alíquotas, as amostras foram depositadas em funis de separação ou tubos Eppendorf, neutralizadas com solução de ácido fosfórico 5% (v:v) e lavadas com solução saturada de cloreto de sódio, a fim de obter produtos com valores de pH neutro, ou seja, próximos de 7,0 e livres de impurezas.

4.7. Determinação de teor de ésteres metílicos por cromatografia gasosa

Para determinação de FAME após reações de transesterificação, foi utilizada metodologia validada por SILVA e colaboradores (2018), baseada em GC-FID utilizando

coluna curta e fator de resposta. As análises foram executadas utilizando cromatógrafo gasoso equipado com coluna capilar apolar VF-1MS (Agilent Technologies, 100%-dimetilpolissiloxano) com 2,2 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e filme com 0,25 µm de espessura. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio (ultra puro, LINDE), com fluxo de 1,6 mL min⁻¹. A injeção foi realizada em injetor do tipo *split* (1:80) com temperatura fixa de 240 °C. O volume de injeção de amostra foi de 1,0 µL. A programação de temperatura do forno iniciou a 50 °C, onde permaneceu por 1 minuto, aumentando em seguida até 180 °C a uma taxa de aquecimento de 15 °C min⁻¹; na sequência, a coluna foi aquecida de 180 °C a 230 °C e de 230 °C a 340 °C, a taxas de aquecimento de 7 °C min⁻¹ e 30 °C min⁻¹, respectivamente, totalizando em uma análise de 21 minutos. O detector foi mantido a 250 °C.

O rendimento (% R_d) de ésteres alquílicos das amostras de biodiesel foi obtido de acordo com a Equação 02:

$$\%R_d = [(m_{PI} \times A_S \times f) / (A_{PI} \times m_s)] \times 100, \quad (02)$$

onde m_{PI} é a massa do padrão interno, A_S é a soma das áreas dos picos referentes aos ésteres da amostra, f é o fator resposta do biodiesel, A_{PI} é a área do pico referente ao padrão interno e m_s é o peso da amostra.

As amostras de biodiesel foram preparadas pesando-se em balão volumétrico de 1 mL 0,1 g de amostra e 0,08 g do padrão interno (tricaprilina). Em seguida, clorofórmio foi adicionado até o menisco do balão.

4.7.1. Estudo cinético da reação de transesterificação

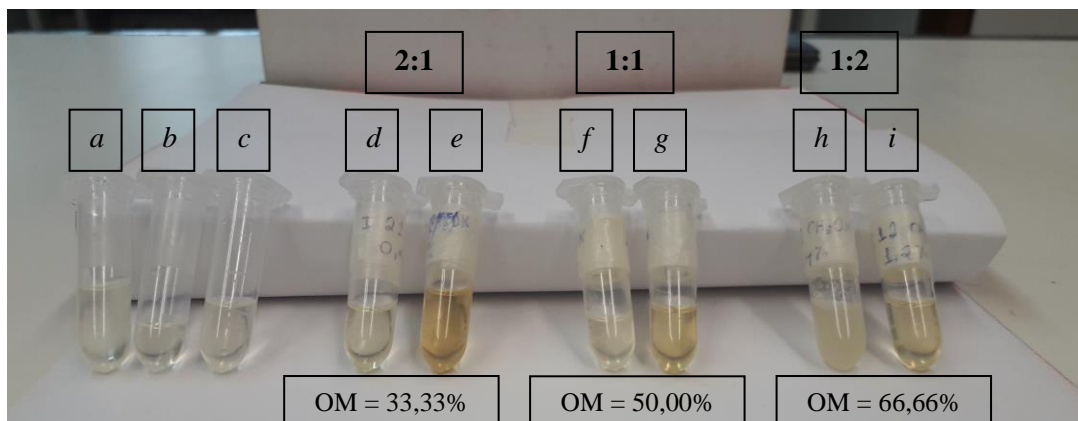
Para os estudos cinéticos de transesterificação para a geração de FAME, foram realizadas reações com as misturas físicas e interesterificadas de óleos (OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2). Neste estudo, foram observadas as correlações entre tempo reacional (0,5-30 min) e rendimento da reação de transesterificação. As curvas cinéticas das misturas físicas entre si e das mesmas com suas respectivas misturas interesterificadas foram comparadas, tanto na região de controle cinético quanto na região de equilíbrio termodinâmico.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Reações de interesterificação

A Figura 8 mostra a comparação entre as misturas físicas dos óleos de soja e de mamona OS:OM 2:1 (a), OS:OM 1:1 (b) e OS:OM 1:2 (c) e destas misturas após interesterificação utilizando 0,4% (d, f e h) e 1,2% (e, g e i) de catalisador, respectivamente. Como reportado pela literatura, observa-se o escurecimento das amostras após interesterificação em relação às misturas originais, característica da formação do catalisador ativo (complexo entre o catalisador adicionado e o TAG) em meio reacional, que apresenta coloração marrom-amarelada (OLIVEIRA, 2013; LIU, 2004; BRAUN, 1960; SREENIVASAN, 1978; MARANGONI e ROUSSEAU, 1995). Tal mudança de coloração foi observada com maior intensidade com o aumento da quantidade de catalisador utilizado na reação, de forma que as misturas com maior proporção mássica de óleo de soja tenderam a apresentar coloração mais escura que as misturas com maiores quantidades de óleo de mamona, um indicativo de que a reação de interesterificação se deu de forma mais eficiente com a menor quantidade (33,33%) de óleo de mamona no meio reacional. Uma vez que o óleo de mamona apresenta majoritariamente o ácido ricinoleico em suas cadeias de TAGs, menores quantidades deste óleo na mistura proporcionam mais posições disponíveis nos TAGs do óleo de soja para a randomização do ácido ricinoleico na reação de interesterificação, formando novos TAGs.

Figura 8 – Comparação entre as misturas físicas OS:OM 2:1 (a), 1:1 (b) e 1:2 (c) e suas respectivas misturas interesterificadas: OS:OM 2:1 com 0,4% (d) e 1,2% (e) de catalisador; OS:OM 1:1 com 0,4% (f) e 1,2% (g) de catalisador e OS:OM 1:2 com 0,4% (h) e 1,2% (i) de catalisador.



Fonte: Autor, 2019.

5.2. Determinação de parâmetros físico-químicos dos óleos

Na Tabela 6 são apresentados os valores obtidos após análises de viscosidade cinemática, índice de acidez e densidade dos óleos de soja, de mamona, das misturas físicas e interesterificadas (tanto com 0,4% quanto 1,2% de catalisador) OS:OM 2:1, OS:OM 1:1 e OS:OM 1:2. Deve-se ressaltar que os valores de índice de acidez das misturas interesterificadas foram obtidos após consecutivas lavagens das mesmas com ácido fosfórico 5% (v:v) e salmoura, objetivando ajustar a acidez destas amostras de acordo com suas respectivas misturas físicas para que tenham o mesmo comportamento frente ao catalisador alcalino utilizado na transesterificação.

5.2.1. Viscosidade cinemática

O óleo de mamona apresentou viscosidade cinemática substancialmente mais elevada ($250,30 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$) do que o óleo de soja ($33,15 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$). Tal resultado deve-se ao fato de que, diferentemente do óleo de soja (composto majoritariamente pelos AGs linoleico, oleico, palmítico e linolênico), o óleo de mamona é constituído quase que em sua totalidade pelo ácido ricinoleico, um AG hidroxilado que contribui para a formação de ligações de hidrogênio entre os TAGs deste óleo. Estas ligações fazem com que as forças de atração intermoleculares entre os TAGs do óleo de mamona sejam relativamente mais fortes do que as do óleo de soja, aumentando, assim, a viscosidade cinemática.

Como esperado, as misturas entre os óleos de soja e de mamona, OS:OM 2:1, OS:OM 1:1 e OS:OM 1:2, apresentaram valores crescentes de viscosidade ($60,06$; $76,81$ e $111,65 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$, respectivamente), os quais apresentaram-se abaixo do valor de viscosidade do óleo de mamona e acima do valor de viscosidade do óleo de soja. A mistura OS:OM 2:1 mostrou-se menos viscosa que as demais, uma vez que é composta por duas partes de óleo de soja para uma parte de óleo de mamona (33,33% de óleo de mamona), assim como a mistura OS:OM 1:2, composta por duas partes de óleo de mamona para uma parte de óleo de soja (66,66% de óleo de mamona), apresentou maior viscosidade que as demais misturas.

As amostras interesterificadas a partir da mistura OS:OM 2:1, utilizando 0,4% ($69,59 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$) e 1,2% ($70,86 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$) de catalisador, apresentaram, respectivamente, aumentos de 16 e 18% em sua viscosidade em relação à mistura original ($60,06 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$). Tal fato pode ser um demonstrativo de que a reação de interesterificação para esta mistura foi eficiente para ambas as quantidades utilizadas de catalisador, uma vez que, com o processo de randomização dos ácidos graxos entre as moléculas de TAGs, existirão cadeias de ácido

ricinoleico em um maior número de TAGs após interesterificação, facilitando as interações intermoleculares por ligação de hidrogênio.

Tabela 6 – Valores de viscosidade cinemática, índice de acidez e densidade dos óleos de soja e de mamona e das misturas físicas e interesterificadas destes óleos.

Amostra	Viscosidade ($\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$) ($\pm 0,36$)	Índice de acidez (mg KOH/g óleo) ($\pm 0,06$)	Densidade (g cm^{-3}) ($\pm 0,0019$)
Óleo de soja	33,15	0,11	0,9070
Óleo de mamona	250,30	2,25	0,9453
OS:OM 2:1	60,06	0,28	0,9205
OS:OM 1:1	76,81	0,40	0,9268
OS:OM 1:2	111,65	1,56	0,9340
OS:OM 2:1 inter. (0,4% cat.)	69,59	0,25 ^a	0,9194
OS:OM 2:1 inter. (1,2% cat.)	70,86	0,33 ^a	0,9219
OS:OM 1:1 inter. (0,4% cat.)	77,29	0,45 ^a	0,9277
OS:OM 1:1 inter. (1,2% cat.)	116,89	0,51 ^a	0,9237
OS:OM 1:2 inter. (0,4% cat.)	115,45	1,55 ^a	0,9315
OS:OM 1:2 inter. (1,2% cat.)	174,38	1,61 ^a	0,9321

^a – medidas realizadas após ajuste de acidez das misturas interesterificadas. OS = óleo de soja. OM = óleo de mamona.

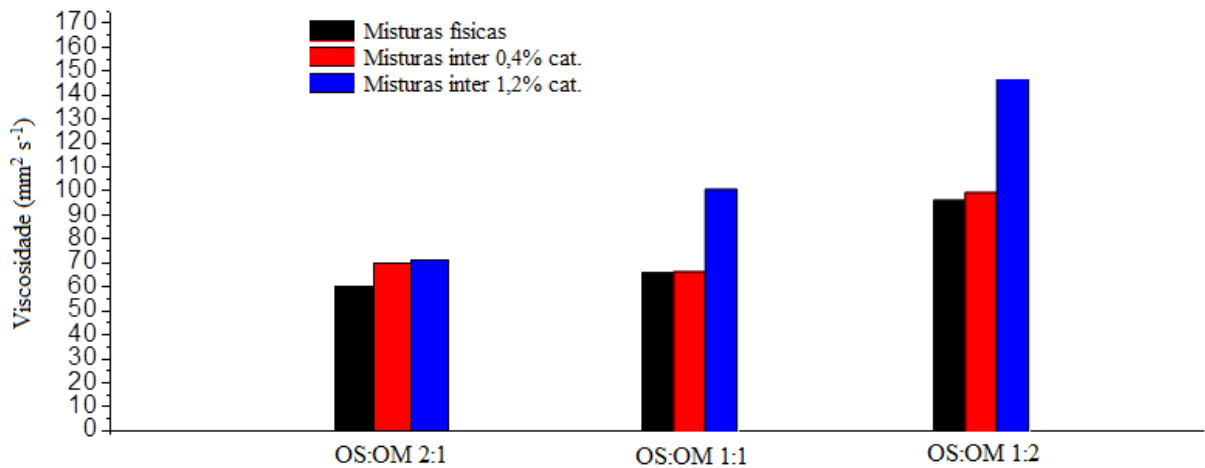
Fonte: Autor, 2019.

Diferentemente das interesterificações realizadas a partir da mistura OS:OM 2:1, as quais apresentaram maiores valores de viscosidade em relação à mistura original para ambas as quantidades de catalisador, as amostras interesterificadas a partir das misturas OS:OM 1:1 e 1:2 apenas apresentaram acréscimos significativos em termos de viscosidade cinemática quando foi utilizada a proporção mássica de 1,2% de catalisador (116,89 $\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$ e 174,38 $\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$, respectivamente), com aumentos de 52 e 56% quando comparadas às

misturas físicas ($76,81 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ e $111,65 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$, respectivamente). Isto é um indicativo de que o aumento da proporção de óleo de mamona no meio exige uma maior quantidade de catalisador para que a interesterificação ocorra de forma eficiente, de forma que as amostras interesterificadas a partir das misturas OS:OM 1:1 e 1:2 com 0,4% de catalisador apresentaram mudanças pouco significativas em termos de viscosidade ($77,29 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ e $115,45 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$, respectivamente), com aumentos de 1 e 3% em relação às misturas originais.

Na Figura 9 estão apresentados gráficos de barras que ilustram a comparação entre os valores de viscosidade cinemática das misturas físicas e interesterificadas nas diferentes proporções mássicas utilizadas.

Figura 9 – Comparação da viscosidade cinemática das misturas físicas (em preto) e interesterificadas com 0,4% (em vermelho) e 1,2% (em azul) de catalisador.



Fonte: Autor, 2019.

5.2.2. Índice de acidez

Os diferentes valores de índice de acidez apresentados pelos óleos de soja ($0,11 \text{ mg KOH/g}$ óleo) e de mamona ($2,25 \text{ mg KOH/g}$ óleo) podem ser explicados pela presença do ácido ricinoleico nos TAGs do óleo de mamona, os quais apresentam maior acidez que os TAGs presentes no óleo de soja. O ácido ricinoleico possui um grupo hidroxila em sua cadeia, o qual pode ser ionizado, liberando íon hidrônio no meio, o que explica a maior acidez do óleo de mamona em relação ao óleo de soja.

De maneira similar ao que foi observado para as medidas de viscosidade, as misturas entre os óleos de soja e de mamona, OS:OM 2:1, OS:OM 1:1 e OS:OM 1:2, apresentaram valores crescentes de índice de acidez ($0,28$, $0,40$ e $1,56 \text{ mg KOH/g}$ óleo, respectivamente), os quais mostraram-se abaixo do valor de índice de acidez do óleo de mamona e acima do

valor de índice de acidez do óleo de soja. A mistura com maior proporção de óleo de soja apresentou menor acidez, enquanto a mistura com maior proporção de óleo de mamona é mais ácida que as demais.

Uma vez que foi utilizado catalisador alcalino nas reações de interesterificação, os produtos desta reação apresentaram elevada basicidade (valores de pH entre 11 e 12) ao término das reações. Como forma de eliminar o catalisador e demais impurezas, as amostras interesterificadas foram tratadas com solução de ácido fosfórico 5% (v:v) e salmoura, diminuindo a basicidade das mesmas. Além disso, estas amostras passaram por um exaustivo processo de ajuste de acidez previamente à utilização das mesmas em reações de transesterificação com fins comparativos à utilização das misturas físicas neste tipo de reação, uma vez que quanto maior o índice de acidez do óleo, maior será a possibilidade do mesmo favorecer a desativação do catalisador básico utilizado na reação de transesterificação (MENEGHETTI *et al.*, 2013). Assim, as amostras interesterificadas com diferentes proporções de óleos de soja e de mamona tiveram sua acidez ajustada de acordo com o índice de acidez apresentado por suas respectivas misturas físicas, levando em consideração o erro associado ao método utilizado.

