



UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

PRODUÇÃO DE ACETINAS: EMPREGO DE CATALISADORES À BASE DE Sn(IV) E
DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR GC-FID

DÉBORA SOARES DA SILVA

Universidade Federal de Alagoas

**Campus A. C. Simões
Tabuleiro do Martins
57072-970 - Maceió-AL**

DÉBORA SOARES DA SILVA

PRODUÇÃO DE ACETINAS: EMPREGO DE CATALISADORES À BASE DE Sn(IV) E
DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR GC-FID

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia (PPGQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Janaína Heberle Bortoluzzi

Coorientadora: Profa. Dra. Simoni Margareti Plentz Meneghetti

Maceió – AL

2021

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S586p Silva, Débora Soares da.
Produção de acetinas : emprego de catalisadores à base de Sn(IV) e desenvolvimento e validação de metodologia analítica por GC-FID / Débora Soares da Silva. – 2021.
135 f. : il., grafs., tabs. color.

Orientadora: Janaína Heberle Bortoluzzi.
Coorientadora: Simoni Margareti Plentz Meneghetti.
Tese (doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 120-126.
Apêndices: f. 128-135.

1. Glicerol. 2. Esterificação. 3. Catalisador. 4. Estanho. 5. Metodologia analítica. I. Título.

CDU: 66.097.3-034.6

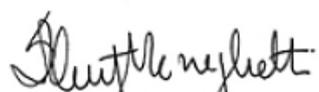


FOLHA DE APROVAÇÃO

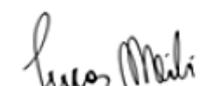
Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese da Doutoranda **DÉBORA SOARES DA SILVA** intitulada: **“PRODUÇÃO DE ACETINAS: EMPREGO DE CATALISADORES À BASE DE Sn(IV) E DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR GC-FID”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 30 de setembro de 2021, às 14h, por meio de videoconferência.

Comissão Examinadora:


Profa. Dra. Janaina Heberle Bortoluzzi
Orientadora (PPGQB/IQB/UFAL)


Profa. Dra. Simoni Margareti
Plentz Meneghetti
Coorientadora (PPGQB/IQB/UFAL)


Prof. Dr. Edmar Martendal Dias de Souza
(PPGQ/UDESC)


Prof. Dr. Lucas Meili
(PPGEQ/UFAL)


Prof. Dr. Wander Gustavo Botero
(PPGQB/UFAL)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me guiar, aumentando minha fé, fortalecendo-me espiritualmente e fisicamente ao longo dessa jornada.

À minha mãe, Noêmia, por sempre estar ao meu lado em todas as etapas da minha vida, obrigada por tanto!

À minha irmã, Daniela, por ser exemplo de força e persistência, por sempre acreditar nos meus projetos de vida, obrigada maninha!

Ao meu sobrinho, Davi, que através de suas limitações causadas pelo autismo, mostra-nos como podemos ser resistentes a todo e qualquer desafio, e que o amor supera tudo. Obrigada por me tornar uma pessoa melhor, meu amor!

À minha orientadora, profa Janaína, pela contribuição para o meu crescimento profissional e pessoal, meu eterno carinho e gratidão. Obrigada pela oportunidade, paciência e amizade!

A minha coorientadora, profa. Simoni, por sempre somar conhecimento e ampliar meus horizontes através da catálise, obrigada!

Ao professor Thiago, pela realização de todas as análises de RMN solicitadas!

A todos os professores do GCaR, Mario, Aracelis, Cinthya, Pedro e Rusiene, por sempre contribuírem de alguma forma, seja em termos de discussão de resultados ou com palavras de apoio, obrigada!

A todos os alunos do GCaR, cada um com sua singularidade, em algum momento, fizeram-me feliz no meu local de trabalho, obrigada queridos!

Aos meus fiéis companheiros de luta, Felyppe, Filipe, Jailton, Ledja, Maysa, Nívea, Ícaro e Thati, obrigada pelas risadas até nos momentos mais difíceis, vocês são especiais para mim!

Ao Cristian e Lucas, palavras não exprimem o quão grata sou a vocês dois, que sempre estavam presentes nos momentos mais desconcertantes, seja para discutir dados experimentais até o auxílio na bancada, como na produção de biodiesel, em que o Lucas não mediu esforços para chegarmos a resultados aceitáveis. Muito obrigada, meus amigos!

A todos os funcionários do IQB, em especial, aos professores, os quais são exemplos de inspirações e de excelência, obrigada por todos os ensinamentos ao longo de minha trajetória acadêmica!

A Capes pelo apoio financeiro, à UFAL e IQB pela viabilidade e espaço!

A todos que contribuíram de alguma forma para que fosse possível a realização deste projeto!

RESUMO

Os desafios inerentes aos combustíveis fósseis têm potencializado o interesse pelo biodiesel como biocombustível, por este ser renovável e menos agressivo ao meio ambiente. No entanto, na sua rota de produção (transesterificação) gera-se cerca de 10% em volume de glicerol como coproduto. Com o intuito de agregar valor a esse coproduto, este trabalho propõe avaliar a acetilação de glicerol (GLI) com ácido acético (AA), pela primeira vez, com catalisadores à base de Sn(IV) visando à obtenção de monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA), as quais apresentam vasta aplicação industrial, que a configura numa rota tecnológica atrativa. Além disso, a fim de promover a ampliação de métodos de análises para a caracterização desses insumos químicos, foi desenvolvida e validada uma metodologia via GC-FID para a determinação dos acetatos de glicerol. Inicialmente, os testes reacionais com os catalisadores, Bu_2SnCl_2 , Me_2SnCl_2 , BuSnCl_3 , $\text{Bu}_2\text{SnLau}_2$, BuSnO(OH) , Bu_2SnO , mostraram que o BuSnCl_3 apresentou melhor desempenho, com a total conversão de GLI e expressiva seletividade às acetinas (25,7, 43,5 e 30,8 % para MA, DA e TA, respectivamente) em condições reacionais brandas (80 °C, razão molar AA:GLI de 4:1 com 3 h de reação). Essas observações foram comprovadas com o estudo cinético das reações sob diferentes temperaturas (40, 80 e 120 °C) e razões molares dos reagentes (AA:GLI – 3:1, 4:1 e 6:1). A determinação da energia de ativação (E_a), mostrou que sem catalisador, $E_a = 23,9 \text{ kJ mol}^{-1}$ e com o BuSnCl_3 , $E_a = 14,3 \text{ kJ mol}^{-1}$, comprovando o potencial desempenho das espécies de Sn(IV) nessa rota. O método desenvolvido por GC-FID, com coluna apolar (RTX-5MS - 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) foi finalizado com tempo total = 3,3 min, demonstrando ganho de tempo e de custos. O processo de validação avaliou inicialmente, a seletividade do método, cujas comparações dos cromatogramas do solvente e de amostra reacional não demonstraram a presença de interferentes nos tempos de retenção dos picos de interesse; as curvas analíticas apresentaram $R \geq 0,9982$ e a partir de seus parâmetros determinaram-se o LOD e LOQ, que resultaram em valores $\leq 0,0007 \text{ g mL}^{-1}$ e $\leq 0,0022 \text{ g mL}^{-1}$; a precisão do método, avaliada através da repetitividade e reprodutibilidade, resultou em valores de CV $\leq 3,3\%$; Os ensaios de recuperação realizados a partir da fortificação de uma amostra reacional com os padrões analíticos em 3 níveis de concentração implicaram na faixa de 80,81% a 101,60%; e com mudanças no preparo de amostra (troca de solvente e volume de injeção), o método mostrou-se robusto. Todos os parâmetros avaliados demonstraram estar dentro dos critérios adotados, e, portanto, a metodologia validada foi aplicada em amostras reais, referentes à acetilação de glicerol puro e residual do biodiesel (com e sem catalisador), e o mesmo mostrou-se eficiente. Dessa forma, os resultados gerados nessa Tese mostraram-se como alternativas altamente viáveis para aplicação industrial da transformação do glicerol em produtos de maior valor agregado, além de fornecer uma metodologia validada para determinação quantitativa dos produtos da reação.

Palavras-Chave: Glicerol. Esterificação. Catalisador. Sn(IV). Metodologia analítica. Validação.

ABSTRACT

The challenges inherent to fossil fuels have enhanced the interest in biodiesel as a biofuel, because it is renewable and less harmful to the environment. However, its production route (transesterification) generates about 10% in volume of glycerol as a co-product. In order to add value to this co-product, this work proposes to evaluate the acetylation of glycerol (GLI) with acetic acid (AA), for the first time, with Sn(IV) based catalysts aiming to obtain monoacetin (MA), diacetin (DA) and triacetin (TA), which present vast industrial application, making it an attractive technological route. Moreover, in order to promote the expansion of analytical methods for the characterization of these chemical inputs, a GC-FID based methodology was developed and validated for the determination of glycerol acetates. The reaction tests with catalysts Bu_2SnCl_2 , Me_2SnCl_2 , BuSnCl_3 , $\text{Bu}_2\text{SnLau}_2$, $\text{BuSnO}(\text{OH})$, Bu_2SnO , showed that BuSnCl_3 presented the best performance, with full conversion of GLI and expressive selectivity to acetins (25.7, 43.5 and 30.8% for MA, DA and TA, respectively) under mild reaction conditions (80 °C, molar ratio AA:GLI of 4:1 with 3 h of reaction). These observations were evidenced by the kinetic study of the reactions under different temperatures (40, 80 and 120 °C) and molar ratios of the reactants (AA:GLI - 3:1, 4:1 and 6:1). The determination of activation energy (E_a), showed that without catalyst, $E_a = 23.9 \text{ kJ mol}^{-1}$ and with BuSnCl_3 , $E_a = 14.3 \text{ kJ mol}^{-1}$, demonstrating the potential performance of Sn(IV) species in this route. The GC-FID method developed with an apolar column (RTX-5MS - 30 m x 0.25 mm x 0.25 μm) was completed with total run time of 3.3 min, demonstrating time and cost savings. The validation process initially evaluated the selectivity of the method, in which solvent and sample chromatogram comparisons did not demonstrate the presence of interferences in the retention times of the peaks of interest; the analytical curves presented $R \geq 0.9982$ and from their parameters the LOD and LOQ were determined, which resulted in $\leq 0.0007 \text{ g mL}^{-1}$ and $\leq 0.0022 \text{ g mL}^{-1}$ values; the precision of the method, evaluated through repeatability and reproducibility, resulted in $\leq 3,3\%$ coefficient of variation values; the recovery tests carried out by the fortification of a reaction sample with the analytical standards at 3 concentration levels resulted in recoveries from 80.81% to 101.60%; and with changes in sample preparation (different solvents and injection volumes), the method showed to be robust. All parameters evaluated proved to be within the adopted criteria, and finally the validated methodology was applied to real samples of pure and biodiesel residual glycerol (with and without catalyst), and it proved to be efficient. Thus, the results generated in this Thesis have shown to be highly viable alternatives for industrial application of glycerol transformation into products with higher added value, besides providing a validated methodology for quantitative determination of the reaction products.

Key-words: Glycerol. Esterification. Catalyst. Sn(IV). Analytical methodology. Validation.

LISTA DE FIGURAS

Seção 1 – Revisão Bibliográfica

Figura 1 - Transesterificação de óleos e gorduras, vegetais e animais para produção de biodiesel e formação de glicerol como coproduto.....	21
Figura 2 - Evolução do percentual de teor de biodiesel presente no diesel fóssil no Brasil. ...	22
Figura 3 - Glicerol gerado na produção de biodiesel (B100), segundo grandes regiões (de 2011-2021)	22
Figura 4 - Estrutura molecular do glicerol.	24
Figura 5 - Rota industrial da produção de glicerol.	25
Figura 6 - Exportações brasileiras de glicerina.	27
Figura 7 - Aplicações tradicionais do glicerol puro.....	28
Figura 8 - Possíveis derivados do glicerol por diferentes rotas reacionais	28
Figura 9 - Prospecção de trabalhos científicos referente ao glicerol, coproduto do biodiesel..	30
Figura 10 - Reação de acetilação do glicerol com ácido acético gerando monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA).....	31
Figura 11 - Diferentes estruturas químicas representando as propriedades hipervalentes dos compostos de Sn(IV).....	37
Figura 12 - Mecanismo de acetilação do glicerol com catalisador ácido de Lewis	37
Figura 13 - Análise de acetinas por HPLC por Nebel et al., 2008	40
Figura 14 - Análise de acetinas por CG: (a) coluna INNOWAX HP-I e (b) coluna ZB-5HT INFERNO.....	41
Figura 15 - Análise de acetinas: (a) GC e (b) HPLC, por CASAS et al., 2012.....	42
Figura 16 - Análise de acetinas: (a) coluna DB1 HT e (b) DB5 HT por SUSTERE et al., 2014	43
Figura 17 - Análise de padrões de acetinas por GOMES et al., 2020.....	44

Seção 2 – Avaliação de catalisadores de Sn(IV) na reação de acetilação do glicerol

Figura 1 - A) Mecanismo do ácido de Lewis: I) ataque nucleofílico intermolecular e II) ataque nucleofílico intramolecular do álcool previamente coordenado no metal. B) Mecanismo de troca / inserção.....	54
Figura 2 - Ordem de retenção dos analitos monoacetina (MA) diacetina (DA) e triacetina (TA) em amostra reacional a partir de adaptações das condições utilizadas por Nebel et al., 2018, em que: a) coluna polar (Stabilwax 30 m x 0,32 mm x 0,25 μm) e b) Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). A amostra utilizada refere-se a amostra reacional de 180 min, catalisada com Bu_2SnCl_2 e preparada para o CG com solução de padrão interno (benzoato de benzila (BZB) em etanol.	56
Figura 3 - Ordem de retenção dos analitos monoacetina (MA) diacetina (DA) e triacetina (TA) em amostra reacional determinada por HPLC-IR (coluna = C18, 150 mm x 4,6 mm x 5 μm ; fase móvel = ACN:H ₂ O [86:14]; F = 0,6 mL min ⁻¹	57
Figura 4 - Cromatograma com a coluna RtxWax (30 m x 0,32 mm x 0,25 μm) com uma amostra reacional da acetilação do glicerol nos testes iniciais.....	58
Figura 5 - Cromatograma obtido com a coluna RtxWax (30 m x 0,32 mm x 0,25 μm) ao longo dos experimentos de monitoramento das reações de acetilação.....	58
Figura 6 - Teste de remoção do ácido acético da amostra por rotaevaporação.....	59
Figura 7 - Acetilação do glicerol sem catalisador (a) e (b) com SnO_2 a 120 °C, com RM = 6:1 (AA:GLI) = 4,30 mL e 1,16 g, e 0,2 g de catalisador (0,166 mmol de Sn).....	60
Figura 8 - Figura 8 – Avaliação da acetilação do glicerol sem e com diferentes catalisadores de Sn(IV) em diferentes temperaturas (40 °C, 80° e 120 °C), tempos reacionais (15-180 min), RM = 4:1 (AA:GLI); carga de catalisador = 0,166 mmol de Sn; e agitação do sistema = 3000 rpm.....	61
Figura 9 - Avaliação da acetilação do glicerol sem e com diferentes catalisadores de Sn(IV) empregando diferentes razões molares de ácido acético:glicerol (RM = 3:1, 4:1 e 5:1), T = 80 °C, carga de catalisador = 0,166 mmol de Sn, e agitação do sistema = 3000 rpm.....	66
Figura 10 - Acetilação do glicerol conduzida com HCl e Me_2SnCl_2 na mesma proporção molar de sítios ativos (0,166 mmol) a 80 °C e RM = 4:1 (AA:GLI).....	68
Figura 11 - Acetilação do glicerol conduzida sob as mesmas condições reacionais, 40 °C e RM = 3:1 (AA:GLI), considerando a possível liberação de duas moléculas de HCl no meio reacional utilizando a carga de Sn = 0,166 mmol (Me_2SnCl_2) e de H ⁺ (HCl) = 0,332 mmol..	69

Figura 12 - Espectros no infravermelho médio referentes ao catalisador Me_2SnCl_2 antes e após reação de 2 h a 80 °C com ácido acético 70

Seção 3 – Desenvolvimento e validação de método analítico para as acetinas

Figura 1 - Espectro de RMN de ^{13}C de padrão comercial de diacetina da marca Sigma-Aldrich..... 88

Figura 2 - Testes de preparo de amostra para verificação de capacidade da coluna cromatográfica, cujos cromatogramas de (a-d) são referentes à coluna RTX-5MS (5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano) e (e-h) são referentes à coluna ZEBRON WAX (100% polietilenoglicol), com as seguintes soluções: (a, e) 0,50 g de DA + 0,15 g de GLI + 2 mL de solução de BZB em etanol ($3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$); (b, f) 0,20 g de DA + 0,06 g de GLI + 2 mL de solução de BZB em etanol ($3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$); (c, g) 0,10 g de DA + 0,03 g de GLI + 2 mL de solução de BZB em ($3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$); (d, h) 0,10 g de DA + 0,03 g de GLI + 6 μL de BZB, solubilizados em 0,5 mL de etanol. 90

Figura 3 - Análises cromatográficas de amostra de padrão analítico de DA contendo todos os analitos em treze colunas distintas. 92

Figura 4 - Cromatogramas obtidos da otimização, com $F_{\text{H}_2} = 1 \text{ mL min}^{-1}$ fixo, das seguintes programações de Temperatura: (a) 160 °C ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 250 °C por 2 min; (b) 160 °C'1 ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 250 °C por 2 min; (c) 150 °C'1 ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 250 °C por 2 min; (d) 150 °C ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 250 °C por 2 min; (e) 150 °C ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 160 °C ($30 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 250 °C por 2 min; (f) 150 °C ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 160 °C ($50 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 250 °C por 2 min; (g) 150 °C ($3 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 160 °C ($50 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 250 °C por 2 min; (h) 150 °C ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 160 °C ($80 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 250 °C por 2 min; (i) 150 °C ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 160 °C ($100 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 250 °C por 2 min; (j) 150 °C ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 160 °C ($120 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) 250 °C por 2 min. 99

Figura 5 - Cromatogramas da otimização do F_{H_2} , com programação fixa de temperatura. Onde: (a) $1,0 \text{ mL min}^{-1}$; (b) $1,1 \text{ mL min}^{-1}$; (c) $1,2 \text{ mL min}^{-1}$; (d) $1,3 \text{ mL min}^{-1}$; (e) $1,4 \text{ mL min}^{-1}$; (f) $1,5 \text{ mL min}^{-1}$; (g) $1,6 \text{ mL min}^{-1}$; (h) $1,7 \text{ mL min}^{-1}$; (i) $1,8 \text{ mL min}^{-1}$; (j) $1,9 \text{ mL min}^{-1}$; (k) $2,0 \text{ mL min}^{-1}$; (l) $2,1 \text{ mL min}^{-1}$ e (m) $2,2 \text{ mL min}^{-1}$ 102

Figura 6 - Cromatogramas obtidos das análises de seletividade para o solvente utilizado no preparo de amostra (vermelho), amostra reacional sem fortificação (azul) e amostra reacional fortificada com padrão de DA (*mix* de GLI, MA, DA e TA) e GLI (verde)..... 104

Figura 7 - Curvas analíticas obtidas com 5 pontos experimentais de padrão analítico de glicerol (GLI), monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA)	105
Figura 8 - Curvas de linearidade determinadas a partir dos pontos experimentais e respostas obtidas para Glicerol (GLI), monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA)	107
Figura 9 - Aplicação do método validado em amostra reacional de acetilação com GLI puro, sob a razão molar de 3:1 (AA:GLI), a 80 °C e 2 h de reação, conduzidas com BuSnCl ₃	114
Figura 10 - Aplicação do método validado e das condições reacionais otimizadas, em amostra reacional de glicerol residual do biodiesel, utilizando a razão molar de 4:1 (AA:GLI), a 80 °C e 3 h de reação, conduzidas sem catalisador (cromatograma preto) e com BuSnCl ₃ (cromatograma vermelho)	115

LISTA DE TABELAS

Seção 1 – Revisão Bibliográfica

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas do glicerol.....	24
Tabela 2 - Teor de glicerol em diferentes graus de pureza	26
Tabela 3 - Melhores condições reacionais para a esterificação de glicerol com ácido acético empregando diferentes sistemas catalíticos.....	34
Tabela 4 - Principais usos dos organocompostos de estanho.....	36
Tabela 5 – Parâmetros, metodologias e informações dos principais trabalhos da literatura que utilizam GC para a determinação das acetinas	45

Seção 2 – Avaliação de catalisadores de Sn(IV) na reação de acetilação do glicerol

Tabela 1 - Materiais e reagentes utilizados para a execução de parte do trabalho	52
Tabela 2 - Condições reacionais empregadas na avaliação da acetilação do glicerol com ácido acético sem catalisador e na presença de SnO ₂ , BuSnO(OH), Bu ₂ SnO, Bu ₂ SnLau ₂ , Bu ₂ SnCl ₂ , Me ₂ SnCl ₂ e BuSnCl ₃	53
Tabela 3 - Taxas das constantes aparentes de velocidade (K _{ap}) em função da conversão do glicerol e do tempo de reação (h).....	63
Tabela 4 - Taxas das constantes aparentes de velocidade (K _{ap}) em função das razões molares avaliadas, RM = 3:1, 4:1 e 5:1 (AA:GLI)..	67

Tabela 5 - Principais bandas de absorção observadas para o catalisador Me_2SnCl_2 antes e após reação com ácido acético a 80 °C por 2 h.....	71
Tabela 6 - Deslocamentos químicos (ppm) observados nos espectros de RMN ^{13}C do BuSnCl_3 , em contato com ácido acético e após a reação de acetilação	72
Tabela 7 - Comparação do sistema catalítico de Sn(IV) estudado com outros trabalhos da literatura	73

Seção 3 – Desenvolvimento e validação de método analítico para as acetinas

Tabela 1 - Avaliação de diferentes colunas cromatográficas empregadas na identificação e separação das acetinas.....	79
Tabela 2 - Condições de programação de temperatura submetidas para a separação de GLI, MA, DA, TA e BZB (PI)	80
Tabela 3 - Parâmetros de desempenhos e condições experimentais de ensaios propostos para a execução da validação.....	83
Tabela 4 - Número de pratos teóricos (N) e fator de assimetria (As) para as colunas que apresentaram separação mais efetiva para os compostos.....	97
Tabela 5 - Coeficientes de correlação e equação da reta das curvas analíticas obtidas para os compostos glicerol (GLI), monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA).....	106
Tabela 6 - Resultados dos ensaios de repetitividade com análise de uma amostra de acetinas (Preparada e injetada 10 vezes em triplicata	109
Tabela 7 - Resultados dos ensaios de reprodutibilidade com análise de uma amostra de acetinas (Preparada e injetada 10 vezes em triplicata por um segundo analista em dias diferentes do primeiro analista)	109
Tabela 8 - Teste <i>F</i> aplicado para os desvios-padrões obtidos nos ensaios de repetitividade e reprodutibilidade	110
Tabela 9 - Recuperação com fortificação da amostra obtida da acetilação do glicerol em três níveis de concentração.	111
Tabela 10 - Robustez do método variando o solvente e volumes de injeção	112

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
- B100 – 100% de biodiesel
- PNPB – Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel
- MDIC – Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços
- MA – Monoacetina
- DA – Diacetina
- TA – Triacetina
- GLI – Glicerol
- GCaR – Grupo de Catálise e Reatividade
- HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
- CG – Cromatografia Gasosa
- RMN – Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear
- GC-FID – Cromatografia Gasosa com detector por ionização de chamas
- GC/MS – Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas
- HPLC-ELSD – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Espalhamento de Luz Evaporativa
- HPLC-UV – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector por Ultravioleta
- HPLC UV-Vis/DAD – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector por Ultravioleta-Visível e Arranjo De Diodos
- RM-AA:GLI – Razão Molar entre Ácido Acético e Glicerol
- RPM – Rotação por minuto
- HPLC-IR – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector por Índice de Refração
- K_{ap} – Constante Aparente de Velocidade
- INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
- LOD – Limite de Detecção
- LOQ – Limite de Quantificação
- RF – Fator de Resposta Relativo
- CV – Coeficiente de Variação
- EPA – Agência de Proteção Ambiental Dos Estados Unidos, do inglês *United States Environmental Protection Agency*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	16
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo Geral.....	18
2.2 Objetivos Específicos.....	18
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA (SEÇÃO 1)	20
3.1 Biodiesel.....	20
3.2 Glicerol.....	23
3.2.1 Considerações gerais	23
3.2.2 Rotas de produção e comércio do glicerol.....	24
3.2.3 Reações de transformação do glicerol.....	27
3.2.3.1 Acetilação do glicerol.....	30
3.2.3.1.1 Acetinas	31
3.3 Sistemas catalíticos empregados na obtenção das acetinas.....	32
3.3.1 Catalisadores organometálicos de Sn(IV)	35
3.4 Métodos analíticos para a determinação de acetinas	39
4. AVALIAÇÃO DE CATALISADORES DE Sn(IV) NA REAÇÃO DE ACETILAÇÃO DO GLICEROL(SEÇÃO 2)	47
4.1 Introdução.....	48
4.2 Procedimentos experimentais	49
4.2.1 Caracterizações dos produtos reacionais (Acetinas)	49
4.2.2 Testes Catalíticos	51
4.2.2.1 Influência da temperatura e razão molar entre os reagentes na cinética reacional	53
4.3 Resultados.....	55
4.3.1 Caracterizações dos produtos reacionais (Acetinas)	55
4.3.2 Testes catalíticos	60
4.3.2.1 Influência da temperatura	60
4.3.2.2 Influência da razão molar entre ácido acético e glicerol	65
4.4 CONCLUSÕES DA SEÇÃO	74
5. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UMA METODOLOGIA ANALÍTICA POR GC-FID PARA A DETERMINAÇÃO DE ACETINAS (SESSÃO 3).....	75
5.1 Introdução.....	76
5.2 Procedimentos experimentais	77

5.2.1 Desenvolvimento da metodologia analítica.....	77
5.2.1.1 Caracterização prévia das acetinas.....	77
5.2.1.2 Escolha da coluna cromatográfica.....	78
5.2.1.3 Otimização do método cromatográfico.....	80
5.2.3 Validação do método analítico.....	81
5.3 Resultados e discussão.....	87
5.3.1 Considerações iniciais.....	87
5.3.2 Desenvolvimento da metodologia analítica.....	89
5.3.2.1 Preparo de amostra para a escolha da coluna.....	89
5.3.2.2 Escolha da coluna cromatográfica.....	91
5.3.2.3 Otimização do método cromatográfico.....	98
5.3.4 Validação do método analítico.....	104
5.3.4.1 Seletividade.....	104
5.3.4.2 Linearidade e Faixa de trabalho.....	105
5.3.4.3 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Detecção (LOQ).....	108
5.3.4.4 Precisão.....	108
5.3.4.5 Exatidão (Recuperação).....	111
5.3.4.6 Robustez.....	112
5.3.4.7 Aplicação do método validado em amostra reacional da acetilação de glicerol.....	113
5.4 CONCLUSÕES DA SEÇÃO.....	116
6. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA.....	117
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	118
REFERÊNCIAS.....	120
ANEXOS.....	128

INTRODUÇÃO GERAL

OBJETIVOS E ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO

1. INTRODUÇÃO GERAL

O desenvolvimento de insumos químicos e combustíveis a partir de fontes renováveis é alvo de grande interesse global, devido ao esgotamento das reservas de petróleo de fácil extração e, sobretudo pelo impacto ambiental causado pelos combustíveis de origens fósseis, e, portanto, nesse cenário, o biodiesel desempenha um importante papel, como alternativa estratégica ao petróleo (MOTA et al., 2009; RODRÍGUEZ e GAIGNEAUX, 2012).

Na obtenção de biodiesel, pelo processo de transesterificação, gera-se em torno de 10% (% em volume) de glicerol, como coproduto, este por sua vez, quando na sua forma pura, tem grande aplicação comercial, seja no uso direto ou como molécula plataforma. No entanto, considerando o rápido avanço das biorrefinarias na fabricação do biodiesel, tem ocorrido a saturação de glicerol no mercado mundial, culminando na redução do seu valor comercial (HU et al., 2015; NANDA et al., 2016; ANITHA et al., 2016).

Diante desse contexto, necessita-se encontrar novas alternativas que aumentem, de modo geral, a diversificação e o desenvolvimento da utilização desse poliálcool, visando reaproveitar o excedente deste coproduto, e assim consolidar a sustentabilidade da rota de fabricação de biodiesel (MENEZES et al., 2016).

Nesse sentido, a reação de esterificação, ou comumente conhecida como acetilação do glicerol com ácido acético é uma opção muito atrativa, por gerar insumos químicos versáteis, as quais denominam-se de acetinas e têm suas aplicações permeadas nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e são utilizadas também, como matéria-prima para a fabricação de aditivos para combustível, solvente para tintas, explosivos, poliéster biodegradável entre outras (MOTA et al., 2009; MEIRELES e PEREIRA, 2013; TESTA et al. 2013; HU et al., 2015; PINTO et al., 2016).

A funcionalização do glicerol com ácido acético para a produção dos derivados acetilados, monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetona (TA), é geralmente realizada com catalisadores que apresentam inconvenientes relativos à seletividade, alta corrosão do sistema reacional e desativação de seus sítios ativos (KHAYOO e HAMEED, 2011; MEIRELES e PEREIRA, 2013). Ademais, percebe-se certa escassez de métodos analíticos para a determinação das acetinas.

Nessa perspectiva, a intenção precípua deste trabalho é investigar catalisadores à base de Sn(IV) na reação de glicerol com ácido acético sob diferentes condições reacionais, e desenvolver e validar uma metodologia analítica para a determinação das acetinas, as quais são os produtos acetilados do glicerol.

1.1. Organização deste trabalho

Este manuscrito está dividido em três seções, cuja seção 1 refere-se à revisão bibliográfica, ou seja, será descrito os principais trabalhos voltados aos sistemas reacionais para obtenção de acetinas, bem como, trabalhos a respeito de métodos analíticos para a determinação das mesmas.

A seção 2 envolve os estudos desenvolvidos relativos à avaliação dos catalisadores de Sn(IV) na rota de produção de acetinas. A seção 3, por sua vez, foca no desenvolvimento, seguida de validação por GC-FID de um método analítico para a determinação das acetinas.

Desse modo, essas seções organizam-se da seguinte maneira:

- a) Inicialmente faz-se uma breve descrição das abordagens principais da literatura acerca da respectiva seção;
- b) Em seguida, relatam-se os procedimentos experimentais que foram efetuados na respectiva seção;
- c) Posteriormente, mostram-se e discutem-se os resultados obtidos do item (b) supracitado;
- d) Finalmente, apresenta-se uma avaliação geral com as respectivas conclusões.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

- Este trabalho tem como objetivo geral estudar a acetilação catalítica do glicerol com ácido acético na presença de catalisadores de Sn(IV), visando obter produtos químicos de interesse industrial com maior valor agregado (monoacetina, diacetina e triacetina) e desenvolver e validar uma metodologia analítica para a determinação dos compostos acetilados de glicerol por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (GC-FID).

2.2 Objetivos específicos:

- Avaliar a reação de esterificação do glicerol com ácido acético empregando diferentes condições reacionais, como: catalisadores, temperatura, razão molar e tempo;
- Desenvolver e validar uma metodologia analítica para identificar e quantificar monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA);
- Aplicar a metodologia analítica proposta e as condições reacionais otimizadas em glicerol comercial (alta pureza) e glicerol residual de biodiesel.

SEÇÃO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Esta seção visa apresentar a conjuntura na qual o glicerol encontra-se inserido nos últimos anos, e, portanto, serão abordados, inicialmente, aspectos acerca do biodiesel, seguido do glicerol, principal coproduto obtido da produção desse biocombustível. Serão apresentadas as principais rotas de conversão do glicerol em insumos químicos de valor agregado, com ênfase para a esterificação catalítica com ácido acético e geração de acetinas. Associadamente dar-se-á destaque aos principais trabalhos desenvolvidos para a determinação das acetinas (MA, DA e TA).

3.1 Biodiesel

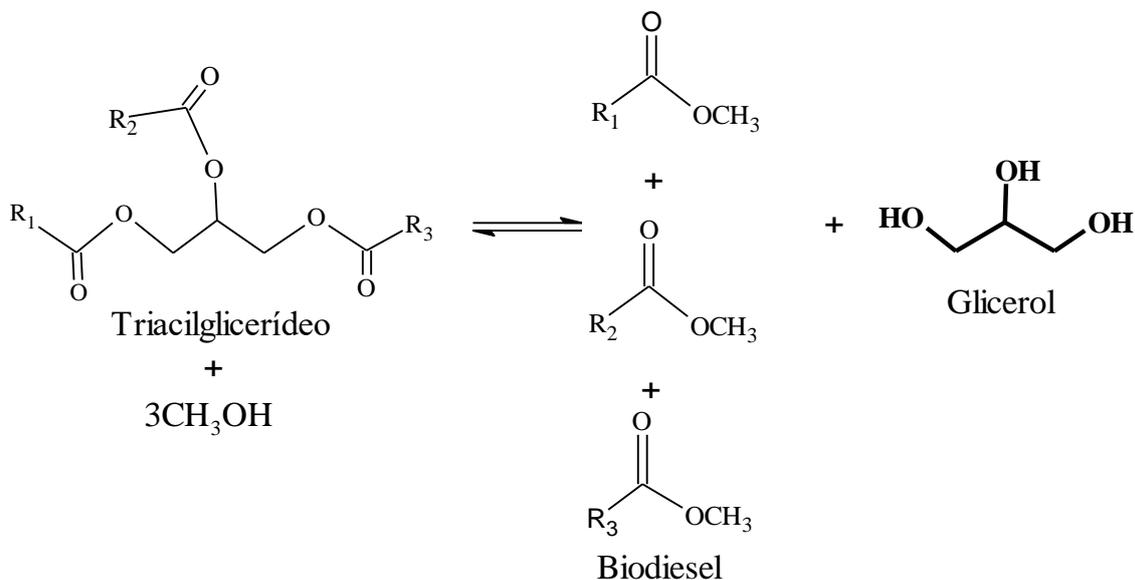
Nas décadas de 70 e 80, o Brasil sofria com dívidas externas bilionárias relacionadas ao petróleo (52 bilhões de dólares no final de 1979), levando o país e todo o mundo a criarem esforços para superar a crise energética advinda das matrizes fósseis. Uma das iniciativas surgiu da necessidade de substituir ou minimizar o uso de diesel, por ele ser a principal fração da demanda de petróleo que comandava a economia do Brasil por meio dos caminhões, trens, ônibus tratores, equipamentos agrícolas etc (MENEZES et al., 2016).