5.2.3. Densidade ou massa específica

O óleo de mamona apresentou densidade mais elevada ($0,9453 \text{ g cm}^{-3}$) do que o óleo de soja ($0,9070 \text{ g cm}^{-3}$). Pode-se associar este fato mais uma vez à elevada composição em ácido ricinoleico do óleo de mamona. Além de maiores forças intermoleculares decorrentes das ligações de hidrogênio entre os TAGs do óleo de mamona, que faz com que estas moléculas estejam melhor empacotadas que as do óleo de soja (composto majoritariamente pelos AGs linoleico, oleico, palmítico e linolênico), ou seja, há mais TAGs do óleo de mamona do que do óleo de soja no mesmo espaço, este último também apresenta uma menor massa molecular, 874 g mol^{-1} , comparada a uma massa molecular de 927 g mol^{-1} do óleo de mamona.

Valores crescentes de densidade foram observados para as misturas entre os óleos de soja e de mamona OS:OM 2:1 ($0,9205 \text{ g cm}^{-3}$), OS:OM 1:1 ($0,9268 \text{ g cm}^{-3}$) e OS:OM 1:2 ($0,9340 \text{ g cm}^{-3}$), todos abaixo do valor de densidade do óleo de mamona e acima do valor de densidade do óleo de soja. De maneira análoga às medidas de viscosidade e índice de acidez, a mistura com maior proporção de óleo de soja apresentou menor densidade, enquanto a

mistura com maior proporção de óleo de mamona apresentou maior densidade que as demais amostras.

Diferentemente das análises de viscosidade cinemática, as medidas de densidade das misturas interesterificadas OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2 utilizando as duas proporções mássicas de catalisador (0,4% e 1,2%) não apresentaram mudanças significativas em relação às densidades apresentadas por suas respectivas misturas físicas. Desta forma, percebe-se que esta propriedade física das misturas entre os óleos de soja e de mamona não sofre grandes alterações após a interesterificação destas amostras. Pode-se concluir, assim, que há uma maior contribuição das massas moleculares do que das forças intermoleculares para a densidade destes óleos, uma vez que uma possível redistribuição dos fragmentos de ácido ricinoleico nas moléculas de TAGs, a qual proporciona alterações nas ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila deste ácido, não modificou a densidade das amostras.

5.3. Caracterização dos óleos por espectroscopia no infravermelho

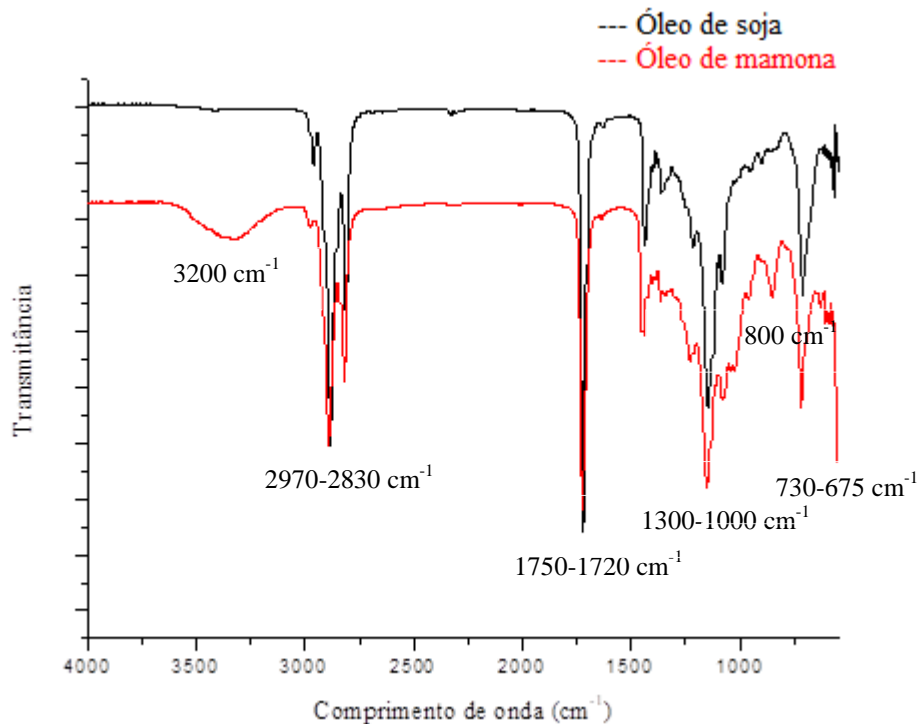
Na Figura 10 estão apresentados os espectros referentes às análises por FTIR dos óleos de soja e de mamona individualmente. Foi observada nos dois espectros a presença de: bandas na região entre 2970 e 2830 cm^{-1} características de vibração de estiramento dos grupos $-\text{CH}_2$ e $-\text{CH}_3$ dos AGs presentes nos óleos; bandas na região entre 1750 e 1720 cm^{-1} características de vibração de estiramento das ligações $\text{C}=\text{O}$ dos grupos ésteres dos AGs esterificados às moléculas de TAG; bandas na região entre 1300 e 1000 cm^{-1} características de vibração de estiramento das ligações $\text{C}-\text{O}$ dos grupos ésteres; bandas em 720 cm^{-1} características de vibração de deformação angular dos grupos $-(\text{CH}_2)_4-$ das longas cadeias saturadas dos AGs e bandas na região entre 730 e 675 cm^{-1} características de vibração de deformação angular dos grupos $=\text{C}-\text{H}$ das insaturações com isomerização *cis* dos AGs insaturados (SOCRATES, 2001).

Diferentemente das análises do óleo de soja, foi observada no espectro referente ao óleo de mamona bandas em 3200 cm^{-1} e em 800 cm^{-1} , características de vibração de estiramento dos grupos $\text{O}-\text{H}$ e de grupos $\text{C}-\text{C}-\text{O}$ de álcoois secundários, respectivamente, do ácido ricinoleico que constitui majoritariamente a composição de AGs deste óleo (SOCRATES, 2001).

Na Figura 11 estão apresentados os espectros referentes às análises por FTIR das misturas entre os óleos de soja e de mamona (OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2). Pode ser destacada uma diminuição gradual da banda característica de vibração de estiramento dos grupos $\text{O}-\text{H}$ nos espectros ao passo que se diminui a proporção de óleo de mamona nas misturas, uma vez que

a proporção de ácido ricinoleico na amostra é reduzida em comparação com o óleo de mamona individual.

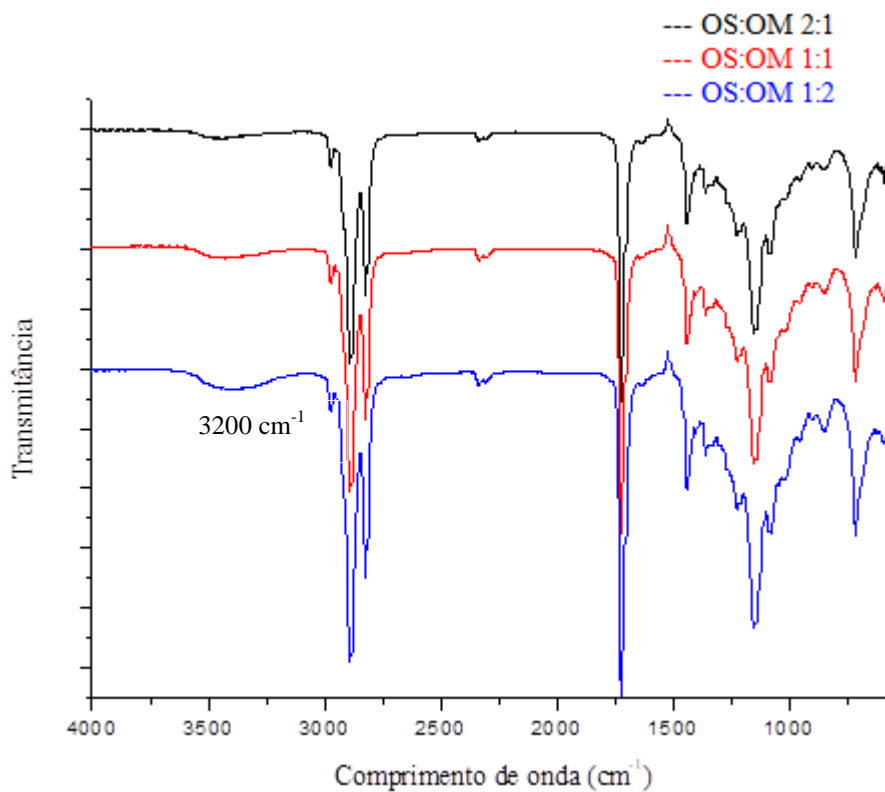
Figura 10 – Espectros de infravermelho dos óleos de soja e de mamona.



Fonte: Autor, 2019.

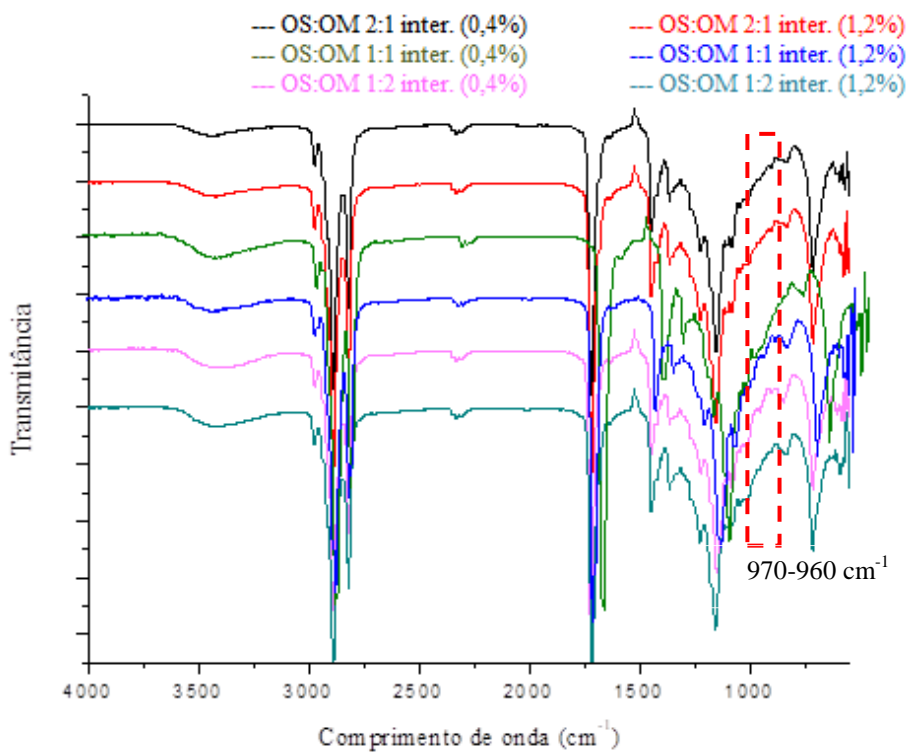
Como podem ser observados na Figura 12, os espectros das amostras interesterificadas assemelham-se aos espectros referentes às misturas originais. Foram observadas as mesmas bandas dos grupos =C-H das insaturações com isomerização *cis* dos AGs insaturados, sem o aparecimento de bandas na região entre 970 e 960 cm⁻¹ características de vibração de deformação angular destes grupos quando apresentam isomerização *trans* (SOCRATES, 2001). Diversos estudos relatam que uma das principais razões para a utilização da reação de interesterificação, principalmente na indústria alimentícia, é o impacto nutricional de ácidos graxos *trans* à saúde humana, uma vez que através desta reação podem ser preparadas gorduras com baixas quantidades de grupos funcionais *trans* (NORIZZAH *et al.*, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2007; DJIKSTRA, 2008). Portanto, corroborando com a literatura, não há mudança de isomerização *cis* para *trans* das duplas ligações dos AGs insaturadas após interesterificação dos óleos de soja e de mamona.

Figura 11 – Espectros de infravermelho das misturas entre os óleos de soja e de mamona (OSOM 2:1, 1:1 e 1:2).



Fonte: Autor, 2019.

Figura 12 – Espectros de infravermelho das misturas interesterificadas.



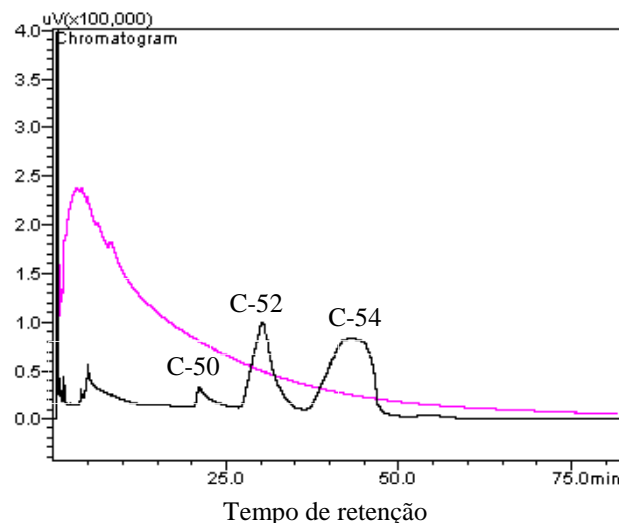
Fonte: Autor, 2019.

5.4. Caracterização dos óleos de soja e de mamona e de suas misturas físicas e interesterificadas

5.4.1. Cromatografia gasosa (GC) com injeção *split*

Na Figura 13 são apresentados os cromatogramas obtidos na caracterização dos óleos de soja e de mamona utilizando o método baseado em GC-FID, com injeção em modo *split*. No cromatograma referentes à análise do óleo de soja, em preto na Figura 13, como reportado por WADA e colaboradores (1977), pode ser observada a separação dos TAGs em três grupos, dentro da faixa de tempo de retenção entre 20 e 50 minutos, de acordo com seu número de carbono: C-50, C-52 e C-54, respectivamente em ordem crescente de eluição.

Figura 13 – Cromatogramas das análises por GC-FID do óleo de soja (em preto) e do óleo de mamona (em cor-de-rosa).



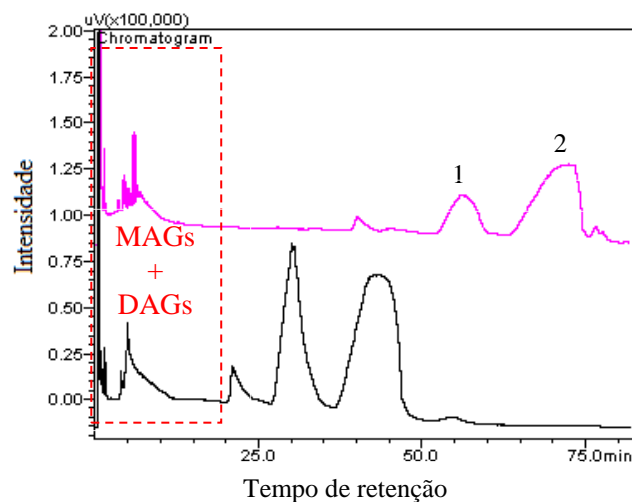
Fonte: Autor, 2019.

A análise do óleo de mamona, cromatograma em cor-de-rosa na Figura 13, ficou caracterizada pela formação de picos com coeluição entre 2 e 15 minutos devido à dificuldade de vaporização de seus TAGs, causadas principalmente pelas interações por meio de ligações de hidrogênio devido à presença dos grupos hidroxila do ácido ricinoleico (DIAS *et al.*, 2012). Como destacado por KNAPP (1979) e FARAJZADEH e colaboradores (2014), a derivatização em GC pode melhorar a resposta e a resolução entre compostos que coeluem. Tal fato foi comprovado após a análise do óleo de mamona derivatizado com MSTFA (Figura 14), substituindo os átomos de hidrogênio dos grupos hidroxilas do ácido ricinoleico por grupos trimetilsilil. Houve a formação de dois picos majoritários entre 52 e 76 minutos, sendo o segundo e maior pico referente à ricinoleína, TAG formado por três ácidos ricinoleicos,

como reportado por DIAS e colaboradores (2012). Além disso, picos cromatográficos entre 2 e 10 minutos podem ser observados em ambos os cromatogramas da Figura 14, caracterizando a degradação térmica dos TAGs no injetor aquecido a 325 °C, levando à formação de MAGs e DAGs.

Na Figura 15 estão apresentados os cromatogramas obtidos após análises por GC-FID com modo de injeção *split* da mistura física OS:OM 2:1 (em cor-de-rosa) e da mesma mistura após interesterificação com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de catalisador. Nos cromatogramas das misturas interesterificadas, as quais apresentaram aumentos de 16 e 18% em sua viscosidade em relação à mistura original, foram observados o desaparecimento dos picos referentes aos TAGs do óleo de mamona e a diminuição da intensidade dos picos referentes aos TAGs do óleo de soja. Além disso, também foram observados picos na faixa entre 2 e 10 minutos, os quais não podem ser associados totalmente à degradação térmica dos analitos no injetor *split*, uma vez que DAGs podem ser intermediários da reação de interesterificação, como observado nas Figuras 6 e 7.

Figura 14 – Cromatogramas das análises por GC-FID do óleo de soja (em preto) e do óleo de mamona após derivatização (em cor-de-rosa). 1 e 2 são picos referentes ao óleo de mamona.

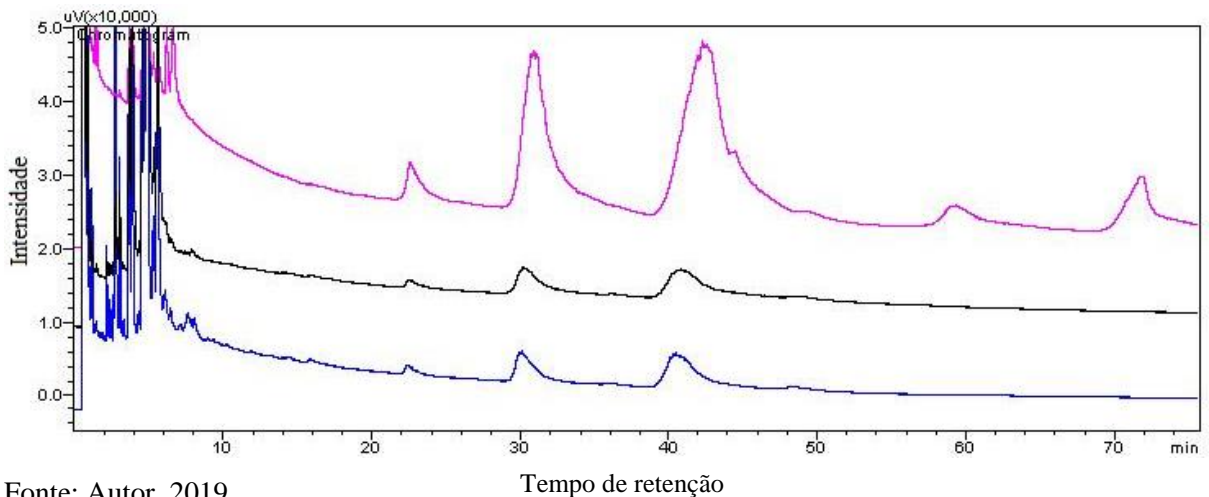


Fonte: Autor, 2019.

Na Figura 16 estão apresentados os cromatogramas obtidos após análises por GC-FID da mistura física OS:OM 1:1 (em cor-de-rosa) e da mesma mistura após interesterificação com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de catalisador. Na amostra interesterificada com 0,4% de catalisador foram observados, além dos três picos referentes aos TAGs do óleo de soja (22-46 min) e dos dois picos referentes aos TAGs do óleo de mamona (57-78 min), dois novos picos em 37 e 50 minutos, o que indica a formação de novos TAGs após processo de randomização dos AGs. Assim como nas análises das misturas interesterificadas OS:OM 2:1,

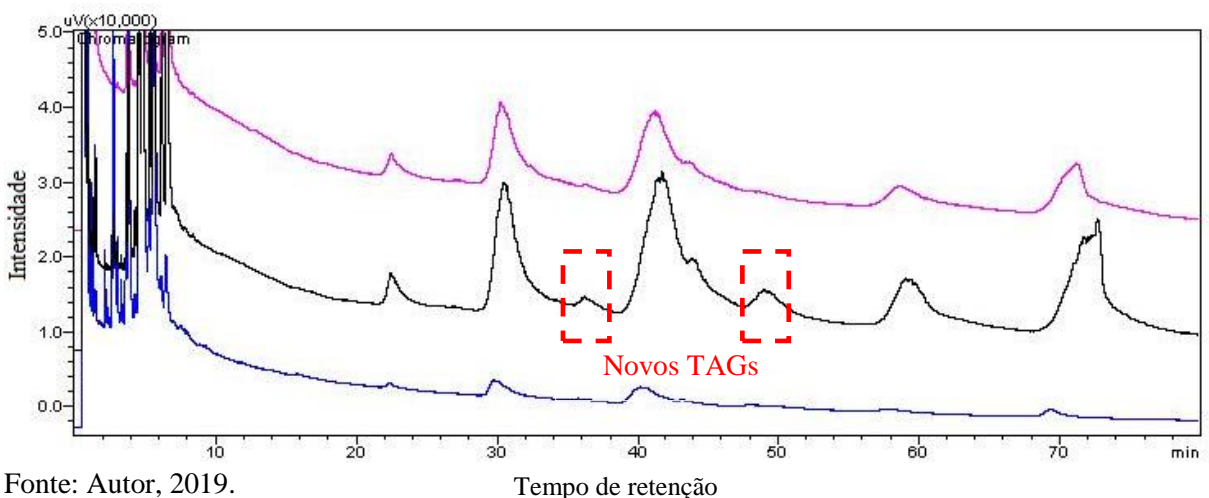
no cromatograma da mistura interesterificada com 1,2% de catalisador, para a qual foi observado um aumento significativo (52%) em sua viscosidade em relação à mistura original, foi observada a diminuição da intensidade dos picos referentes aos TAGs dos óleos de soja e de mamona. Os picos na faixa entre 2 e 10 minutos também foram observados após estas análises, no entanto, a utilização de injeção em modo *split* será importante para a identificação em análises por GC/MS dos novos acilgliceróis formados após interesterificação.

Figura 15 – Cromatogramas das análises por GC-FID das misturas OS:OM 2:1 física (em cor-de-rosa) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH₃OK.



Fonte: Autor, 2019.

Figura 16 – Cromatogramas das análises por GC-FID das misturas OS:OM 1:1 física (em cor-de-rosa) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH₃OK.



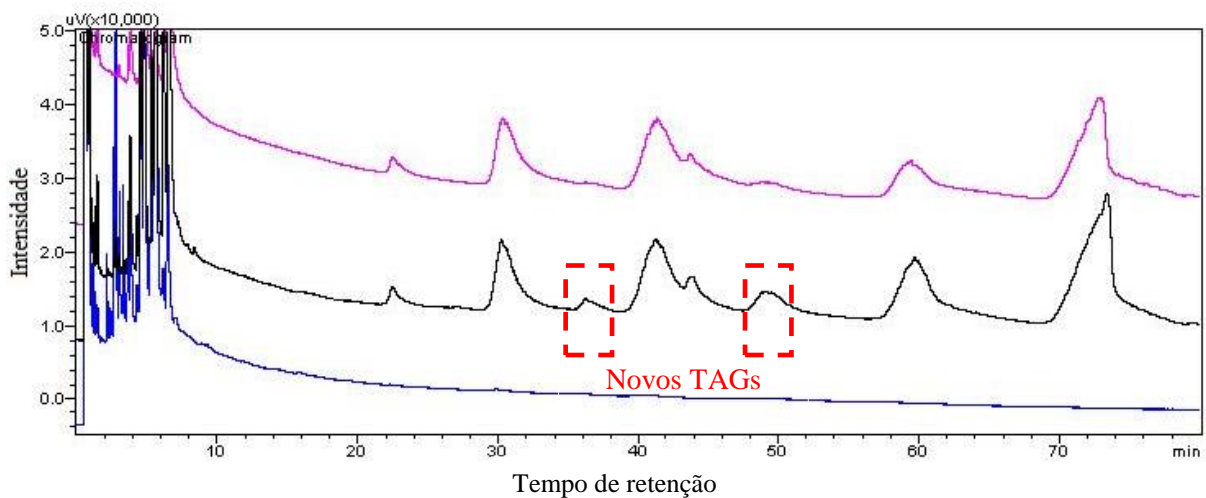
Fonte: Autor, 2019.

Como apresentado na Figura 17, as análises por GC-FID da mistura física OS:OM 1:2 (em cor-de-rosa) e da mesma mistura após interesterificação com 0,4% (em preto) e 1,2% (em

azul) de catalisador, apresentaram resultados semelhantes aos obtidos para as misturas OS:OM 1:1, com o surgimento de novos picos em 37 e 50 minutos no cromatograma referente à mistura interesterificada com 0,4% de catalisador e o desaparecimento dos picos referentes aos TAGs dos óleos de soja e de mamona no cromatograma referente à mistura interesterificada com 1,2% de catalisador, a qual apresentou aumento de 56% em sua viscosidade em relação à mistura original.

De maneira geral, as misturas interesterificadas que apresentaram cromatogramas distintos aos obtidos pelas análises de suas respectivas misturas físicas, com desaparecimento total ou parcial dos picos referentes aos TAGs, também apresentaram aumentos substanciais em termos de viscosidade cinemática em relação às misturas de partida. Por outro lado, as misturas interesterificadas com perfis cromatográficos similares aos de suas misturas originais não apresentaram alterações significativas em termos de viscosidade cinemática.

Figura 17 – Cromatogramas das análises por GC-FID das misturas OS:OM 1:2 física (em cor-de-rosa) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH₃OK.



Fonte: Autor, 2019.

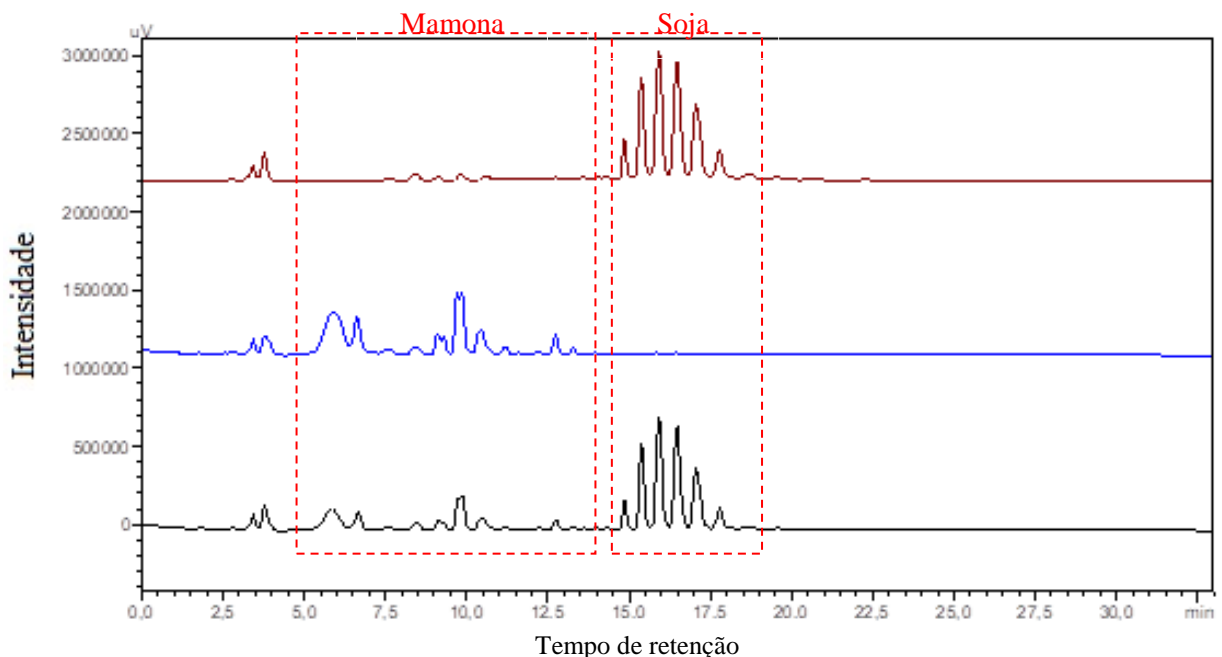
5.4.2. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A fim de comprovar a formação de novos TAGs após as reações de interesterificação, foi realizada também a análise destes compostos presentes nos óleos de soja e de mamona e em misturas dos mesmos antes e após interesterificação por meio de HPLC em fase reversa. Na Figura 18 estão apresentados os cromatogramas obtidos após análises dos óleos de soja (em marrom) e de mamona (em azul), bem como da mistura OS:OM 1:1 (em preto). Foram

observados picos majoritários na região entre 15 – 19 min para os TAGs do óleo de soja e picos e majoritários na região entre 5,0 – 13,5 min para os TAGs do óleo de mamona.

Esta ordem de eluição pode ser explicada pelas interações que estes compostos têm com as duas fases, fase móvel e fase estacionária em HPLC por fase reversa, a qual é caracterizada pela utilização de fase móvel polar e fase estacionária apolar. A presença de grupos hidroxila polares no ácido ricinoleico dos TAGs do óleo de mamona faz com que estes compostos interajam de forma mais efetiva com a fase móvel e menos efetiva com a fase estacionária do que os TAGs do óleo de soja. Diferentemente das análises realizadas fazendo uso de GC, as análises por HPLC não requereram derivatização das amostras contendo óleo de mamona, uma vez que as amostras não passam por processo de vaporização no injetor em HPLC. (COLLINS *et al.*, 2006).

Figura 18 – Cromatogramas das análises por HPLC-UV do óleo de soja (em marrom), óleo de mamona (em azul) e da mistura OS:OM 1:1 (em preto).



Fonte: Autor, 2019.

Na Figura 19 estão apresentados os cromatogramas obtidos após análise por HPLC-UV da mistura física OS:OM 2:1 (em marrom) e da mesma mistura após interesterificação com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de catalisador. Como podem ser observados, além dos picos característicos dos óleos de soja e de mamona, os cromatogramas referentes às amostras interesterificadas, para as quais foram observados aumentos de 16 e 18% em sua viscosidade em relação à mistura original, apresentam picos com diferentes aspectos e mais intensos na faixa de tempo de retenção dos TAGs do óleo de mamona (5 –

14,5 min). Além disso, pode-se perceber uma significativa diminuição de intensidade dos picos referentes aos TAGs do óleo de soja e o aparecimento de novos picos cromatográficos até o tempo de retenção de 27 min, indicando que a reação de interesterificação utilizando a mistura OS:OM 2:1 provavelmente foi eficiente, com aparente formação de novos TAGs.