Assim, a proposta coordenada pelo professor Expedito José de Sá Parente, da Universidade Federal do Ceará, denominada de Prodiésel (anos depois viria a ser “biodiesel”) visava à modificação de óleos vegetais através da reação de transesterificação, com metanol ou etanol, para fornecer um produto com poder calorífico e propriedades físico-químicas semelhantes ao do óleo diesel mineral (MENEZES et al., 2016).

O uso desse biocombustível, portanto, implicaria na solução de problemas relacionados ao preço, bem como, minimizar os impactos ambientais causados pelo petróleo, haja vista que a emissão de enxofre é ausente com a utilização do biodiesel e, além disso, a emissão de dióxido de carbono é muito baixa (AZEEM et al., 2016; ALI et al., 2016).

Tradicionalmente, o biodiesel é obtido ao reagir ésteres (triacilglicerídeos de diferentes origens, animal ou vegetal) com um álcool normalmente de cadeia curta (metanol ou etanol) e um catalisador, gerando assim uma mistura de monoésteres de ácidos graxos (biodiesel) e glicerol como coproduto (SUAREZ et al., 2007), tal como mostra a Figura 1.

Figura 1 – Transesterificação de óleos e gorduras, vegetais e animais para produção de biodiesel e formação de glicerol como coproduto.



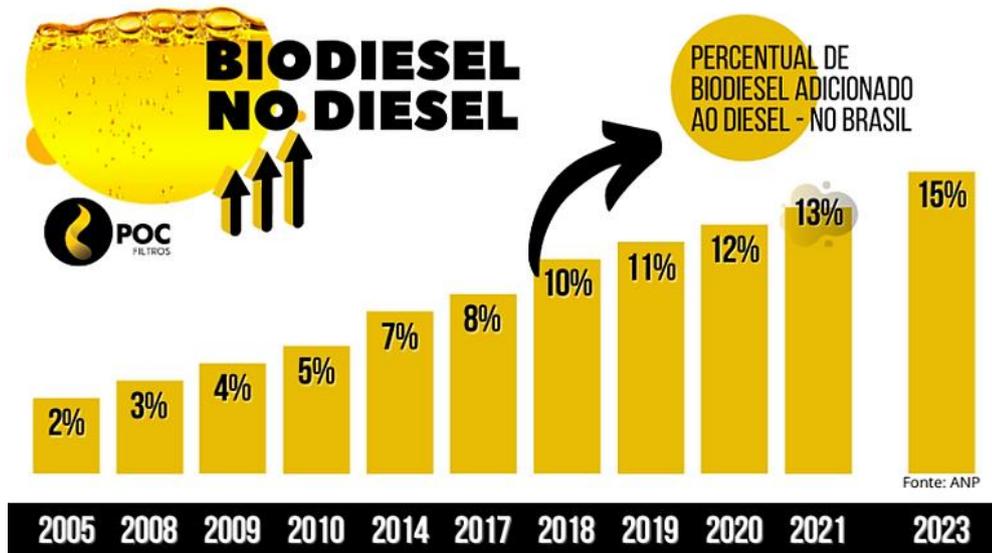
Fonte: autora, 2020.

Pode-se observar através da Figura 1 que, para cada 3 mols de monoésteres de ácidos graxos formados, é gerado 1 mol de glicerol, o que equivale à um percentual de 10% em volume desse coproduto na produção de biodiesel, isto é, a cada 100 m³ de biodiesel produzido são gerados 10 m³ de glicerol (NANDA et al., 2016).

Com as metas alcançadas pelo Biodiesel – fruto da construção conjunta entre governos, academia e indústria – desencadearam-se o desenvolvimento socioeconômico e as motivações sustentáveis originadas da cadeia de biodiesel¹, estimulando fortemente a comercialização desse biocombustível. Em 13 de janeiro de 2005 foi promulgada a Lei n° 11.097, marco legal para condições de comercialização do biodiesel, a qual tornava obrigatória a adição de um percentual mínimo de 5% de biodiesel ao óleo diesel utilizado no país, com o aumento gradual desse percentual de adição (ANP, 2019), conforme mostra a Figura 2.

¹Segundo MENEZES et al, 2016, evitaram-se, de 2005 a março de 2016, a emissão de cerca de 41 milhões de toneladas de CO₂, o equivalente ao plantio de 300 milhões de árvores. Estima-se que a cadeia de valor do

Figura 2 – Evolução do percentual de teor de biodiesel presente no diesel fóssil no Brasil.

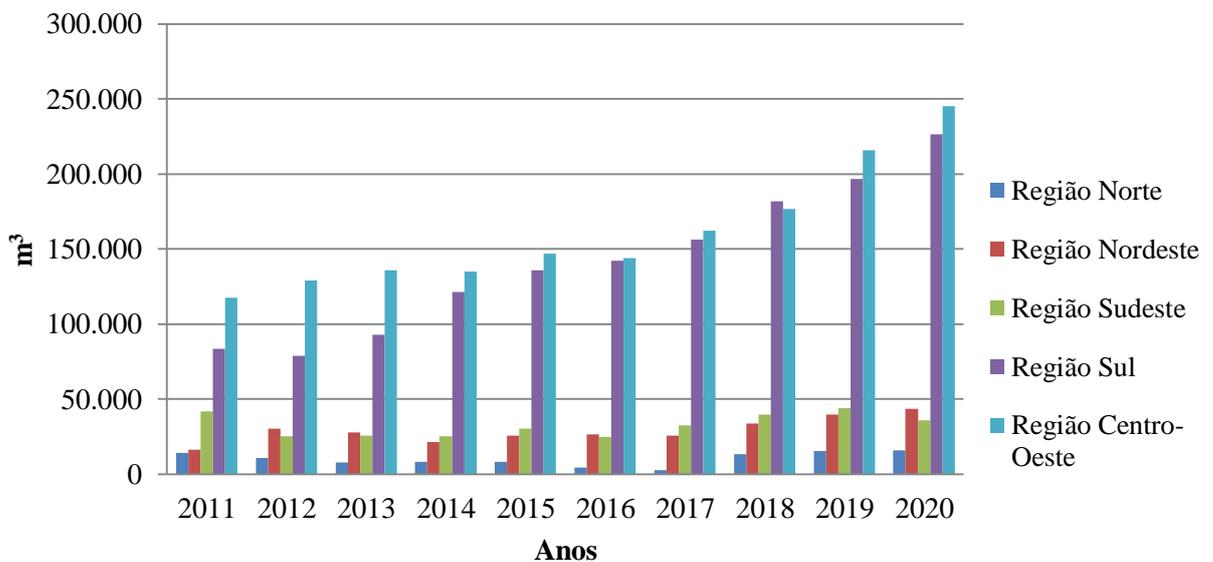


Fonte: pocfiltros.com.br

Diante da crescente demanda por biodiesel e com a iminente implementação do B15 (15% de biodiesel ao óleo diesel), a saturação do mercado do glicerol é uma realidade que preocupa empresários e ambientalistas em todo o mundo.

A Figura 3 retrata o volume de glicerol que vem sendo gerado nos últimos anos através das diferentes regiões do país, segundo dados da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP).

Figura 3 – Glicerol gerado na produção de biodiesel (B100), segundo grandes regiões (de 2011-2021).



Fonte: adaptada do documento – anuário estatístico 2021 (ANP, 2021).

De acordo com a Figura 3, podemos inferir que a região centro-oeste, a qual está representada pela barra azul predomina como maior produtora de biodiesel no Brasil, mas a maior geração de glicerina em 2018 foi obtida na Região Sul (40,7% do total), seguida das regiões Centro-Oeste (39,7%), Sudeste (9%), Nordeste (7,7%) e Norte (2,9%). Esses valores remetem a um dos objetivos do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), que é a inclusão social e o desenvolvimento regional (ANP, 2021).

Portanto, destinar adequadamente os efluentes sólidos e líquidos gerados da cadeia produtiva implica em consolidar alguns pressupostos do programa de introdução do biodiesel à matriz energética, e, nessa perspectiva, os próximos itens desta seção serão voltados à breve descrição, aplicação e discussão das principais alternativas do glicerol oriundo da rota de biodiesel como substância química base de projetos de biorrefinaria.

3.2 Glicerol

3.2.1 Considerações gerais

O glicerol foi sintetizado pela primeira vez por Carl W. Scheele, em 1779, por meio da mistura de óxido de chumbo e azeite de oliva sob aquecimento, cujo produto obtido apresentava expressiva viscosidade e doçura, sendo assim designado na época como “o princípio doce das gorduras” (MOTA et al., 2009; BEATRIZ et al., 2011). Nesse período, essa matéria-prima não teve grande importância, devido suas poucas áreas de aplicação e, só em 1866, ganhou espaço na indústria, com a massiva produção de explosivos (nitroglicerina) e algumas resinas (PAGLIARO et al., 2007; SANTANA et al., 2016).

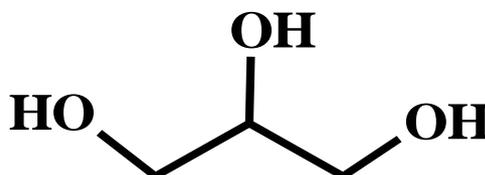
Esta substância é classificada como um tri-álcool, com fórmula molecular igual à $C_3H_8O_3$ e de nomenclatura oficial de 1,2,3-propanotriol (IUPAC), e sob condições normais de temperatura e pressão, o glicerol é um líquido incolor, viscoso, inodoro e adocicado (PEITER et al., 2016). A Tabela 1 retrata algumas de suas principais propriedades físico-químicas.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do glicerol.

Fórmula molecular	C ₃ H ₈ O ₃
Densidade	1,26 g cm ⁻³
Massa molecular	92,09 g mol ⁻¹
Viscosidade	1,4 x 10 ³ mm ² /s
Ponto de fusão	18,2°C
Ponto de ebulição	290°C
Ponto de fulgor	160°C

Fonte: Adaptada de Lide, 2006.

O glicerol apresenta em sua estrutura três grupos hidroxilas (Figura 4), as quais são responsáveis por muitas de suas características, tais como, baixa volatilidade, baixa pressão de vapor e total miscibilidade em água (QUISPE et al., 2013).

Figura 4 – Estrutura molecular do glicerol.

Fonte: autora, 2020.

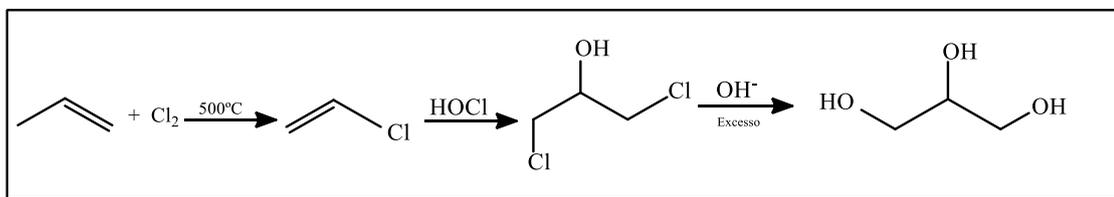
Este composto orgânico também é conhecido como glicerina, o qual é um termo condicionado ao grau de pureza da substância química, isto é, glicerina é utilizada para produtos comerciais que contenha no mínimo 95% de 1,2,3-propanotriol, a qual é amplamente utilizada nas indústrias farmacêuticas, alimentar, cosmética e química (HÁJEK E SKOPAL, 2010; MOTA et al., 2017).

3.2.2 Rotas de produção e comércio do glicerol

Tradicionalmente o glicerol é obtido através da cloração de propeno (insumo petroquímico) a altas temperaturas, cujos intermediários formados inicialmente (radicais livres) irão gerar o cloreto de alila, que, por sua vez, reage com o ácido hipocloroso (água

sanitária) adicionado, formando a haloidrina, e essa mistura com excesso de base, gera a glicerina, como mostra a Figura 5 (MOTA et al., 2009).

Figura 5 – Rota industrial da produção de glicerol.



Fonte: adaptada de Mota et al., 2009.

Essa planta, representada pela Figura 5, correspondia a 25,0% e 12,5% da capacidade produtora dos EUA e do mundo, respectivamente, contudo, estão sendo fechadas devido ao elevado volume de glicerol proveniente das biorrefinarias produtoras de biodiesel (MOTA et al., 2009; BEATRIZ et al., 2011). Este coproduto gerado no processo químico de transesterificação, geralmente contém impurezas, como resto de catalisador, água, sabões, sais e ésteres inerentes ao processo reacional realizado. Dessa maneira, esse glicerol bruto (GB) é normalmente utilizado como: supressor de poeira em minérios, na alimentação de animais, e principalmente em processos de incineração. Entretanto, a incineração de GB (processo de reaproveitamento mais utilizado) pode liberar grandes quantidades de acroleína, a qual possui potencial altamente tóxico (MONTEIRO et al., 2018; ANITHA et al., 2016; SANTANA et al., 2017).

Por outro lado, quando o glicerol bruto é submetido aos processos industriais de destilação, desodorização, clarificação e filtração, gera-se a glicerina “bidestilada”, que apresenta grau de pureza mínimo de 99%. A glicerina bidestilada possui valor de mercado aproximadamente três vezes maior que o do GB, uma vez que seu grau de pureza leva a usos mais nobres, como mostra a Tabela 2 (MENA-CERVANTES et al., 2020).

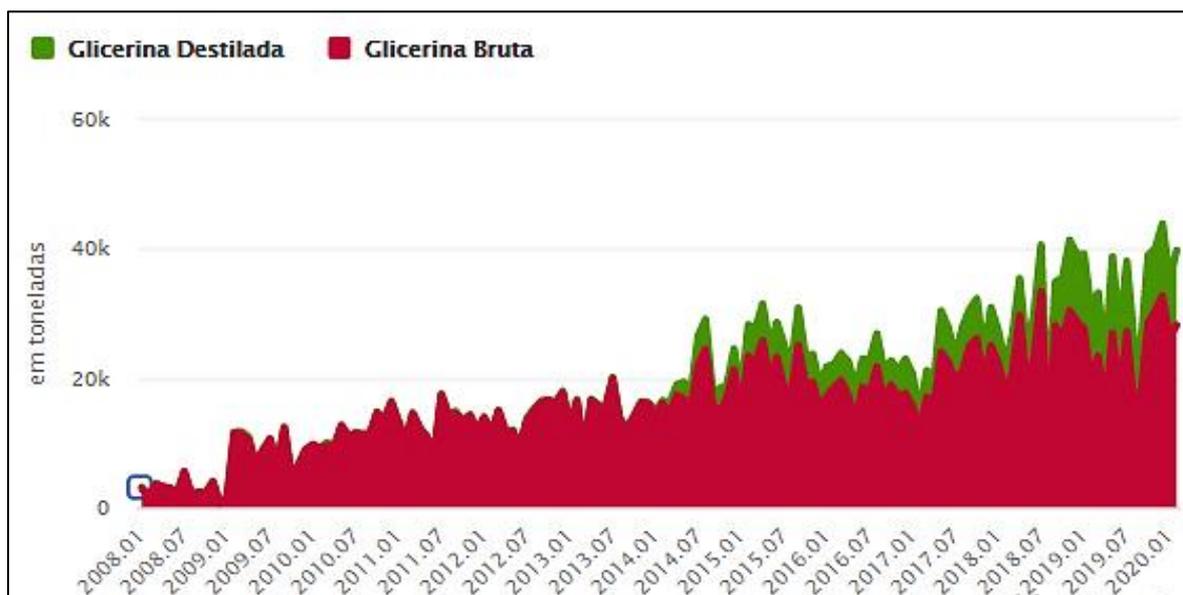
Tabela 2 – Teor de glicerol em diferentes graus de pureza.

Grau de glicerol	Conteúdo de glicerol (% m/m)	Aplicações
Bruto	20-80	Substância residual, substrato para produção de metano
Grau técnico	88-98	Matéria-prima para a indústria química
Farmacopeia dos Estados Unidos (USP)	≥ 99,5	Utilizado como aditivo na indústria cosmética e farmacêutica
Grau químico alimentar	≥ 99,7	Aditivo para a indústria alimentar

Fonte: adaptada de MENA-CERVANTES et al., 2020.

Salienta-se que, tanto a glicerina bruta (termo utilizado na referência) quanto à destilada é de grande aceitação no mercado externo, cujos dados de 2020 do Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços (MDIC), mostraram que os produtores nacionais exportaram cerca de 40 mil toneladas da glicerina destilada, conforme mostra a Figura 6. No que tange às cotações médias da glicerina, a tonelada da destilada custa cerca de US\$ 343,32 e a bruta, US\$ 138,62.

Figura 6 – Exportações brasileiras de glicerina.



Fonte: MDIC, 2020.

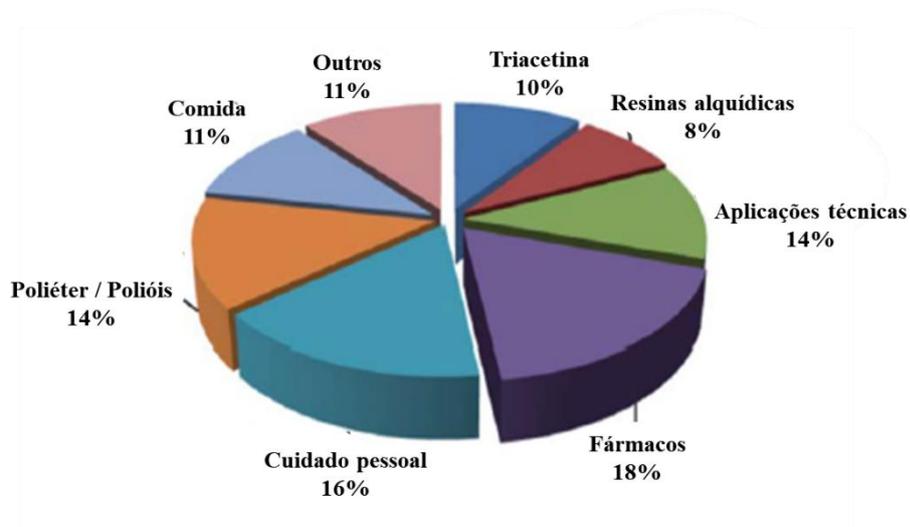
É importante frisar que a abordagem convencional de purificação do glicerol para alcançar pureza $\geq 99\%$, através de processos de destilação, filtração, tratamento químico, adsorção (usando carvão ativado), troca iônica (usando resina), extração, decantação e cristalização, é considerada inviável em termos econômicos, pois abrange várias etapas químicas (BAILEY e HUI, 2005; HÁJEK E SKOPAL, 2010). Além disso, são processos que se distanciam da realidade dos pequenos e médios produtores de biodiesel, e consequentemente pode refletir no crescimento regional (TAN et al., 2013; NOVI et al., 2018).

Diante desse contexto, considerando a necessidade de aumentar a presença do biodiesel na matriz energética e a sua progressiva adição ao diesel fóssil, necessita-se estudar novas aplicações para aumentar a valorização do glicerol, principalmente para a geração de novos materiais/e ou insumos para a indústria (MENEZES et al., 2016; PITT et al, 2019). A este respeito, os próximos itens serão destinados à discussão do glicerol como plataforma para desenvolvimento de insumos químicos de valor agregado.

3.2.3 Reações de transformação do glicerol

Conforme já mencionado, o glicerol puro trata-se de uma valiosa matéria prima para o mercado mundial, visto que, sua aplicação de forma direta tem amplo mercado, tal como mostra a Figura 8 (TAN et al., 2013).

Figura 7 – Aplicações tradicionais do glicerol puro.

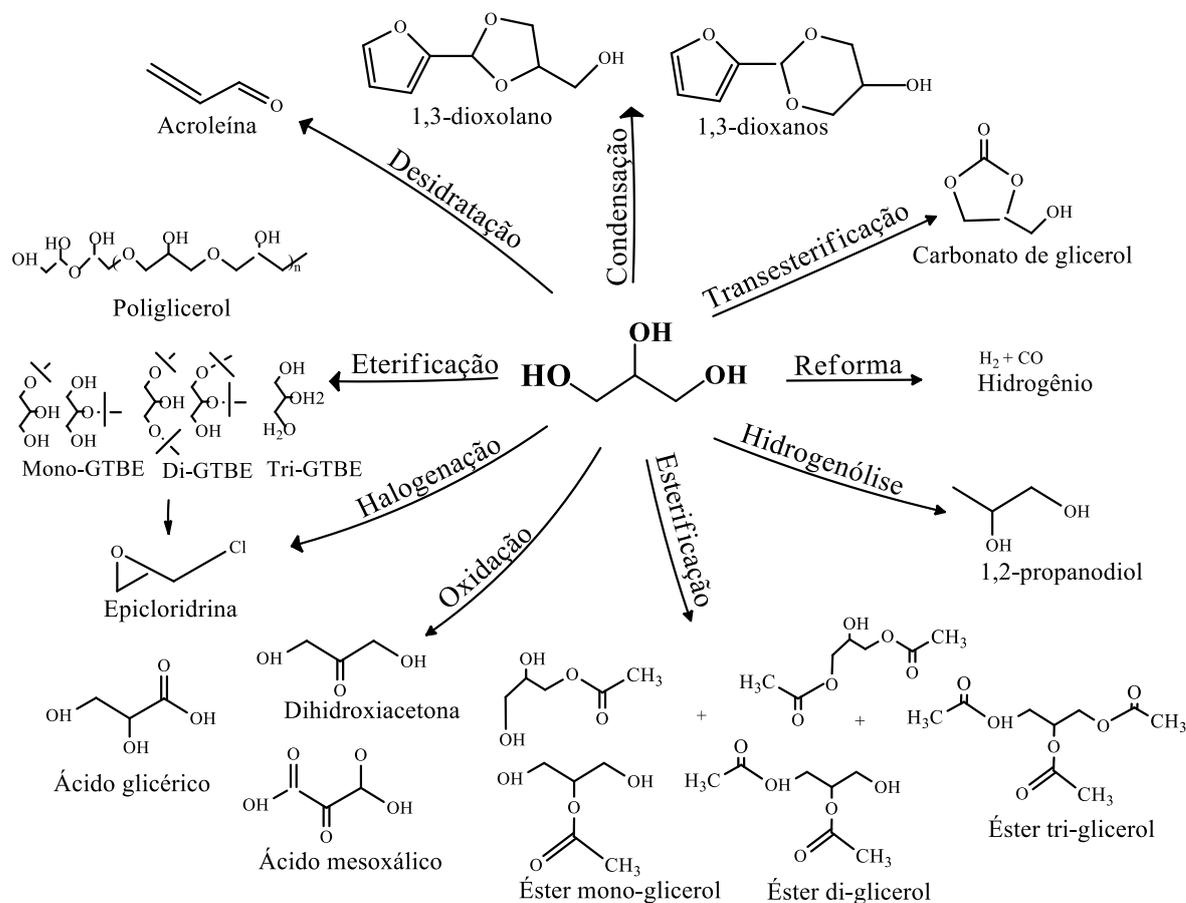


Fonte: adaptada de LIN et al., 2013.

Apesar das inúmeras aplicações do glicerol na forma direta (Figura 7), estas demandas não requerem grandes quantidades do mesmo, no entanto, devido a sua versatilidade de funcionalização, é possível obter produtos industriais de maior valor agregado, o qual implica em alternativas de cenários mais favoráveis à produção de biodiesel, a qual vem sendo a principal rota de obtenção de glicerol no Brasil (BEATRIZ et al., 2011).

Nos últimos anos as pesquisas acerca de glicerol como coproduto do biodiesel vêm aumentando de forma exponencial, em consequência de sua transformação em importantes blocos de construção (Figura 8).

Figuras 8 – Possíveis derivados do glicerol por diferentes rotas reacionais.

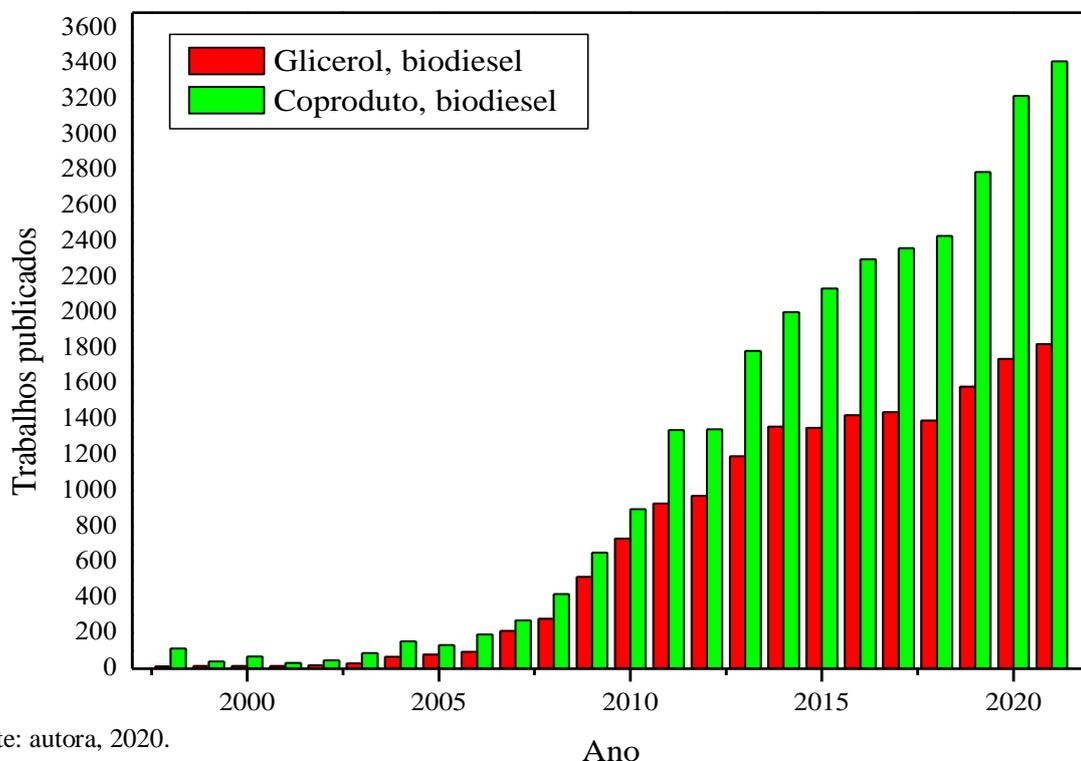


Fonte: adaptada de Kong et al., 2016.

Como podemos observar na Figura 8, a transformação química do glicerol por meio de diferentes rotas reacionais leva a geração de importantes insumos químicos da plataforma industrial, sendo convencionalmente destinada para a produção de *commodities* e especialidades. As *commodities* compreendem as substâncias: propeno, 1,2-propanodiol, epicloridrina, acroleína e ácido acrílico, os quais são utilizados para a fabricação de plásticos e outros produtos químicos, e são produzidos em larga escala a partir de fontes fósseis. No nicho de especialidades químicas, destacam-se os éteres, acetais/cetais, ésteres e carbonato de glicerina, comercializados como aditivos para combustíveis, antioxidantes, solventes, etc (MENEZES et al., 2016).

A versatilidade do glicerol é refletida nos diferentes trabalhos publicados na literatura científica, os quais podem ser exemplificados pela prospecção de artigos científicos dos últimos anos através de buscas no *Science Direct*, como mostra a Figura 9.

Figura 9 – Prospecção de trabalhos científicos referente ao glicerol realizada em setembro de 2021 no *Science Direct*, utilizando as palavras chaves “glicerol, biodiesel” e “coproduto, biodiesel”.



Fonte: autora, 2020.

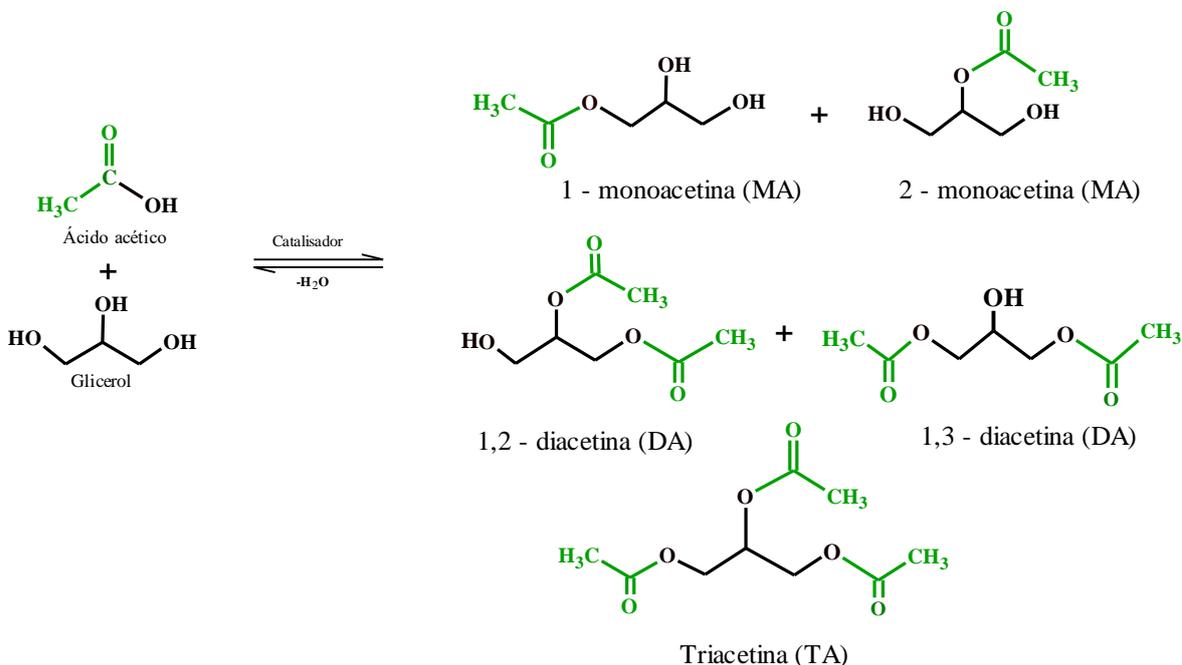
Com base na Figura 9, pode-se verificar o expressivo aumento de trabalhos voltados para o glicerol como coproduto, demonstrando que os pesquisadores vêm se dedicando ao estudo dessa matéria-prima ao longo dos anos.

Diante desse contexto, visando à funcionalização do glicerol para a obtenção de seus derivados acetilados, esta tese volta-se para a reação de esterificação ou acetilação de glicerol com ácido acético, a qual será delineada nos próximos itens.

3.2.3.1 Acetilação do glicerol

Diante do cenário apresentado, esterificar o glicerol com um ácido de cadeia curta (anidrido acético ou ácido acético) é uma rota de grande proeminência para o reaproveitamento do glicerol residual, uma vez que, através desse processo podem ser obtidos produtos químicos de grande valor comercial (ABHBASHLO et al., 2018). Essa reação química consiste na inserção do grupo funcional acetil ($\text{CH}_3\text{COO}-$), oriundo do ácido acético, no oxigênio da hidroxila do glicerol, produzindo ésteres mono, di e triacetilados de glicerol e água como subproduto (ZHOU et al, 2013), conforme ilustrado pela Figura 10.

Figura 10 – Reação de acetilação do glicerol com ácido acético gerando monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA).



Fonte: autora, 2020.

A Figura 10 mostra que a reação de acetilação do glicerol envolve reações consecutivas, em que são necessários 3 mol de ácido acético para reagir com 1 mol de GLI e obter-se MA, DA e TA, com a liberação de água como subproduto. É importante salientar que tais reações são reversíveis e que, portanto, são regidas pelo equilíbrio químico, ou seja, suas velocidades direta e inversa são influenciadas pela temperatura, razão molar, tipo de catalisador e carga (locais ativos disponíveis) e velocidade de agitação (ATKINS et al., 2006; ZHOU et al., 2013).

3.2.3.1.1 Acetinas

A monoacetina (MA) apresenta-se como um líquido higroscópico e denso, cuja aplicação, volta-se para uso como: agente gelatinizante, solvente para tintas e na fabricação de explosivos (MEIRELES e PEREIRA, 2013). De forma semelhante, a diacetina (DA) é um líquido higroscópico e é comercializada como lubrificante, amaciante e solvente (MOTA et al., 2009). Ademais, MA e DA são utilizadas nas indústrias alimentícia, farmacêutica e como blocos de construção em criogenia e de poliéster biodegradável (VELUTURLA et al., 2017).

A triacetina (TA), como visto anteriormente, representa 10% do mercado mundial de glicerol, sendo aplicada, principalmente, como aditivos para combustíveis, tais como, aditivo antidetonante para gasolina, diesel e biodiesel (MEIRELES e PEREIRA, 2013). Seu uso é difundido também na produção de filtros de cigarros, como plastificante de celulose (MOTA et al., 2009). Além disso, pode ser aplicada na indústria de cosméticos, como emulsificante, fixador de perfumes e anti-séptico, etc (REZAYAR e GHAZIASKAR, 2009; LIAO et al., 2009).

3.3 Sistemas catalíticos empregados para a obtenção de acetinas

A acetilação ocorre normalmente à temperatura ambiente, porém de forma lenta, e com seletividade limitada, sendo necessária a adição de calor e/ou catalisador no sistema, dessa forma, a catálise desempenha um papel fundamental na conversão rápida e eficiente do glicerol em produtos de valor agregado. Esta rota é conduzida tradicionalmente com catalisadores ácidos homogêneos, sendo os principais: ácido sulfúrico, ácido clorídrico e ácido para-toluenossulfônico (MEIRELES e PEREIRA, 2013; KHAYOO e HAMEED, 2011).

No entanto, o uso desses catalisadores não é tratado como opção viável, por ocasionar problemas ambientais e comprometer o sistema reacional, devido à geração de efluentes com alto grau de toxicidade e seu alto poder de corrosão para os reatores, respectivamente. Logo, a utilização de catalisadores convencionais pode tornar o processo menos sustentável e ineficiente economicamente (MELERO et al., 2007; FERREIRA et al., 2009).

Esses problemas têm sido contornados através do uso de outros catalisadores, como, resinas de troca iônica (RODRÍGUEZ E GAIGNEAUX, 2012; ZHOU et al. 2013) heteropoliácidos (VELUTURLA et al. 2017), e outros. Muitas dessas pesquisas são realizadas sob sistema de refluxo e em diferentes condições reacionais, as quais serão apresentadas a seguir.

Melero et al., 2007, avaliaram o comportamento catalítico de materiais mesoestruturados funcionalizados (HSO_3) a 125 °C, com razão molar de ácido:glicerol igual a 9:1 e após 4 h de reação, obtiveram conversão de 90% de glicerol, com seletividade de 15% (MA), 45% (DA) e 35% (TA). Segundo os autores, a atividade catalítica desse material é

originada da força ácida do ácido sulfônico e se destaca quando comparada aos catalisadores ácidos convencionais, como H_2SO_4 e Amberlyst 15.

Zhou et al., 2013, investigaram a esterificação do glicerol com resinas de troca iônica ácidas fortes (Amberlyst 15) a 110 °C, com razão molar de ácido acético:glicerol igual a 9:1 e tempo de reação de 5 h. Os autores obtiveram conversão de glicerol de 91% e seletividade de 9% (MA) e 47% (MA) e 45% (TA).

Rastegari et al., 2015, avaliaram os catalisadores ácidos para-toluenosulfônico (p-TSA), Amberlyst-15 e Amberlyst-36 sob condições de temperatura igual a 100 °C, razão molar de ácido:glicerol de 7:1 e transcorridas 6 h de reação, o catalisador Amberlyst-36 apresentou desempenho satisfatório, com até 100% de conversão de glicerol e seletividade de 43% (MA), 44% (DA) e 13% (TA).

Veluturla et al., 2017, investigaram o catalisador heteropoliácido suportado por cério (CsPWA) na reação de acetilação do glicerol a 110 °C, com a razão molar de ácido:glicerol de 7:1 e após 2h, obtiveram 98% de conversão e seletividade de 25% (MA), 58% (DA) e 15% (TA).

Já Goscianska et al., 2019, estudaram catalisadores à base de carbonos mesoporosos no processo catalítico de acetilação de glicerol a 110 °C, razão molar de ácido:glicerol igual a 9:1 e 6 h de reação e o resultado foi de conversão igual a 95% e seletividade de 58% (MA), 20% (DA) e 22% (TA).

Em resumo, a Tabela 3 reporta os principais trabalhos referentes às condições ótimas para a realização da acetilação do glicerol, bem como, a técnica analítica adotada na caracterização das acetinas.

Tabela 3 – Melhores condições reacionais para a esterificação de glicerol com ácido acético empregando diferentes sistemas catalíticos.

Sistema catalítico	T (°C)	Razão molar AA:GLI	Conversão de GLI (%)	Seletividade MA/DA/TA (%)	t (h)	Técnica analítica	Referências
Materiais mesoestruturados funcionalizados (SO ₃ H)	125	9:1	9	15/45/35	4	GC-FID	Melero et al., 2007
Amberlyst-36	105	8:1	96	70/5/0	0,5	GC-FID	Rodríguez e Gaigneaux, 2012
Ácido sulfônico funcionalizado amorfo (SAS)	105	3:1	100	49/51/0	0,5	GC/MS	Testa et al., 2013
Amberlyst-15	110	9:1	91	9/47/45	5	GC-FID	Zhou et al., 2013
Wpy-20	110	6:1	98	10/25/70	10	GC-FID	Ghoreishi et al., 2013
Sb ₂ O ₅	120	6:1	97	49/45/6	6	GC-FID	Hu et al., 2015
Amberlyst-36	100	7:1	100	43/44/13	6	GC-FID	Rastegari et al., 2015
Heteropoliácido suportado por cério (CsPWA)	110	9:1	98	25/58/15	2	GC-FID	Veluturla et al., 2017
Carbonos mesoporosos (SO ₃ H)	110	9:1	95	58/20/22	6	GC-FID	Goscianska et al., 2019

Fonte: autora, 2020.

Com o levantamento dos principais trabalhos referentes ao uso de diferentes catalisadores na rota de interesse do presente trabalho, resumido na Tabela 3, pode-se inferir que os resultados mais expressivos são obtidos quando se emprega o catalisador Amberlyst. No entanto, esses tipos de resinas de troca iônica podem apresentar inconvenientes relativos à baixa estabilidade térmica, fraca capacidade de regeneração e baixa área superficial específica (WANG e GUIN, 2000; MALLICK e PARDIA, 2007). Ademais, grande parte dos estudos empregam condições que podem ser consideradas severas, tais como, razão molar de ácido acético:glicerol de 7:1, 6 h de reação a 110 °C, para o exemplo do catalisador Amberlyst.

Diante disso, é importante projetar sistemas catalíticos que mostrem-se mais promissores que os atuais, com o intuito de diminuir os problemas decorrentes do uso de tais catalisadores, e nessa perspectiva os sistemas catalíticos à base de Sn(IV) podem ser uma interessante possibilidade, cujos próximos itens são dedicados à descrição dos mesmos.

3.3.1 Catalisadores organometálicos de Sn(IV)

O estanho (Sn) é um elemento químico que faz parte do grupo 14 (IVA) da tabela periódica, o qual é extraído de jazidas da cassiterita (SnO_2) através de processos de redução (remoção do oxigênio) com carvão ou coque em fornos de fundição. Seu uso é vastamente fomentado na produção de embalagens de alimentos, bebidas, cosméticos, combustíveis, óleo, tintas etc. Na forma de ligas com outros metais, tais como com chumbo e cobre, é aplicado na fabricação de soldas e rolamentos, ligados à prata, em peças de automóveis, amálgamas dentárias e produzem metais aeroespaciais, quando unido ao alumínio e titânio (BORGES et al., 2008; TERENCE, 2019).

As investigações com compostos à base de estanho têm crescido exponencialmente devido às suas importantes aplicações tecnológicas como mostra a Tabela 4.

Tabela 4 – Principais usos dos organocompostos de estanho.

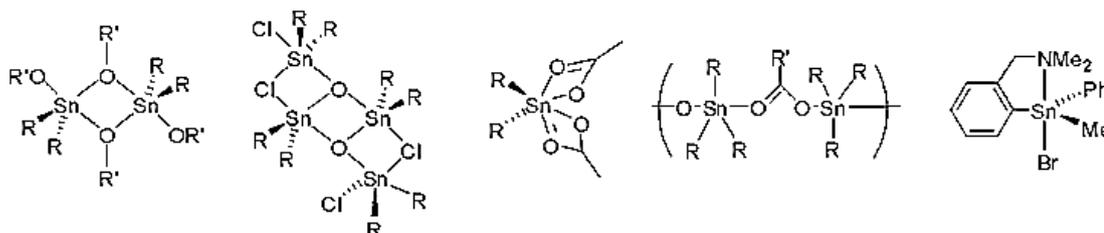
Aplicação industrial	Função	Composto
Estabilizadores de PVC	Estabilizador contra decomposição por calor ou luz	Me_2SnX_2 , Bu_2SnX_2 , Oct_2SnX_2 ou MeSnX_3 , Bu_3SnX e Oct_2SnX_3
Tintas Anti-Incrustantes	Biocida	Bu_3SnX e Ph_3SnX ,
Agroquímicos	Fungicida, inseticida, miticida	Bu_3SnX , Ph_3SnX , Cy_3SnX
Preservação de madeira	Inseticida, fungicida	Bu_3SnX
Tratamento do vidro	Precursor de filmes de óxido de Sn IV em vidros	Me_2SnX_2 , Me_3SnX e Bu_3SnX
Proteção de materiais (pedras, couro e papel)	Fungicida, algicida, bactericida	Bu_3SnX
Impregnação de tecidos	Inseticida	Ph_3SnX
Criação de aves	Vermífugo	Bu_2SnX_2

Nota: Me = metil, Bu = butil, Ph = fenil, Cy = ciclohexil, Oct = octil, X = halogênio.

Fonte: adaptada de Borges, 2008.

Estudos com derivados organometálicos de Sn(IV) são mais difundidos que os de Sn(II) pelo fato deste último apresentar sensibilidade ao ser exposto ao ar e umidade e isto ocorre devido à facilidade dos compostos de Sn(II) se oxidar frente à ação do oxigênio ou hidrolisar na presença de umidade (FILGUEIRAS, 1998). O estanho é um metal que apresenta 5 orbitais d vacantes, possibilitando a expansão de sua coordenação. Esta hipervalência pode resultar em dímeros, oligômeros ou polímeros (MENEGHETTI, M. R.; MENEGHETTI, S.M.P, 2015), conforme mostra a Figura 11.

Figura 11 – Diferentes estruturas químicas representando as propriedades hipervalentes dos compostos de Sn(IV).

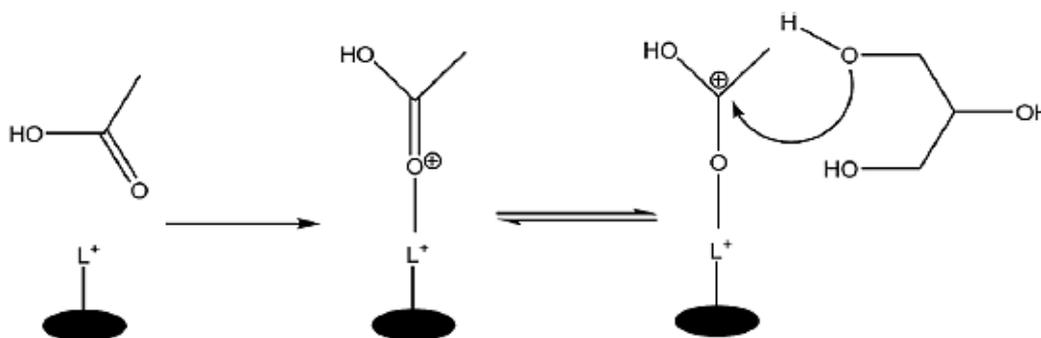


Fonte: Meneghetti, M.R e Meneghetti, S.M.P, 2015.

Além de possuir propriedades biocidas e ser largamente aplicados para este fim, o compostos de Sn(IV) tem a característica de expandir sua esfera de coordenação e assim poder interagir com mais espécies e dessa forma, são também vastamente utilizados como precursores catalíticos em diferentes rotas industriais, tais como, poliesterificação, transesterificação e policondensação para obtenção de polímeros e intermediários (MENEGETTI, S.M.P. et al., 2011).

O mecanismo de acetilação do glicerol envolvendo complexos organometálicos (compostos de ligação metal-carbono) em geral atua sob sistemas ácidos de Lewis, onde inicialmente ocorre a interação entre o oxigênio da carbonila do ácido acético com o sítio ácido de Lewis (L^+) do catalisador, ativando assim o grupo carbonila da molécula de ácido acético com a geração de um carbocátion, que facilita para o ataque nucleofílico do oxigênio da hidroxila presente no glicerol ao carbocátion (Figura 12), de forma a produzir intermediários tetraédricos que levarão à formação do éster, com eliminação de água como subproduto (KONG et al., 2016).

Figura 12 – Mecanismo de acetilação do glicerol com catalisador ácido de Lewis.



Nota: L^+ = sítio ácido do catalisador de Lewis

Fonte: KONG et al., 2016.

Diante desse contexto, o Grupo de Catálise e Reatividade (GCaR) coordenado pelos professores Simoni Plentz Meneghetti e Mario Roberto Meneghetti, da Universidade Federal de Alagoas, tem investigado o desempenho dos compostos de Sn(IV), tanto homogêneo quanto heterogêneo, em distintas reações químicas aplicadas à biomassa, como pode ser visto nos trabalhos a seguir.

A conversão da celulose em produtos de valor agregado foi investigada por SANTOS et al., 2013, aplicando os complexos organoestânicos: ácido butilestânico (BuSn(OH)), di-*n*-butiloxanoestanho (Bu₂SnO) e dilaurato de dibutilestanho (Bu₂SnLau₂), e estes exibiram um consumo de celulose igual a 22,5%, 25,4% e 24,1%, respectivamente, o qual foi superior à reação não catalisada com consumo igual 19,6% em 8 h de reação a 190 °C. A caracterização dos compostos obtidos foi feita por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de índice de refração (HPLC – RID, do inglês, *High performance liquid chromatography – Refractive Index Detectors*).

A obtenção de éster metílico de ácidos graxos de óleo de soja por esterificação e transesterificação com metanol foi investigada por DA SILVA et al., 2015, com a aplicação do dimetildiundecenoato de estanho, dibutildiundecenoato de estanho e tributilundecenoato de estanho, e exibiram rendimentos iguais a 71%, 67% e 59%, respectivamente. Esses catalisadores demonstraram conversões superiores ao catalisador convencionalmente utilizado, referente ao H₂SO₄, o qual apresentou 51% de conversão em 1 h de reação a 160 °C. Neste trabalho empregou-se a técnica de cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (GC – FID, do inglês, *Gas Chromatography – Flame Ionization Detector*) para as análises dos compostos obtidos.

NUNES et al., 2017, relataram um estudo mecanístico para diferentes catalisadores organoestânicos na metanólise do óleo de soja e na esterificação do ácido oleico, e através de análises obtidas por Espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN), e apoiadas por estudos computacionais, confirmaram que os catalisadores estudados atuavam como ácidos de Lewis líquidos, com ordem de atividade estabelecida em BuSnCl₃ > Bu₂SnCl₂.

Na gliceroquímica², DA SILVA et al., 2019, avaliaram os catalisadores de dicloreto de dibutilestanho (Bu₂SnCl₂), tricloreto de monobutilestanho (BuSnCl₃), dilaurato de dibutilestanho (Bu₂SnLau₂), ácido butilestânico (BuSn(OH)) e di-*n*-butiloxanoestanho

²Campo responsável pela transformação química do glicerol (UMPIERRE, et al., 2013)

(Bu_2SnO) na esterificação de ácido oleico e glicerol e os resultados demonstraram que após 30 min de reação, o BuSnCl_3 apresentou desempenho mais expressivo que os demais, cuja ordem de reatividade para a reação a $180\text{ }^\circ\text{C}$ e razão molar AO/GLI/CAT = 1/1/0,1 foi igual a $\text{BuSnCl}_3 > \text{Bu}_2\text{SnLau}_2 > \text{Bu}_2\text{SnCl}_2 > \text{Bu}_2\text{SnO} > \text{BuSn(OH)}$, e para a determinação dos compostos produzidos (mono, di e triacilgliceróis), utilizou-se HPLC-IR.

Conforme observado, tais catalisadores apresentam histórico de desempenho catalítico satisfatório, e nota-se também, a presença de técnica analítica para a caracterização dos produtos obtidos, mostrando a importância dessas no sistema empregado. Desse modo, seguindo para o outro objetivo principal desta tese, os próximos itens serão destinados aos principais trabalhos publicados no tocante a métodos analíticos desenvolvidos e validados para a determinação de acetinas.

3.4 Métodos analíticos para a determinação de acetinas

De forma geral, a quantificação das acetinas é geralmente conduzida por GC, este fato pode ser justificado pelo seu alto poder de resolução, sensibilidade e quantidades mínimas de amostra necessárias para análise (COLLINS, 2006). Assim, uma ampla gama de trabalhos reportados na literatura científica faz uso dessa técnica, conforme mostram os relatos subsequentes.

Para a determinação de monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA) via GC-FID, MELERO et al., 2007 e RODRÍGUEZ e GAIGNEAUX, 2012, utilizaram uma coluna de baixa polaridade, composta de 5% fenil e 95% dimetilpolisiloxano, a saber: **Cp-Sil 8CB** (30 m x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 μm de espessura do filme).

Analogamente, ZHOU et al., 2013, aplicaram uma coluna apolar (**DB-1**, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), composta de 100% dimetilpolisiloxano, com a seguinte rampa de aquecimento, início em $50\text{ }^\circ\text{C}$ e com taxa de $15\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $300\text{ }^\circ\text{C}$.

GHOREISHI et al., 2013 e RASTEGARI et al., 2015, também utilizaram colunas de fases estacionárias não polares (5% fenil e 95% dimetilpolisiloxano), referentes à **HP-5**, (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) e **HP-5** (30 m x 0,32 mm x 0,25 μm), respectivamente. No primeiro trabalho a rampa de aquecimento teve início em $70\text{ }^\circ\text{C}$ (permaneceu por 2 min) e em seguida, com taxa de $45\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, foi até $150\text{ }^\circ\text{C}$ (permaneceu por 1,5 min), as temperaturas do injetor e detector utilizadas foram iguais a $240\text{ }^\circ\text{C}$ e $260\text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. RASTEGARI et al., 2015, fizeram uso das seguintes condições de análise: modo de injeção, split (1:30),

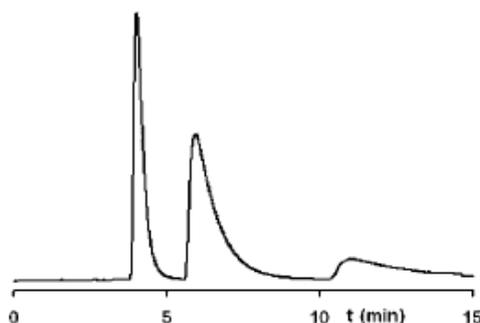
rampa de temperatura programada com início em 80 °C, aqueceu até 90°C, com taxa de 3 °C min⁻¹, e em seguida, com taxa de 30 °C min⁻¹, aumentou até 280 °C, onde permaneceu por 5 min, as temperaturas do injetor e detector foram de 280°C e 300°C, respectivamente. De modo semelhante, HU et al., 2015, determinaram os compostos com a coluna **HP-5** (30 m x 0,32 mm x 0.25 µm) utilizando GC/MS para identificar, e GC-FID para quantificar as acetinas.

Já VELUTURLA et al., 2017, usaram apenas a técnica de GC-FID com uma coluna de alta polaridade (**Stabil Wax**), composta de 100% de polietilenoglicol e determinaram MA, DA e TA. Semelhantemente, GOSCIANSKA e MALAIKA, 2019, utilizaram GC-FID e coluna de alta polaridade (100% de PEG), referente à **InertCap Wax** (30 m x 0,51 mm x 1 µm), com uma rampa de aquecimento operada em 150°C–210°C para quantificar os acetatos de glicerol.

Em relação ao desenvolvimento e validação de método analítico para identificar e quantificar as acetinas, como foco de estudo, têm-se poucos relatos até o momento de escrita desta tese, os quais são apresentados na sequência.

O principal trabalho, que é largamente citado na literatura, trata-se de NEBEL et al., 2008, o qual utiliza HPLC, GC/MS e GC-FID, como técnicas para a determinação dos analitos, em especial, com enfoque na separação dos isômeros dos compostos mono e diacetilados, além de RMN. Inicialmente, utilizaram um HPLC-UV (cromatografia líquida com detector ultravioleta - 215 nm) e coluna apolar (NUCLEOSIL®100 C18, 4 mm x 150 mm), com fase móvel de *n*-heptano/2-propanol 90:10 e fluxo de 1 mL min⁻¹. A eluição dos compostos resultou num tempo total de corrida de 15 min, e procedeu sequencialmente com MA, DA e TA, no entanto, não houve a detecção do glicerol, conforme mostra o cromatograma representado pela Figura 13.

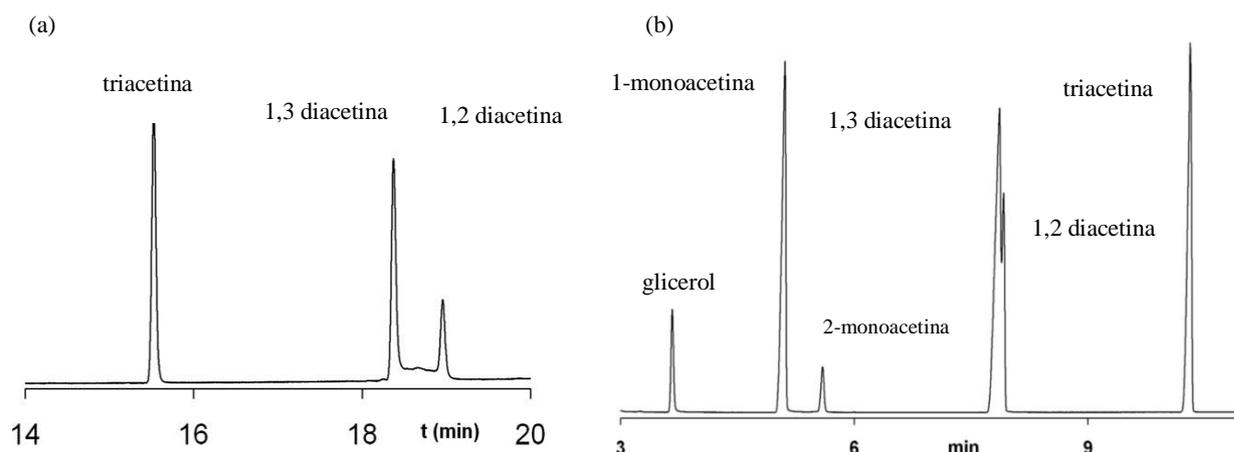
Figura 13 – Análise de acetinas por HPLC por Nebel et al., 2008.



Fonte: NEBEL et al., 2008.

Na investigação por GC, as separações foram realizadas em um sistema com amostrador automático HP 7683 e detector MS e FID, sob as seguintes condições: a) coluna **INNOWAX HP-I** (100% polietilenoglicol) (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 μm); fluxo de gás de arraste (He) de 0,5 mL min^{-1} ; temperaturas do injetor e detector de 210 $^{\circ}\text{C}$ e 250 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente; a rampa de aquecimento iniciou-se em 125 $^{\circ}\text{C}$ (5 min), com taxa de 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 200 $^{\circ}\text{C}$, totalizando em 20 min de análise; e b) coluna **ZB-5HT INFERNO** (5% fenil e 95% dimetilpolisiloxano) (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 μm); fluxo de gás de arraste (He) de 0,7 mL min^{-1} , temperatura do injetor e detector a 220 $^{\circ}\text{C}$ e 250 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente; rampa de aquecimento com início em 125 $^{\circ}\text{C}$ (permanece por 5 min), com taxa de 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ sobe para 200 $^{\circ}\text{C}$ (permanece por 10 min). Os cromatogramas deste artigo encontram-se demonstrados na Figura 14a-b, abaixo.

Figura 14 – Análise de acetinas por CG: (a) coluna INNOWAX HP-I e (b) coluna ZB-5HT INFERNO.



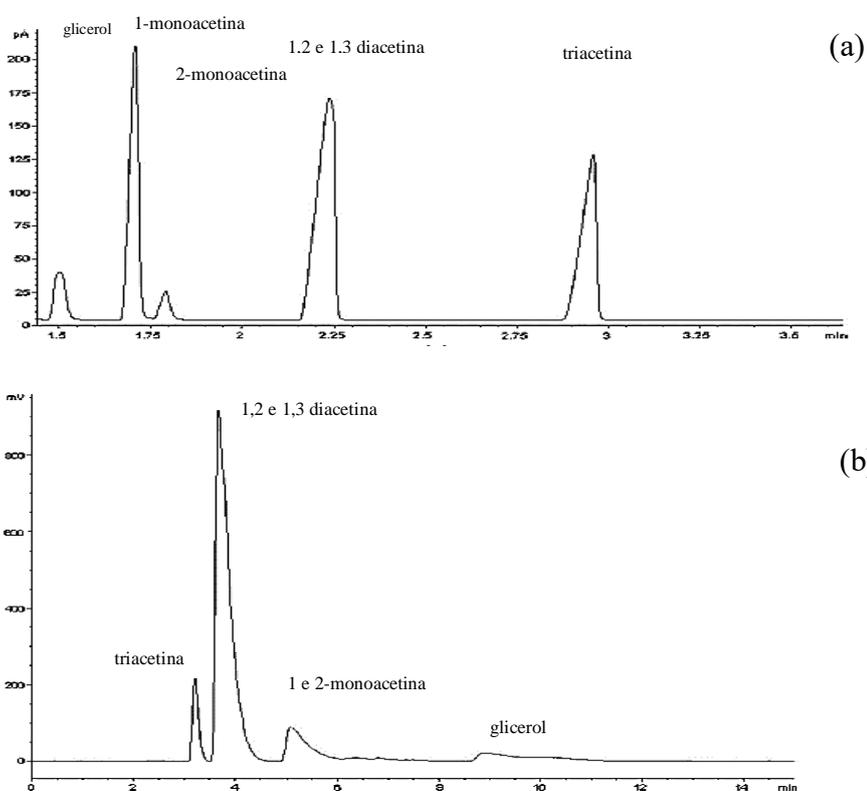
Fonte: adaptada de NEBEL et al., 2008.

Conforme mostra a Figura 14a, não se obtém a eluição de GLI e MA, o qual é conseguido com a aplicação do segundo método (Figura 14b), cuja eluição total resulta em aproximadamente 13 minutos de análise.

Nessa mesma linha de pesquisa, CASAS et al., 2012, fizeram uso de múltiplas técnicas (RMN de ^{31}P e ^{13}C , GC-FID e HPLC-ELSD) para a determinação das acetinas, onde foi utilizado um GC da Hewlett Packard modelo 6890 com detector FID, sob as seguintes condições: coluna **DB5-HT** (15 m x 0,32 mm i.d. x 0,10 μm); injeção por split (1:100); temperatura do injetor e detector de 370 $^{\circ}\text{C}$ e 380 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente; temperatura do forno e pressão da coluna fixada em 120 $^{\circ}\text{C}$ e 3,5 psi (24,13 kPa); fluxo e velocidade média de He de

0,9 mL min⁻¹ e 22 cm s⁻¹, respectivamente. As análises por HPLC foram conduzidas com um equipamento da Agilent série 1200, com detector de espalhamento de luz evaporativa (ELSD), utilizando a coluna **Zorbax ODS** (250 mm de comprimento, 4,6 mm i.d. e tamanho de partícula de 5 µm), empregando temperatura de 30 °C; fase móvel de mistura de n-heptano (95% v/v) e 2-propanol (5% v/v), com taxa de fluxo de 1,0 mL min⁻¹; temperatura do detector igual a 28 °C; pressão de 29 psi (200 kPa); e volume de injeção de amostra igual a 10 µL. Os resultados obtidos dessa referência estão demonstrados na Figura 15a-b.

Figura 15 – Análise de acetinas: (a) GC e (b) HPLC, por CASAS et al., 2012.



Fonte: adaptada de CASAS et al., 2012.

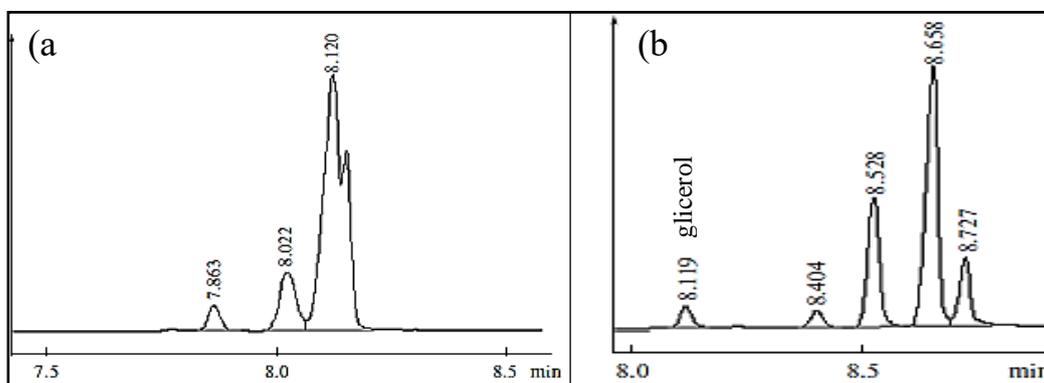
Inicialmente, pode-se observar que por GC (Figura 15a) ocorrem separações mais eficientes em menor tempo de análise, em comparação ao HPLC (Figura 15b). No entanto, segundo o autor, o uso do detector aplicado ao HPLC (ELSD) permitiu facilmente a detecção de glicerol, diferentemente de Nebel et al., 2008, que não conseguiu identificar o glicerol por HPLC-UV.

De forma similar, SUSTERE et al., 2014, aplicaram estudos de RMN (¹H e ¹³C) e GC em amostras de padrão comercial de diacetina e nas análises por GC, mas nesse caso, empregou-se a derivatização da diacetina comercial, que consistiu na pesagem de 51,4 mg do

padrão em um frasco de 10 mL, o qual foi preenchido até a marca com piridina. Desta solução retirou-se uma alíquota de 100 μL para um frasco de 10 mL, e adicionou-se 80 μL de padrão interno de nº1 (1,2,4- butanotriol) mais 200 μL de solução estoque de padrão interno de nº 2 (1,2,3- tricaproilglicerol) e adicionou-se 100 μL de N-metil-N trimetilsiltrifluoroacetamida (MSTFA), em seguida, o frasco foi lacrado e agitado fortemente, permanecendo em repouso por 15 min. Logo após, adicionou-se 8 mL de heptano e após esse processo foi retirado 1 μL da amostra e levada ao GC (Agilent 7890A) com detector FID.

As condições de análise foram: (a) **DB1-HT** (15 m x 0,32 mm d.i. x 0,1 μm de espessura do filme); (b) **DB5-HT** (15 m x 0,32 mm d.i. x 0,1 μm), e em ambas colunas utilizou-se a seguinte rampa de programação: F_{He} de 5,14 mL min^{-1} , temperaturas do injetor e detector de 370 $^{\circ}\text{C}$ e 390 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente; a rampa de aquecimento iniciou em 50 $^{\circ}\text{C}$ (permaneceu por 5 min), com taxa de 15 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ aumentou para 180 $^{\circ}\text{C}$, com taxa de 7 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ aumentou para 230 $^{\circ}\text{C}$, e por fim foi até 370 $^{\circ}\text{C}$ com taxa de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, permanecendo por 5 min. Os resultados obtidos pelos autores seguem representados pela Figura 16 (a-b), a seguir.

Figura 16 – Análise de acetinas: (a) coluna DB1 HT e (b) DB5 HT por SUSTERE et al., 2014.



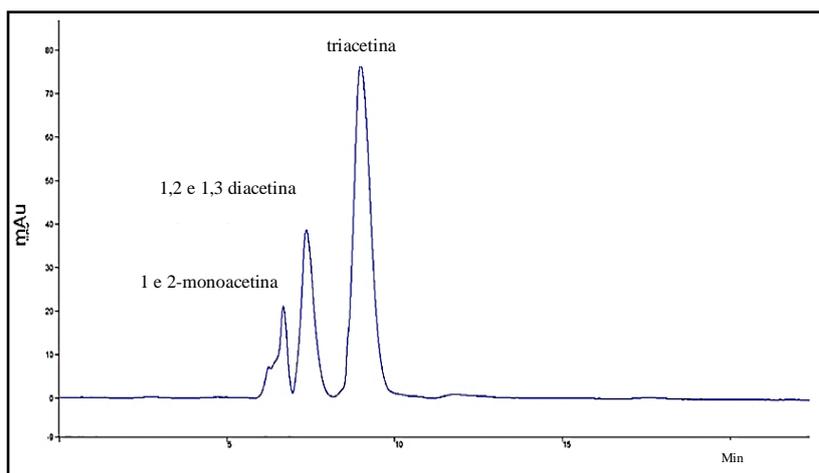
Fonte: adaptada de SUSTERE et al., 2014.

Conforme mostra a Figura 16, o uso da coluna capilar **DB5-HT** (5% Fenil, 95% dimetilpolisiloxano) apresentou melhor separação dos compostos em comparação com a **DB1-HT** (100% dimetilpolisiloxano), com diferentes tempos de análises, o qual tem relação principalmente com as interações analitos-fases estacionárias, as quais serão minuciadas mais adiante.

Por fim, GOMES et al., 2020, desenvolveu e validou uma metodologia analítica utilizando HPLC com detector UV-VIS e matriz ou arranjo de diodos (DAD) para quantificar MA, DA e TA obtidas a partir da acetilação do glicerol com anidrido acético catalisada por

acetato de sódio. Foi empregada uma coluna de fase reversa C18 e utilizou-se como fase móvel, a mistura de acetonitrila, diclorometano e água ultrapura na razão de 59,6/0,4/40% (v/v), respectivamente, e taxa de fluxo foi fixada em $0,5 \text{ mL min}^{-1}$. A temperatura da coluna e do detector utilizada foi de $30 \text{ }^\circ\text{C}$, aproximadamente 11 min de análise, como mostra a Figura 17.

Figura 17 – Análise de padrões de acetinas com HPLC UV-Vis/DAD por GOMES et al., 2020.



Fonte: adaptada de GOMES et al., 2020.

Realizaram-se ensaios de validação e foram obtidos coeficiente de correlação na faixa de 0,9905-0,9954, a partir da construção de curvas analíticas com 6 diferentes pontos de concentração molares, os quais são descritos como: MA = $0,04\text{-}2,32 \text{ mol L}^{-1}$; DA = $0,16\text{-}3,27 \text{ mol L}^{-1}$ e TA = $0,04\text{-}1,42 \text{ mol L}^{-1}$. A seletividade do método foi realizada a partir de comparação de análises por HPLC e RMN de ^{13}C dos analitos de interesse (MA, DA e TA). A precisão, executada pela repetitividade e reprodutibilidade, foi feita com base na análise em triplicata de três amostras com concentrações iguais a 0,05, 0,10 e 0,15 mg L^{-1} , respectivamente, cujos desvios-padrões obtidos foram $\geq 0,96$, 0,65 e 0,77% para MA, DA e TA, respectivamente. O método mostrou-se robusto a partir das variações testadas, referentes à proporção dos componentes da fase móvel, acetonitrila/água (58,6/41, 59,6/40 e 60,6/39%) e fluxo (0,4; 0,5; e $0,6 \text{ mL min}^{-1}$). O artigo não dá indicações de como foram realizadas as curvas em relação ao padrão analítico comercial, visto que o mesmo não é encontrado puro.