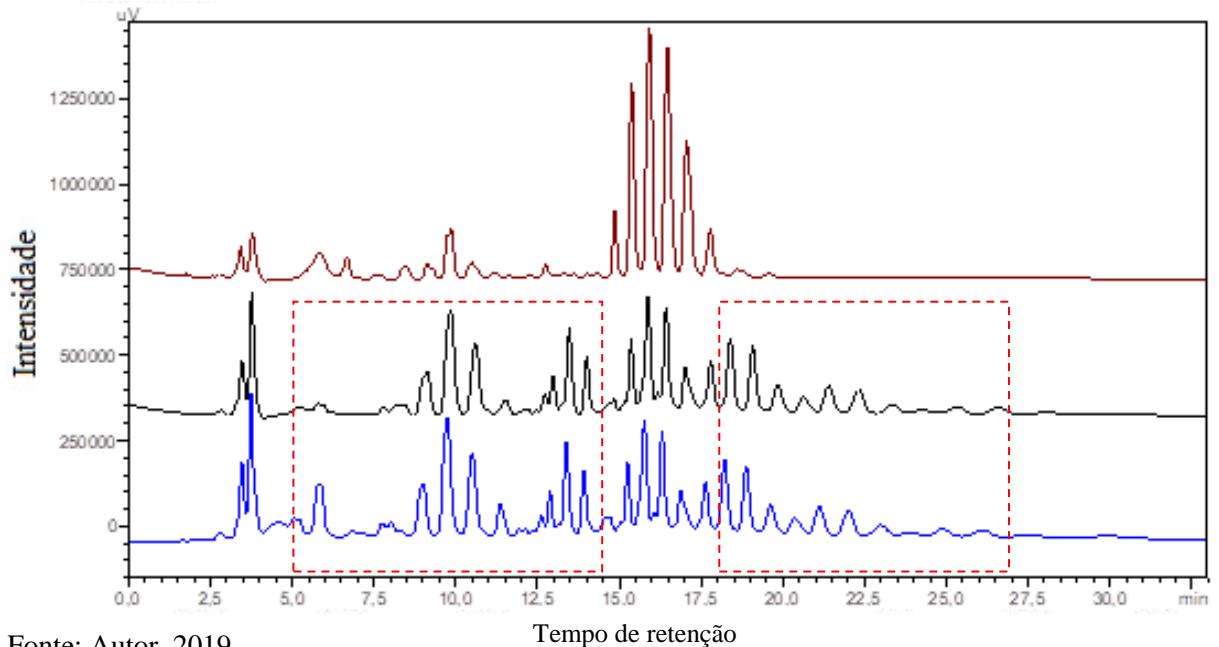
Nas Figuras 20 e 21 estão apresentados os cromatogramas obtidos após análise por HPLC-UV das misturas físicas OS:OM 1:1 e 1:2 (em marrom) e das mesmas misturas após interesterificação com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de catalisador. Quando comparados os cromatogramas das misturas interesterificadas para ambas as proporções (Fig. 20 e 21), diferentemente do que foi observado para as misturas OS:OM 2:1 (Fig. 19), os cromatogramas das amostras interesterificadas OS:OM 1:1 e 1:2 não apresentaram grandes similaridades. No cromatograma das misturas OS:OM 1:1 e 1:2 interesterificadas com 0,4% de catalisador (em preto), percebe-se apenas o surgimento de picos com maiores intensidades na faixa de tempo de retenção 12,0 – 14,5 min quando comparado ao cromatograma da mistura física (em marrom). Por outro lado, os cromatogramas das misturas OS:OM 1:1 e 1:2 interesterificadas com 1,2% de catalisador (em azul), para as quais foram observados aumentos de 52 e 56% em sua viscosidade em relação à mistura original, apresentaram semelhanças com a mistura OS:OM 2:1 interesterificada com a mesma quantidade de CH_3OK , um indicativo de que o aumento da proporção de óleo de mamona nos reagentes exige uma maior quantidade de catalisador para que a reação ocorra de forma eficiente. Uma das possíveis para tal é o ataque do catalisador alcalino ao 12° carbono do ácido ricinoleico, ao qual está ligado o grupo hidroxila, fazendo com que o catalisador seja consumido em uma reação secundária à interesterificação.

De uma maneira geral, as análises das misturas físicas e interesterificadas por HPLC confirmaram os resultados obtidos quanto à viscosidade cinemática destas amostras, uma vez que o aumento da proporção mássica de óleo de mamona nas misturas de óleos proporciona uma diminuição na eficiência da interesterificação utilizando 0,4% de catalisador. As misturas interesterificadas OS:OM 1:1 e 1:2 apresentaram mudanças significativas em seus cromatogramas apenas quando foi utilizado 1,2% de catalisador.

Apesar de serem observados novos picos cromatográficos após a reação de interesterificação, vários destes novos picos eluem nos mesmos tempos de retenção de MAGs e DAGs característicos de óleo de soja, como pode ser visto na Figura 22. Portanto, na sequência os óleos foram também analisados no modo de injeção *on-column* no GC com o intuito de verificar a possibilidade de formação destes compostos

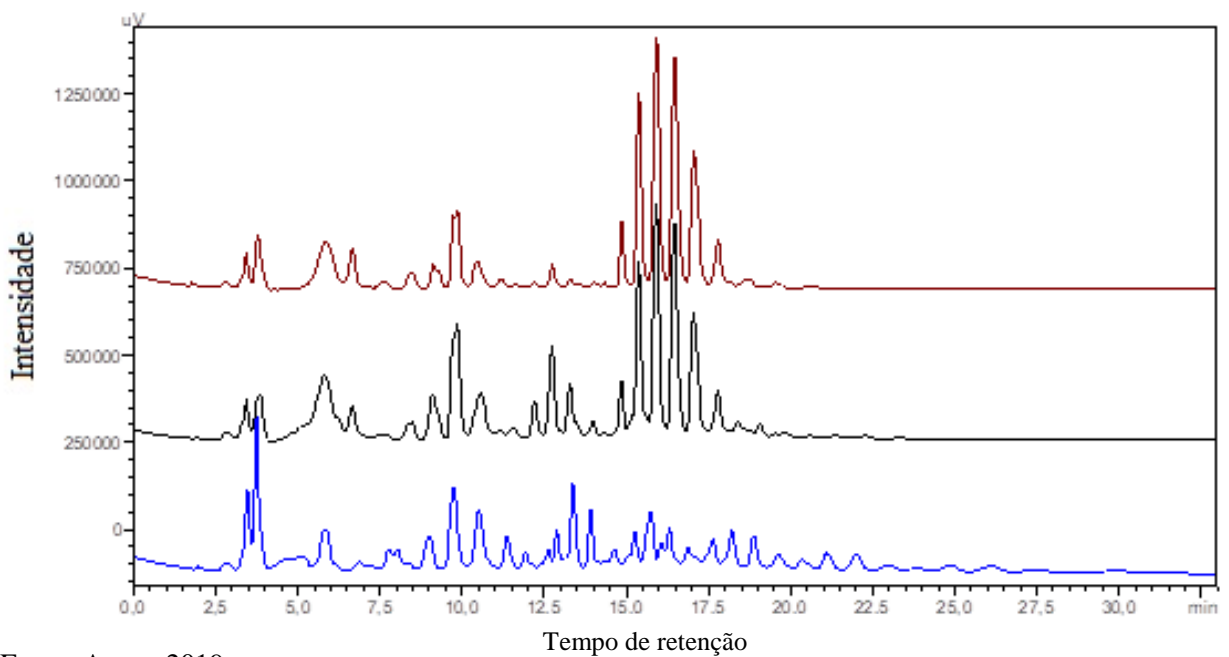
(MAGs e DAGs) na reação de interesterificação quando usado o modo *split* de injeção e não apenas devido à degradação térmica no injetor do cromatógrafo gasoso.

Figura 19 – Cromatogramas das análises por HPLC-UV das misturas OS:OM 2:1 física (em marrom) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH₃OK.



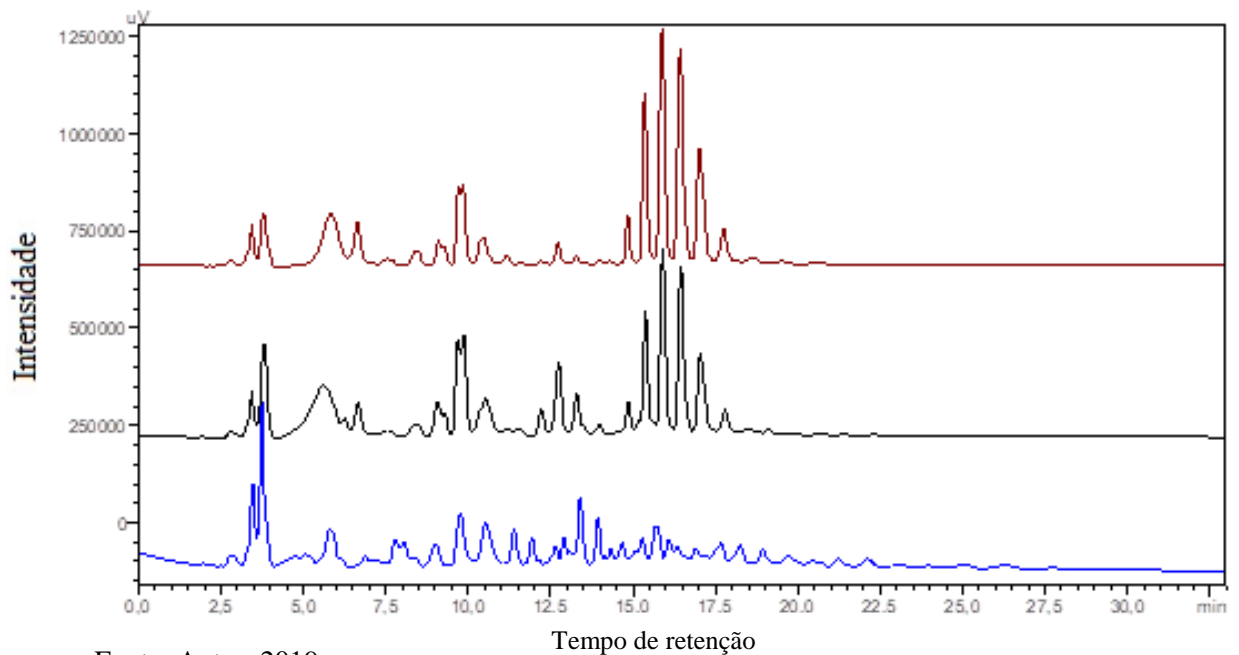
Fonte: Autor, 2019.

Figura 20 – Cromatogramas das análises por HPLC-UV das misturas OS:OM 1:1 física (em marrom) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH₃OK.



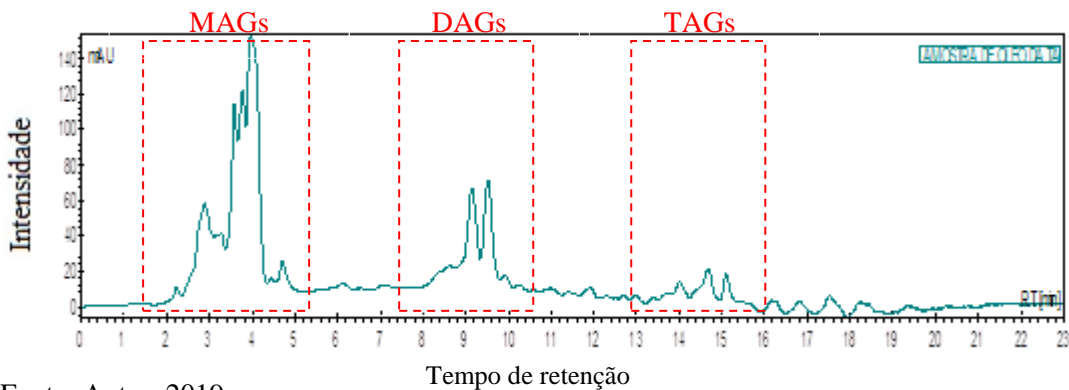
Fonte: Autor, 2019.

Figura 21 – Cromatogramas das análises por HPLC-UV das misturas OS:OM 1:2 física (em marrom) e interesterificadas com 0,4% (em preto) e 1,2% (em azul) de CH_3OK .



Fonte: Autor, 2019.

Figura 22 – Cromatograma da análise por HPLC-UV de amostra contendo MAG, DAG e TAG provenientes do óleo de soja.



Fonte: Autor, 2019.

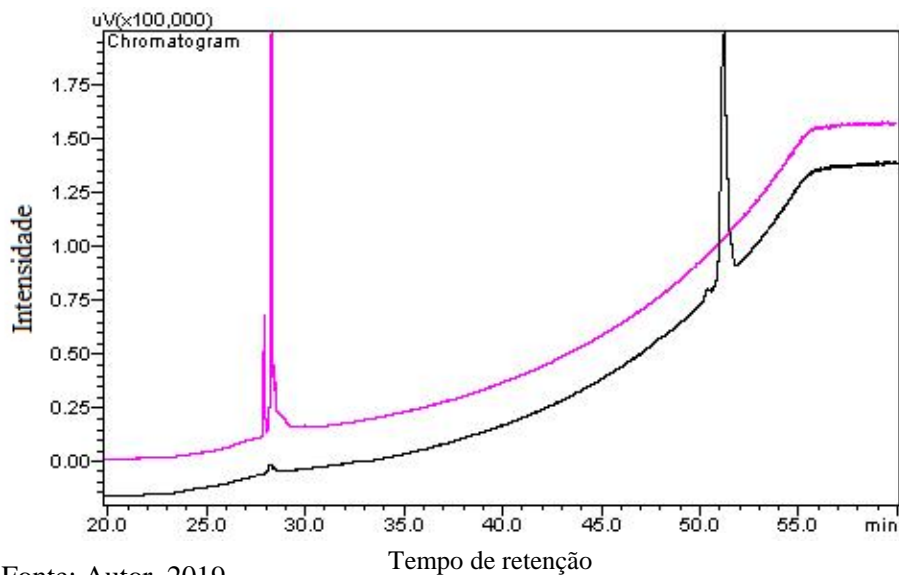
5.4.3. Identificação de mono e diacilgliceróis (MAGs e DAGs) nas misturas interesterificadas por cromatografia gasosa (GC) com injeção *on-column*

Para a confirmação de que foram formados MAGs e DAGs nas reações de interesterificação, foram realizadas análises por GC-FID com injeção *on-column*/PTV a fim de garantir que MAGs e DAGs identificados não são provenientes da degradação térmica dos TAGs no injetor. MAGs e DAGs são intermediários da reação de transesterificação, assim, a presença destes compostos nas amostras interesterificadas faz com que a natureza dos reagentes na transesterificação seja diferente quando comparada à utilização das misturas

físicas originais. Primeiramente, foram analisados os padrões analíticos de acilgliceróis monooleína (em cor-de-rosa) e dioleína (em preto), como apresentado na Figura 23, com o intuito de verificar o tempo de retenção de MAGs e DAGs na metodologia utilizada antes de proceder com a análise qualitativa destes compostos nas amostras interesterificadas. Foi observado que os tempos de retenção para monooleína e dioleína foram de 28,5 min e 52,0 min, respectivamente.

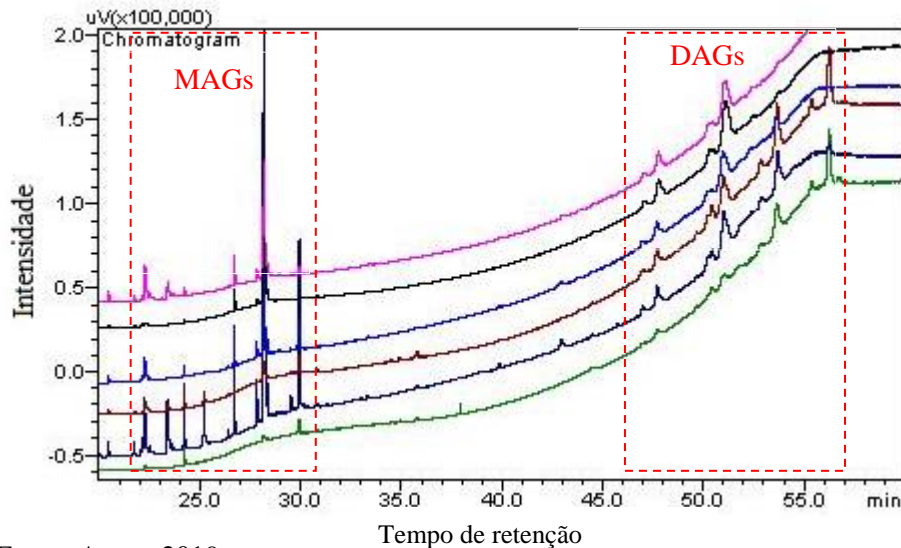
Na Figura 24 estão apresentados os cromatogramas referentes às análises das misturas interesterificadas OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2 após derivatização, produzidas tanto com utilização de 0,4% quanto 1,2% de catalisador. Foram observados picos em faixas de tempo de retenção de MAGs e/ou DAGs em todas as misturas interesterificadas, indicando que além de TAGs TAGs, são formados MAGs e DAGs após o processo. A formação destes compostos pode ser explicada pelos mecanismos presentes nas Figuras 6 e 7, os quais indicam a formação de DAG através do aparecimento do íon glicerolato após a reação entre o TAG e o catalisador e de MAG como um possível processo de transesterificação entre o TAG e o metanol formado após interesterificação. Cabe ressaltar que esta indicação deverá ser comprovada com a identificação destes novos compostos formados, por HPLC ou GC, ambos com detecção por MS, onde será possível avaliar os espectros de massa destes novos picos.

Figura 23 – Cromatogramas das análises por GC-FID (*on-column*) dos padrões analíticos monooleína (em cor-de-rosa) e dioleína (em preto).



Fonte: Autor, 2019.

Figura 24 – Cromatogramas das análises por GC-FID (*on-column*) das misturas interesterificadas na seguinte ordem de cima para baixo: OS:OM 2:1 interesterificada com 0,4% e 1,2% de catalisador, OS:OM 1:1 interesterificada com 0,4% e 1,2% de catalisador e OS:OM 1:2 interesterificada com 0,4% e 1,2% de catalisador.



Fonte: Autor, 2019.

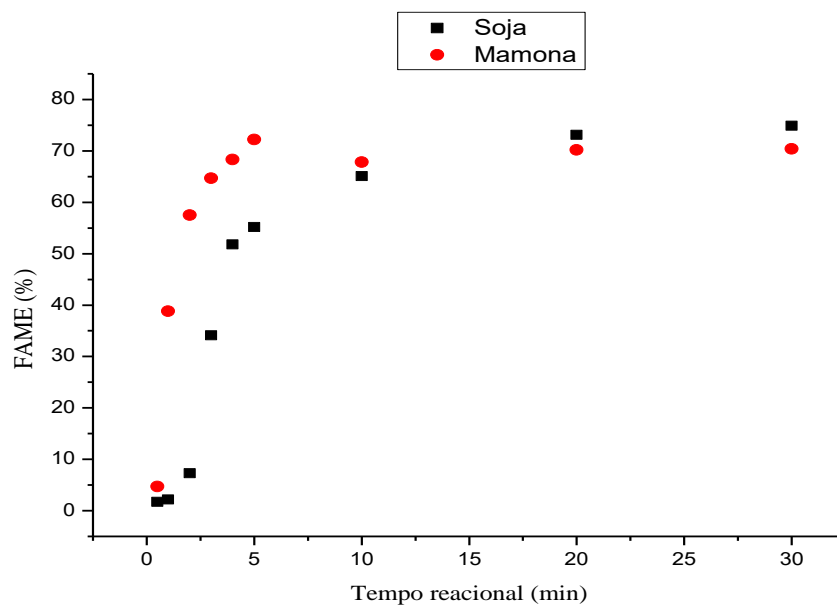
5.5. Estudo cinético da reação de transesterificação

Um estudo cinético das reações de transesterificação dos óleos individuais, das misturas físicas e das misturas interesterificadas com 0,4% de CH_3OK foi realizado com fins comparativos. Para este estudo, foram adotadas as seguintes condições para todos os casos: proporção molar óleo:álcool:catalisador de 1,00:5,00:0,06. Para o acompanhamento da cinética das reações, foram retiradas do meio reacional alíquotas em tempos de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20 e 30 minutos e os rendimentos em FAME foram obtidos através de análises por metodologia validada por SILVA e colaboradores (2018). Os resultados obtidos foram utilizados na construção de curvas cinéticas, correlacionando tempo reacional (min) vs. porcentagem de FAME, de todas as amostras transesterificadas.

Na Figura 25, 26 e 27 estão apresentadas as curvas cinéticas das reações de transesterificação dos óleos de soja e de mamona, das reações de transesterificação das misturas físicas OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2 e das mesmas curvas com ampliação da região de controle cinético, respectivamente. A observação da região de controle cinético (Figura 27) foi feita através da reta traçada pelo ponto (0, 0) do gráfico e pelos dois primeiros pontos da curva a fim de alcançar retas com valor de coeficiente de correlação R próximos da unidade. Esta região representa a reação antes do equilíbrio e é importante para a verificação da velocidade da reação.

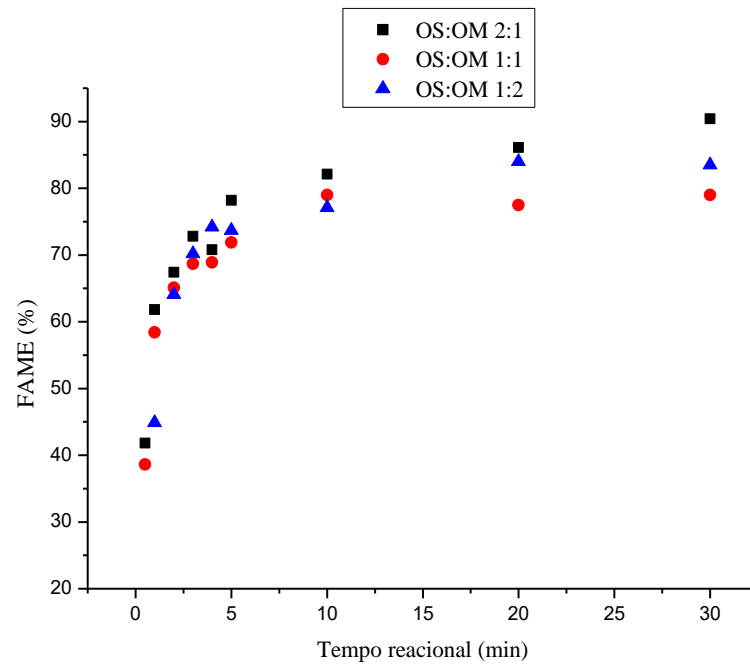
Como podem ser observadas, nas condições reacionais usadas, as reações de transesterificação dos óleos de soja e de mamona e de suas misturas físicas apresentaram curvas cinéticas similares no equilíbrio, onde foram alcançadas conversões em FAME entre 70 e 85%. Este comportamento não era esperado, uma vez que a literatura reporta que o aumento da proporção mássica de óleo de mamona na transesterificação leva a baixas conversões em FAME (BARBOSA *et al.*, 2010; SERRA *et al.*, 2011). No entanto, na região de controle cinético, nos minutos iniciais de reação, foram observadas reações mais lentas (retas de menores inclinações) ao passo que se aumentou a quantidade de óleo de mamona no meio, com valores de inclinação da reta traçada através do método de regressão linear para a transesterificação das misturas OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2 de 66,16, 62,16 e 39,04, respectivamente. A diferença do controle cinético para a transesterificação da mistura OS:OM 1:2 em relação às demais pode estar associada a erros experimentais, os quais podem ocorrer com maior frequência ao retirar alíquotas do meio reacional em curtos intervalos de tempo.

Figura 25 – Curvas cinéticas para as reações de transesterificação dos óleos de soja e de mamona.



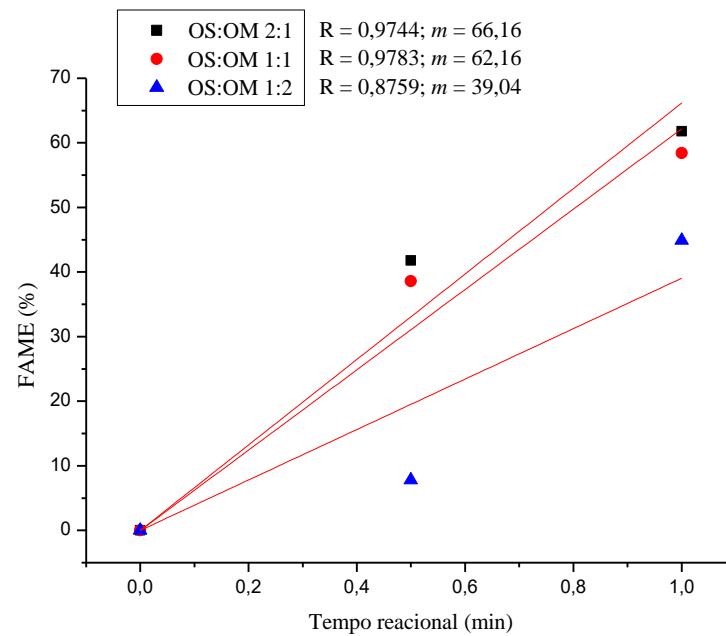
Fonte: Autor, 2019.

Figura 26 – Curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas físicas OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2.



Fonte: Autor, 2019.

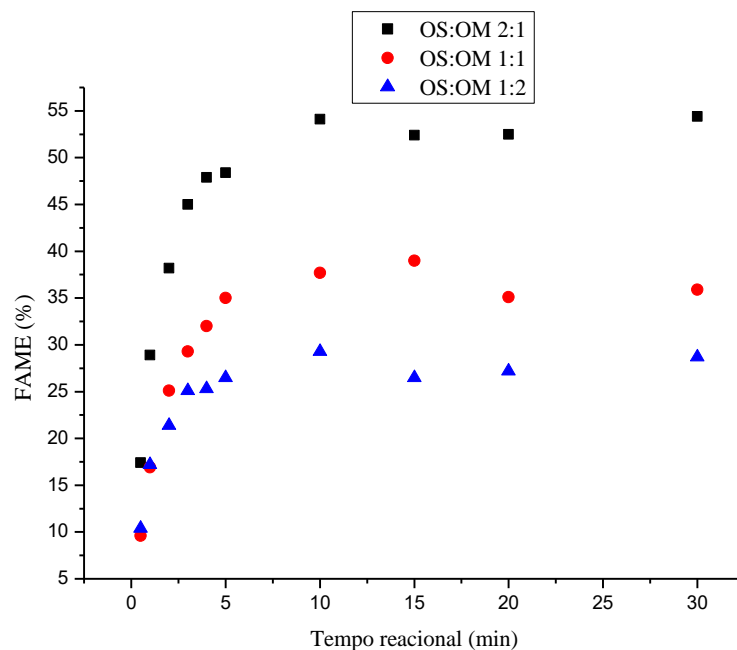
Figura 27 – Ampliação da região de controle cinético das curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas físicas OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2.



Fonte: Autor, 2019.

As conversões em FAME alcançadas no equilíbrio podem ser explicadas pela elevada quantidade de catalisador e álcool utilizados nas reações (óleo:álcool:catalisador 1,00:5,00:0,06) empregada com o intuito de alcançar conversões satisfatórias em FAME ao transesterificar as misturas interesterificadas, onde esperam-se menores rendimentos do que com os óleos individuais. Para comprovação, foram repetidas as reações de transesterificação das misturas físicas com apenas metade da quantidade de catalisador e uma menor quantidade de álcool, ou seja, proporção molar óleo:álcool:catalisador 1,00:4,00:0,03 (Figura 28).

Figura 28 – Curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas físicas OS:OM 2:1, 1:1 e 1:2 com menores quantidades de catalisador e álcool.



Fonte: Autor, 2019.

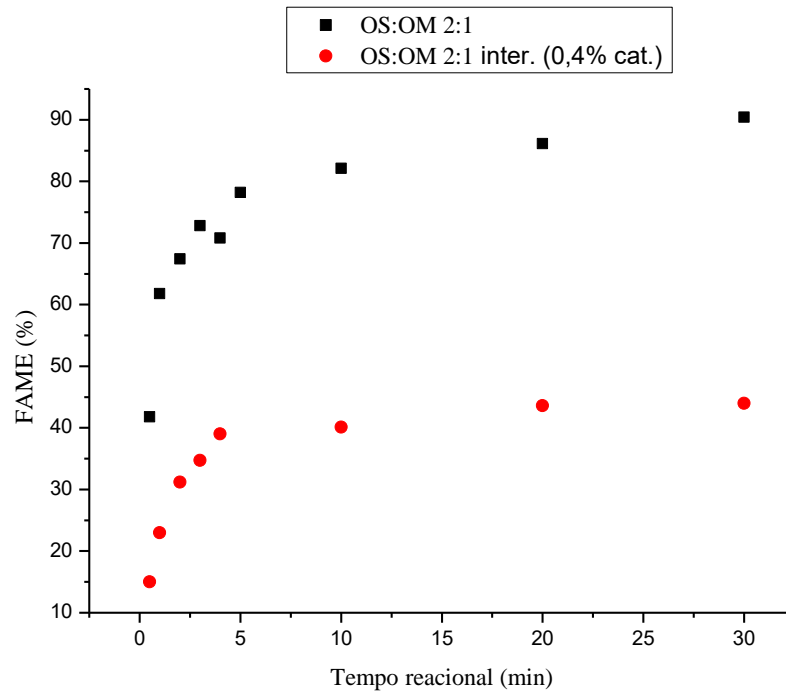
Diferentemente das reações de transesterificação das misturas físicas dos óleos de soja e de mamona utilizando as proporções molares de óleo:álcool:catalisador 1,00:5,00:0,06, a diminuição das quantidades de álcool e catalisador na transesterificação das mesmas misturas mostrou-se de acordo com a literatura, a qual reporta que maiores quantidades de óleo de soja em misturas deste com o óleo de mamona, maior a quantidade de FAME formados no equilíbrio reacional (BARBOSA *et al.*, 2010; SERRA *et al.*, 2011). No entanto, uma vez que o objetivo deste estudo cinético é a comparação entre a transesterificação de misturas físicas e das mesmas após interesterificação, a utilização da maior quantidade de catalisador na transesterificação pode ser empregada.

Nas Figuras 29 e 30 estão apresentadas, respectivamente, as curvas cinéticas das reações de transesterificação da mistura física OS:OM 2:1 antes e após interesterificação com 0,4% de catalisador e das mesmas curvas com ampliação da região de controle cinético. Foi observado que a mistura interesterificada, a qual apresentou perfil cromatográfico diferente e aumento significativo em termos de viscosidade cinemática ao comparar com sua respectiva mistura física, alcançou menores conversões em FAME (entre 35% e 45%) no equilíbrio do que a mistura física (entre 80% e 90%). Esse fato indica que a reação de transesterificação foi dificultada devido à formação de novos TAGs. Os valores de inclinação da reta traçada através do método de regressão linear para a transesterificação das misturas física e interesterificada foram de 66,16 e 24,40, respectivamente, ou seja, o valor de inclinação do óleo interesterificado é menor. Estes diferentes valores de inclinação da reta comprovam que a reação de transesterificação foi dificultada, o que pode estar relacionado à formação de novos TAGs, ou seja, ocorreu a distribuição dos AGs contendo hidroxila característicos do óleo de mamona nas cadeias provenientes do óleo de soja.

As curvas cinéticas das reações de transesterificação da mistura física OS:OM 1:1 antes e após interesterificação com 0,4% de catalisador e das mesmas curvas com ampliação da região de controle cinético estão apresentadas nas Figuras 31 e 32, respectivamente. A transesterificação da mistura interesterificada com 0,4% de CH_3OK alcançou valores similares de conversão em FAME no equilíbrio àqueles obtidos na transesterificação da mistura física, entre 70% e 80%, o que está de acordo com os resultados obtidos em análises cromatográficas e de viscosidade. Deve-se levar em conta que a caracterização por técnicas cromatográficas e viscosidade cinemática da mistura OS:OM 1:1 interesterificada com 0,4% de catalisador apresentou cromatogramas e valores de viscosidade semelhantes aos da mistura física, o que pode explicar os rendimentos similares em FAME obtidos.