Diante desse contexto, a Tabela 5 traz uma compilação das principais informações obtidas a partir dos estudos descritos anteriormente.

Tabela 5 – Parâmetros, metodologias e informações dos principais trabalhos da literatura que utilizam GC para a determinação das acetinas.

Técnica analítica	Coluna	Condições de análise	Validação		Referência
			SIM	NÃO	
GC-FID	Cp-Sil 8CB (30m x 0,25mm x 0,25µm)	–		X	MELERO et al., 2007.
GC-FID	a) INNOWAX HP-I (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm); b) ZB-5HT INFERNO (30 m x 0,25 mm I.D x 0,25 µm).	a) 125 °C'5 min (5 °C min ⁻¹) 200 °C; T _{inj} = 210 °C e T _{det} = 250 °C; F _{He} = 0,5 mL min ⁻¹ ; b) 125 °C'5 min (5 °C min ⁻¹) 200 °C'10 min; T _{inj} = 220 °C e T _{det} = 250 °C; F _{He} = 0,7 mL min ⁻¹ ;		X	NEBEL et al., 2008.
GC-FID	DB5-HT (15 m x 0,32 mm x 0,10 µm)	T _{ini} = 370 °C e T _{det} = 380 °C; T _{forno} = 120 °C; F _{He} = 0,9 mL min ⁻¹		X	CASAS et al., 2012
GC-FID	Cp-Sil 8CB	–		X	RODRÍGUEZ e GAIGNEAUX, 2012
GC-FID	HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)	70 °C'2 min (45 °C min ⁻¹) 150 °C'1min; T _{inj} = 240 °C e T _{det} = 260 °C		X	GHOREISHI et al., 2013
GC-FID	DB-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)	50 °C (15 °C min ⁻¹) 300 °C		X	ZHOU et al., 2013
GC-FID	DB1-HT (15 m x 0,32 mm x 0,1 µm); DB5-HT (15 m x 0,32 mm x 0,1 µm)	50 °C'5 min (15 °C min ⁻¹) 180 °C (7 °C min ⁻¹) 230 °C (10 °C min ⁻¹) 300°C; T _{inj} = 370 °C e T _{det} = 390 °C; F _{He} = 5,4 mL min ⁻¹ ;		X	SUSTERE et al., 2014
GC-FID e GC/MS	HP-5 (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm)	80°C (3 °C min ⁻¹) 90°C (30°C min ⁻¹) 280°C'5min T _{inj} = 280 °C e T _{det} = 300 °C; Modo de injeção: Split (1:30)		X	RASTEGARI et al., 2015.
GC-FID	StabilWax	–		X	VELUTURLA et al., 2017
GC-FID	InertCap Wax (30 m x 0,51 mm x 1 µm)	150°C–210°C		X	GOSCIANSKA e MALAIKA, 2019
HPLC UV-Vis/DAD	Coluna de fase reversa C18	Fase móvel: acetonitrila, diclorometano e água ultrapura (59,6/0,4/40%); F = 0,5 mL min ⁻¹ T _{coluna/detector} = 30 °C		X	GOMES et al., 2020

Fonte: autora, 2020.

Diante do exposto, nota-se a necessidade de estudos centrados na redução do tempo de análise e na separação de todos os analitos, de forma geral, uma vez que, os principais trabalhos geralmente limitam-se a separação dos isômeros de MA e DA. Ademais, a substituição da técnica de HPLC por GC pode refletir em melhorias relacionadas à diminuição da quantidade de amostras, do tempo de análise e de resíduos gerados da fase móvel. Cabe salientar, que alguns dos artigos vistos anteriormente serão mencionados ao longo desta tese para fins comparativos à proposta do presente trabalho.

Em suma, esta tese apresenta novas perspectivas quanto à introdução de uma classe de catalisadores de estanho, ácido butilestânico ($C_4H_9SnO(OH)$); óxido de dibutilestanho ($C_8H_{19}SnO$); dilaurato de dibutilestanho ($(C_4H_9)_2SnO(C_{12}H_{23}O_2)_2$); dicloreto de dibutilestanho ($C_8H_{18}Cl_2Sn$); diclorodimetilestanho ($(CH_3)_2SnCl_2$) e butiltricloroestanho ($C_4H_9Cl_3Sn$), até então inédita na rota de obtenção dos acetatos de glicerol via esterificação com ácido acético. Além disso, motivados pelos poucos relatos referentes a estudos de métodos analíticos para determinação de acetinas, propõe-se o desenvolvimento e validação por CG-FID de uma nova metodologia analítica para esses analitos, a qual também apresenta pioneirismo na área, uma vez que, a literatura científica reporta, até o momento, apenas um trabalho acerca de validação de método analítico, ademais o mesmo emprega a técnica de HPLC.

SEÇÃO 2

AVALIAÇÃO DE CATALISADORES DE Sn(IV) NA REAÇÃO DE ACETILAÇÃO DO GLICEROL

4. AVALIAÇÃO DE CATALISADORES DE Sn(IV) NA REAÇÃO DE ACETILAÇÃO DO GLICEROL

4.1 Introdução

A produção de biodiesel é alvo de pesquisa em todo o mundo por este ser um proeminente sucedâneo de origem renovável, dos combustíveis derivados do petróleo (MILAZZO et al., 2013; MENEZES et al., 2016). Diante do rápido desenvolvimento, umas das principais questões que precisam ser resolvidas, refere-se ao seu coproduto, o glicerol, que corresponde a 10% do volume total de biodiesel produzido (TESTA et al., 2013). Diante do uso limitado do glicerol bruto oriundo da biorrefinaria, bem como dos custos dispendiosos de purificação do mesmo, busca-se alternativas para agregar valor a essa matéria-prima.

Nesse contexto, a esterificação, ou comumente chamada de acetilação do glicerol com ácido acético, é uma alternativa bastante promissora por fornecer insumos químicos de interesse industrial, tais como monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA). MA e DA são geralmente comercializadas como lubrificante, agente amaciante e solvente (MOTA et al., 2009) e como blocos de construção em criogenia e de poliéster biodegradável (VELUTURLA et al., 2017). TA é aplicada principalmente como aditivos para combustíveis, a saber, aditivo antidetonante para gasolina, diesel e biodiesel (MEIRELES e PEREIRA, 2013), além de ser usada como plastificante na produção de filtros de cigarros (MOTA et al., 2009). Ademais, pode ser aplicada na indústria de cosméticos, como emulsificante, fixador de perfumes e antisséptico, etc (REZAYAT e GHAZIASKAR, 2009; LIAO et al., 2009).

O processo de obtenção das acetinas é tradicionalmente realizado com catalisadores inorgânicos, como ácido sulfúrico, ácido clorídrico e ácido para-toluenossulfônico (KHAYOO e HAMEED, 2011; MEIRELES e PEREIRA, 2013), os quais apresentam inconvenientes relativos à geração de resíduo com alto grau de toxicidade para o meio ambiente, além de comprometer o sistema reacional pelo alto poder de corrosão característico dos mesmos, tornando assim, o processo menos sustentável e ineficiente economicamente (MELERO et al., 2007; FERREIRA et al., 2009).

Esses problemas vêm sendo superados por meio da aplicação de diferentes catalisadores, tais como, resinas de troca iônica, do tipo Amberlyst (RODRÍGUEZ E GAIGNEAUX, 2012; ZHOU et al. 2013), materiais funcionalizados (VELUTURLA et al. 2017; GOSCIANSKA et al., 2019) e alguns óxidos com diferentes sítios metálicos (HU et al. 2015).

De modo geral, os melhores resultados são obtidos quando as resinas de troca iônica são aplicadas, promovendo a conversão de glicerol em até 100% e seletividade para MA (43%), DA (44%) e TA (13%) em 6 h de reação e razão molar de AA:GLI igual a 7:1. Tais condições podem ser inviáveis industrialmente devido ao longo tempo de duração, além disso, esses tipos de catalisadores podem apresentar problemas de estabilidade térmica, baixa capacidade de regeneração e baixa área superficial específica (WANG e GUIN, 2000; MALLICK e PARDIA, 2007).

Diante desse contexto, nesta seção da Tese serão apresentados os estudos relativos à avaliação de catalisadores à base de estanho(IV) com diferentes ligantes no centro metálico, os quais são: ácido butilestânico, óxido de dibutilestanho, dilaurato de dibutilestanho, dicloreto de dibutilestanho, diclorodimetilestanho e butiltricloroestanho na reação de acetilação do glicerol.

4.2 Procedimentos experimentais

4.2.1 Caracterizações dos produtos reacionais (Acetinas)

Inicialmente, em paralelo aos testes catalíticos, realizou-se uma otimização prévia da condição de análise para as acetinas da mistura reacional, cujos tempos de eluição dos analitos foram determinados de acordo com Nebel et al., 2008 (GC-FID) e em complemento, foi aplicada a metodologia descrita por LOPES, 2013 (HPLC-IR) para uma mesma amostra reacional¹. Assim, por GC-FID foram utilizadas as seguintes condições: a) coluna apolar = **Rtx-5MS** (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 μ m), $V_{\text{injeção}} = 1 \mu\text{L}$, $F_{\text{H}_2} = 0,7 \text{ mL min}^{-1}$, $T_{\text{inj}} = 220 \text{ }^\circ\text{C}$ e $T_{\text{det}} = 250 \text{ }^\circ\text{C}$, programa de temperatura com início em 125 $^\circ\text{C}$ (permanecendo por 5 min) e com taxa de aquecimento de 5 $^\circ\text{C min}^{-1}$ até 200 $^\circ\text{C}$ (permanecendo por 10 min), e b) coluna polar = **StabilWax** (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 μ m), $V_{\text{injeção}} = 1 \mu\text{L}$, $F_{\text{H}_2} = 0,5 \text{ mL min}^{-1}$, $T_{\text{inj}} = 220 \text{ }^\circ\text{C}$ e $T_{\text{det}} = 250 \text{ }^\circ\text{C}$, e programa de temperatura com início em 125 $^\circ\text{C}$ (permanecendo por 5 min) e com taxa de aquecimento de 5 $^\circ\text{C min}^{-1}$ aumenta até 200 $^\circ\text{C}$ (permanece por 30 min). A respeito das análises por HPLC-IR, empregou-se as seguintes condições: coluna = C18; $V_{\text{injeção}} = 20 \mu\text{L}$; fase móvel = ACN:H₂O [6:1]; $F = 0,6 \text{ mL min}^{-1}$ e $t = 15$ minutos.

Em seguida, embasados na literatura (VELUTURLA et al. 2017 e GOSCIANSKA et al. 2019), adotou-se a coluna polar (FE = 100% polietilenoglicol), a qual refere-se a **RtxWax** (30 m x 0,32 mm i.d. x 0,25 μ m) para o monitoramento da produção de acetinas por GC-FID,

¹Nesse momento tinha-se apenas o padrão analítico de GLI, e por isso os demais compostos foram determinados com amostra dos testes reacionais de acetilação.

sob as seguintes condições cromatográficas: $V_{\text{injeção}} = 1 \mu\text{L}$; $F_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ mL min}^{-1}$, $T_{\text{inj}} = 220 \text{ }^\circ\text{C}$ e $T_{\text{det}} = 250 \text{ }^\circ\text{C}$, programa de temperatura com início em $140 \text{ }^\circ\text{C}$ e com taxa de aquecimento de $50 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $190 \text{ }^\circ\text{C}$ (permanecendo por 3 min) e segunda taxa de aquecimento de $60 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $250 \text{ }^\circ\text{C}$, totalizando em 5 min de análise.

O preparo de amostra consistiu na pesagem de 0,2500 g de amostra reacional em balão volumétrico de 1 mL, o qual era preenchido com 1 mL de solução de padrão interno, benzoato de benzila em etanol (concentração de $3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$). Cabe salientar que essa condição foi otimizada durante os experimentos².

Posteriormente, estabeleceram-se outras condições de preparo de amostra, a saber: as amostras reacionais foram levadas a um evaporador rotativo acoplado a uma bomba de vácuo, com banho de aquecimento a 80°C e agitação de 105 rpm e testaram-se diferentes variações de tempo, a fim de remover o excesso de ácido acético não reagido (mantiveram-se as quantidades de amostra reacional pesada, e padrão interno utilizado anteriormente).

Em seguida, as análises foram conduzidas com a coluna Stabilwax (6 m x 0,25 mm x 0,25 μm), aplicando as seguintes condições: $V_{\text{injeção}} = 1 \mu\text{L}$, $F_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ mL min}^{-1}$, $T_{\text{inj}} = 240 \text{ }^\circ\text{C}$ e $T_{\text{det}} = 250 \text{ }^\circ\text{C}$, programa de temperatura com início em $180 \text{ }^\circ\text{C}$ e com taxa de aquecimento de $50 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $220 \text{ }^\circ\text{C}$ (permanecendo por 1 min) e com segunda taxa de $60 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $250 \text{ }^\circ\text{C}$ (permanecendo por 1 min), totalizando em 3,0 min de análise.

A quantificação dos compostos foi realizada com base no método de normalização das áreas com adição de padrão interno, o qual refere-se à porcentagem relativa de cada composto ($A_1, A_2, A_3 \dots A_n$) presente na amostra, com base na área total ($A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n$) (NASCIMENTO et al., 2018). Nesse aspecto, as áreas de todos os picos foram corrigidas com base na área do padrão interno (benzoato de benzila), visto que, por ele ter sua quantidade conhecida na amostra, sua área será praticamente constante em todas as análises, diminuindo assim os possíveis erros inerentes às injeções, etc. Desse modo, a conversão de GLI (%) e os rendimentos (%) foram determinados segundo a Equação 1.

$$R\% = \frac{\text{área}_{\text{corrigida}}}{\text{área}_{\text{total}}} \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

Diante desse contexto, o próximo item refere-se aos procedimentos experimentais dos testes catalíticos.

²As condições de preparo de amostra relatadas ao longo desta Tese, em sua maioria, foram estabelecidas de acordo com os desdobramentos dos experimentos, visto os poucos relatos disponíveis acerca de metodologias analíticas por GC-FID.

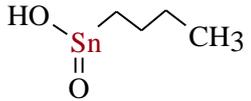
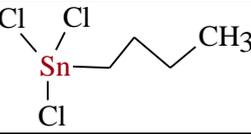
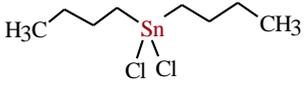
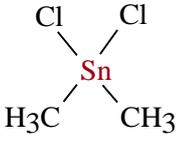
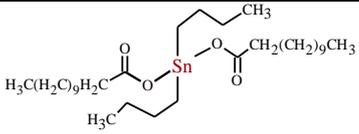
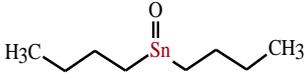
4.2.2 Testes Catalíticos

Os primeiros testes catalíticos basearam-se em HU et al., 2015, com o intuito de verificar o comportamento do processo conduzido em nosso sistema, o qual consistiu num sistema de reatores fechados, isto é, utilizaram-se *vials* de 5 mL fechados imersos em um banho de óleo acoplado a um agitador magnético com termopar. Este sistema proporciona reações em quantidade mínimas e vem sendo utilizado em outras pesquisas do GCaR (DE JESUS et al., 2019; DOS SANTOS et al., 2019).

Dessa maneira, *a priori*, a reação foi conduzida sem e com catalisador SnO₂ a 120 °C, aplicando a razão molar (RM) de ácido acético e glicerol (AA:GLI) igual a 6:1, a carga de catalisador utilizada foi fixada na razão molar do centro metálico, igual a 0,166 mmol, pois considera-se que os centros metálicos são efetivamente os sítios catalíticos (HU et al., 2015), e todo o sistema permaneceu sob agitação constante de aproximadamente 3000 rpm.

Em seguida, avaliaram-se os seis complexos de estanho, os quais podem ser vistos na Tabela 1, a qual aborda os materiais e reagentes que foram utilizados.

Tabela 1 – Materiais e reagentes utilizados para a execução de parte do trabalho.

Materiais	Siglas	Fórmula química	Pureza (%)
Ácido acético	AA	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$	99,7
Álcool etílico	—	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	95,0
Ácido clorídrico	HCl	HCl	37,0
Benzoato de benzila	BZB	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_2$	99,0
Brometo de potássio	KBr	KBr	99,0
Clorofórmio deuterado	CDCl_3	CDCl_3	99,8
Dimetilsulfóxido	DMSO	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$	> 95,0
Glicerol	GLI	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$	> 95,0
Ácido butilestânico	$\text{BuSnO}(\text{OH})$		> 95,0
Butiltricloroestanho	BuSnCl_3		99,0
Dicloreto de dibutilestanho	Bu_2SnCl_2		> 95,0
Diclorodimetilestanho	Me_2SnCl_2		> 95,0
Dilaurato de dibutilestanho	$\text{Bu}_2\text{SnLau}_2$		> 95,0
Óxido de dibutilestanho	Bu_2SnO		> 95,0

Fonte: autora, 2021.

Vale salientar que todos os produtos exibidos na Tabela 1, foram utilizados sem nenhuma purificação adicional, o álcool etílico teve apenas a adição de sulfato de magnésio como agente dessecante, esse solvente foi obtido da empresa Dinâmica, o ácido acético, por sua vez, da Êxodo Científica e as demais substâncias foram adquiridas da Sigma-Aldrich.

4.2.2.1 Influência da temperatura e razão molar entre os reagentes na cinética reacional

Os parâmetros temperatura (T) e razão molar (RM) de ácido acético:glicerol (AA:GLI) foram avaliados de forma univariada, ou seja, fixou-se a RM = 4:1(AA:GLI) e investigaram-se as temperaturas de 40, 80 e 120 °C. O mesmo foi feito para o estudo da razão molar, em que fixou-se T = 80 °C e estudaram-se as proporções molares de 3:1, 4:1 e 5:1 (AA:GLI), e tais condições seguem resumidas na Tabela 2.

Tabela 2 – Condições reacionais empregadas na avaliação da acetilação do glicerol com ácido acético sem catalisador e na presença de SnO₂, BuSnO(OH), Bu₂SnO, Bu₂SnLau₂, Bu₂SnCl₂, Me₂SnCl₂ e BuSnCl₃.

Parâmetros	Condições reacionais
Tempo (min)	15, 30, 45, 60 e 180
Temperatura (°C)	40, 80 e 120
Razão molar (AA:GLI)	3:1, 4:1 e 6:1

Fonte: autora, 2019.

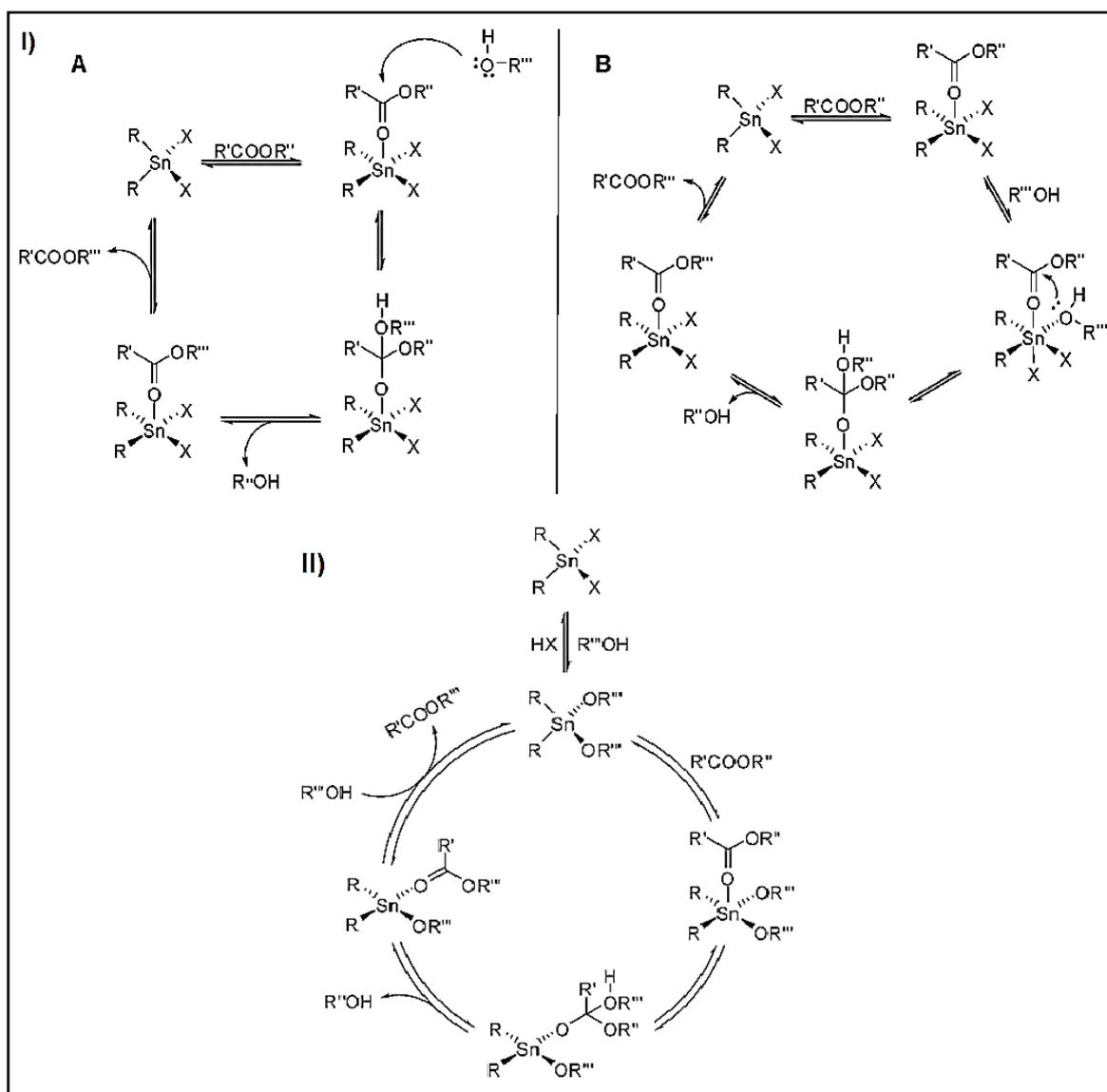
É importante salientar que, foram realizadas provas em branco das reações, visto que o ácido acético pode liberar H⁺ no meio e atuar como ácido de Brønsted, portanto, necessita-se assim de comparações em todos os testes reacionais.

Posteriormente, realizaram-se estudos comparativos entre o desempenho catalítico do Me₂SnCl₂ em relação ao ácido clorídrico (HCl), um catalisador tradicionalmente usado para obtenção de acetinas. Considerando o mecanismo via-troca de ligantes (Figura 1) e uma possível liberação de HCl no meio, inicialmente foi feito um primeiro teste que objetivou verificar o desempenho do Me₂SnCl₂ e HCl em proporções equimolares dos seus sítios catalíticos ((1,66 x 10⁻⁴ mol), ou seja, aplicaram-se quantidades iguais para a determinação da carga de ambas as substâncias. As reações foram realizadas com T = 80 °C e RM = 4:1 (AA:GLI), em diferentes tempos reacionais (15-180 min).

O teste posterior envolveu a simulação da possível formação de HCl no meio, isto é, considerando a liberação dos dois ligantes cloros do catalisador Me₂SnCl₂, e assim, utilizou-se

uma carga de HCl 2 vezes maior que a inicial ($3,32 \times 10^{-4}$ mol) e manteve-se a quantidade de Me_2SnCl_2 em $1,66 \times 10^{-4}$ mol. Para melhor visualização do comportamento, nesse 2º teste aplicou-se condições reacionais mais brandas que o anterior, a saber: $T = 40^\circ\text{C}$ e $\text{RM} = 3:1$ (AA:GLI), em diferentes tempos reacionais (15-180 min).

Figura 1 - A) Mecanismo do ácido de Lewis: I) ataque nucleofílico intermolecular e II) ataque nucleofílico intramolecular do álcool previamente coordenado no metal. B) Mecanismo de troca / inserção.



Fonte: Adaptada de Meneghetti, M.R e Meneghetti, S.M.P, 2015.

A partir desse pressuposto, realizaram-se também caracterizações por espectrometria no infravermelho (FTIR), com um espectrofotômetro da marca NICOLET IR200, do catalisador Me_2SnCl_2 antes e após reação com ácido acético, a 80°C por 2 h. Salienta-se que

esse catalisador é um pó fino e em contato com o ácido acético torna a mistura homogênea, dessa forma, a reação foi feita com o dobro dos reagentes a fim de obter um excesso do Me_2SnCl_2 após remoção do ácido acético não reagido por meio do rotaevaporador. As análises foram efetuadas a partir da preparação de pastilhas de KBr com as amostras supracitadas na proporção de 1:10 (KBr:amostra), cujos resultados obtidos referem-se aos espectros da região de 400 a 4000 cm^{-1} do infravermelho médio com 64 varreduras numa resolução de 4 cm^{-1} .

Posteriormente, para corroborar com os resultados dos testes iniciais relativos a questões mecanísticas, realizaram-se análises com a técnica de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono (^1H e ^{13}C NMR), com um Espectrômetro de RMN da Bruker Avance 400 MHz Ultra-Shield, das seguintes amostras:

1) BuSnCl_3 (28 μL + 600 μL de CDCl_3); 2) ácido acético (41 μL + 600 μL de CDCl_3); 3) glicerol (0,0490 g + 600 μL de CDCl_3); 4) BuSnCl_3 e ácido acético (28 μL + 38 μL + 600 μL de CDCl_3); 5) BuSnCl_3 e glicerol (0,0468 g + 600 μL de CDCl_3); e 6) BuSnCl_3 + ácido acético + glicerol (28 μL + 38 μL + 0,06 g + 600 μL de CDCl_3).

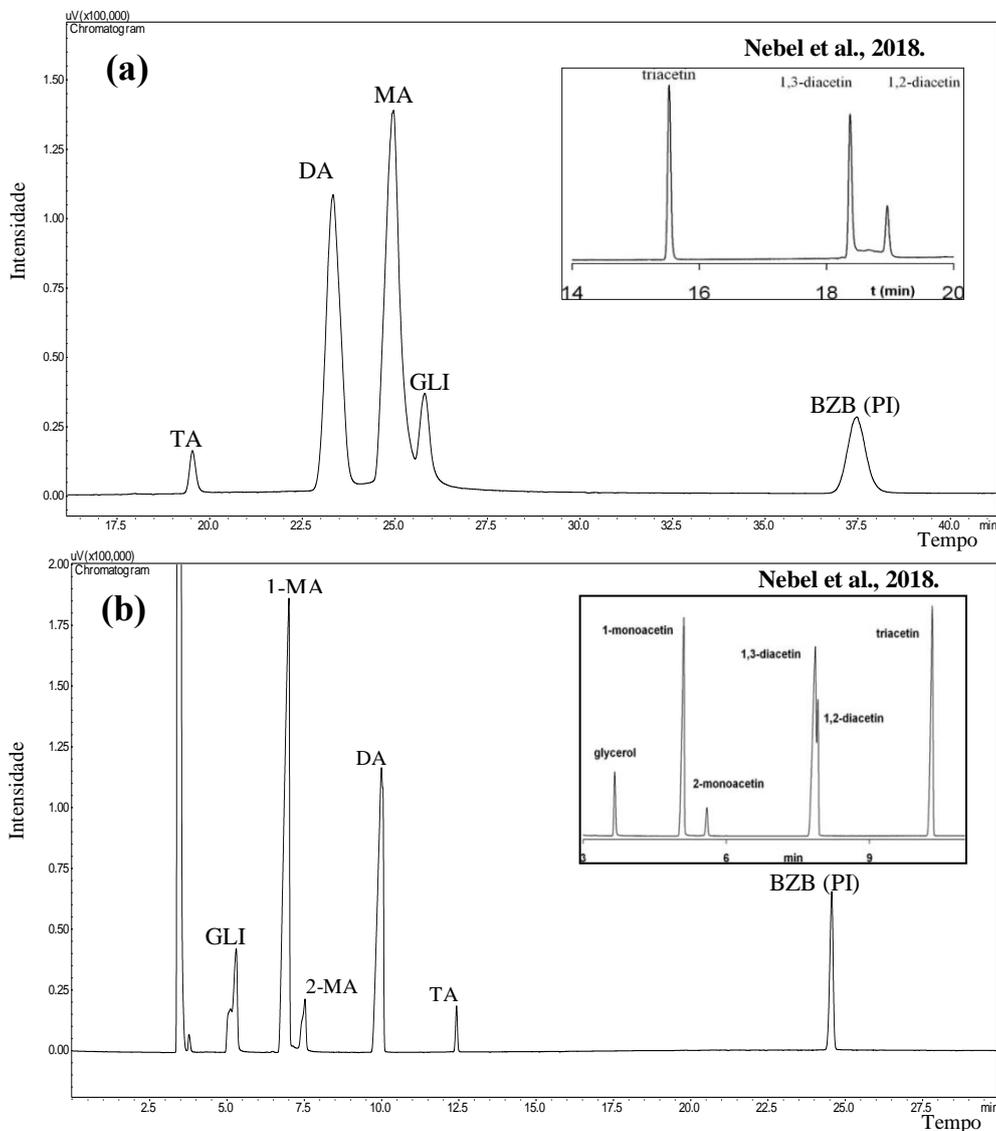
É importante salientar que as três últimas amostras foram preparadas com CDCl_3 após reação de 1 h a $80\text{ }^\circ\text{C}$ sob agitação, e que as quantidades determinadas foram calculadas conforme proporção estequiométrica ponderando a possível liberação dos 3 ligantes cloro presentes no BuSnCl_3 , ou seja, usou-se um excesso de 4 mols de ácido acético e glicerol em relação a $1,66 \times 10^{-4}$ mol de Sn, visando garantir a presença de ácido acético e glicerol no meio reacional para comprovar a possível formação de HCl.

4.3 Resultados

4.3.1 Caracterizações dos produtos reacionais (Acetinas)

Em paralelo aos testes catalíticos iniciais foram determinados os tempos de retenção dos analitos (MA, DA e TA, visto que até o momento não possuíamos os padrões analíticos dos mesmos) obtidos da reação de acetilação a partir de adaptações da literatura, de modo a serem obtidos os seguintes resultados:

Figura 2 – Ordem de retenção dos analitos monoacetina (MA) diacetina (DA) e triacetina (TA) em amostra reacional a partir de adaptações das condições utilizadas por Nebel et al., 2018, em que: a) coluna polar (Stabilwax 30 m x 0,32 mm x 0,25 µm) e b) Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). A amostra utilizada refere-se a amostra reacional de 180 min, catalisada com Bu₂SnCl₂ e preparada para o CG com solução de padrão interno (benzoato de benzila (BZB) em etanol.



Nota: a) coluna apolar = **Rtx-5MS** (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 µm), $V_{\text{injeção}} = 1 \mu\text{L}$, $F_{\text{H}_2} = 0,7 \text{ mL min}^{-1}$, $T_{\text{inj}} = 220 \text{ }^\circ\text{C}$ e $T_{\text{det}} = 250 \text{ }^\circ\text{C}$, programa de temperatura com início em $125 \text{ }^\circ\text{C}$ (permanecendo por 5 min) e com taxa de aquecimento de $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até 200°C (permanecendo por 10 min), e b) coluna polar = **StabilWax** (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 µm), $V_{\text{injeção}} = 1 \mu\text{L}$, $F_{\text{H}_2} = 0,5 \text{ mL min}^{-1}$, $T_{\text{inj}} = 220 \text{ }^\circ\text{C}$ e $T_{\text{det}} = 250 \text{ }^\circ\text{C}$, e programa de temperatura com início em $125 \text{ }^\circ\text{C}$ (permanecendo por 5 min) e com taxa de aquecimento de $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ aumenta até 200°C (permanece por 30 min).

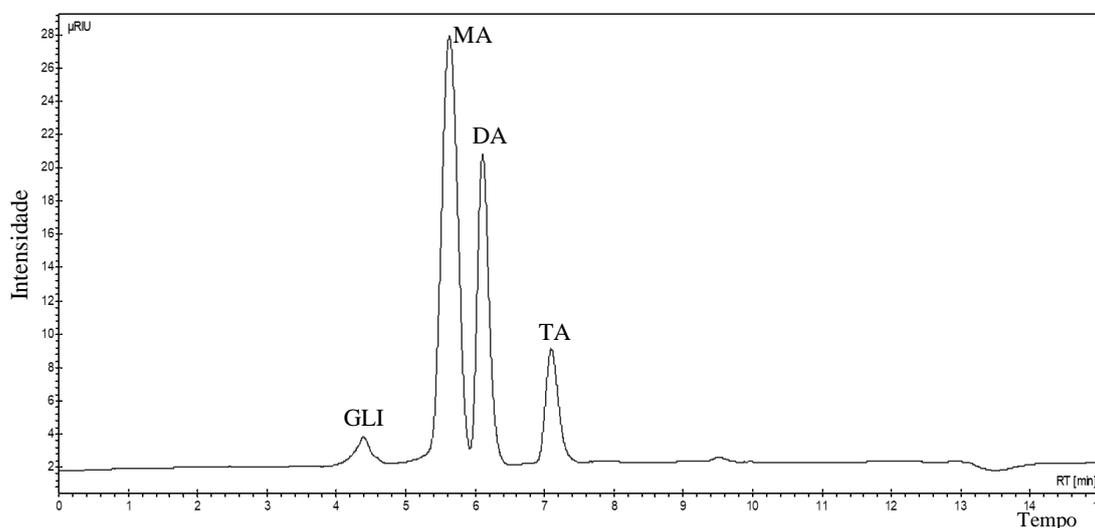
Fonte: autora, 2019.

Conforme descrito na literatura, a ordem de eluição dos compostos é estabelecida de acordo com a polaridade do analito e da fase estacionária, isto é, quanto maior for o grau de semelhança do analito com a fase estacionária, maior seu tempo de retenção (COLLINS, et. al., 2006). Como pode ser visto na Figura 2, os métodos (a) e (b) apresentam diferentes ordens

de eluições para os analitos, uma vez que se trata de coluna com diferentes polaridades, ou seja, quando emprega-se uma coluna polar, para determinação das acetinas, a ordem de eluição é iniciada pela TA, seguido de DA e por fim eluem os compostos mais polares da mistura, que são MA e GLI, respectivamente.

Além dos testes por GC-FID, aplicou-se também uma análise por HPLC-IR (LOPES, 2013), a fim de corroborar as ordens de eluições estabelecidas anteriormente, e o cromatograma obtido segue representado pela Figura 3.

Figura 3 – Ordem de retenção dos analitos monoacetina (MA) diacetina (DA) e triacetina (TA) em amostra reacional determinada por HPLC-IR (coluna = C18, 150 mm x 4,6 mm x 5 µm; fase móvel = ACN:H₂O [86:14]; F = 0,6 mL min⁻¹).

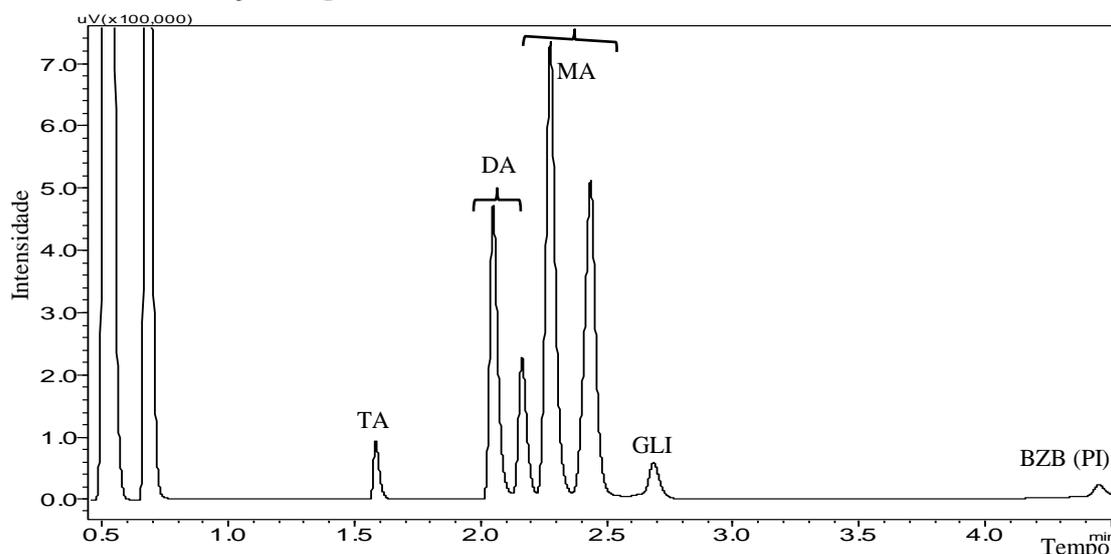


Fonte: autora, 2019.

Pode-se observar que o teste por HPLC com uma coluna **C18 (apolar)** corrobora com as análises feitas por GC (Método b), e dessa forma, com a determinação dos analitos definidas, estabeleceu-se o uso da coluna **RtxWax** (30 m x 0,32 mm i.d. x 0,25 µm), possuindo fase estacionária constituída de 100% de polietilenoglicol, a qual foi utilizada antes por VELUTURLA et al. 2017 e GOSCIANSKA et al. 2019.

A coluna **RtxWax** demonstrou, inicialmente, separar satisfatoriamente todos os analitos de interesse, como mostra a Figura 4.

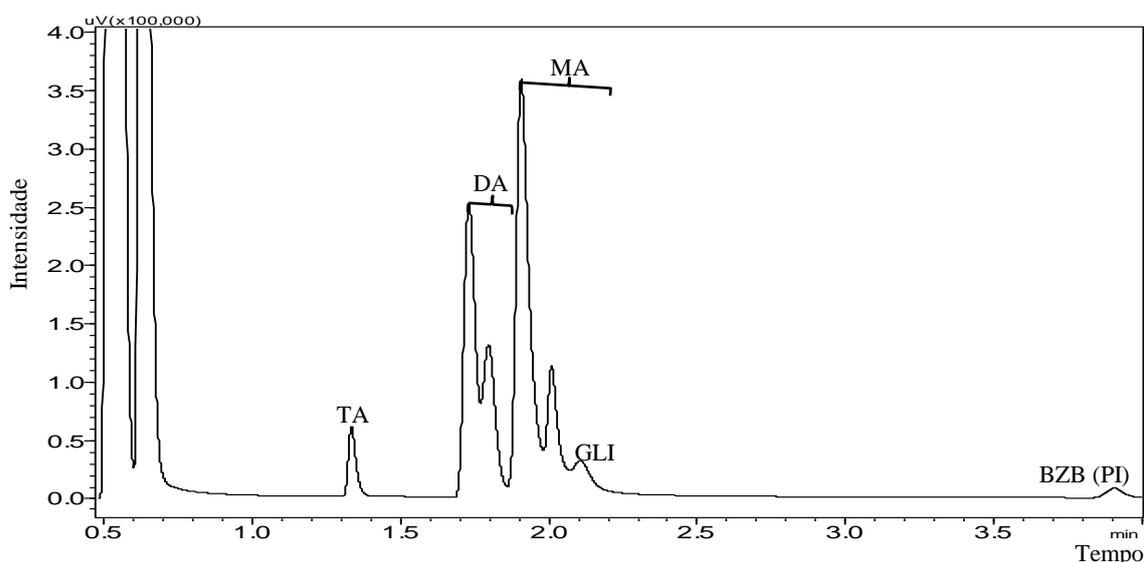
Figura 4 – Cromatograma com a coluna RtxWax (30 m x 0,32 mm x 0,25 μ m) com uma amostra reacional da acetilação do glicerol nos testes iniciais.



Fonte: autora, 2019.

A coluna escolhida nessa primeira etapa do trabalho foi eficiente até o momento em que no decorrer das análises houve perda da sua eficiência, isto é, notou-se coeluição entre os isômeros de DA e MA, além do glicerol, conforme mostra a Figura 5.

Figura 5 – Cromatograma obtido com a coluna RtxWax (30 m x 0,32 mm x 0,25 μ m) ao longo dos experimentos de monitoramento das reações de acetilação.



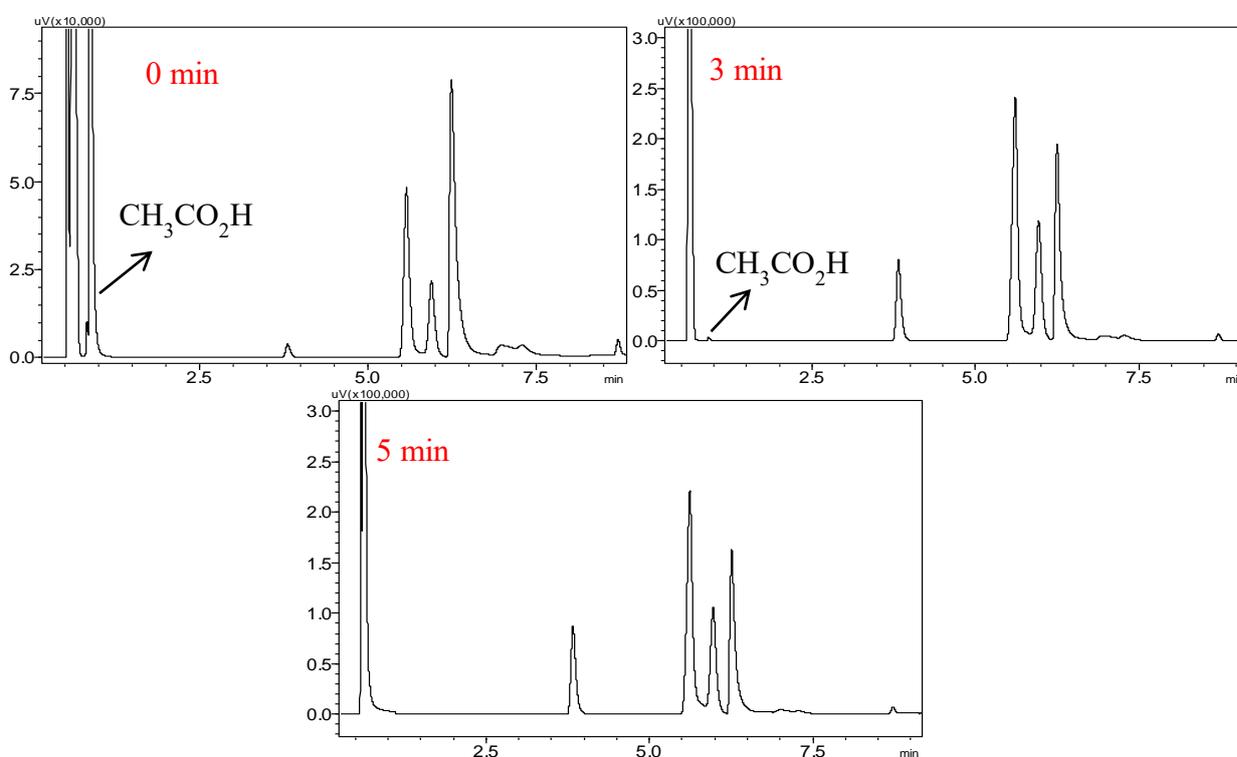
Fonte: autora, 2019.

Diante desse contexto, segundo COLLINS et al., 2006, a decomposição química da fase estacionária advém de diversos fatores, como impurezas presentes no gás de arraste, temperaturas elevadas e amostras contendo analitos muito semelhantes a fase estacionária (FE). Desse modo, algumas colunas com as fases de PEG (altamente polares) podem

deteriorar-se na presença de oxigênio, uma vez que estão suscetíveis à formação de H_2O que podem causar hidrólise ou quebra de ligações entre a FE e a superfície do capilar. Desse modo, adicionou-se uma nova etapa no preparo de amostra, a fim de preservar a vida útil da coluna, o qual consistiu em, levar a amostra reacional obtida a um rotaevaporador, com o intuito de remover o ácido acético não reagido.

Portanto, foram realizados alguns testes para otimizar o preparo de amostra, com o tempo de rotaevaporação, os quais podem ser vistos na Figura 6.

Figura 6 – Teste de remoção do ácido acético da amostra por rotaevaporação.



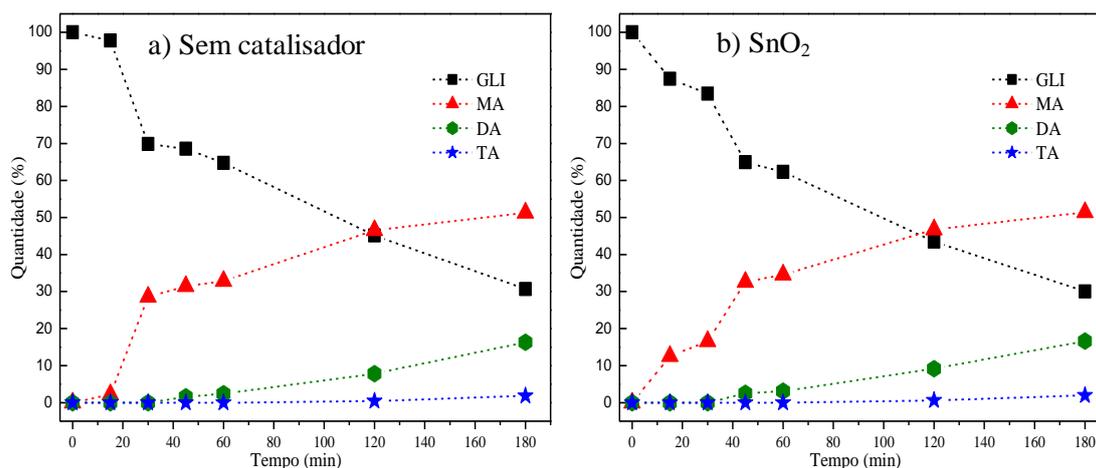
Fonte: autora, 2019.

Conforme mostra a Figura 6, o tempo de rotaevaporação de 5 min foi suficiente para a eliminação total do ácido acético presente na amostra, e desse modo, esse procedimento passou a ser adotado no andamento do trabalho. Além disso, nessa etapa do trabalho substituiu-se a coluna de 30 m por uma de 6 m, visto que por ser composta de PEG, a mesma se degrada rapidamente com este tipo de amostra, além disso, nessa etapa do trabalho o objetivo é quantificar as acetinas de modo comparativo nos testes catalíticos, a fim de monitorar as reações realizadas sob distintas condições, as quais serão discutidas a seguir.

4.3.2 Testes Catalíticos

O comportamento de espécies de estanho na acetilação de glicerol foi avaliado inicialmente com e sem SnO_2 , e os resultados iniciais estão demonstrados na Figura 7.

Figura 7 – Acetilação do glicerol sem catalisador (a) e (b) com SnO_2 a 120 °C, com RM = 6:1 (AA:GLI) = 4,30 mL e 1,16 g, e 0,2 g de catalisador (0,166 mmol de Sn).



Fonte: autora, 2019.

A partir dos resultados obtidos, pode-se confirmar o que é observado por HU et al., 2015, ou seja, o catalisador SnO_2 tem um comportamento semelhante à reação em branco, sem a utilização do mesmo. Segundo CARDOSO, 2008, este comportamento pode estar associado à baixa acidez de Brønsted ou Lewis característica do óxido de estanho, bem como sua baixa solubilidade no sistema. A partir daí, iniciou-se a investigação com os complexos de Sn(IV) nesta mesma rota reacional, em conjunto com o estudo cinético, como pode ser visto a seguir.

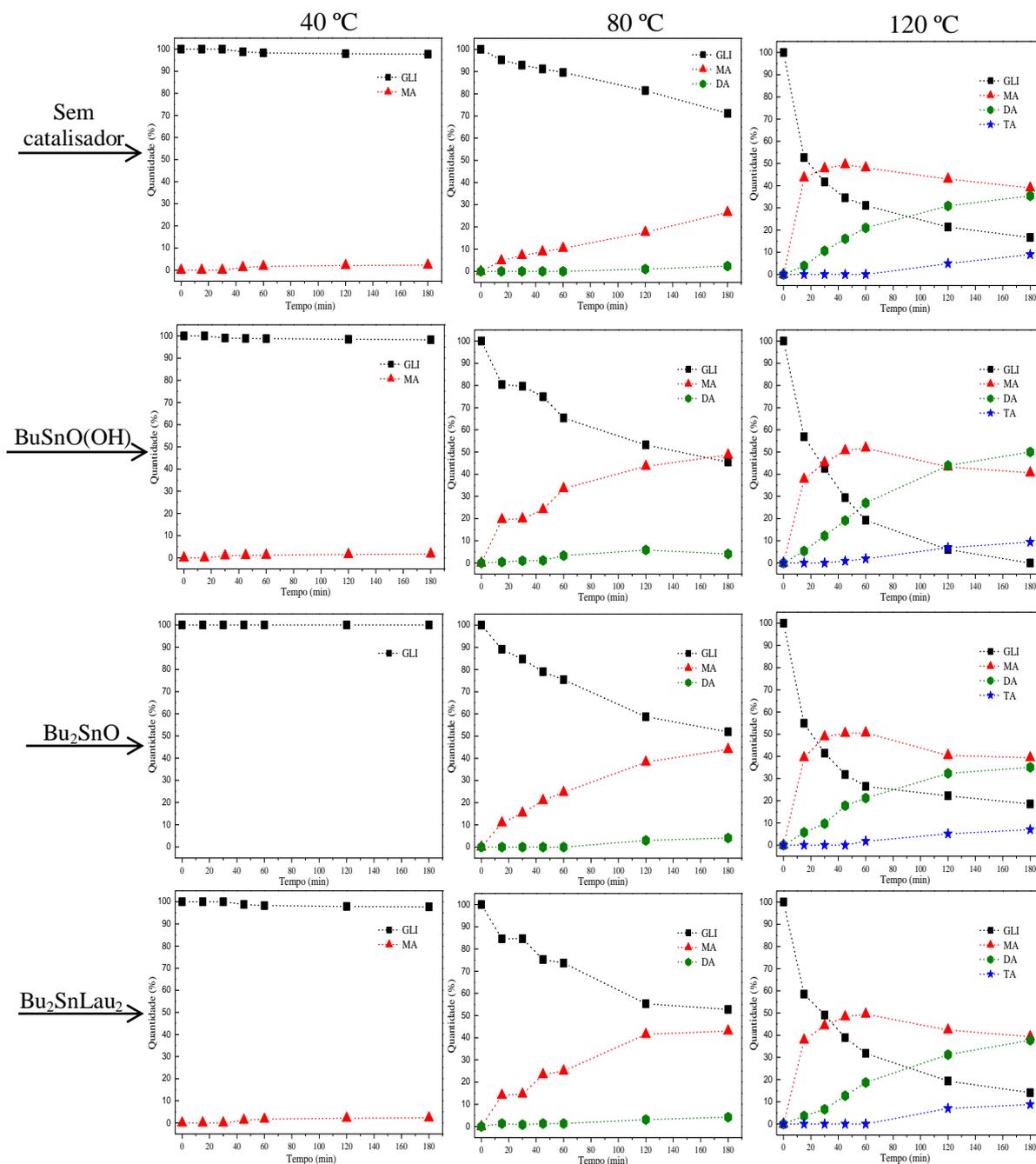
4.3.2.1 Influência da temperatura

Considerando-se que as reações de esterificação de glicerol com ácido acético são reversíveis e controladas pelo equilíbrio (ver Seção 1), delineiam-se vários parâmetros influenciáveis na taxa de velocidade da reação, incluindo temperatura, razão molar, tipo de catalisador e carga do mesmo (i.e., número de locais ativos disponíveis).

Assim, a Figura 8 exibe os estudos de temperatura realizados a 40 °C, 80 °C e 120 °C em reações conduzidas sem catalisador e com os catalisadores de Sn(IV) propostos.

Figura 8 – Avaliação da acetilação do glicerol sem e com diferentes catalisadores de Sn(IV) em diferentes temperaturas (40 °C, 80 ° e 120 °C), tempos reacionais (15-180 min), RM = 4:1 (AA:GLI); carga de catalisador = 0,166 mmol de Sn; e agitação do sistema = 3000 rpm.

(continua)

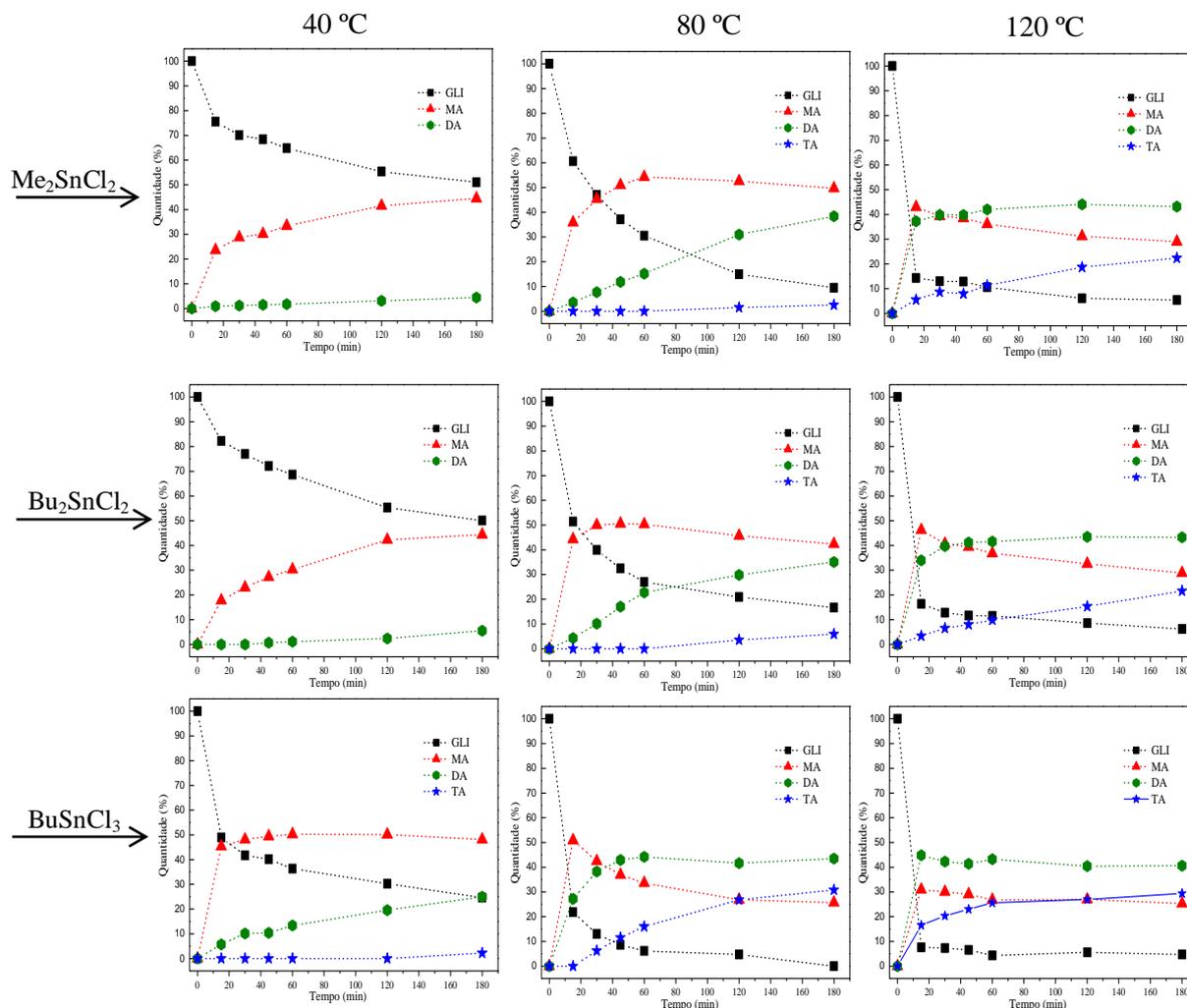


Nota: valor absoluto dos reagentes, AA= 1,44 mL; GLI = 0,5750 g; BuSnO(OH) = 0,0346; Bu₂SnO = 0,0413 g; Bu₂SnLau₂= 0,0503 g.

Fonte: autora, 2020.

Figura 8 – Avaliação da acetilação do glicerol sem e com diferentes catalisadores de Sn(IV) em diferentes temperaturas (40 °C, 80 ° e 120 °C), tempos reacionais (15-180 min), RM = 4:1 (AA:GLI); carga de catalisador = 0,166 mmol de Sn; e agitação do sistema = 3000 rpm.

(conclusão)



Nota: valor absoluto dos reagentes, AA= 1,44 mL; GLI = 0,5750 g; Me_2SnCl_2 = 0,0365; Bu_2SnCl_2 = 0,0504 g; BuSnCl_3 = 0,0468 g.

Fonte: autora, 2020.

Conforme mostra a Figura 8, o aumento da temperatura leva a maior conversão de glicerol, uma vez que o aquecimento provoca o aumento da energia cinética dos reagentes e, consequentemente, a formação de produtos (acetinas) (ATKINS et al., 2006).

A partir desses dados, calculou-se a constante aparente de velocidade (K_{ap}) da reação sem e com os seis catalisadores, considerando inicialmente a cinética de pseudo-primeira ordem, visto que, em condições isotérmicas, o glicerol atua na reação como reagente limitante devido ao excesso de ácido acético utilizado (OKOYE et al., 2017). Para testar a afirmação,

lançou-se em gráfico o logaritmo natural da conversão de GLI contra o tempo, conforme a equação 2, a qual foi utilizada por DA SILVA et al., 2019, e observou-se o perfil dos mesmos, cujo perfil linear a caracteriza como sendo de primeira ordem (ATKINS et al., 2006). Assim, por meio da inclinação da reta obtém-se o valor da constante de velocidade, que corresponde aos coeficientes angulares (SOUZA e DE FARIAS, 2013).

$$\ln \text{GLI \%} = kt + \ln 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

Tal equação pode ser vista em termos da concentração da substância química, $\ln [A] = kt + \ln [A]_0$, referente a equação integrada da cinética de primeira ordem (SOUZA e DE FARIAS, 2013).

A partir dos gráficos de $\ln (\text{GLI \%})$ em função do tempo de reação no controle cinético (entre 0 e 30 min) construídos (ver Anexo A), foram obtidos os valores das taxas da constante aparente de velocidade (K_{ap}) para os sistemas estudados, como mostra a Tabela 3.

Tabela 3 – Taxas das constantes aparentes de velocidade (K_{ap}) em função da conversão do glicerol e do tempo de reação (h).

Catalisador	$k_{ap} \times 10^{-3} \text{ (h}^{-1}\text{)}$		
	40 °C	80 °C	120 °C
Sem	0,3	2,5	29,2
Bu ₂ SnO	ND	5,5	29,4
BuSnO(OH)	0,3	7,6	28,4
Bu ₂ SnLau ₂	0,3	5,6	23,7
Me ₂ SnCl ₂	11,9	25,2	68,4
Bu ₂ SnCl ₂	8,7	30,6	68,4
BuSnCl ₃	29,1	67,9	87,2

Fonte: autora, 2020.

Os valores de K_{ap} obtidos corroboraram com a análise positiva do aumento da temperatura na conversão de glicerol e estes resultados são suportados, em termos de ordem de magnitude, com outros trabalhos da literatura (VELUTURLA et al., 2017; OKOYE et al., 2017 e REINOSO et al., 2020).

Em relação à seletividade, o aumento da temperatura leva à formação de maior quantidade de TA, pois a sua detecção ocorre principalmente a 120 °C, em todos os casos, e a 80 °C para os sistemas mais ativos (Figura 8). Portanto, a formação de MA prevalece a 40 e 80 °C, enquanto DA e TA são obtidas principalmente a 120 °C.

A partir dos resultados obtidos com os catalisadores, BuSnO(OH) , Bu_2SnO e $\text{Bu}_2\text{SnLau}_2$, observa-se que não há diferença significativa, em termos de conversão ou seletividade, quando comparado ao branco da reação (Figura 8). Exemplificando, com a reação em branco a 40 °C nota-se que não há conversão de glicerol antes de 30 min, enquanto a 80 °C e 120 °C foram obtidos valores de conversão igual a 23,2% e 58,4%, respectivamente. De forma análoga para os três catalisadores supracitados, uma conversão expressiva ($\text{BuSnO(OH)} = 20,3\%$, $\text{Bu}_2\text{SnO} = 15,3\%$ e $\text{Bu}_2\text{SnLau}_2 = 15,4\%$) só foi alcançada após 30 min a 80 °C. Esses resultados são apoiados com a determinação das taxas da constante aparente de velocidade (K_{ap}) (Tabela 3). No que concerne à seletividade, o branco reacional e esse grupo de catalisadores exibem formações consideráveis de MA e DA a 80 e 120 °C, porém a TA só foi detectada na temperatura de 120 °C.

Em contrapartida, os catalisadores Me_2SnCl_2 , Bu_2SnCl_2 e BuSnCl_3 mostraram-se mais ativos que os anteriores, pois já a 40 °C e 15 min de reação foram obtidas conversões de até 51,0%, utilizando o BuSnCl_3 (Figura 8).

A Figura 8 mostra também que os catalisadores Me_2SnCl_2 e Bu_2SnCl_2 apresentam reatividade comparável, o que é corroborado com os valores iguais de K_{ap} (Tabela 3), que a 120 °C foi de $68,4 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$. Além disso, a seletividade evidencia o comportamento análogo entre os mesmos, pois ocorre formação de quantidades semelhantes de MA, DA e TA, de aproximadamente iguais a 29,4, 43,2 e 22,0%, respectivamente.

Os resultados obtidos com o catalisador mais ativo, o BuSnCl_3 , mostram que significativas conversões de GLI em todas as temperaturas testadas foram alcançadas, como por exemplo, com somente 15 min de reação a 40 °C, 80 °C e 120 °C, foram observadas conversões de 51,0%, 78,1% e 92,4%, respectivamente. Salienta-se que após 60 min, a 80 e 120 °C, o sistema parecia ter atingido o equilíbrio, exibindo 100 % de conversão do glicerol.

A expressiva atividade do BuSnCl_3 é também destacada pela constante aparente de velocidade (K_{ap}), cujos valores a 40, 80, e 120 °C, foram de $29,1 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $67,9 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ e $87,2 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente. Com base nesses valores e das temperaturas estudadas, determinou-se a energia de ativação (E_a) na ausência e na presença de BuSnCl_3 a partir da

Equação 3, derivada da Equação de Arrhenius que mostra a dependência exponencial entre a constante de velocidade (K_{ap}) com a temperatura (T) (FARIAS et al., 2013; OKOYE et al., 2017; ALTINO et al., 2021).

$$\ln k = \ln A - \left(\frac{E_a}{R}\right) \frac{1}{T} \quad \text{Eq. (3)}$$

Com base no gráfico de $\ln K$ vs. T^{-1} (ver Anexo A), o valor de E_a para a reação em estudo, sem adição de catalisador foi igual a $23,9 \text{ kJ mol}^{-1}$ e com o uso de BuSnCl_3 resultou em $14,3 \text{ kJ mol}^{-1}$, ou seja, houve uma expressiva redução da energia de ativação ao utilizar o BuSnCl_3 , reafirmando a eficiência do sistema catalítico de Sn(IV) para a reação em estudo.

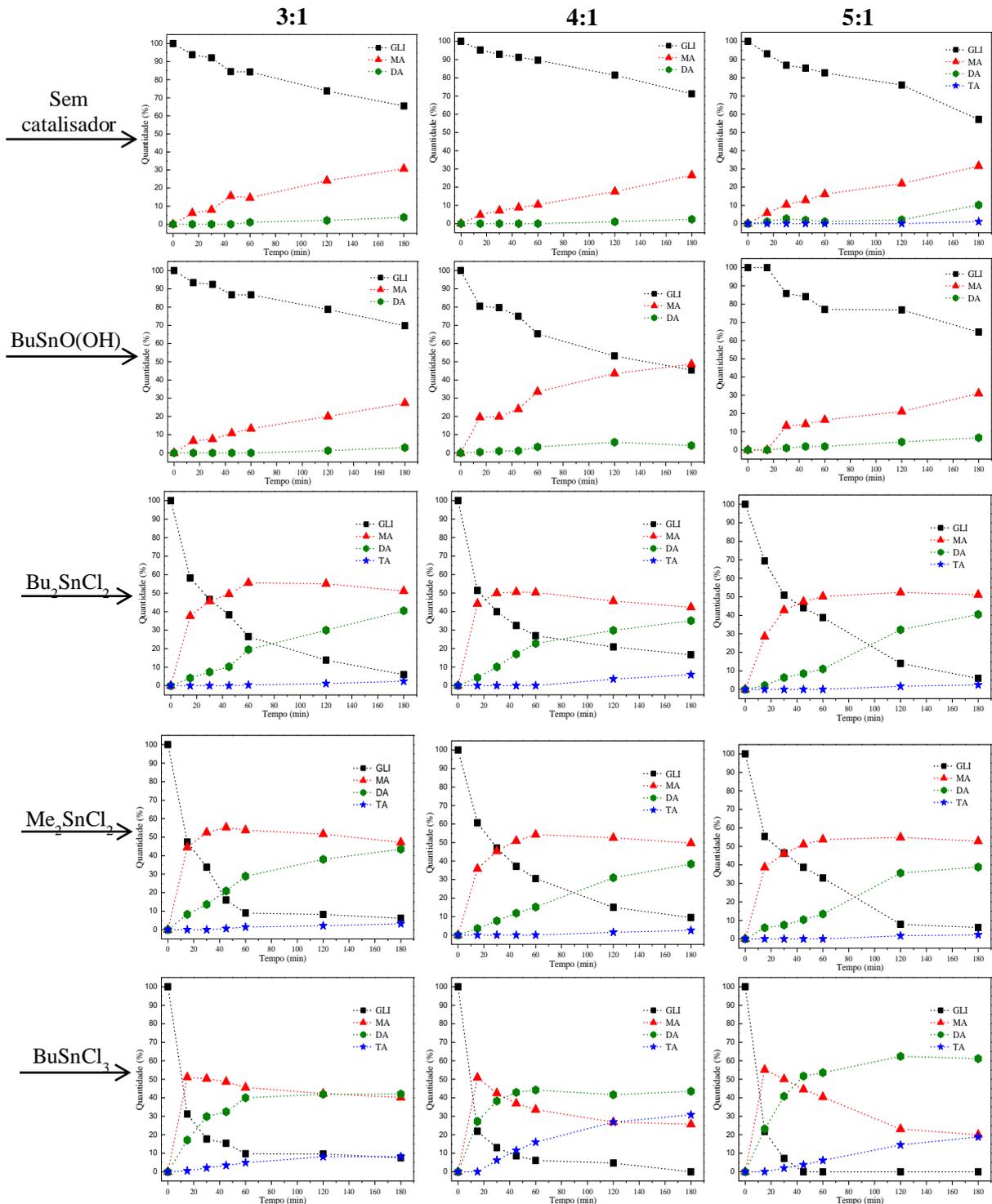
Essas observações podem ser justificadas inicialmente com a compatibilidade física dos catalisadores de estanho(IV) com o meio reacional, visto que a reação ocorre em meio mássico de GLI e AA, sem adição de solvente. Os catalisadores BuSnO(OH) , Bu_2SnO , Bu_2SnCl_2 e Me_2SnCl_2 são sólidos, enquanto o $\text{Bu}_2\text{SnLau}_2$ e o BuSnCl_3 são líquidos e se poderia esperar uma maior compatibilidade desses últimos com o meio reacional. Porém, a ordem de reatividade observada não está relacionada diretamente ao estado físico dos catalisadores e, em consequência, com sua compatibilidade ao meio reacional.

Também é importante salientar que as propriedades catalíticas de complexos organoestânicos surgem, principalmente, devido às suas características de ácido de Lewis (MENEGHETTI, M.R. e MENEGHETTI, S.M.P., 2015). Portanto, a ordem de reatividade pode ser analisada pela acidez de Lewis do catalisador, sem desconsiderar a influência da compatibilidade do catalisador no meio da reação, que não seria o fator preponderante. Além disso, os catalisadores podem ter sua atividade afetada devido a presença de ligantes volumosos, que dificultam o contato entre o Sn^{4+} e o grupo carbonila do ácido acético, levando a uma diminuição de sua atividade catalítica.