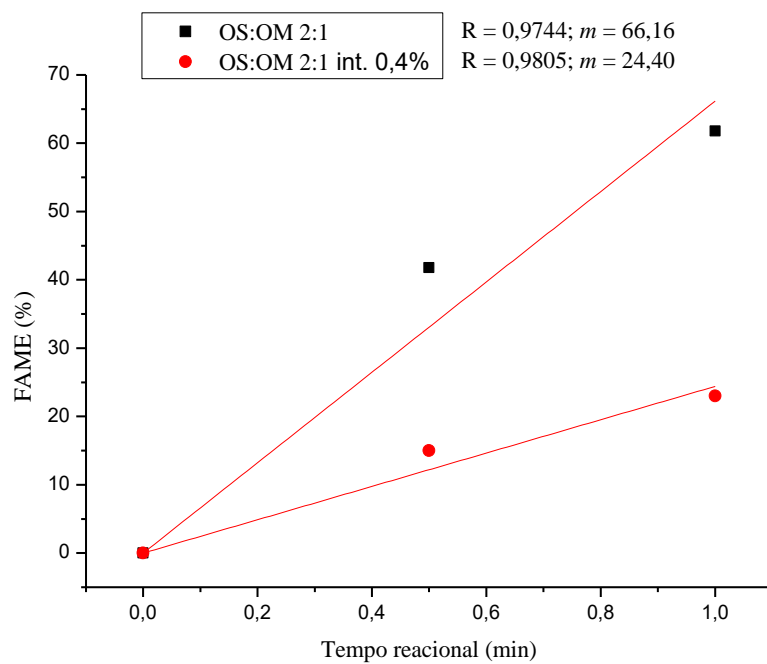
Para esta mistura dos óleos de soja e de mamona (OS:OM 1:1), os valores obtidos de inclinação da reta (62,16 e 55,00, respectivamente) na região de controle cinético indicam que a reação de transesterificação não foi tão dificultada após interesterificação em comparação com a mistura OS:OM 2:1. Conforme verificado através das análises de viscosidade e HPLC, somente houve a formação de novos TAGs nesta proporção de 1:1, OS:OM, quando foi utilizado mais catalisador, 1,2%, na reação de interesterificação.

Figura 29 – Curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificada OS:OM 2:1.



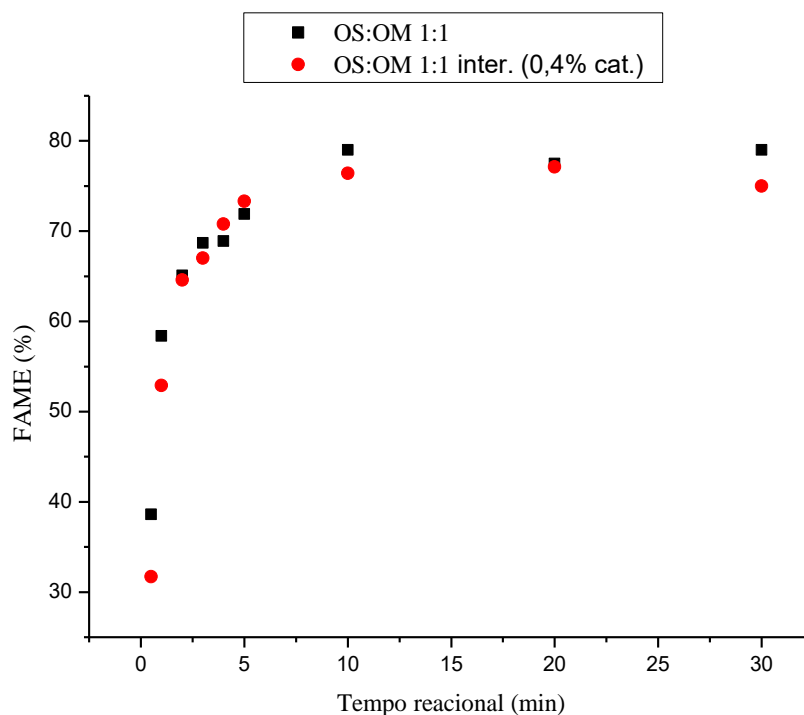
Fonte: Autor, 2019.

Figura 30 – Ampliação da região de controle cinético para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificadas OS:OM 2:1.



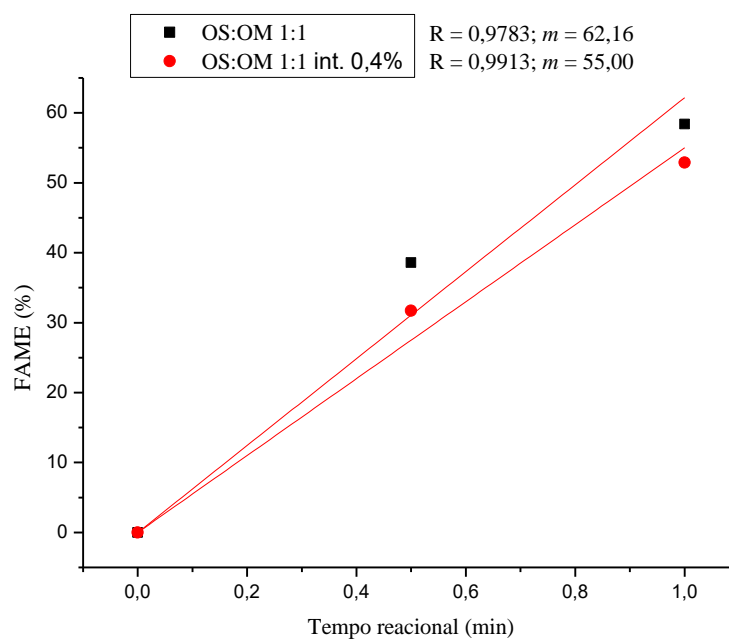
Fonte: Autor, 2019.

Figura 31 – Curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificadas OS:OM 1:1.



Fonte: Autor, 2019.

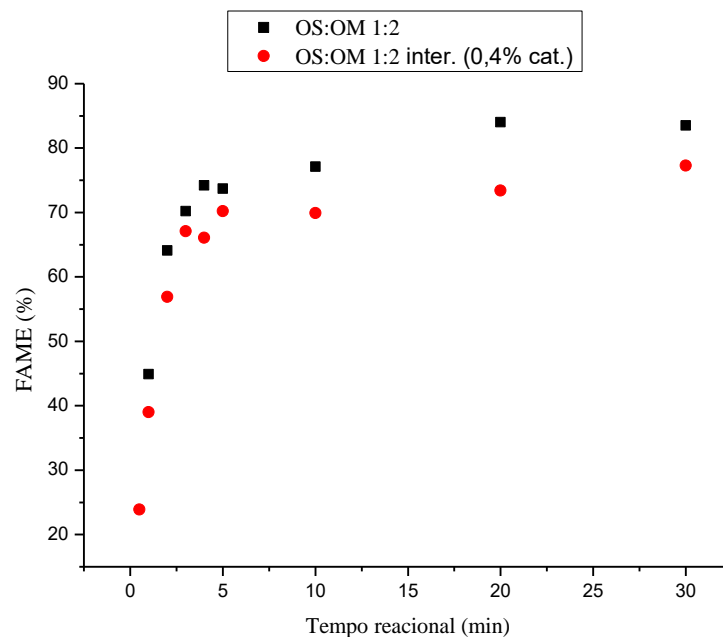
Figura 32 – Ampliação da região de controle cinético para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificadas OS:OM 1:1.



Fonte: Autor, 2019.

Na Figura 33 estão apresentadas as curvas cinéticas das reações de transesterificação da mistura física OS:OM 1:2 antes e após interesterificação com 0,4% de catalisador e na Figura 34 as mesmas curvas com ampliação da região de controle cinético. Os resultados obtidos demonstraram que as misturas física e interesterificada apresentaram inclinações praticamente iguais no controle cinético (39,04 e 40,76, respectivamente). A transesterificação da mistura interesterificada com 0,4% de CH_3OK também apresentou valores similares de conversão em FAME no equilíbrio aos obtidos pela transesterificação da mistura física, entre 70 e 85%. Assim, como ocorrido para a mistura OS:OM 1:1, as análises cromatográficas da mistura OS:OM 1:2 interesterificada com 0,4% de CH_3OK mostram cromatogramas similares aos da mistura física, além de mudanças pouco significativas em termos de viscosidade, corroborando os resultados obtidos após transesterificação.

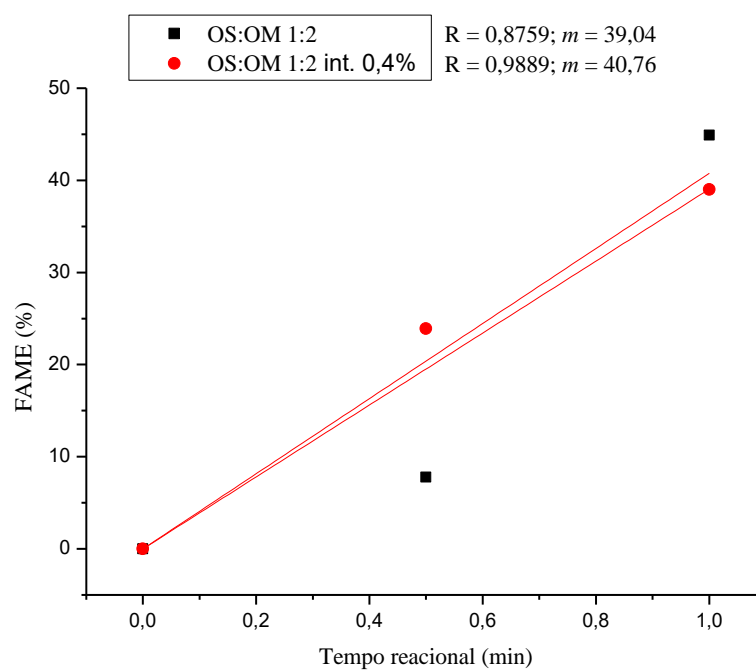
Figura 33 – Curvas cinéticas para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificadas OS:OM 1:2.



Fonte: Autor, 2019.

Deve-se ressaltar que os resultados das reações de transesterificação envolvendo misturas interesterificadas com 1,2% de catalisador estão previstas para futuros trabalhos, comparando-se assim a cinética da reação de transesterificação das misturas de óleo de soja e mamona nas proporções 1:1 e 1:2, o que pode indicar o efeito da presença e interação de grupos hidroxila na cadeia de TAG e não somente a composição em AG, conforme visto na proporção 2:1, onde houve a formação de novos TAGs com somente 0,4% de catalisador.

Figura 34 – Ampliação da região de controle cinético para as reações de transesterificação das misturas física e interesterificadas OS:OM 1:2.



Fonte: Autor, 2019.

6. CONCLUSÕES

O aparecimento de coloração marrom-amarelada e o aumento significativo de valores de viscosidade cinemática em algumas amostras após interesterificação das misturas de óleos de soja e mamona, quando comparadas às suas respectivas misturas físicas, especialmente nas misturas interesterificadas com excesso de catalisador, são indicativos de que a randomização dos fragmentos de ácidos graxos nas moléculas de triacilgliceróis foi alcançada, uma vez que se observa a presença de fragmentos relativos à porção de ácido ricinoleico em um maior número de moléculas de TAGs após este processo.

Mudanças pouco significativas de valores de densidade obtidos após interesterificação das misturas indicam que as massas moleculares dos compostos contribuem majoritariamente em relação à massa específica destes óleos, uma vez que, apesar de ocuparem posições diferentes, a composição de AGs não é alterada ao interesterificar a mistura de óleos.

Análises por espectroscopia no infravermelho confirmaram que após processo de interesterificação não ocorrem alterações de isomerização das insaturações *cis* dos ácidos graxos.

Foram utilizadas duas metodologias baseadas em cromatografia gasosa e coluna de caráter apolar para a identificação de novos triacilgliceróis e outros acilgliceróis de menores massas moleculares formados após interesterificação, sendo a metodologia com injeção *on-column* a mais apropriada para verificação da formação de mono e diacilgliceróis, uma vez que a metodologia com injeção *split* mostrou-se associada à degradação térmica dos triacilgliceróis. Grupos hidroxila do ácido ricinoleico presente no óleo de mamona exigiu que as amostras passassem por etapa de derivatização antes da análise por GC.

Apesar das análises por GC das misturas interesterificadas, com mudanças significativas em valores de viscosidade, mostrarem o desaparecimento de sinais relativos aos TAGs, as análises pela metodologia baseada em HPLC foram de suma importância na verificação de novos TAGs formados após interesterificação. No entanto, a utilização de novas técnicas de detecção, como por exemplo, MS, ainda se fazem necessárias para melhor elucidação das estruturas dos novos compostos gerados.

Análises cromatográficas e de viscosidade cinemática das misturas interesterificadas com 0,4% de catalisador apontaram que o aumento da proporção mássica de óleo de mamona nas misturas de óleos proporciona uma diminuição na eficiência da interesterificação, de forma que as interesterificações, em ambas as porcentagens de catalisador utilizadas, envolvendo a mistura OS:OM 2:1 apresentaram perfis semelhantes, com mudanças visíveis

em relação às análises das misturas originais. Por outro lado, as interesterificações das misturas OS:OM 1:1 e 1:2 apenas apresentaram alterações significativas quando foi empregado excesso de catalisador.

Com excessão da mistura OS:OM 2:1, as demais misturas interesterificadas com 0,4% de catalisador, as quais não apresentaram mudanças significativas em suas caracterizações ao compará-las com suas respectivas misturas físicas, proporcionaram curvas cinéticas de transesterificação com o perfil semelhante às curvas de suas misturas originais. A mistura OS:OM 2:1, interesterificada com 0,4%, apresentou mudanças significativas em termos de viscosidade e perfis cromatográficos.

De modo geral, com os resultados obtidos neste trabalho observou-se que a cinética de transesterificação da mistura dos óleos de soja e de mamona é afetada após o processo de interesterificação, diminuindo o rendimento reacional. Com este trabalho, foi possível mostrar que a alteração da distribuição de ácidos graxos, mais especificamente do ácido ricinoleico para mais moléculas de acilgliceróis prejudica o processo de transesterificação, indicando que a questão da distribuição dos fragmentos de ácidos prevalece sobre a composição de ácidos graxos presentes na mistura reacional.

7. PERSPECTIVAS

Utilizar técnicas cromatográficas (GC ou HPLC) acopladas à detecção por MS, com o intuito de identificar os novos acilgliceróis formados (TAGs, DAGs e MAGs), além de descrever estruturalmente as misturas de triacilgliceróis antes e após interesterificação.

Realizar o estudo cinético da reação de transesterificação com as misturas interesterificadas com excesso de catalisador, 1,2%, nas proporções de óleo de soja e de mamona 2:1, 1:1 e 1:2, para comprovar os resultados obtidos com a transesterificação da mistura OS:OM 2:1 interesterificada com 0,4% de catalisador.

Problemas operacionais como perda de massa e umidificação após consecutivas lavagens das amostras interesterificadas sugerem a realização do processo interesterificação-transesterificação em um mesmo reator (processo *tandem*).