4.3.2.2 Influência da razão molar entre ácido acético e glicerol

O efeito da razão molar dos reagentes (AA:GLI) foi investigado em três diferentes proporções molares (RM = 3:1; 4:1 e 5:1), conforme descrito nos procedimentos experimentais (item 4.2.2.1, pág. 51), cujos resultados obtidos encontram-se exibidos na Figura 9.

Figura 9 – Avaliação da acetilação do glicerol sem e com diferentes catalisadores de Sn(IV) empregando diferentes razões molares de ácido acético:glicerol (RM = 3:1, 4:1 e 5:1), T = 80 °C, carga de catalisador = 0,166 mmol de Sn, e agitação do sistema = 3000 rpm.



Nota: valor absoluto dos reagentes, AA= 1,07 ou 1,44 ou 1,80 mL ; GLI = 0,5750 g; BuSnO(OH) = 0,0346 g; Bu₂SnCl₂ = 0,0504 g; Me₂SnCl₂ = 0,0365; BuSnCl₃ = 0,0468 g.

Fonte: autora, 2020.

Com base nos resultados obtidos, pode-se inferir que na ausência de catalisador, um aumento na proporção estequiométrica de 3:1 para 4:1 ou 5:1 (AA:GLI) resulta em um ligeiro aumento na conversão de GLI. Ainda considerando a reação sem catalisador, no que concerne à seletividade, ao empregar RM = 4:1 (AA:GLI), observa-se uma maior formação de MA em relação às demais condições de razões molares. Entretanto, com RM = 5:1 (AA:GLI), ocorre um sutil aumento na quantidade de DA e TA, a qual está relacionada à transformação da MA presente no meio.

Já na presença do catalisador mais ativo (BuSnCl_3), com RM = 5:1 (AA:GLI), em apenas 45 min de reação ocorre a máxima conversão de GLI, com maior seletividade para DA, a qual é diminuída ao empregar RM = 4:1 (AA:GLI), que, por sua vez, apresenta mais formação de TA em relação às demais razões molares avaliadas.

De modo geral, os resultados obtidos sugerem que este parâmetro não provoca influência significativa nas taxas de reação, tanto na ausência quanto na presença de um catalisador, uma vez que, as diferentes quantidades aplicadas de reagentes não demonstraram diferenças apreciáveis de conversão de GLI, tal como observado por ALTINO et al., 2021. Essas observações são corroboradas pela determinação das constantes aparentes de velocidade nas condições de RM (AA:GLI) estudadas (3:1, 4:1 e 5:1), conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4 – Taxas das constantes aparentes de velocidade (K_{ap}) em função das razões molares avaliadas, RM = 3:1, 4:1 e 5:1 (AA:GLI).

Catalisador	$k_{ap} \times 10^{-3} \text{ (h}^{-1}\text{)}$		
	3:1	4:1	5:1
Sem catalisador	2,5	2,7	4,7
BuSnCl_3	57,7	67,9	87,9

Fonte: autora, 2020.

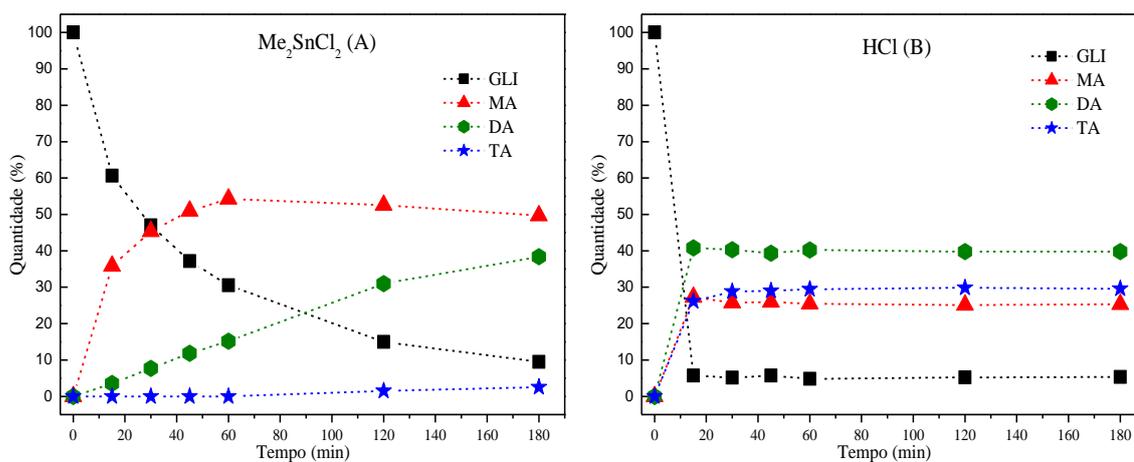
Com pode ser visto na Tabela 4, nota-se que os valores de K_{ap} não apresentam diferenças significativas, sugerindo assim, que o aumento da RM (AA:GLI) não expressa maiores contribuições na velocidade da reação. Em contrapartida, a seletividade mostra uma forte dependência com esse parâmetro, e tais resultados mostram concordância com trabalhos da literatura (TESTA et al., 2013; MUFRODI, Z. et al., 2014; ZHOU, L. et al., 2013), cuja utilização de RM = 6:1 e 9:1 (AA:GLI) não mudou expressivamente a conversão de glicerol e nem resultou em altas quantidades de DA e TA. Esse fato pode estar associado ao excesso de

ácido acético no meio reacional e à possível formação de água no processo, que estaria limitando a produção dos compostos (KIM, I. et al., 2014; MELERO, J. et al., 2007).

Os próximos resultados baseiam-se nos aspectos mecanísticos da rota em estudo, pois, conforme visto na Revisão Bibliográfica (Seção 1), segundo MENEGHETTI et al., 2015, os dois mecanismos principais propostos para as reações de esterificação conduzidas com complexos de Sn(IV) compreendem a coordenação de ácido de Lewis típica ou a coordenação seguida de troca de ligantes. E, nesse sentido, caso o processo via troca de ligantes fosse aplicável à acetilação do glicerol com ácido acético, deve-se ponderar a possível liberação de HCl no meio reacional, uma vez que, o ácido acético pode realizar a protonólise do substituinte cloro do catalisador e, conseqüentemente formar HCl, o qual poderia contribuir com seu efeito como catalisador.

Nessa perspectiva, primeiramente, realizaram-se testes catalíticos por meio de reações de acetilação conduzidas com o Me_2SnCl_2 e o HCl, adotando-se os respectivos centros ativos para o cálculo da carga do catalisador, assim, manteve-se a mesma proporção de 0,166 mmol, tanto para Sn quanto para H^+ adicionado, objetivando a comparação direta dos perfis obtidos com as reações realizadas sob a quantidade de sítios catalíticos disponíveis em ambos reagentes. Os resultados desse teste estão demonstrados na Figura 10.

Figura 10 – Acetilação do glicerol conduzida com HCl e Me_2SnCl_2 na mesma proporção molar de sítios ativos (0,166 mmol) a 80 °C e RM = 4:1 (AA:GLI).

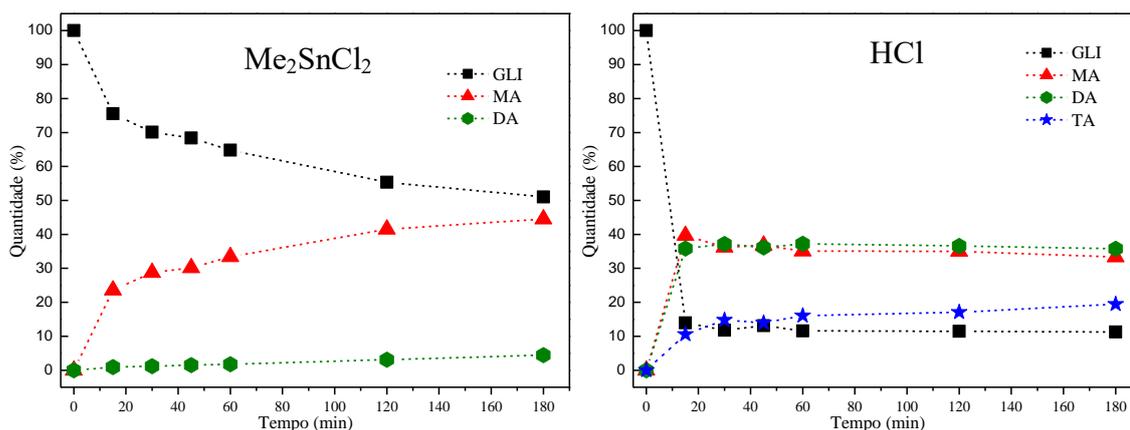


Fonte: autora, 2019.

A Figura 10 mostra que ao relacionar as mesmas quantidades de centros catalíticos adicionados (0,166 mmol de Sn e H⁺) são gerados perfis bem diferentes para o Me₂SnCl₂ e o HCl, exemplificando, nota-se que em apenas 15 min de reação já ocorre uma expressiva conversão de glicerol (~94%) utilizando o HCl, o que confirma sua alta reatividade, além disso sua baixa seletividade entre as espécies em todos os tempos reacionais demonstra sua enorme diferença quanto ao perfil exibido pelo catalisador Me₂SnCl₂, no qual foi possível obter diferentes quantidades de MA, DA e TA ao longo da reação, e é justificado pelos podem ter sua atividade afetada devido a presença de ligantes volumosos, que dificultam o contato entre o Sn⁴⁺ e o grupo carbonila do ácido acético, levando à uma diminuição de sua atividade catalítica.

No segundo teste proposto, buscou-se avaliar a quantidade máxima de espécies ácidas que seriam passíveis de serem originadas do Me₂SnCl₂ – considerando a possibilidade do mecanismo troca de ligantes – assim, para simular a protonação dos 2 ligantes cloro do Me₂SnCl₂, adicionou-se 2 vezes mais de HCl na reação. Ambas as reações foram conduzidas em condições reacionais mais brandas, como descritas nos procedimentos experimentais (item 4.2.2.1, pág. 51). Os resultados desse 2º teste são mostrados na Figura 11.

Figura 11 – Acetilação do glicerol conduzida sob as mesmas condições reacionais, 40 °C e RM = 3:1 (AA:GLI), considerando a possível liberação de duas moléculas de HCl no meio reacional utilizando a carga de Sn = 0,166 mmol (Me₂SnCl₂) e de H⁺ (HCl) = 0,332 mmol.



Fonte: autora, 2019.

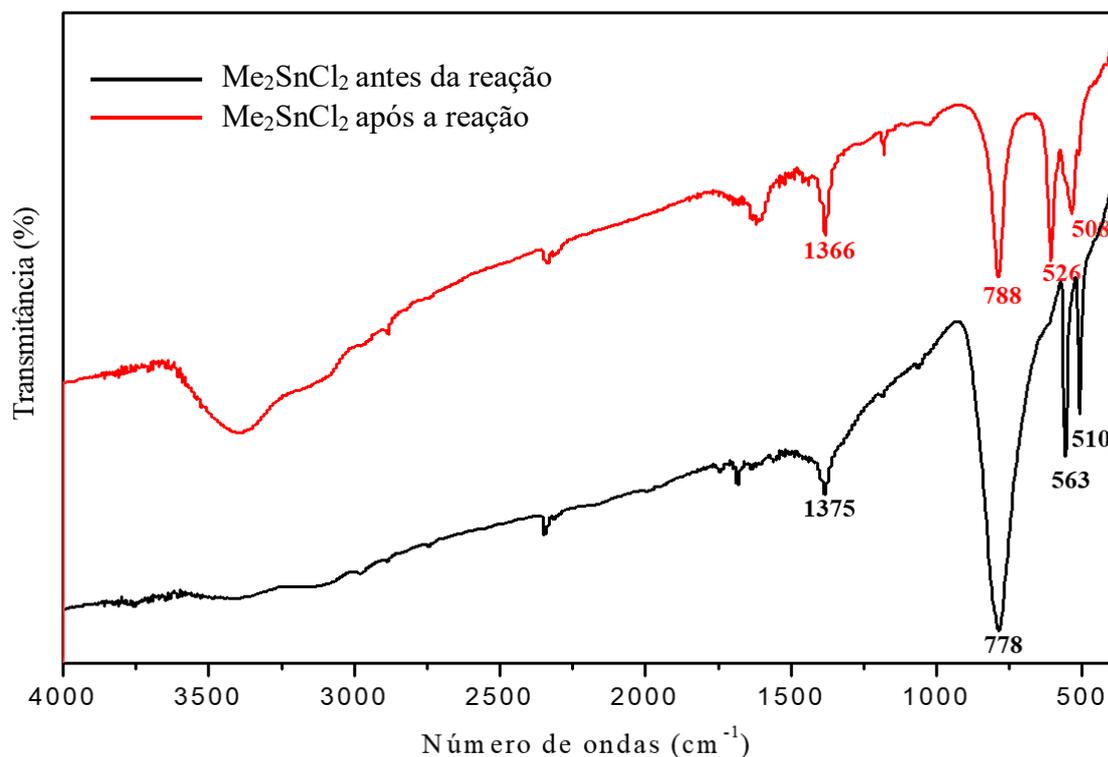
O segundo ensaio, exibido pela Figura 12, revela que ao adicionar uma carga duas vezes maior de HCl (0,332 mmol) em condições mais brandas de reação, é possível avaliar

mais claramente que a suposta premissa de formação de haleto de hidrogênio no meio reacional não seria válida, pois, pode-se notar que o perfil de conversão do glicerol com HCl permanece análoga a anterior, demonstrando apenas sutis decréscimos na seletividade das acetinas, provavelmente ocasionada pela mudança da condição reacional. Além disso, nessas condições, observa-se que o uso de Me_2SnCl_2 não implica na formação de TA, o que poderia vir a acontecer se HCl estivesse sendo formado, considerando os perfis obtidos no teste.

Diante dessa conjuntura, observaram-se tendências que levam a afirmar que o mecanismo via troca de ligantes não estaria ocorrendo no sistema catalítico empregado neste trabalho. Entretanto, tal afirmação necessita-se apoiar-se em outros estudos, os quais são descritos a seguir.

O teste subsequente refere-se à análise de FTIR do catalisador Me_2SnCl_2 antes e após reação de 2 h com ácido acético (Figura 12), a fim de verificar possíveis mudanças nas ligações dos grupos funcionais presentes na estrutura do mesmo.

Figura 12 – Espectros no infravermelho médio referentes ao catalisador Me_2SnCl_2 antes e após reação de 2 h a 80 °C com ácido acético.



Fonte: autora, 2019.

Com base na análise dos espectros exibidos na Figura 12, pode-se notar que mesmo após a reação de 2 h do Me_2SnCl_2 com ácido acético ainda há a presença de bandas indicativas da vibração simétrica de Sn–C em 508 cm^{-1} e 526 cm^{-1} , assimétrica em 563 cm^{-1} e 510 cm^{-1} e vibrações assimétricas de CH_3 em 778 cm^{-1} e 788 cm^{-1} , além de outras vibrações relativas à deformação assimétrica de CH_3 localizadas em 1375 cm^{-1} e 1366 cm^{-1} (GOEL, et al., 1975; LANDRY et al., 1985).

A Tabela 5 mostra as principais bandas de vibrações referentes aos espectros do catalisador Me_2SnCl_2 com base na literatura (TERRA et al., 1998; LUCENA et al., 2013; GOEL, et al., 1976; LANDRY et al., 1985).

Tabela 5 – Principais bandas de absorção observadas para o catalisador Me_2SnCl_2 antes e após reação com ácido acético a $80\text{ }^\circ\text{C}$ por 2 h.

Bandas (cm^{-1})		
Atribuições	Me_2SnCl_2 antes	Me_2SnCl_2 após reação
Vs Sn–C	508	526
V as Sn–C	563	510
CH_3	778 e 1375	788 e 1366

Fonte: autora, 2019.

É importante ressaltar que o estiramento referente ao Sn–Cl não é observado, pois este possui comprimento de onda de 282 cm^{-1} , e é inferior ao limite de números de ondas de 400 a 4000 cm^{-1} (NUNES, 2015). No entanto, foi possível verificar que as outras bandas principais de absorção do catalisador de Sn permaneceram intactas após reação com ácido acético, nos levando a acreditar que não houve mudança expressiva na estrutura química do catalisador e confirmando as suposições dos testes anteriores.

Para a finalização desse estudo, realizaram-se experimentos referentes à estrutura química de um dos catalisadores de Sn(IV), referente ao BuSnCl_3 sob diferentes condições, por meio da técnica de RMN de ^{13}C e ^1H , cujos resultados originados dos espectros das diferentes amostras empregadas (ver anexo B) estão representados pela Tabela 6, que trata-se dos deslocamentos químicos dos sinais obtidos.

Tabela 6 – Deslocamentos químicos (ppm) observados nos espectros de RMN ^{13}C do BuSnCl_3 , em contato com ácido acético e após a reação de acetilação^a.

Grupos	AA	BuSnCl_3	$\text{BuSnCl}_3 + \text{AA}$	$\text{BuSnCl}_3 + \text{AA} + \text{GLI}$
C1 carbonila	178,0	–	177,7	176,0
C2 metil	20,8	–	20,8	20,8
C1 butil	–	13,4	13,3	13,4
C2 butil	–	25,7	25,6	25,5
C3 butil	–	26,8	26,9	27,0
C2 butil	–	32,9	33,7	34,0
MA + DA + TA	–	–	–	170,0-172,0

Nota: ^a 80 °C, 1 h, sob agitação.

Fonte: autora, 2020.

Através dos resultados de RMN obtidos e disponíveis na Tabela 6, pode-se inferir com maior propriedade que não ocorre formação do ácido de Brønsted (HCl), pois não se observa a presença de sinais diferentes aos do butil e dos respectivos reagentes do sistema em estudo. Caso estivesse ocorrido à troca de substituintes no catalisador, seria notória a presença de deslocamentos químicos de ^{13}C de outras espécies diferentes. Além disso, são detectados sinais respectivos a MA, DA e TA, na faixa de 170,0-172,0 ppm, comprovando que de fato, a reação de acetilação do glicerol ocorreu (SUSTERE et al., 2014; MEIRELES et al., 2013).

Cabe salientar, que estes resultados estão em consonância com NUNES et al., 2017, cujos estudos computacionais e de RMN de Sn^{119} para os catalisadores Bu_2SnCl_3 e BuSnCl_3 na esterificação de ácido oleico com metanol- d_4 não apresentou nenhuma mudança significativa nos substituintes de estanho, e que, portanto, as duas espécies de Sn(IV) estariam atuando via mecanismo clássico de ácidos de Lewis.

Diante desse contexto, a acetilação do glicerol com ácido acético conduzida com catalisadores de Sn(IV) ocorre via mecanismo clássico de ácidos de Lewis, cujo Sn(IV) ativa o grupo carbonila da molécula de ácido acético e facilita o ataque da hidroxila do glicerol e então, após sucessivas adições nucleofílicas à carbonila seguidas de eliminações, obtêm-se MA, DA e TA (MENEGHETTI et al., 2015; KONG et al., 2016).

Por fim, para ratificar a eficiência dos catalisadores de Sn(IV), em especial o BuSnCl_3 , a Tabela 7 demonstra uma comparação da atividade do catalisador aqui proposto com outros da literatura científica.

Tabela 7 – Comparação do sistema catalítico de Sn(IV) estudado com outros trabalhos da literatura.

Referências	Catalisador	T (°C)	RM AA:GLI	t (h)	C_{GLI} (%)	MA/DA/TA (%)
	Materiais					
Melero et al., 2007	mesoestruturados funcionalizados	125	9:1	4	90	15/45/35
Zhou et al., 2013	Amberlyst-15	110	9:1	5	91	9/47/45
Testa et al., 2013	SAS	105	3:1	0,5	99	49/51
Rodríguez e Gaigneaux, 2012	Amberlyst-36	105	8:1	0,5	96	70/5
Hu et al., 2015	Sb_2O_5	120	6:1	3,5	97	49/45/6
Rastegari et al., 2015	Amberlyst-36	100	7:1	6	100	43/44/13
Veluturla et al., 2017	Heteropoliácido suportado por césio (CsPWA)	110	9:1	2	98	25/58/15
Goscianska et al., 2019	Carbonos mesoporosos	110	9:1	6	95	58/20/22
Este trabalho	BuSnCl_3 (BTC)	80	4:1	3	100	26/43/31

Por meio da Tabela 7 é possível observar que o BuSnCl_3 leva à conversão total de GLI e mostra seletividade promissora (25,7, 43,5 e 30,8% para MA, DA e TA, respectivamente) sob condições de reação consideradas leves ($80\text{ }^\circ\text{C}$, RM-AA:GLI = 4: 1 sob 3 horas de reação) em detrimento aos sistemas atuais, evidenciando assim o grande potencial de espécies de Sn(IV) para catalisar a reação de acetilação do glicerol com ácido acético.

4.4 CONCLUSÕES DA SEÇÃO

O estudo realizado nesta seção demonstrou a eficácia do emprego de sistemas catalíticos à base de Sn(IV) na acetilação do glicerol, cujo estudo cinético apontou para condições de maior favorecimento à formação de produtos, quando aplicadas as condições iguais a $T = 80\text{ }^\circ\text{C}$, RM = 4:1 (AA:GLI) e 3 h de reação, as quais são consideradas leves em comparação com os trabalhos reportados, além disso, a razão molar otimizada implica também na diminuição de custos financeiros e de resíduos inerentes ao processo. O BuSnCl_3 demonstrou ser o catalisador mais ativo entre os sistemas investigados, onde houve a conversão total de GLI com seletividades apreciáveis (25,7, 43,5 e 30,8% para MA, DA e TA, respectivamente). Esses resultados foram confirmados com a determinação das constantes aparentes de velocidade (K_{ap}) e da energia de ativação (E_a), em que, para a reação realizada sem catalisador, o valor estimado da E_a foi igual a $23,9\text{ kJ mol}^{-1}$, ao passo que com o uso de BuSnCl_3 , E_a resultou em $14,3\text{ kJ mol}^{-1}$, representando uma diminuição de cerca de 50%. E por fim, o conjunto de estudos referentes a aspectos mecanísticos comprovou que não ocorre liberação de outras espécies no meio reacional, como o ácido de Brønsted – HCl, e que portanto, os catalisadores de Sn(IV) atuam nesse sistema reacional como um ácido de Lewis, via mecanismo tradicional.

SEÇÃO 3

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UMA METODOLOGIA
ANALÍTICA POR GC-FID PARA A DETERMINAÇÃO DE ACETINAS

5. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UMA METODOLOGIA ANALÍTICA POR GC-FID PARA A DETERMINAÇÃO DE ACETINAS

5.1 Introdução

O crescente interesse da conversão de glicerol em seus derivados — devido ao seu papel na consolidação da sustentabilidade do biodiesel, bem como na geração de produtos químicos valiosos — reflete na importância da produção acadêmica em trabalhos com enfoque na quantificação dos acetatos de glicerol, comumente denominadas de acetinas.

No entanto, é notório que, desenvolvimento e validação de métodos para a determinação de acetinas é tema de relativa escassez na literatura científica (ver Seção 1). A maior dificuldade pode estar relacionada com a pureza dos padrões de MA e DA, que são comercializados contendo todos os compostos acetilados mais o glicerol, o que também nos impulsiona a contribuir com mais estudos na área.

Neste cenário, as principais técnicas de caracterizações das acetinas envolvem, RMN (NEBEL et al., 2008; MEIRELES et al., 2011; SUSTERE et al., 2014); GC-FID e GC/MS (MELERO et al., 2007; RODRÍGUEZ E GAIGNEAUX., 2012; TESTA et al., 2013; ZHOU et al., 2013; GHOREISHI et al., 2013; HU et al., 2015; RASTEGARI et al., 2015; VELUTURLA et al., 2017; GOSCIANSKA et al., 2019), e mais recentemente, HPLC (GOMES et al., 2020), conforme documentado na Revisão Bibliográfica (Seção 1).

É importante salientar que as poucas alternativas de metodologias apresentadas por RMN ou HPLC, apresentam alguns inconvenientes, por exemplo, o aparelho de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) não é encontrado em muitos laboratórios, visto seu alto valor comercial e de manutenção, ao passo que, o emprego de solventes utilizados na confecção da fase móvel para o uso do HPLC, implica na geração de resíduos, portanto, a utilização de tais métodos referenciais, pode ser desfavorável quanto à prática de análises rotineiras.

Atualmente, a determinação de acetinas, entre os diversos autores, é popularmente baseada em GC-FID, sendo a detecção, na maior parte dos casos, feita por GC-MS, o qual, assim como o aparelho de RMN, demanda elevados custos econômicos, ademais requer analistas experientes.

Dessa forma, faz-se necessário, que sejam desenvolvidas novas metodologias para atender e diversificar as propostas existentes na área de determinação dos produtos obtidos da acetilação de glicerol.

A cromatografia gasosa é frequentemente disseminada por possuir características muito valiosas, tais como: significativa capacidade de resolução apresentada pelas colunas utilizadas (i.e., colunas capilares), elevada sensibilidade proporcionada pelos mais diversos detectores, necessita de mínimas quantidades de amostra etc (COLLINS, 2006). Ademais, a capacidade de separação oriunda dos métodos cromatográficos contribui substancialmente com análises mais rápidas em consonância com a quantificação eficiente dos compostos.

Diante desse contexto, o presente estudo mostra-se pioneiro na área, ao propor o desenvolvimento e validação de uma metodologia analítica, utilizando a técnica de GC-FID para a determinação das acetinas oriundas do processo de esterificação do glicerol com ácido acético, uma vez que é encontrado apenas um método validado e por HPLC.

5.2 Procedimentos experimentais

5.2.1 Desenvolvimento da metodologia analítica

5.2.1.1 Caracterização prévia das acetinas

Inicialmente, a ordem de eluição dos analitos GLI, MA, DA e TA foi determinada a partir de comparações com os estudos de NEBEL et al., 2008 e LOPES, 2013, por GC-FID e HPLC-RID, respectivamente, conforme mostrado na Seção 2. Logo após, em posse dos padrões das acetinas (MA, DA e TA), realizou-se inicialmente a caracterização dos padrões analíticos de MA e DA por ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono (^1H NMR e ^{13}C NMR), pois, conforme mencionado anteriormente, esses padrões geralmente são comercializados com quantidades variáveis de outros componentes acetilados do glicerol, e também de glicerol. Portanto, essa investigação foi delineada segundo os estudos de CASAS et al., 2012 e SUSTERE et al., 2014.

Desse modo, prepararam-se soluções dos padrões analíticos de MA e DA, por meio da adição de 150 μL do respectivo padrão comercial com 500 μL de clorofórmio deuterado (CDCl_3) em um tubo de *ependorf*, o qual foi agitado vigorosamente e em seguida teve seu conteúdo transferido para um tubo de RMN, para análise subsequente. Posteriormente, repetiu-se essa análise apenas para o padrão de DA utilizando DMSO- d_6 como solvente no preparo de amostra.

A partir da leitura dos resultados obtidos no teste de RMN e dando sequência à determinação das acetinas por GC-FID, iniciou-se ensaios relativos ao preparo de amostra. Desse modo, inicialmente manteve-se a utilização do padrão interno (benzoato de benzila –

BZB) com o intuito de minimizar erros de injeções do volume de amostra, através da razão das áreas dos analitos de interesse pelas áreas do PI. Este, por sua vez, deve apresentar um ou mais dos seguintes requisitos: ser similar à espécie a ser quantificada, apresentar alto grau de pureza, não estar presente na amostra, eluir separadamente dos analitos de interesse, mas que seu tempo de retenção seja próximo aos mesmos, e que seja acessível e barato (AUGUSTO et al., 2003; RIBANI et al., 2004).

Diante desse contexto, designaram-se as seguintes condições de preparo de amostra:

- (a) 0,50 g de DA + 0,15 g de GLI + 2 mL de solução de BZB em etanol ($3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$);
- (b) 0,20 g de DA + 0,06 g de GLI + 2 mL de solução de BZB em etanol ($3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$);
- (c) 0,10 g de DA + 0,03 g de GLI + 2 mL de solução de BZB em etanol ($3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$);
- (d) 0,10 g de DA + 0,03 g de GLI + 0,07 g de BZB, solubilizados em 0,5 mL de etanol. Cabe salientar que, as quantidades supracitadas foram determinadas empiricamente, ou seja, a partir dos resultados alcançados definiram-se novos ensaios, e então com a amostra escolhida, iniciaram-se os testes para a escolha da coluna a ser utilizada no método, os quais serão descritos a seguir.

5.2.1.2 Escolha da coluna cromatográfica

A escolha da coluna é um dos principais fatores responsáveis pelo desempenho da metodologia analítica, uma vez que ela desempenha a função de separar os analitos através de diferentes interações com a fase estacionária (LANÇAS, 2016). Portanto, esse parâmetro foi determinado com base nos relatos que abordam a técnica de GC-FID para a caracterização das acetinas (ver Seção 1 – Tabela 5, pág. 43), em consonância com a disponibilidade de colunas do laboratório (GCAR), o qual foi o local de desenvolvimento do método. Portanto, analisou-se uma mesma solução contendo os padrões de GLI, MA, DA e TA (0,10 g de DA + 0,03 g de GLI + 0,07 g de BZB solubilizadas em 0,5 mL de etanol) em treze colunas com distintas dimensões e fases estacionárias, as quais foram denominadas de C1 a C13, tal como mostra a Tabela 1.

É importante ressaltar que todas as análises foram realizadas sob uma mesma condição de análise, a saber: coluna X; fluxo de gás de arraste (hidrogênio) 1 mL min^{-1} ; injetor a $250 \text{ }^\circ\text{C}$, operando no modo *split* (1:20); volume de injeção $1 \text{ } \mu\text{L}$; detector FID a $250 \text{ }^\circ\text{C}$ e programa de temperatura com início a $160 \text{ }^\circ\text{C}$ e com taxa de aquecimento de $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $250 \text{ }^\circ\text{C}$, permanecendo por 2 min, totalizando em 20 min de análise.

Tabela 1 – Avaliação de diferentes colunas cromatográficas empregadas na identificação e separação das acetinas.

Coluna	Sigla (Marca)	Composição	Polaridade	Comprimento (m)	D.I. (mm)	D.F. (µm)
C1	BP1 (SGE)	100% Dimetilpolisiloxano	baixa	30	0,25	0,25
C2	VF-1MS (Varian)	100% Dimetilpolisiloxano	baixa	28	0,32	1,00
C3	ZEBRON ZB-1MS (Phenomenex)	100% Dimetilpolisiloxano	baixa	10	0,1	0,10
C4	VF-1MS (Varian)	100% Dimetilpolisiloxano	baixa	2,2	0,32	0,10
C5	RTX-5MS (Restek)	5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano	baixa	30	0,25	0,25
C6	RTX-5MS (Restek)	5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano	baixa	30	0,25	0,10
C7	HT-5 (SGE)	5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano	baixa	25	0,32	0,10
C8	NST 05 (TLC)	5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano	baixa	15	0,25	0,10
C9	VF-5HT (Varian)	5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano	baixa	4,2	0,25	0,10
C10	Cpsil 43CB (Varian)	25% cianopropil, 25% fenil, 50% dimetilpolisiloxano	média	25	0,25	0,20
C11	NST 50 (TLC)	50% fenil e 50% metil	média	30	0,25	0,15
C12	ZEBRON WAX (Phenomenex)	100% polietilenoglicol	alta	30	0,32	0,25
C3	Stabilwax (restek)	100% polietilenoglicol	alta	6	0,32	0,25

Fonte: autora, 2021.

5.2.1.3 Otimização do método cromatográfico

Almejando-se uma metodologia capaz de permitir separações eficientes dos analitos: acetinas, glicerol e benzoato de benzila (PI), no menor tempo de análise, foi realizada a otimização univariada da programação da temperatura do forno do GC, cujas condições encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Condições de programação de temperatura submetidas para a separação de GLI, MA, DA, TA e BZB (PI).

Condição	Programação de temperatura
(a)*	160 °C (5 °C min ⁻¹) 250 °C por 2 min
(b)	160 °C por 1 min (5 °C min ⁻¹) 250 °C por 2 min
(c)	150 °C por 1 min (5 °C min ⁻¹) 250 °C por 2 min
(d)	150 °C (5 °C min ⁻¹) 250 °C por 2 min
(e)	150 °C (5 °C min ⁻¹) 160 °C (30 °C min ⁻¹) 250 °C por 2 min
(f)	150 °C (5 °C min ⁻¹) 160 °C' (50 °C min ⁻¹) 250 °C por 2 min
(g)	150 °C (3 °C min ⁻¹) 160 °C' (50 °C min ⁻¹) 250 °C por 2 min
(h)	150 °C (5 °C min ⁻¹) 160 °C' (80 °C min ⁻¹) 250 °C por 2 min
(i)	150 °C (5 °C min ⁻¹) 160 °C' (100 °C min ⁻¹) 250 °C por 2 min
(j)	150 °C (5 °C min ⁻¹) 160 °C' (120 °C min ⁻¹) 250 °C por 2 min

Nota: aplicou-se o fluxo fixo de H₂ igual a 1,0 mL min⁻¹.

Fonte: autora, 2021.

Na sequência mantendo-se fixa a programação de temperatura otimizada nos testes aplicados da Tabela 2, foi realizada a otimização univariada do fluxo de gás de arraste, os quais variaram de 1,0 a 2,2 mL min⁻¹.

* (a) equivale ao método analítico aplicado na seleção da coluna cromatográfica deste estudo.

Com os resultados obtidos da otimização da programação de temperatura e do fluxo de H_2 , avaliou-se visualmente a eficiência da separação dos picos, assim como pela resolução (R_s), a qual representa uma relação quantitativa entre dois picos, conforme expressa a Equação 1. De forma geral, quando R_s for igual a 1, tem-se uma separação aceitável entre os picos para fins qualitativos, com 2 % de sobreposição dos picos, enquanto que, valores de $R_s \geq 1,25$ são recomendados para fins quantitativos, pois indica separação completa (COLLINS et al., 2006).

$$R_s = \frac{1}{2} \frac{(t_2 - t_1)}{(w_1 + w_2)} \quad \text{Eq. (1)}$$

Em que, t_1 e t_2 = distância entre os picos 1 e 2; e W_1 e W_2 = base da largura dos picos 1 e 2.

Após a finalização de todos os procedimentos do desenvolvimento do método, deu-se início ao processo que confere maior confiança às informações obtidas com o novo método analítico, que corresponde à validação, a qual será descrita no item que segue.

5.2.3 Validação do método analítico

O processo de validação, neste estudo, foi realizado baseado em documento de orientação do INMETRO (**DOQ-CGCRE-008/2020**), órgão responsável por acompanhar e credenciar a competência de laboratórios de ensaios do Brasil, e em publicações da literatura científica (CASS et al., 2001; LEITE et al., 2002; BRITO et al., 2003; RIBANI et al., 2004; NASCIMENTO et al., 2018). Dessa maneira, a Tabela 3 exemplifica os parâmetros de desempenho que devem ser avaliados na validação, e os respectivos ensaios que foram executados.

De modo geral, segundo as referências supracitadas adotadas, o processo de validação contempla os seguintes parâmetros de desempenho:

1. Seletividade ou Especificidade: avalia a presença de componentes em exame que possam interferir na determinação das substâncias de interesse, ou seja, este parâmetro garante que o pico de resposta obtido seja exclusivamente da espécie alvo do trabalho.

2. Linearidade e Faixa de trabalho: a linearidade envolve a relação diretamente proporcional o sinal analítico (área) e a concentração da amostra, a qual responderá a uma

determinada faixa/intervalo de concentração especificada, que é denominada faixa de trabalho.

3. Limite de Detecção (LD): é a menor concentração da espécie de interesse na amostra que pode ser detectada pela técnica aplicada, mas não necessariamente quantificada com precisão e exatidão adequadas.

4. Limite de Quantificação (LQ): é a menor quantidade do analito na amostra que pode ser quantificada com precisão e exatidão dentro do critério de aceitação adequado.

5. Precisão: avalia o grau de concordância entre os vários valores experimentais obtidos por meio da (I) precisão instrumental, (II) repetitividade (ou precisão intra-ensaio) e (III) precisão intermediária (reprodutibilidade).

6. Exatidão (Recuperação): verifica o grau de proximidade entre o valor da medida experimental e o valor definido como verdadeiro de acordo com os princípios metrológico.

7. Robustez: trata-se da habilidade do método em apresentar resultados inalterados na eventual modificação de variáveis sutis, tais como, troca de equipamento, solventes entre outras.

Diante desse contexto, a Tabela 3 exemplifica as condições analíticas dos parâmetros supracitados e seus respectivos critérios avaliativos.

Tabela 3 – Parâmetros de desempenhos e condições experimentais de ensaios propostos para a execução da validação.

(continua)

Ensaio	Condições de análise	Avaliação
<ul style="list-style-type: none"> ○ Seletividade 	<p>- Análises, em duplicata, do solvente utilizado no preparo das amostras (etanol); e de amostra reacional com e sem fortificação dos analitos, GLI, MA, DA e TA.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Comparações entre os tempos de retenção do solvente e da amostra reacional. ▪ Determinação do fator de separação dos picos ou fator seletividade (α), conforme a Equação 2: $\alpha = \frac{t_{RB}}{t_{RA}} \quad (\text{Eq.2})$ <p>Em que, t_{RB} e t_{RA} = tempos de retenção dos picos observados.</p>
<ul style="list-style-type: none"> ○ Linearidade e Faixa de trabalho 	<p>- Construção de curvas analíticas dos quatros analitos de interesse, GLI, MA, DA e TA a partir da adição de 5 mL de solução de PI ($C = 3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$ em etanol) nas seguintes faixas de concentrações (g mL^{-1}): GLI – 0,0091 a 0,0143; MA – 0,0080 a 0,0135; DA – 0,0143 a 0,0241 e TA – 0,0067 a 0,0112.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ As curvas analíticas foram construídas com base no método de padronização interna, o qual implica em: <p style="text-align: center;"><i>área do analito de interesse/área do PI × concentração do analito</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Com base nos resultados obtidos determinaram-se as equações das retas e os valores dos coeficientes de correlação (R); ▪ Construção da curva de linearidade para a avaliação da faixa linear de trabalho com base nos pontos da curva analítica e das áreas obtidas; ▪ Todos os dados foram tratados com o programa Origin®, versão 6.0.

Tabela 3 – Parâmetros de desempenhos e condições experimentais de ensaios propostos para a execução da validação.

(continua)

Ensaio	Condições de análises	Avaliação
<ul style="list-style-type: none"> ○ Limite de Detecção (LOD) 	<ul style="list-style-type: none"> - Construção das curvas analíticas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Com base nos parâmetros das curvas analíticas, aplicou-se a Equação 3: $\text{LOD} = 3,3 \times \frac{s}{S} \quad (\text{Eq. 3})$ <p>Em que, s = desvio padrão da resposta analítica; e S = inclinação (coeficiente angular) da curva de calibração.</p>
<ul style="list-style-type: none"> ○ Limite de Quantificação (LOQ) 	<ul style="list-style-type: none"> - Construção das curvas analíticas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Com base nos parâmetros das curvas analíticas, aplicou-se a Equação 4: $\text{LOQ} = 10 \times \frac{s}{S} \quad (\text{Eq. 4})$
<ul style="list-style-type: none"> ○ Precisão 	<ul style="list-style-type: none"> a) Repetitividade (ou precisão intra-ensaio) <ul style="list-style-type: none"> - Dez preparações diferentes de uma mesma amostra, efetuadas no mesmo dia, pelo mesmo analista (A), e analisadas em triplicata; - As preparações envolveram a pesagem de 0,2500 g de DA e 0,0625 g de GLI e posterior adição de 5 mL de solução de PI em etanol ($3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Com base nas médias das áreas corrigidas das análises, avaliaram-se os desvios-padrões (σ) e os coeficientes de variação (CV). $\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (\text{Eq. 5})$
	<ul style="list-style-type: none"> b) Reprodutibilidade (ou precisão intermediária) <ul style="list-style-type: none"> - Dez preparações diferentes de uma mesma amostra dos padrões analíticos (com quantidades iguais ao teste repetitividade), preparadas por um segundo analista (B), em dias diferentes da repetitividade, e analisadas em triplicata. 	$\text{CV} = \frac{\sigma \times 100}{\bar{X}} \quad (\text{Eq. 6})$ <p>Em que, σ = desvio-padrão; x_i = valor medido i; n = quantidade de dados; \bar{X}: média aritmética dos dados; e CV = coeficiente de variação (LEITE, 2002).</p>

Fonte: autora, 2021.

Tabela 3 – Parâmetros de desempenhos e condições experimentais de ensaios propostos para a execução da validação.

(continua)

Ensaio	Condições de análise	Avaliação
<p>○ Exatidão (Recuperação)</p>	<p>- Análises, em triplicata, de amostra reacional da acetilação de glicerol sem fortificação e com fortificação com os padrões analíticos (<i>spike</i>), isto é, foi adicionado quantidades de DA (a qual contém GLI, MA, DA e TA) às amostras reacionais em três níveis de concentração das curvas analíticas, os quais contemplam as faixas baixa, média e alta de concentração em g mL⁻¹;</p> <p>- Na quantificação da recuperação dos analitos na mistura reacional, adotou-se o fator de resposta relativo com adição de padrão interno, o qual é utilizado para corrigir a resposta do detector em relação ao analito de interesse (NASCIMENTO et al., 2018). Esse parâmetro foi obtido com base no preparo e análise de uma solução dos padrões analíticos no mesmo dia do ensaio da recuperação.</p>	<p>▪ Os dados foram tratados conforme a determinação do fator de resposta relativo de cada analito (RF) e em seguida determinaram-se as respectivas concentrações (C_x) das amostras fortificadas e não fortificadas com os padrões analíticos a partir das equações que seguem:</p> $RF = \frac{C_x \times A_{PI}}{C_{PI} \times A_x} \quad (\text{Eq. 7})$ <p>Em que, RF = fator de resposta relativo; C_x = concentração do analito (g mL⁻¹); A_{PI} = área do padrão interno; A_x = área do analito de interesse.</p> $C_x = \frac{RF \times A_x \times C_{PI}}{A_{PI}} \quad (\text{Eq. 8})$ <p>▪ Após a determinação das concentrações com base na Eq. 8, calculou-se a recuperação conforme equação abaixo:</p> $\text{Recuperação (\%)} = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 9})$ <p>Em que, C₁ = concentração do analito na amostra fortificada; C₂ = concentração do analito na amostra não fortificada; e C₃ = concentração do analito adicionado à amostra fortificada (INMETRO, 2020).</p>

Fonte: autora, 2021.

Tabela 3 – Parâmetros de desempenhos e condições experimentais de ensaios propostos para a execução da validação.

(conclusão)

Ensaio	Condições de análise	Avaliação
<ul style="list-style-type: none"> ○ Robustez 	<ul style="list-style-type: none"> - Aplicaram-se pequenas variações no preparo de amostra: variação de solvente (isopropanol) e volume de injeção (0,5 e 1 µL); - As análises foram realizadas em triplicatas. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Comparação dos desvios-padrões obtidos no ensaio de repetitividade, os quais correspondem às condições padrões do método (Solvente = etanol e $V_{\text{injeção}} = 0,3 \mu\text{L}$) com os desvios-padrões obtidos das variações impostas neste ensaio (Solvente = isopropanol e $V_{\text{injeção}} = 0,5 \mu\text{L}$ e $1,0 \mu\text{L}$).
<ul style="list-style-type: none"> ○ Aplicação do método desenvolvido 	<ul style="list-style-type: none"> - Analisou-se uma amostra reacional da acetilação de GLI (padrão analítico) referente à condição de 2 h de reação com razão molar = 3:1 (AA:GLI) e catalisador BuSnCl_3, utilizando cerca de 0,250 g em balão de 5 ml preenchido com solução de PI ($C = 3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$). - Posteriormente, usou-se duas amostras reacionais de acetilação (sem catalisador e com BuSnCl_3) de glicerol bruto produzido e tratado no GCaR*; as condições reacionais foram: razão molar = 4:1 (AA:GLI), $T = 80 \text{ }^\circ\text{C}$ e 3 h de reação; em seguida, pesou-se cerca de 0,1 g de amostra e adicionou-se 1 mL de solução de PI ($C = 3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$). <p>*Segundo HÁJEK e SKOPAL, 2010; DA SILVA et al., 2018; MENA-CERVANTES et al., 2020.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Realizou-se a integração das áreas determinadas dos analitos de interesse, e determinaram-se os rendimentos das acetinas a partir do fator de resposta relativo, conforme equações 7 e 8, abordadas no ensaio de recuperação. Logo após, as quantidades dos analitos foram delineadas segundo a equação abaixo: $\%X = \frac{\text{RF} \times C_{\text{PI}} \times V_s \times A_x}{A_{\text{PI}} \times m_s} \times 100 \quad (\text{Eq. 10})$ <p>Em que, RF = fator de resposta relativo; C_{PI} = concentração do padrão interno (g mL^{-1}); V_s = volume de amostra (mL); A_x = área do analito de interesse; A_{PI} = área do padrão interno; m_s = massa do padrão interno (g).</p>

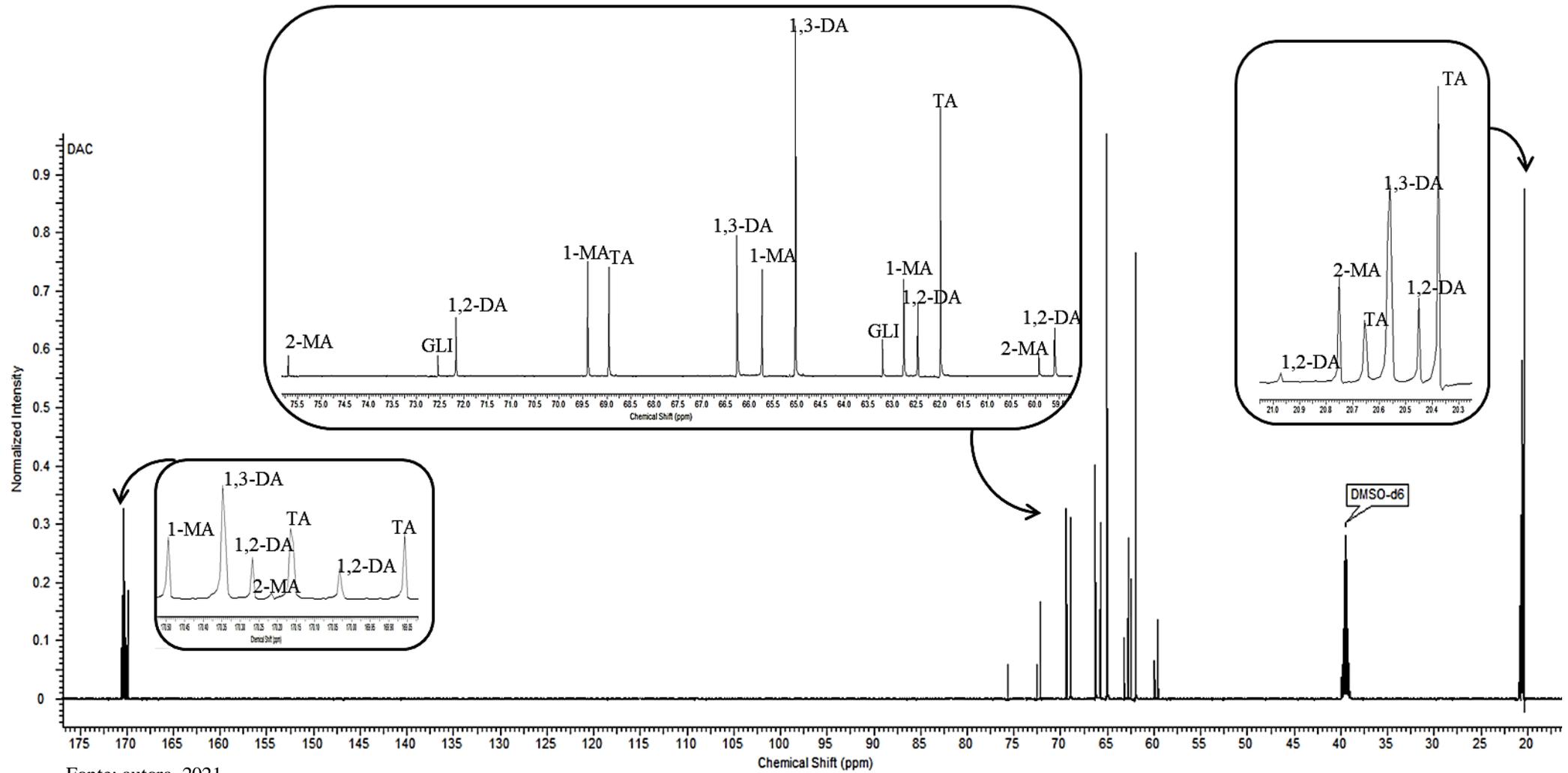
5.3 Resultados e discussão

5.3.1 Considerações iniciais

A fim de elucidar a composição percentual dos padrões comerciais de acetinas (MA e DA) fez-se o uso da técnica de RMN, cujos deslocamentos químicos, intensidade e multiplicidade dos sinais obtidos, podem fornecer informações sobre o ambiente químico do núcleo do átomo de interesse. Assim, a partir dos espectros de RMN de ^1H para MA e DA (ver Anexo A – Seção 3) observa-se a sobreposição de muitos sinais, em especial, no intervalo de 3,4–5,1 ppm, tornando esses espectros complexos para a quantificação dos compostos. Vale salientar que os perfis obtidos coincidem com CASAS et al., 2012 e SUSTERE et al., 2014.

Logo, espectros de RMN de ^{13}C , são mais apropriados para a quantificação dos componentes, pois o conjunto desse núcleo observado é menor, e assim, os sinais encontrados podem ser integrados separadamente, diminuindo assim, erros inerentes ao processo de integração (SUSTERE et al., 2014). Portanto, adotaram-se os espectros de RMN de ^{13}C do padrão comercial de DA (Figura 1) e de MA (Anexo A – Seção 3) para a determinação da quantidade percentual de cada componente na mistura dos padrões comerciais adquiridos.

Figura 1 – Espectro de RMN de ^{13}C de padrão comercial de diacetina da marca Sigma-Aldrich.



Fonte: autora, 2021.

Através da leitura da Figura 1, em consonância com CASAS et al., 2012, SUSTERE et al., 2014 e WEBSTER et al., 2014, estabeleceram-se os percentuais (% mx) de cada composto na mistura dos padrões analíticos de DA e MA (Anexo A – Seção 3) com base na Equação 11.

$$P_a = \frac{I_a}{I_x} \times \frac{M_a}{m_a} \times \frac{P_x m_x}{M_x} \times \frac{N_x}{N_a} \quad \text{Eq. (11)}$$

Em que, P = pureza analito/padrão; I = integral do analito/padrão do espectro de RMN; N = número de núcleos do analito/padrão; M = massa molecular do analito/padrão; m = massa pesada do analito/padrão.

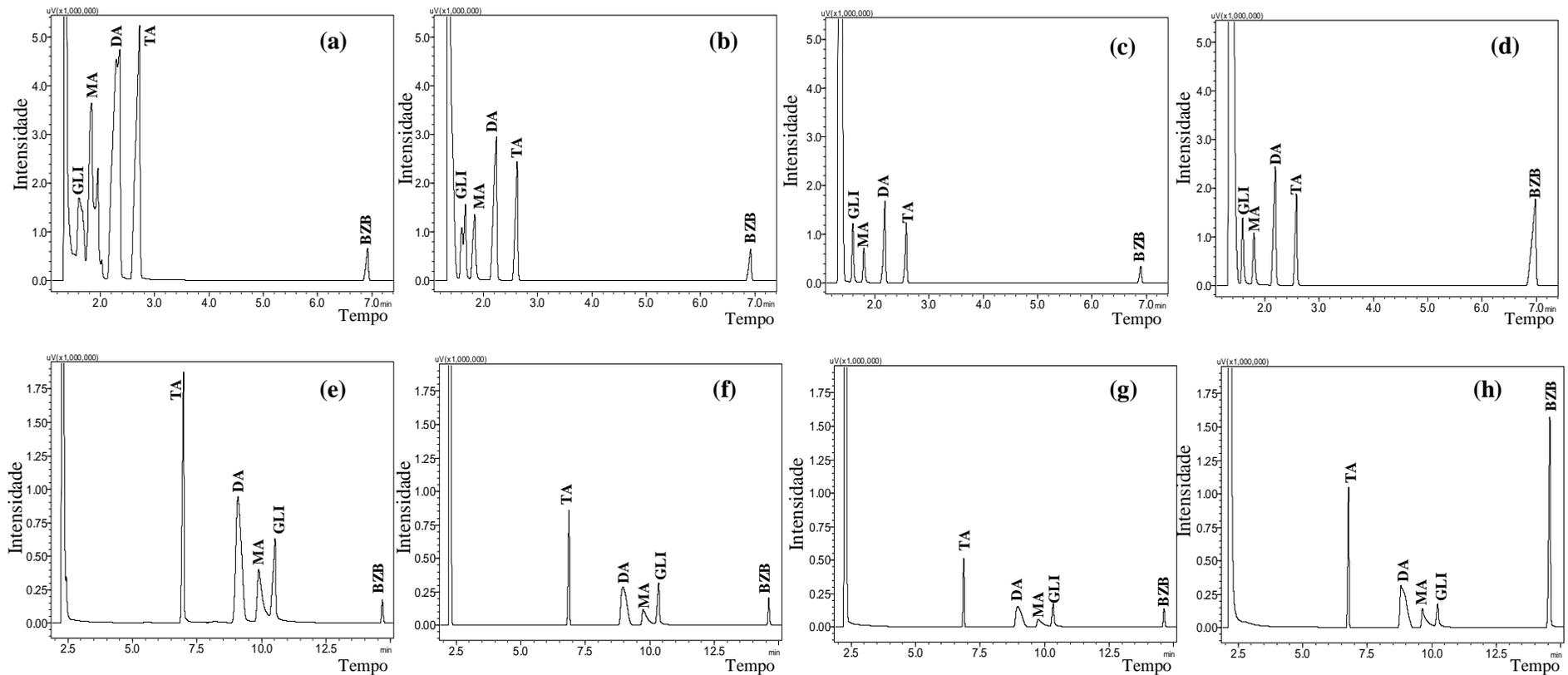
Os valores obtidos para o padrão analítico de MA foram: GLI – 2,6%, MA – 20,1%, DA – 33,9%, e TA – 43,4%. Por outro lado, no padrão de DA foram encontradas quantidades mais expressivas de todas as acetinas e glicerol, a saber: GLI – 3,7%, MA – 26,7%, DA – 47,4%, e TA – 22,2%. Diante disso, escolheu-se dar continuidade ao trabalho apenas com o padrão comercial de DA como substância base para as demais etapas do desenvolvimento do método analítico, e devido à baixa quantidade de GLI presente no *mix*, adicionaram-se quantidades de padrão analítico de GLI ao longo dos experimentos, como será visto na sequência.

5.3.2 Desenvolvimento da metodologia analítica

5.3.2.1 Preparo de amostra para a escolha da coluna

De acordo com as concentrações dos analitos determinadas anteriormente por RMN e com base nos cromatogramas obtidos no presente teste, pode-se inferir que a eluição dos analitos ocorre de acordo com suas interações com a fase estacionária (FE) da coluna capilar empregada. Dessa forma, os resultados obtidos para as diferentes quantidades de analitos testadas no preparo de amostra seguem representados pela Figura 2.

Figura 2 – Testes de preparo de amostra para verificação de capacidade da coluna cromatográfica, cujos cromatogramas de (a-d) são referentes à coluna RTX-5MS (5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano) e (e-h) são referentes à coluna ZEBRON WAX (100% polietilenoglicol), com as seguintes soluções: (a, e) 0,50 g de DA + 0,15 g de GLI + 2 mL de solução de BZB em etanol ($3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$); (b, f) 0,20 g de DA + 0,06 g de GLI + 2 mL de solução de BZB em etanol ($3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$); (c, g) 0,10 g de DA + 0,03 g de GLI + 2 mL de solução de BZB em ($3,36 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$); (d, h) 0,10 g de DA + 0,03 g de GLI + 6 μL de BZB, solubilizados em 0,5 mL de etanol.



Nota: analitos, GLI = glicerol; MA= monoacetina; DA = diacetina; TA = triacetina e PI = padrão interno (benzoato de benzila).

Fonte: autora, 2021.

Pode-se notar, que o 1º e o 2º preparo de amostra, apontam que para a coluna apolar, RTX-5MS (5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano), observa-se o surgimento de coeluição, alargamento e aparecimento de picos fantasmas (Fig. 2 a-b). A coluna polar, ZEBRON WAX (100% polietilenoglicol), por sua vez, tem o aspecto gaussiano de seus picos diminuído, visto o desproporcional achatamento do seu topo e aparecimento de caudas (Fig. 2 e-h). Tais deformações dos picos cromatográficos podem ser justificadas pela sobrecarga de amostra na coluna, ou seja, ocorre a diminuição da capacidade da fase estacionária de interagir uniformemente com os analitos introduzidos na coluna, de forma a saturá-la (NETO, 2009).

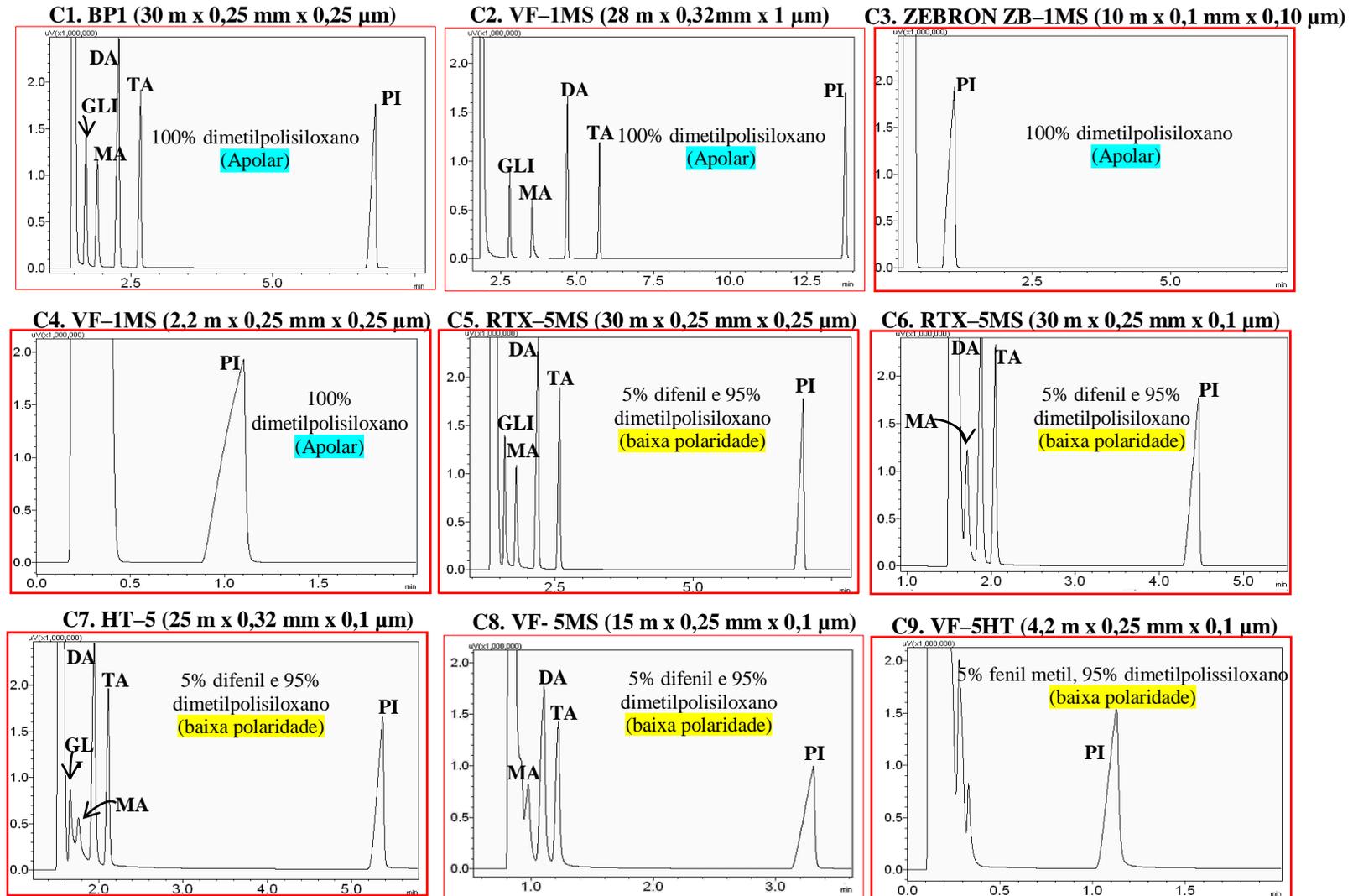
Desse modo, a 3ª condição de preparo de amostra respondeu satisfatoriamente à capacidade linear da coluna, como mostra a Fig. 2 (c), visto a obtenção de picos finos e simétricos para a coluna RTX-5MS. No que tange à coluna polar ZEBRON WAX (Fig. 2 g), nota-se que os picos dos últimos analitos continuam com a presença de caudas, a qual provavelmente está relacionada com a semelhança de polaridade dos analitos com a fase estacionária (LANÇAS, et al., 2016).

O 3º preparo foi então ajustado a fim de deixar o padrão interno mais proporcional aos analitos de interesse (Fig. 2 d e h), e, portanto, adotou-se essa preparação como a melhor condição a ser utilizada no teste das colunas, conforme será discutido no próximo item.

5.3.3.2 Escolha da coluna cromatográfica

Os principais parâmetros que afetam o desempenho da coluna envolvem: tipo de fase estacionária, espessura do filme, comprimento e diâmetro interno da coluna, temperatura, fluxo da fase móvel, volume de amostra, técnica de injeção, características da amostra etc. Seu desempenho satisfatório está associado a condições ótimas de análise, que implicam em picos simétricos, reproduzíveis, linha de base estável e análises que demandem menor tempo (COLLINS et al., 2006; LANÇAS, 2016). A fim de avaliar o conjunto desses fatores, e optar pela coluna mais apropriada, conduziram-se análises de uma mesma amostra de padrão de DA, mais GLI e PI (0,10 g de DA + 0,03 g de GLI + 6 µL de BZB em 0,5 mL de etanol) em treze colunas capilares distintas, cujos resultados obtidos estão representados pela Figura 3.

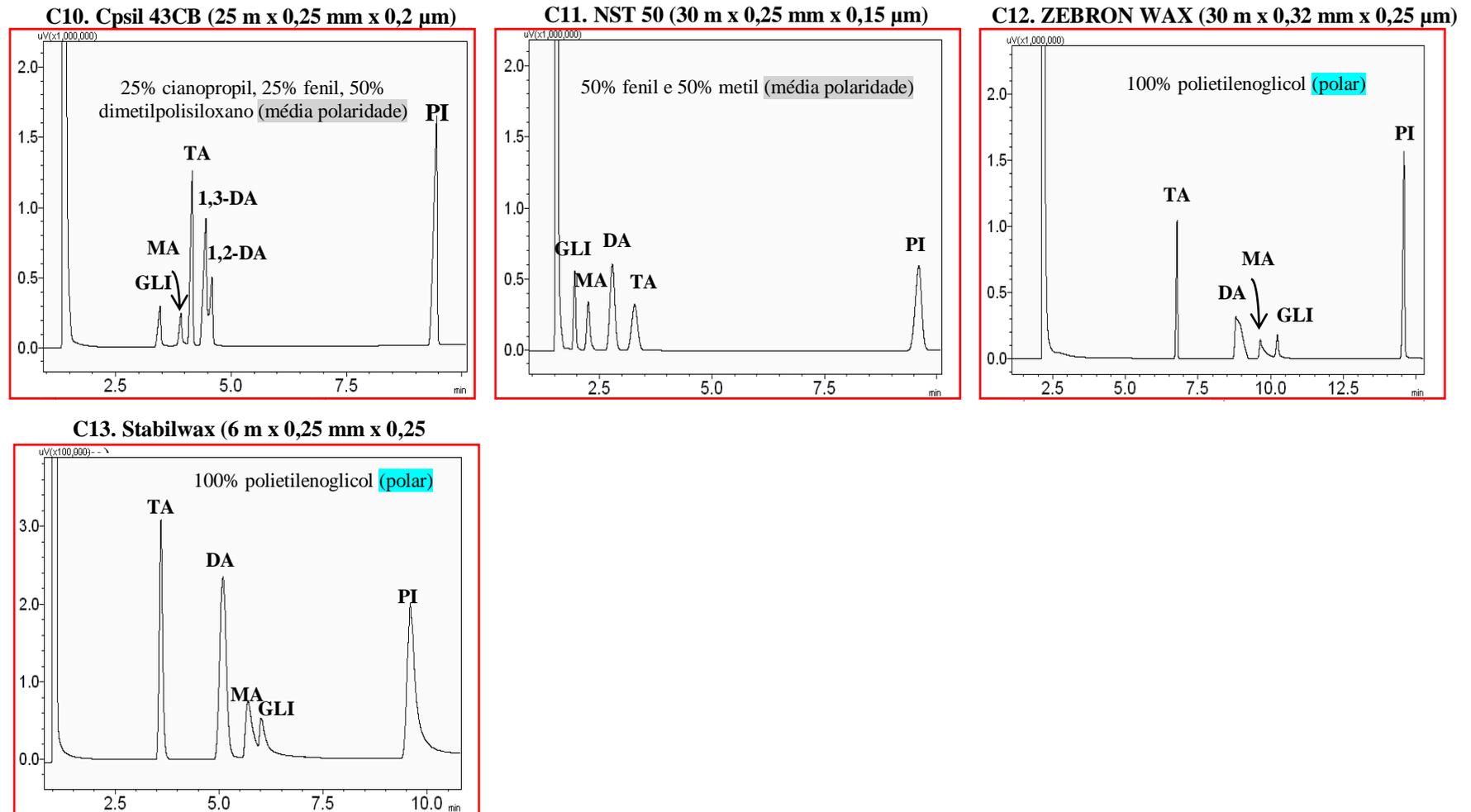
Figura 3 – Análises cromatográficas de amostra de padrão analítico de DA+GLI contendo todos os analitos em treze colunas distintas. (continua)



Nota: analitos, GLI = glicerol; MA= monoacetina; DA = diacetina; TA = triacetina e PI = padrão interno (benzoato de benzila).

Fonte: autora, 2021.

Figura 3 – Análises cromatográficas de amostra de padrão analítico de DA contendo todos os analitos em treze colunas distintas. (conclusão)



Nota: analitos, GLI = glicerol; MA= monoacetina; DA = diacetina; TA = triacetina e PI = padrão interno (benzoato de benzila).

Fonte: autora, 2021.

Com base nos resultados obtidos, pode-se inferir que, as colunas C1, C2, C3 e C4 apresentam a mesma fase estacionária (FE), a qual corresponde a 100% de dimetilpolisiloxano (baixa polaridade), que influenciará na separação dos analitos por meio de forças intermoleculares inerentes ao processo e também com base na volatilização dos compostos (FELIZZOLA et al., 2014). Nota-se que as duas primeiras colunas, C1 e C2, mostram completa eluição dos compostos, tendo como referência o tempo de retenção do pico do padrão interno (benzoato de benzila), o último eluato.

Entretanto, a sutil diferença entre ambas as colunas na separação dos picos advém de suas dimensões, uma vez que a C2 apresenta pequenas caudas nos picos de GLI e MA, o que torna a sua escolha menos promissora. Essa observação é apoiada pelo fato de, a redução do diâmetro interno (d.i.) de uma coluna capilar resultar no aumento da velocidade linear do gás de arraste, e conseqüentemente diminuir o tempo de análise, o que, por conseguinte gera picos mais simétricos. Ademais, filmes mais espessos de FE tendem a reter os analitos por um tempo maior, o que resulta em intervalos de tempos de separação mais longos, e destarte pode ocasionar pequenas caudas, as quais podem ser determinadas quantitativamente a partir do fator de assimetria ou fator de cauda do pico cromatográfico, o qual pode ser expresso pela Equação 12, a seguir (SKOOG et al., 2008; FIDELIS, 2011; FARMACOPEIA MERCOSUL, 2015).

$$A_S = \frac{W_{0,05}}{2f} \quad \text{Eq. (12)}$$

Em que, $W_{0,05}$ = largura do pico a 5% da altura; f = distância do máximo do pico até a borda inicial do pico (a 5% da altura a partir da linha de base).