REFERÊNCIAS

- ADLOF, R. O.; MENZEL, A.; DOROVSKA-TARAN, V. Analysis of conjugated linoleic acid-enriched triacylglycerol mixtures by isocratic silver-ion high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 953, n. 1-2, p. 293-297, 2002.
- AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCMBUSTÍVEIS – ANP. Resolução ANP Nº 45, de 25 de agosto de 2014.
- AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCMBUSTÍVEIS – ANP. **Boletim Mensal do Biodiesel**, 2019. Disponível em: <
<http://www.anp.gov.br/producao-de-biocombustiveis/biodiesel/informacoes-de-mercado>>
 Acesso em 03 fev. 2019.
- AHMADI, L.; WRIGHT, A. J.; MARANGONI, A. G. Chemical and enzymatic interesterification of tristearin/ triolein-rich blends: Chemical composition, solid fat content and thermal properties. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 110, n. 11, p. 1014-1024, 2008.
- AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY – AOCS. Official Method Cd 3d-63 – Acid Value of Fats and Oils, 2017.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. ASTM D4445 – 12 – Standard Test Method for Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and Calculation of Dynamic Viscosity), 2012.
- AMIDZHIN, B.; NIKOLOVA-DAMYANOVA, B. Densitometric identification of triglycerides by reversed-phase thin-layer chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 446, p. 259-266, 1988.
- ANDRADE, T. A.; ERRICO, M.; CHRISTENSEN, K. V. Evaluation of reaction mechanisms and the kinetic parameters for the transesterification of castor oil by liquid enzymes. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 56, n. 34, p. 9478-9488, 2017.
- ANDRIKOPOULOS, N. K. Chromatographic and Spectroscopic Methods in the Analysis of Triacylglycerol Species and Regiospecific Isomers of Oils and Fats. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 42, n. 5, p. 473-505, 2002.
- ANDRIKOPOULOS, N. K.; CHIOU, A.; MYLONA, A. Triacylglycerol Species of Less Common Edible Vegetable Oils. **Food Reviews International**, v. 20, n. 4, p. 389-405, 2004.
- ANEJA, R. et al. Determination of the Fully Saturated Triglyceride Composition of Fats. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 57, n. 4, p. 135-139, 1980.
- ANTONIOSI FILHO, N. R.; MENDES, O. L.; LANÇAS, F. M. Computer prediction of triacylglycerol composition of vegetable oils by HRGC. **Chromatographia**, v. 40, n. 9/10, p. 557-562, 1995.
- APPAIAH, P. et al. Composition of Coconut Testa, Coconut Kernel and its Oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 91, n. 6, p. 917-924, 2014.

ARANSIOLA, E. F. et al. A review of current technology for biodiesel production: State of the art. **Biomass and Bioenergy**, v. 61, p. 276-297, 2014.

BARBOSA, D. C. et al. Biodiesel production by ethanolysis of mixed castor and soybean oils. **Fuel**, v. 89, p. 3791-3794, 2010.

BARREIRA, J. C. M. et al. Nutritional, Fatty Acid and Triacylglycerol Profiles of Castanea sativa Mill. Cultivars: A Compositional and Chemometric Approach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 7, p. 2836-2842, 2009.

BIANCHI, C. L. Non Edible Oils: Raw Materials for Sustainable Biodiesel. In: STOYTCHIEVA, M.; MONTERO, G. **Biodiesel – Feedstocks and Processing Technologies**. Rijeka: InTech, 2011.

BRASIL, Lei n. 13.263, de 23 de março de 2016. Dispõe sobre os percentuais de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 mar. 2016. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2016/Lei/L13263.htm> Acesso em 02 fev. 2018.

BRASIL, Resolução n. 16, de 29 de outubro de 2018. Dispõe sobre a evolução da adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel vendido ao consumidor final, em qualquer parte do território nacional. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 nov. 2018. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=08/11/2018&jornal=515&pagina=2&totalArquivos=181>> Acesso em 02 fev. 2018.

BRAUN, W. Q. Interesterification of edible fats. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 37, n. 11, p. 598-601, 1960.

BRENGARTNER, D. A. Analysis of common fatty acid glycerides by gas chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 173, p. 177-183, 1985.

BRITISH PETROLEUM – BP. **BP Statistical Review of World Energy June 2018**, 2018. Disponível em: <<https://www.bp.com/content/dam/bp/business-sites/en/global/corporate/pdfs/energy-economics/statistical-review/bp-stats-review-2018-full-report.pdf>> Acesso em 02 fev. 2019.

BUCHGRABER, M. et al. Triacylglycerol profiling by using chromatographic techniques. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 106, n. 9, p. 621-648, 2004.

BUCHGRABER, M.; ULBERTH, F.; ANKLAM, E. Interlaboratory evaluation of injection techniques for triglyceride analysis of cocoa butter by capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1036, n. 2, p. 197-203, 2004.

CARVALHO, M.S. et al. Chromatographic analyses of fatty acid methyl esters by HPLC-UV and GC-FID, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 4, p. 763-769, 2012.

CHAVANNE, C. G. Procédé de Transformation d'Huiles Végétales en Vue de Leur Utilisation comme Carburants (Procedure for the Transformation of Vegetable Oils for Their Uses as Fuels), Belgian Patent 422,877 (August 31, 1937). **Chemical Abstracts**, v. 32, p. 4313, 1938.

- CHIU, M. C.; GIOIELLI, L. A.; GRIMALDI, R. Lipídios estruturados obtidos a partir da mistura de gordura de frango, sua estearina e triacilgliceróis de cadeia média. I- Composição em ácidos graxos e em triacilgliceróis. **Química Nova**, v. 31, n. 2, 232-237, 2008.
- CHRISTIE, W. W. **Gas Chromatography and Lipids: A Practical Guide**. Somerset, Inglaterra: The Oily Press, 1989.
- CHRISTIE, W. W.; MOORE, J. H. The lipid composition and triglyceride structure of eggs from several avian species. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 41B, p. 297-306, 1972.
- COENEN, J. W. E. Fractionnement et Interesterification des Corps Gras dans la Perspective du Marche Mondial des Matières et des Produits Finis. II. Interesterification. **Revue Francaise des Corps Gras**, v. 21, n. 8, p. 403-413, 1974.
- COLEMAN, M. H.; FULTON, W. C. **Enzymes of Lipid Metabolism**. New York: Pergamon Press, 1961.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora Unicamp, 2006.
- COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALIZATION – CEN. EN 14103 - Fat and oil derivatives – fatty acid methyl esters (FAME) – determination of ester and linolenic acid methyl ester contents, 2001.
- COSTA, A. O. et al. Sustainability analysis of biodiesel production: A review on different resources in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 407-412, 2013.
- DEPETERS, E. J. et al. Fatty Acid and Triglyceride Composition of Milk Fat from Lactating Holstein Cows in Response to Supplemental Canola Oil. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 929-936, 2001.
- DIAS, A. N. et al. Optimization of a method for the simultaneous determination of glycerides, free and total glycerol in biodiesel ethyl esters from castor oil using gas chromatography. **Fuel**, v. 94, p. 178-183, 2012.
- DIAZ, I. et al. Triglyceride composition of fresh ham fat from Iberian pigs produced with different systems of animal nutrition. **Food Chemistry**, v. 55, n. 4, p. 383-387, 1996.
- DIJKSTRA, A. J. Interesterification, chemical or enzymatic catalysis. **Lipid Technology**, v. 27, n. 6, p. 134-136, 2015.
- DIJKSTRA, A. J. Revisiting the mechanisms of low-temperature, base-catalysed ester interchange reactions. **OCL Journal**, v. 15, n. 3, p. 208-212, 2008.
- DIJKSTRA, A. J. et al. The base-catalyzed, low-temperature interesterification mechanism revisited. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 107, p. 912-921, 2005.
- ESTEBAN, B. et al. Temperature dependence of density and viscosity of vegetable oils. **Biomass and Energy**, v. 42, p. 164-171, 2012.

FARAJZADEH, M. A.; NOURI, N.; KHORRAM, P. Derivatization and microextraction methods for determination of organic compounds by gas chromatography. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 55, p. 14-23, 2014.

FERNANDES, A. et al. Triacylglycerols profiling as a chemical tool to identify mushrooms submitted to gamma or electron beam irradiation. **Food Chemistry**, v. 159, p. 399-406, 2014.

FREEDMAN, B.; BUTTERFIELD, R. O.; PRYDE E. H. Transesterification Kinetics of Soybean Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 63, n. 10, p. 1375-1380, 1986.

FREEDMAN, B.; KWOLEK, W. F.; PRYDE E. H. Quantitation in the Analysis of Transesterified Soybean Oil by Capillary Gas Chromatography. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 63, n. 10, p. 1370-1375, 1986.

FREEDMAN, B.; PRYDE, E. H.; MOUNTS, T. L. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 61, n. 10, p. 1638-1643, 1984.

GAO, B. et al. Triacylglycerol compositions of sunflower, corn and soybean oils examined with supercritical CO₂ ultra-performance convergence chromatography combined with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 218, p. 569-574, 2017.

GAO, F.; YANG, S.; BIRCH, J. Physicochemical characteristics, fatty acid positional distribution and triglyceride composition in oil extracted from carrot seeds using supercritical CO₂. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 45, p. 26-33, 2016.

GHOSH, M.; BHATTACHARYYA, D. K. Enzymatic interesterification of blends of castor oil and some oils rich in saturated fatty acids. **Fett/Lipid**, v. 101, n. 6, p. 214-216, 1999.

GODING, J. C. et al. Comparison of GC stationary phases for the separation of fatty acid methyl esters in biodiesel fuels. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, p. 6087-6094, 2013.

GOLBORN, P. Triglyceride Composition of Lard by Differential Thermal Analysis. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 46, p. 385-386, 1968.

GOVERNO DO BRASIL. **Produção de biodiesel atinge maior patamar nos últimos dez anos**, 2018. Disponível em:

<<http://www.brasil.gov.br/editoria/infraestrutura/2018/05/producao-de-biodiesel-atinge-maior-patamar-nos-ultimos-dez-anos>> Acesso em 03 fev. 2018.

GUAN, M. et al. A Study on Triacylglycerol Composition and the Structure of High-Oleic Rapeseed Oil. **Engineering**, v. 2, n. 2, p. 258-262, 2016.

HAAS, M. J. Animal Fats. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005.

HAMMOND, E. G. et al. Soybean Oil. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005.

HIERRO, M. T. G. et al. Determination of the triglyceride composition of avocado oil by high-performance liquid chromatography using a light-scattering detector. **Journal of Chromatography**, v. 607, p. 329-338, 1992.

HINSHAW, J.; SEFEROVIC, W. Analysis of triglycerides by capillary gas chromatography with programmed-temperature injection. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 9, p. 731-736, 1986.

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

HOLCAPEK, M.; LISA, M. Statistical evaluation of triacylglycerol composition by HPLC/APCI-MS. **Lipid Technology**, v. 21, n. 11/12, p. 261-265, 2009.

HUANG, Z. et al. Determination of glyceride and free fatty acid residuals in biodiesel by thin layer chromatography combined with on-line pyrolytic methylation gas chromatography. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 113, p. 288-295, 2015.

HURTOVA, S. et al. Random Interesterification of Fat Blends with Alkali Catalysts. **Fett/Lipid**, v. 98, n. 2, p. 60-65, 1996.

ILGEN, O.; AKIN, A. N. Determination of reaction orders for the transesterification of canola oil with methanol by using KOH/MgO as a heterogeneous catalyst. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 126, p. 342-346, 2012.

IMBS, A. B.; NEVSHUPOVA, N. V.; PHAM, L. Q. Triacylglycerol Composition of Pinus koraiensis Seed Oil. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 75, n. 7, p. 865-870, 1998.

ISLAM, M. S. et al. Study on Emission and Performance of Diesel Engine Using Castor Biodiesel. **Journal of Chemistry**, 2014.

ISSARIYAKUL, T.; DALAI, A. K. Biodiesel from vegetable oils. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 31, p. 446-471, 2014.

IUPAC-IUB. The Nomenclature of Lipids. **Biochemical Journal**, v. 171, n. 1, p. 21-35, 1978.

JEYARANI, T.; REDDY, S. Y. Effect of enzymatic interesterification on physicochemical properties of mahua oil and kokum fat blend. **Food Chemistry**, v. 123, n. 2, p. 249-253, 2010.

KALO, P.; KEMPPINEN, A.; KILPELAINEN, I. Determination of Positional Distribution of Butyryl Groups in Milkfat Triacylglycerols, Triacylglycerol Mixtures, and Isolated Positional Isomers of Triacylglycerols by Gas Chromatography and ¹H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **Lipids**, v. 31, n. 3, p. 331-336, 1996.

KANWAR, R. et al. Performance and Emission Characteristics of a Compression Ignition Engine Operating on Blends of Castor Oil Biodiesel–Diesel. **Journal of The Institution of Engineers (India): Series C**, v. 98, n. 2, p. 147-154, 2017.

KEERA, S. T.; EL SABAGH, S. M.; TAMAN, A. R. Castor oil biodiesel production and optimization. **Egyptian Journal of Petroleum**, no prelo, 2018.

KELLENS, M. Interesterification: process conditions. **SCI Lecture Paper Series**, 2000.

KIM, G. Y.; MARANGONI, A. G. Crystallization Behavior of High Behenic Acid Stabilizers in Liquid Oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 94, n. 9, p. 1165-1173, 2017.

KNAPP, D. R. **Handbook of Analytical Derivatization Reactions**. Somerset: Wiley, 1979.

KNOTHE, G. Analytical Methods for Biodiesel. In: KNOTHE, G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J. **The Biodiesel Handbook**. Champaign: AOCS Press, 2005.

KNOTHE, G. Analyzing biodiesel: standards and other methods. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 83, n. 10, p. 823-833, 2006.

KNOTHE, G. Biodiesel and renewable diesel: A comparison. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 36, p. 364-373, 2010.

KNOTHE, G. et al. **Manual de Biodiesel**. São Paulo: Edgard Blücher, 2006.

KNOTHE, G. Introduction: What Is Biodiesel? In: KNOTHE, G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J. **The Biodiesel Handbook**. Champaign: AOCS Press, 2005.

KNOTHE, G.; CERMAK, S. C.; EVANGELISTA, R. L. Methyl esters from vegetable oils with hydroxy fatty acids: Comparison of lesquerella and castor methyl esters. **Fuel**, v. 96, p. 535-540, 2012.

KNOTHE, G.; RAZON, L. F. Biodiesel fuels. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 58, p. 36-59, 2017.

KOMERS, K. et al. Kinetics and mechanism of the KOH – catalyzed methanolysis of rapeseed oil for biodiesel production. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 104, p. 728-737, 2002.

KRISNANGKURA, K.; YIMSUWANB, T.; PAIRINTRA, R. An empirical approach in predicting biodiesel viscosity at various temperatures. **Fuel**, v. 85, p. 107-113, 2006.

KRIST, S. et al. Detection of Adulteration of Poppy Seed Oil with Sunflower Oil Based on Volatiles and Triacylglycerol Composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 6385-6389, 2006.

KUKSIS, A.; MARAI, L.; MYHER, J. J. Triglyceride Structure of Milk Fats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 50, n. 6, p. 193-201, 1972.

KUKSIS, A.; MCCARTHY, M. J. Gas-liquid chromatographic fractionation of natural triglyceride mixtures by carbon number. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 40, p. 679-686, 1962.

- LAGO, R. C.; HARTMAN, L. Directed Interesterification of a Brazilian Palm Oil and Analysis of the Original and Interesterified Oil and its Fractions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 37, p. 689-693, 1986.
- LAM, M. K.; LEE, K. T.; MOHAMED, A. R. Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 500-518, 2010.
- LEE, W. et al. Assessment of authenticity of sesame oil by modified Villavecchia Test and HPLC-ELSD analysis of triacylglycerol profile. **Food Research International**, v. 53, n. 1, p. 195-202, 2013.
- LEUNG, D. Y. C.; WU, X.; LEUNG, M. K. H. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. **Applied Energy**, v. 87, n. 4, p. 1083-1095, 2010.
- LIPP, M. Review of methods for the analysis of triglycerides in milk fat: application for studies of milk quality and adulteration. **Food Chemistry**, v. 54, n. 2, p. 213-221, 1995.
- LISA, M.; HOLCAPEK, M. Triacylglycerols profiling in plant oils important in food industry, dietetics and cosmetics using high-performance liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1198-1199, p. 115-130, 2008.
- LITCHFIELD, C. **Analysis of Triglycerides**. New York : Academic Press, 1972
- LIU, L. How Is Chemical Interesterification Initiated: Nucleophilic Substitution or α -Proton Abstraction?. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 81, n. 4, p. 331-337, 2004.
- LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.
- LOZADA, L. et al. Considerations of the quantitative aspect of the determination of milkfat triglycerides with split PTV and on-column injection. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 18, n. 2, p. 771-775, 1995.
- MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, v. 70, p. 1-15, 1999.
- MACHER, M.; HOLMQVIST, A. Triacylglycerol analysis of partially hydrogenated vegetable oils by silver ion HPLC. **Journal of Separation Science**, v. 24, p. 179-185, 2001.
- MAGALHÃES, S. P. **Estudo De Modelos Cinéticos Para A Reação De Transesterificação Enzimática De Óleos Vegetais**. 2010. 134 f. Dissertação (Mestrado em Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2010.
- MAHMUDUL, H. M. et al. Production, characterization and performance of biodiesel as an alternative fuel in diesel engines – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 72, p. 497-509, 2017.
- MARANGONI, A. G.; ROUSSEAU, D. Engineering triacylglycerols: The role of interesterification. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, p. 329-335, 1995.

- MARTY, S.; MARANGONI, A. G. Effects of Cocoa Butter Origin, Tempering Procedure, and Structure on Oil Migration Kinetics. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 10, p. 4415-4423, 2009.
- MASUCHI, M. H. et al. Fats from Chemically Interesterified High-Oleic Sunflower Oil and Fully Hydrogenated Palm Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, n. 5, p. 859-866, 2014.
- MATISOVA, E.; DOMOTOROVA, M. Fast gas chromatography and its use in trace analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, n. 1-2, p. 199-221, 2003.
- MAVROMOUSTAKOS, T. et al. ^{13}C NMR Analysis of the Triacylglycerol Composition of Greek Virgin Olive Oils. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 35, p. S3-S7, 1997.
- MEHER, L. C.; SAGAR, D. V.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 10, n. 3, p. 248-268, 2006.
- MELO, L. N. **Desenvolvimento, validação e comparação de metodologias analíticas para determinação de mono-, di- e triacilglicerídeos em biodiesel**. 2016. 65 f. Monografia (Bacharelado em Química Tecnológica e Industrial) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2016.
- MENEGHETTI, S. M. P. et al. Biodiesel from Castor Oil: A Comparison of Ethanolysis versus Methanolysis. **Energy Fuels**, v. 20, p. 2262-2265, 2006.
- MENEGHETTI, S. M. P. et al. Biodiesel Production from Vegetable Oil Mixtures: Cottonseed, Soybean, and Castor Oils. **Energy Fuels**, v. 21, p. 3746-3747, 2007.
- MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; BRITO, Y. C. A Reação de Transesterificação, Algumas Aplicações e Obtenção de Biodiesel. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 1, p. 60-73, 2013.
- MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA – MME. **Percentual obrigatório de biodiesel passa para 10%**, 2018. Disponível em: <http://www.mme.gov.br/web/guest/pagina-inicial/outras-noticias/-/asset_publisher/32hLrOzMKwWb/content/percentual-obrigatorio-de-biodiesel-passa-para-10-> Acesso em 02 fev. 2019.
- MOLDOVEANU, S. C.; CHANG, Y. Dual Analysis of Triglycerides from Certain Common Lipids and Seed Extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 6, p. 2137-2147, 2011.
- MONTEIRO, L. A. et al. Performance impact of the application of castor oil biodiesel in diesel engines. **Engenharia Agrícola**, v. 33, n. 6, p. 1165-1171, 2013.
- MONTEIRO, M.R. et al. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. **Talanta**, v. 77, n. 2, p. 593-605, 2008.
- MORGENSTERN, M. et al. Determination of the Kinetics of Biodiesel Production Using Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^1H NMR). **Energy Fuels**, v. 20, p. 1350-1353, 2006.

MOSSOBA, M. M.; YURAWECZ, M. P.; MCDONALD, R. E. Rapid Determination of the Total trans Content of Neat Hydrogenated Oils by Attenuated Total Reflection Spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 73, n. 8, p. 1003-1009, 1996.

NAWARATNA, G.; FERNANDO, S. D. Reaction Kinetics of Transesterification with Titanium Alkoxide-Based Phase-Transforming Catalyst. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 52, p. 8392-8398, 2013.

NORIZZAH, A. R. et al. Effects of chemical interesterification on physicochemical properties of palm stearin and palm kernel olein blends. **Food Chemistry**, v. 86, p. 229-235, 2004.

OLIVEIRA, P. D. **Desenvolvimento de Bases Lipídicas a Partir de Interesterificação Química de Estearina de Palma/Azeite de Patuá**. 2013. 87 f. Dissertação de mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Pará, Belém, Brasil, 2013.

PARCERISA, J. et al. Influence of variety and geographical origin on the lipid fraction of hazelnuts (*Coryllus avellana* L.) from Spain: (II). Triglyceride composition. **Food Chemistry**, v. 50, p. 245-249, 1994.

PAULS, R. E. A Review of Chromatographic Characterization Techniques for Biodiesel and Biodiesel Blends. **Journal of Chromatographic Science**, v. 49, p. 384-396, 2011.

PAULS, R. E. Fast Gas Chromatographic Separation of Biodiesel. **Journal of Chromatographic Science**, v. 49, p. 370-374, 2011.

PLATTNER, R. D.; PAYNE-WAHL, K. Separation of Triglycerides by Chain Length and Degree of Unsaturation on Silica HPLC Columns. **Lipids**, v. 14, n. 2, p. 152-153, 1979.

POVOLO, M; CONTARINI, G. Fast gas chromatography: Applications in milk fat analysis. **Lipid Technology**, v. 21, n. 4, p. 88-90, 2009.

RAMEZANI, K.; ROWSHANZAMIR, S.; EIKANI, M. H. Castor oil transesterification reaction: a kinetic study and optimization of parameters. **Energy**, v. 35, p. 4142-4148, 2010.

RAMOS, L. P. et al. Biodiesel: Matérias-Primas, Tecnologias de Produção e Propriedades Combustíveis. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 1, p. 317-369, 2017.

RAMOS, L. P. et al. Tecnologias de Produção de Biodiesel. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 5, p. 385-405, 2011.

REYERO, I. et al. Kinetics of the NaOH-catalyzed transesterification of sunflower oil with ethanol to produce biodiesel. **Fuel Processing Technology**, v. 129, p. 147-155, 2015.

RHODES, S. H.; NETTING, A. G. Normal-phase high-performance liquid chromatography of triacylglycerols. **Journal of Chromatography**, v. 448, p. 135-143, 1988.

RIBEIRO, A. P. B. et al. Influence of chemical interesterification on thermal behavior, microstructure, polymorphism and crystallization properties of canola oil and fully hydrogenated cottonseed oil blends. **Food Research International**, v. 42, n. 8, p. 1153-1162, 2009.

RIBEIRO, A. P. B. et al. Interesterificação química de óleo de soja e óleo de soja totalmente hidrogenado: influência do tempo de reação. **Química Nova**, v. 31, n. 4, p. 939-945, 2009.

RIBEIRO, A. P. B. et al. Interesterificação química: alternativa para obtenção de gorduras zero *trans*. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1295-1300, 2007.

RICHARD, R.; THIEBAUD-ROUX, S.; PRAT, L. Modelling the kinetics of transesterification reaction of sunflower oil with ethanol in microreactors. **Chemical Engineering Science**, v. 87, p. 258-269, 2013.

ROCHA, P. F. **Produção de Biodiesel a Partir de Misturas de Óleos e Óleos Interesterificados**. 2015. 104 f. Tese de doutorado (Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Brasil, 2015.

ROMERO, F. E. L. **Cinética De La Reacción De Transesterificación Del Aceite De Higuera En La Obtención De Biodiesel**. 2003. 137 f. Monografía (Bacharelado em Engenharia Química) – Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colômbia, 2003.

ROSSI, M. et al. Getting Lipids for Biodiesel Production from Oleaginous Fungi. In: STOYTICHEVA, M.; MONTERO, G. **Biodiesel – Feedstocks and Processing Technologies**. Rijeka: InTech, 2011.

ROUSSEAU, D.; MARANGONI, A. G. The effects of interesterification on physical and sensory attributes of butterfat and butterfat-canola oil spreads. **Food Research International**, v. 31, n. 5, p. 381-388, 1999.

RUIZ-GUTIÉRREZ, V.; BARRON, L. J. R. Methods for the analysis of triacylglycerols. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 671, n. 1-2, p. 133-168, 1995.

RUIZ-GUTIÉRREZ, V.; MONTERO, E.; VILLAR, J. Determination of fatty acid and triacylglycerol composition of human adipose tissue. **Journal of Chromatography**, v. 581, p. 171-178, 1992.

RUIZ-GUTIÉRREZ, V.; PRADA, J. L.; PÉREZ-JIMÉNEZ, F. Determination of fatty acid and triacylglycerol composition of human very-low-density lipoproteins. **Journal of Chromatography**, v. 622, p. 117-124, 1993.

RUIZ-SAMBLÁS, C.; GONZÁLEZ-CASADO, A.; CUADROS-RODRÍGUEZ, L. Triacylglycerols Determination by High-temperature Gas Chromatography in the Analysis of Vegetable Oils and Foods: A Review of the Past 10 Years. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, p. 1618-1631, 2015.

SANCHEZ, N. et al. Complete analysis of castor oil methanolysis to obtain biodiesel. **Fuel**, v. 147, p. 95-99, 2015.

SATO, K.; UENO, S. Polymorphism in Fats and Oils. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005.

SCHASCHKE, C. J.; ALLIO, S.; HOLMBERG, E. Viscosity measurement of vegetable oil at high pressure. **Food and Bioprocess Processing**, v. 84, p. 173-178, 2006.

- SCHOMBURG, G.; HUSMANN, H.; WEEKE, F. New Developments and Experiences with Glass Capillary Column Production and Sampling Techniques. **Chromatographia**, v. 10, n. 10, p. 580-587, 1977.
- SCHWAB, A. W.; BAGBY, M. O.; FREEDMAN, B. Preparation and properties of diesel fuels from vegetable oils. **Fuel**, v. 66, p. 1372-1378, 1987.
- SCRIMGEOUR, C. Chemistry of Fatty Acids. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005.
- SERRA, T. M. et al. Comparison of soybean oil and castor oil methanolysis in the presence of tin(IV) complexes. **Fuel**, v. 90, p. 2203-2206, 2011.
- SILVA, F. L. et al. Determination of Alkyl Esters Content by Gas Chromatography: Validation of Method Based on Short Column and Response Factor. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 6, p. 1336-1343, 2018.
- SILVA, N. L. et al. Biodiesel Production from Castor Oil: Optimization of Alkaline Ethanolysis. **Energy Fuels**, v. 23, p. 5636-5642, 2009.
- SOARES, A. T. et al. Chromatographic characterization of triacylglycerides and fatty acid methyl esters in microalgae oils for biodiesel production. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, v. 5, p. 053111, 2013.
- SOCRATES, G. **Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies**. West Sussex: John Wiley & Sons, 2001.
- SPERANZA, P.; RIBEIRO, A. P. B.; MACEDO, G. A. Application of lipases to regiospecific interesterification of exotic oils from an Amazonian area. **Journal of Biotechnology**, v. 218, p. 13-20, 2016.
- SREENIVASAN, B. Interesterification of fats. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 55, n. 11, p. 796-805, 1978.
- SRIVASTAVA, A.; PRASAD, R. Triglycerides-based diesel fuels. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 4, p. 111-133, 2000.
- SUN, C. et al. Evaluation of triacylglycerol composition in commercial infant formulas on the Chinese market: A comparative study based on fat source and stage. **Food Chemistry**, v. 252, p. 154-162, 2018.
- SUPRARUKMI, D. D.; SUDRAJAT, B. A.; WIDAYAT. Kinetic Study on Esterification of Oleic Acid with Ultrasound Assisted. **Procedia Environmental Sciences**, v. 23, p. 78-85, 2015.
- TAN, C. P.; CHE MAN, Y. B. Differential Scanning Calorimetric Analysis of Edible Oils: Comparison of Thermal Properties and Chemical Composition. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 2, p. 143-155, 2000.
- THOMAS, A. Fats and Fatty Oils. In: **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**. Weinheim: Wiley-VCH, 2012.

- TIYAPONGPATTANA, W.; WILAIRAT, P.; MARRIOTT, P. J. Characterization of biodiesel and biodiesel blends using comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 31, p. 2640-2649, 2008.
- TRENTIN, C. M. **Estudo Da Cinética De Transesterificação Não Catalítica De Óleo De Soja Com Co-solvente Em Reator Micro Tubo**. 2010. 137 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS, 2010.
- TSYDENDAMBAEV, V. D.; VERESHCHAGIN, A. G. Changes in Triacylglycerol Composition during Ripening of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 1278-1283, 2003.
- TU, A. et al. A comparative study of triacylglycerol composition in Chinese human milk within different lactation stages and imported infant formula by SFC coupled with Q-TOF-MS. **Food Chemistry**, v. 221, p. 555-567, 2017.
- UNION ZUR FÖRDERUNG VON OEL- UND PROTEINPFLANZEN – UFOP. **Biodiesel 2016/2017: Report on Progress and Future Prospects – Excerpt from the UFOP Annual Report**, 2017. Disponível em: <https://www.ufop.de/files/5115/1309/0426/UFOP-Biodiesel_2016-2017_EN.pdf> Acesso em 02 fev. 2019.
- VAN GERPEN, J.; KNOTHE, G. Basics of the Transesterification Reaction. In: KNOTHE, G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J. **The Biodiesel Handbook**. Champaign: AOCS Press, 2005.
- VANDER WAL, R. J. The glyceride structure of fats and oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 37, n. 11, p. 595-598, 1960.
- VAZ, P. H. P. M.; SAMPAIO, Y. S. B.; SAMPAIO, E. V. S. B. Análise da competitividade da mamona e da soja para produção de biodiesel no Nordeste do Brasil. **Revista de Economia Agrícola**, v. 57, n. 1, p. 35-48, 2010.
- VICENTE, G. et al. Kinetics of Sunflower Oil Methanolysis. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 44, p. 5447-5454, 2005.
- VIEITEZ, I. et al. Composition of fatty acids and triglycerides in goat cheeses and study of the triglyceride composition of goat milk and cow milk blends. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 48, p. 95-101, 2016.
- WADA, S.; KOIZUMI, C.; NONAKA, J. Analysis of Triglycerides of Soybean Oil by High-Performance Liquid Chromatography in Combination with Gas Liquid chromatography. **Journal of Japan Oil Chemists' Society**, v. 26, p. 95-99, 1977.
- WEISS, T. J.; JACOBSON, G. A.; WIEDERMANN, L. H. Reaction Mechanics of Sodium Methoxide Treatment of Lard. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 38, n. 8, p. 396-399, 1961.
- XIAO, Y. et al. Kinetics of the Transesterification Reaction Catalyzed by Solid Base in a Fixed-Bed Reactor. **Energy Fuels**, v. 24, p. 5829-5833, 2010.

- XIE, W.; CHEN, J. Heterogeneous interesterification of triacylglycerols catalyzed by using potassium-doped alumina as a solid catalyst. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 43, p. 10414-21, 2014.
- XIE, W.; QI, C. Interesterification of Soybean Oil and Lard Blends Catalyzed by SBA-15- $\text{pr-NR}_3\text{OH}$ as a Heterogeneous Base Catalyst. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 14, p. 3373-3381, 2013.
- YOSHINAGA, K. et al. Quantification of Triacylglycerol Molecular Species in Edible Fats and Oils by Gas Chromatography-Flame Ionization Detector Using Correction Factors. **Journal of Oleo Science**, v. 66, n. 3, p. 259-268, 2017.
- ZAHIR, E. et al. Study of physicochemical properties of edible oil and evaluation of frying oil quality by Fourier Transform-Infrared (FT-IR) Spectroscopy. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S3870-S3876, 2017.
- ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- ZHOU, Q. et al. Chemical profiling of triacylglycerols and diacylglycerols in cow milk fat by ultra-performance convergence chromatography combined with a quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 143, p. 199-204, 2014.