Em geral, na maioria dos métodos, são empregadas colunas de 30 m porque apresentam maior eficiência, visto seu efeito positivo no número de pratos teóricos (Equação 13); o diâmetro interno (d.i.) varia de 0,25-0,32 mm e a espessura de filme (d.f.) da fase estacionária de 0,2-0,35 μm para cromatografia convencional (LANÇAS, 2016).

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W_b} \right)^2 \quad \text{Eq. (13)}$$

Em que, N = número de pratos teóricos; t_R = tempo de retenção (min); e W_b = largura da base do pico (min).

Desse modo, o desempenho insatisfatório exibido pelas colunas C3 e C4 pode ser justificado, neste estudo, pelos seus menores comprimentos (10 m e 2,2 m) — que estaria limitando os processos de transferência de massa que ocorrem quando os analitos percorrem através da coluna (JENNINGS et al., 1997; COLLINS et al., 2006).

As colunas subsequentes, de C5 a C9, são compostas de fases estacionárias com baixa polaridade (C5 a C8 = 5% difenil, 95% dimetilpolisiloxano e C9 = 5% fenil metil, 95% dimetilpolisiloxano), cujas diferentes dimensões demonstram ocasionar efeitos na separação dos compostos, como por exemplo, C6 e C8, diferentemente da C5 não exibem a eluição do GLI, provavelmente devido à diminuição da espessura do filme de 0,25 μm para 0,1 μm , uma vez que, filmes mais espessos podem levar a uma maior permanência das moléculas na fase estacionária. No entanto, vale frisar, que esses parâmetros devem ser analisados em conjunto, pois a exemplo da C7, também com 0,1 μm , os compostos são completamente eluídos, pois possui um diâmetro interno de 0,25 mm, diferentemente das demais (AUGUSTO, 2000; NASCIMENTO et al., 2018).

A C8 e a C9 têm suas performances afetadas por ter um comprimento menor, pois conforme discussão anterior, os menores comprimentos das colunas podem comprometer o tempo de residência do analito na fase estacionária e provocar uma eluição mais rápida dos compostos. Assim, dentre as cinco colunas supracitadas, a C5 é a que proporciona resultados mais satisfatórios, devido apresentar uma completa eluição e exibir picos aparentemente mais simétricos e separados.

As colunas C10 e C11 apresentam entre si, fases estacionárias de mesma polaridade (média), porém, são constituídas de diferentes composições químicas, as quais têm importante papel nas execuções cromatográficas, visto que, a C11 mostra separações mais expressivas que a C10. Todavia, a C10 separa os dois isômeros de DA, provavelmente porque nesta estão presentes os grupos cianopropil ($-\text{C}_3\text{H}_6\text{CN}$) e fenil ($-\text{C}_6\text{H}_5$), responsáveis por conferir maior seletividade à coluna, através das possíveis ligações de hidrogênio com os analitos (SKOOG et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2018).

Vale ressaltar que a separação de isômeros por cromatografia gasosa ocorre efetivamente em um ambiente completamente quiral, isto é, devem ser utilizadas colunas de fases estacionárias quirais ou utilizar agentes derivatizantes que facilitem a separação de tais compostos sem a necessidade de fases estacionárias quirais. Entretanto, ambos os processos são onerosos e não garantem uma resposta precisa, visto que, o último processo citado pode apresentar falhas advindas de intermediários da racemização ou de derivatização incompleta (COLLINS et al., 2006; PORTE et al., 2014).

É importante reiterar que, em termos de redução de tempo de análise e separação de GLI, MA, DA e TA, não foram elucidados métodos por GC-FID até o momento de escrita desta tese, e que a separação dos isômeros, de MA ou DA, não é o foco deste trabalho, ou seja, a coeluição dos isômeros não prejudica o desenvolvimento do presente método analítico, visto que, até onde sabe-se, não há distinção de aplicações comerciais para esses isômeros. Dessa forma, entre escolher a C10 e a C11, tem-se na C11, a melhor opção, pois ela apresenta completa separação dos analitos em menor tempo de análise.

Por fim, as colunas C12 e C13 são constituídas de fases estacionárias de alta polaridade (100% de polietilenoglicol), e embora ambas demonstrem eluição completa, alguns picos foram comprometidos com alargamentos e caudas. Esses perfis cromatográficos são justificados pelas fortes interações dos analitos polares, MA e GLI, com a FE também polar (LANÇAS, 2016).

Cabe salientar que a eficiência das colunas diminui conforme há o acréscimo de substituintes polares na FE, visto que, estão mais suscetíveis à formação de água e consequente degradação, através da hidrólise ou quebra de ligações entre a fase estacionária e a superfície do capilar (FELIZZOLA et al., 2014; COLLINS et al., 2006).

A fim de corroborar com as discussões precedentes e definir a escolha da coluna ideal nesse estudo, determinaram-se os seguintes parâmetros: fator de assimetria de pico (A_s) e número de pratos teóricos (N) para as análises realizadas nas colunas que apresentaram resultados visualmente mais satisfatórios. Tais parâmetros baseiam-se nas Equações 12 e 13, respectivamente, e os resultados podem ser vistos na Tabela 4.

Tabela 4 – Número de pratos teóricos (N) e fator de assimetria (A_s) para as colunas que apresentaram separação mais efetiva para os compostos.

Coluna cromatográfica	Composto	N (10^3)	A_s
C1. BP1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m)	GLI	9,92	0,92
	MA	12,39	1,03
	DA	10,62	0,71
	TA	21,26	0,74
	PI	34,33	0,61
C5. RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m)	GLI	10,47	1,18
	MA	11,49	1,17
	DA	11,18	0,71
	TA	22,43	0,76
	PI	37,65	0,61
C10. Cpsil 43CB (25 m x 0,25 mm x 0,2 μ m)	GLI	8,02	0,73
	MA	12,42	0,72
	1,3-DA ou	23,10	0,64
	1,2-DA	15,47	0,60
	TA	45,43	0,71
	PI	47,65	0,60
C11. NST 50 (30 m x 0,25 mm x 0,15 μ m)	GLI	11,82	1,49
	MA	5,23	0,82
	DA	4,69	1,78
	TA	2,95	1,49
	PI	31,56	0,68

Como um prato teórico (N) equivale a uma etapa de equilíbrio do composto entre a fase estacionária e a fase móvel, tem-se que quanto maior o valor de N, maior será a eficiência (picos mais estreitos) (COLLINS et al., 2006; LANÇAS, 2016).

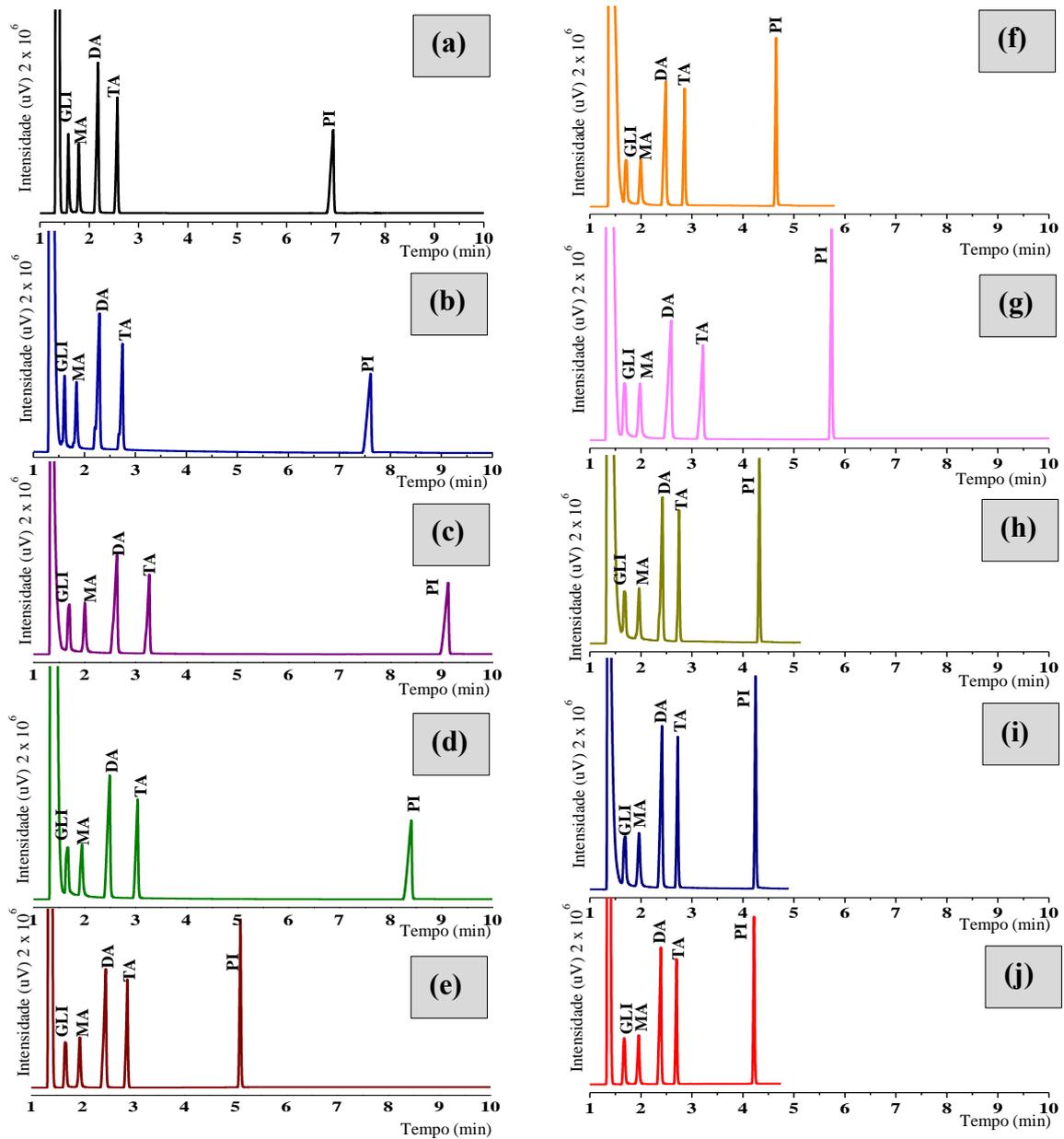
De forma geral, são aceitos valores de fator de assimetria (A_s) entre 0,75 e 1,75, o qual, quanto mais próximo da unidade for, mais os picos estarão perfeitamente simétricos (NETO, 2008; FARMACOPEIA BRASILEIRA; LANÇAS 2016). Nessa perspectiva, a Tabela 12 mostra que a coluna C5 sobressai entre as demais, exibindo maior eficiência (N) para os compostos GLI, DA, TA e PI e com melhores valores de assimetria de pico para TA e dois valores iguais para os compostos DA e PI nas colunas C1 e C5.

Diante desse contexto, pode-se inferir que a coluna mais apropriada para a execução do método analítico, em que houve a total eluição das acetinas (MA, DA e TA), GLI e PI, foi à coluna C5, a qual refere-se à RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m). Cabe salientar que esta escolha está em consonância com outros relatos da literatura (NEBEL et al., 2008; CASAS et al, 2012; GHOREISHI et al., 2013; KAYOON et al., 2014; SUSTERE et al., 2014; RASTEGARI et al., 2015; OKOYE et al., 2017; AGHBASHLO et al., 2018 e BANU et al., 2020).

5.3.2.3 Otimização do método cromatográfico

Com o intuito de obter separações adequadas em um curto tempo de análise, foram avaliadas diferentes condições, univariadamente, da programação de temperatura do forno, em que encontra-se a coluna cromatográfica, e do fluxo (vazão) do gás de arraste, H_2 , tendo como base, o método cromatográfico aplicado na escolha da coluna. Desse modo, empregaram-se treze programas de temperatura distintos (a-j), mantendo o F_{H_2} fixo em 1,0 mL min^{-1} para uma mesma amostra composta de GLI, MA, DA, TA e PI (benzoato de benzila), cujos resultados encontram-se na Figura 4.

Figura 4 – Cromatogramas obtidos da otimização, com $F_{H2} = 1 \text{ mL min}^{-1}$ fixo, das seguintes programações de Temperatura: (a) $160 \text{ }^\circ\text{C}$ ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $250 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 min; (b) $160 \text{ }^\circ\text{C}$ ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $250 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 min; (c) $150 \text{ }^\circ\text{C}$ ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $250 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 min; (d) $150 \text{ }^\circ\text{C}$ ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $250 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 min; (e) $150 \text{ }^\circ\text{C}$ ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $160 \text{ }^\circ\text{C}$ ($30 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $250 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 min; (f) $150 \text{ }^\circ\text{C}$ ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $160 \text{ }^\circ\text{C}$ ($50 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $250 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 min; (g) $150 \text{ }^\circ\text{C}$ ($3 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $160 \text{ }^\circ\text{C}$ ($50 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $250 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 min; (h) $150 \text{ }^\circ\text{C}$ ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $160 \text{ }^\circ\text{C}$ ($80 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $250 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 min; (i) $150 \text{ }^\circ\text{C}$ ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $160 \text{ }^\circ\text{C}$ ($100 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $250 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 min; (j) $150 \text{ }^\circ\text{C}$ ($5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $160 \text{ }^\circ\text{C}$ ($120 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) $250 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 min.



Nota: analitos, GLI = glicerol; MA= monoacetina; DA = diacetina; TA = triacetina e PI = padrão interno (benzoato de benzila).

Fonte: autora, 2021.

Conforme discutido no item anterior, a coluna selecionada apresenta altos valores de pratos teóricos (N), refletindo assim em sua eficiência (picos mais estreitos) e levando à maximização das separações (COLLINS et al., 2006; LANÇAS, 2017). Em face disso, notou-se que os valores de resolução (fator quantitativo de separação) entre todos os picos (sinais analíticos) foram suficientes para compreender dados qualitativos e quantitativos. Dessa forma, a escolha da condição analítica mais adequada, dar-se-á a partir de observações visuais referentes à separação dos picos em conformidade com a redução do tempo de análise.

Assim, com base na Figura 4, pode-se inferir inicialmente que, em (a) o perfil cromatográfico é mais coerente com a demanda desta pesquisa do que em (b), uma vez que a sutil diferença de 1 min da condição (b) não levou a maiores separações, além de aumentar o tempo de análise. Por outro lado, (c) apresenta uma leve melhora quanto à separação dos picos iniciais, no entanto a redução da temperatura inicial de 160 °C para 150 °C provoca um aumento no tempo de análise, e esse efeito pode ser explicado pela forte influência que a constante de distribuição (Kc) tem com a temperatura (NASCIMENTO et al., 2018).

A literatura reporta que todas as separações cromatográficas estão associadas a diferenças de extensão na qual o analito é distribuído entre as fases móvel e estacionária, desse modo Kc equivale à razão da concentração do analito na fase estacionária e na fase móvel, a qual, por sua vez, é uma constante termodinâmica e geralmente um aumento de temperatura provoca uma diminuição de seu valor, reduzindo assim a solubilidade e o tempo de permanência do analito na fase líquida¹. Além disso, o acréscimo de temperatura gera uma maior difusão do gás de arraste, conseqüentemente a velocidade linear muda e, portanto o tempo de análise torna-se menor (SKOOG, 2008; LANÇAS, 2016).

Em (d), percebe-se uma mudança quanto ao decréscimo do tempo, como já era esperado, visto que o tempo de residência de 1 min foi retirado, mas a rampa de aquecimento de (c) permaneceu a mesma. Na condição (e) mudou-se a programação de temperatura das anteriores por meio da adição de duas novas rampas, as quais melhoraram significativamente as respostas (separação dos picos e tempo).

¹Na cromatografia gás-líquido, a fase móvel é um gás, enquanto a fase estacionária é um líquido retido na superfície de um sólido inerte por adsorção ou ligação química (SKOOG, 2008).

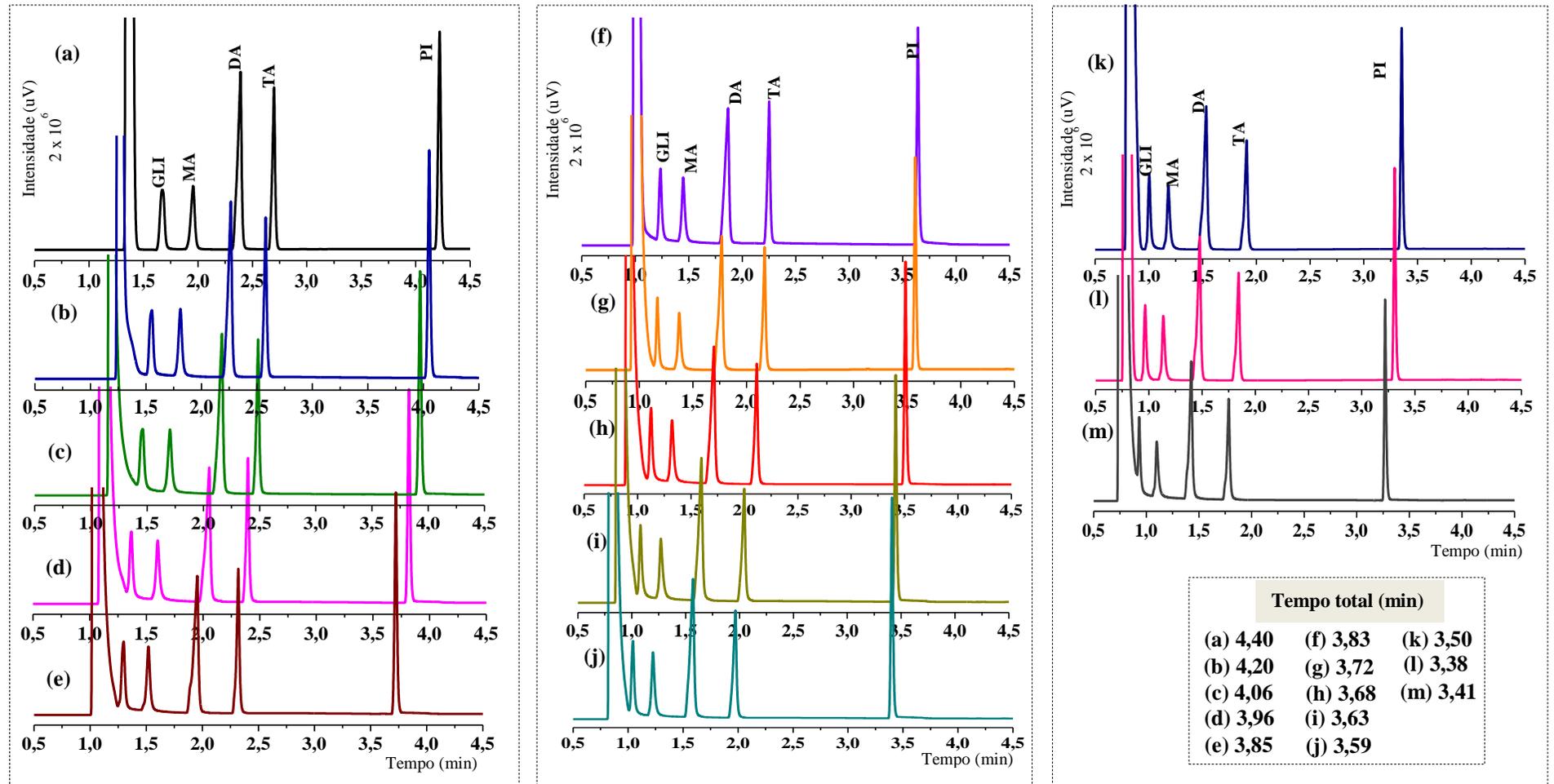
Em seguida, na condição (f) mudou-se a taxa de aquecimento de 30 °C (e) para 50 °C, o que gerou uma redução de aproximadamente 0,5 min. Em (g), as rampas de aquecimentos foram mantidas, porém ao invés de utilizar uma taxa de aquecimento de 5 °C min⁻¹, utilizou-se 3 °C min⁻¹, a qual demonstrou elevar o tempo de análise, provocados por fatores termodinâmicos inerentes ao processo discutidos anteriormente.

De acordo com LANÇAS, 2016, normalmente provoca-se um aumento na taxa de aquecimento com o intuito de eluírem-se os últimos picos em condições ótimas. Assim, a partir de (g), decidiu-se manter as rampas utilizadas em (f), pois conseguiu-se separações adequadas para todos os compostos, em especial para os primeiros (GLI e MA), e desse modo, estudou-se outras três taxas de aquecimento sob a última programação de temperatura.

Diante disso, as velocidades utilizadas nas condições h, i e j (80 °C, 100 °C e de 120 °C, respectivamente) ocasionaram uma considerável redução do tempo de análise, cuja condição (j) destacou-se entre as outras por seu efeito significativo na separação dos picos de modo geral, e na redução do tempo, que resultou em aproximadamente 3,5 min.

Portanto, a condição (j) foi escolhida como a programação de temperatura do método analítico das acetinas, e a mesma foi submetida à avaliação de diferentes valores de fluxo de H₂, cujos cromatogramas e tempos de corridas cromatográficas estão exibidos na Figura 5.

Figura 5 – Cromatogramas da otimização do F_{H_2} , com programação fixa de temperatura. Onde: (a) $1,0 \text{ mL min}^{-1}$; (b) $1,1 \text{ mL min}^{-1}$; (c) $1,2 \text{ mL min}^{-1}$; (d) $1,3 \text{ mL min}^{-1}$; (e) $1,4 \text{ mL min}^{-1}$; (f) $1,5 \text{ mL min}^{-1}$; (g) $1,6 \text{ mL min}^{-1}$; (h) $1,7 \text{ mL min}^{-1}$; (i) $1,8 \text{ mL min}^{-1}$; (j) $1,9 \text{ mL min}^{-1}$; (k) $2,0 \text{ mL min}^{-1}$; (l) $2,1 \text{ mL min}^{-1}$ e (m) $2,2 \text{ mL min}^{-1}$.



Nota: analitos, GLI = glicerol; MA= monoacetina; DA = diacetina; TA = triacetina e PI = padrão interno (benzoato de benzila).

Fonte: autora, 2021.

No que concerne ao aumento do fluxo da fase móvel (H_2) na coluna, pode-se observar que há uma sutil redução do tempo da corrida cromatográfica em todos os cromatogramas (a-m), o qual, é reflexo do aumento do gás de arraste provocar uma maior dispersão das moléculas na fase móvel, e conseqüentemente levar a diminuição do tempo de análise (SKOOG et al., 2008).

Entretanto, é importante atentar-se para o limite máximo do fluxo do gás de arraste sem que haja perda de eficiência (picos separados), pois como mostra o cromatograma (m) da Figura 6, um maior valor de F_{H_2} leva à coeluição dos primeiros picos, comprometendo assim a separação dos compostos, logo, optou-se pelo fluxo exemplificado por (l), $F_{H_2} = 2,1 \text{ mL min}^{-1}$, como o valor mais adequado para a otimização do método em estudo.

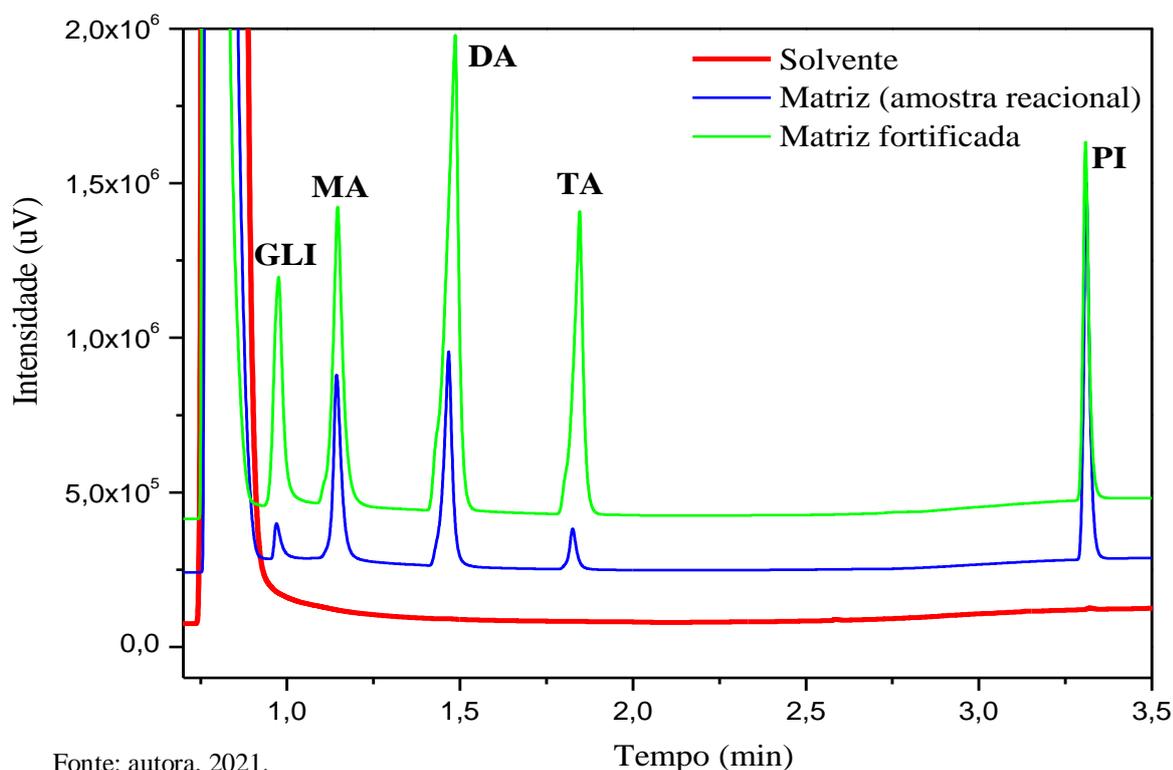
Diante do exposto, a otimização de programação de temperatura e fluxo de H_2 ideais, (j) e (l) respectivamente, encerrou no seguinte método analítico: coluna, **RTX-5MS** (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm); programação de temperatura = 150 °C, 5 °C min^{-1} até 160°C, 120 °C min^{-1} até 250°C, permanecendo por 2 min; T_{inj} e $T_{\text{det}} = 250 \text{ °C}$; $F_{H_2} = 2,1 \text{ mL min}^{-1}$; razão de split = 1:30; e tempo total de análise = 3,38 min. É importante ressaltar que o método final apresenta um tempo de análise extremamente curto (~ 3,3 min), representando uma redução em mais da metade do tempo de análise utilizado por NEBEL et al., 2008 (~ 13 min), SUSTERE et al., 2014 (~ 9 min), e análogo ao de CASAS et al., 2012 (~ 3,2 min), portanto, visando consolidar o método desenvolvido, realizou-se a sua validação.

5.3.4 Validação do método analítico

5.3.4.1 Seletividade

A validação do método teve início com o teste de seletividade, visto que este parâmetro busca avaliar a presença de componentes em exame que possam interferir na determinação das substâncias de interesse, ou seja, a seletividade garante que o pico de resposta obtido seja exclusivamente da espécie alvo do trabalho (RIBANI et al., 2001). Assim, os resultados obtidos com os ensaios desse primeiro parâmetro de desempenho encontram-se na Figura 6.

Figura 6 - Cromatogramas obtidos das análises de seletividade para o solvente utilizado no preparo de amostra (vermelho), amostra reacional sem fortificação (azul) e amostra reacional fortificada com padrão de DA (mix de GLI, MA, DA e TA) e GLI (verde).



Fonte: autora, 2021.

Com base na Figura 6, pode-se observar que — a sobreposição dos cromatogramas do solvente puro (etanol) utilizado no preparo de amostra, com o da amostra processada (amostra reacional) e com fortificação com os padrões analíticos, mostra que não ocorre nenhuma interferência de outra espécie — ou seja, os picos obtidos são exclusivamente dos analitos de interesse. De forma complementar, foram calculados os fatores de seletividade (α), o qual estabelece que quando α for maior ou igual a 1, haverá separação total entre os picos cromatográficos (SKOOG, 2008), e de acordo com os valores obtidos, $\alpha_{GLI/MA} = 1,17$; α_{MA} e

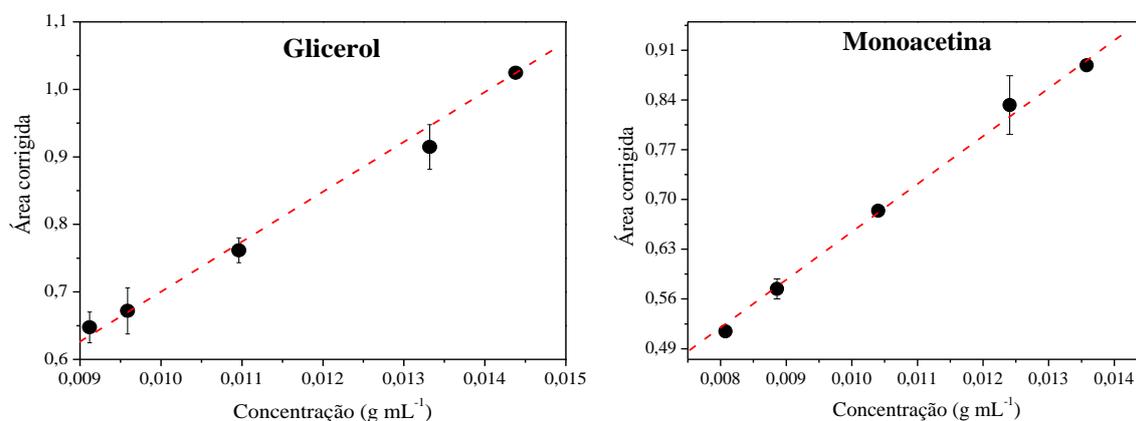
$\alpha_{DA} = 1,24$; $\alpha_{DA/TA} = 1,28$ e $\alpha_{TA/PI} = 1,81$, todos os picos cromatográficos estão efetivamente separados, confirmando que o método é seletivo aos analitos de interesse.

5.3.4.2 Linearidade e Faixa de trabalho

Para a obtenção da linearidade - a qual é responsável pela capacidade do método analítico em fornecer uma resposta proporcional (linear) entre o sinal analítico e concentração do analito em uma faixa de concentração especificada, a qual corresponde a faixa de trabalho do método - foram elaboradas curvas analíticas a partir de análises em triplicata de padrão comercial de diacetina (constituída de 3,7% de GLI, 26,7% de MA, 47,4% de DA e 22,2% de TA). Cabe salientar que adicionou-se o padrão puro de GLI, devido sua pequena quantidade no padrão comercial de DA utilizado.

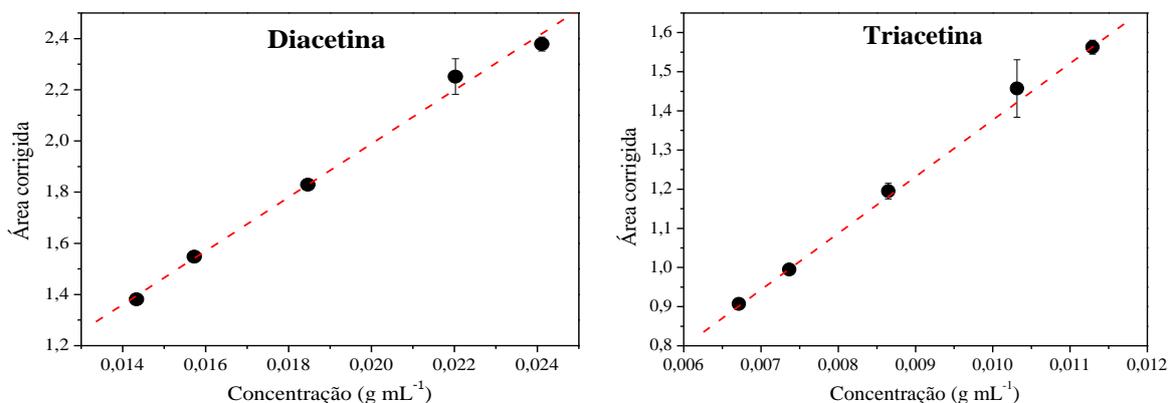
A partir dos valores correspondentes de cada analito no padrão de DA foram delineadas as seguintes faixas de concentrações: GLI (0,0091; 0,0095; 0,0109; 0,0133; e 0,01438 g mL⁻¹); MA (0,0080; 0,0088; 0,0104; 0,01240; e 0,0135 g mL⁻¹); DA (0,0143; 0,0157; 0,0184; 0,0220; e 0,0241 g mL⁻¹); e TA (0,0067; 0,0073; 0,0086; 0,0103; e 0,0113 g mL⁻¹), com quantidade de padrão interno (BZB) fixa igual a $3,36 \times 10^{-3}$ g mL⁻¹. As áreas obtidas das análises em triplicata dos cinco pontos experimentais de cada composto foram corrigidas com a área do padrão interno e assim construída as curvas analíticas, conforme mostra a Figura 7.

Figura 7 – Curvas analíticas obtidas com 5 pontos experimentais do padrão analítico de glicerol (GLI), monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA). *(continua)*



Fonte: autora, 2021.

Figura 7 – Curvas analíticas obtidas com 5 pontos experimentais de padrão analítico de glicerol (GLI), monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA). (conclusão)



Fonte: autora, 2021.

Com base nos gráficos obtidos, determinaram-se as equações da reta ($y = ax + b$) e os coeficientes de correlação linear (R) de cada curva analítica, os quais estão demonstrados na Tabela 5.

Tabela 5 – Coeficientes de correlação e equação da reta das curvas analíticas obtidas para os compostos glicerol (GLI), monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA).

Compostos	Equação da reta	R	Erro a	Erro b
Glicerol	$y = -0,0010 + 69,9842 x$	0,9964	3,4127	0,0397
Monoacetina	$y = -0,0399 + 13,8565 x$	0,9982	2,3683	0,0257
Diacetina	$y = -0,1040 + 20,9327 x$	0,9970	0,9378	0,0904
Triacetina	$y = -0,3597 + 36,9859 x$	0,9952	2,0920	0,0906

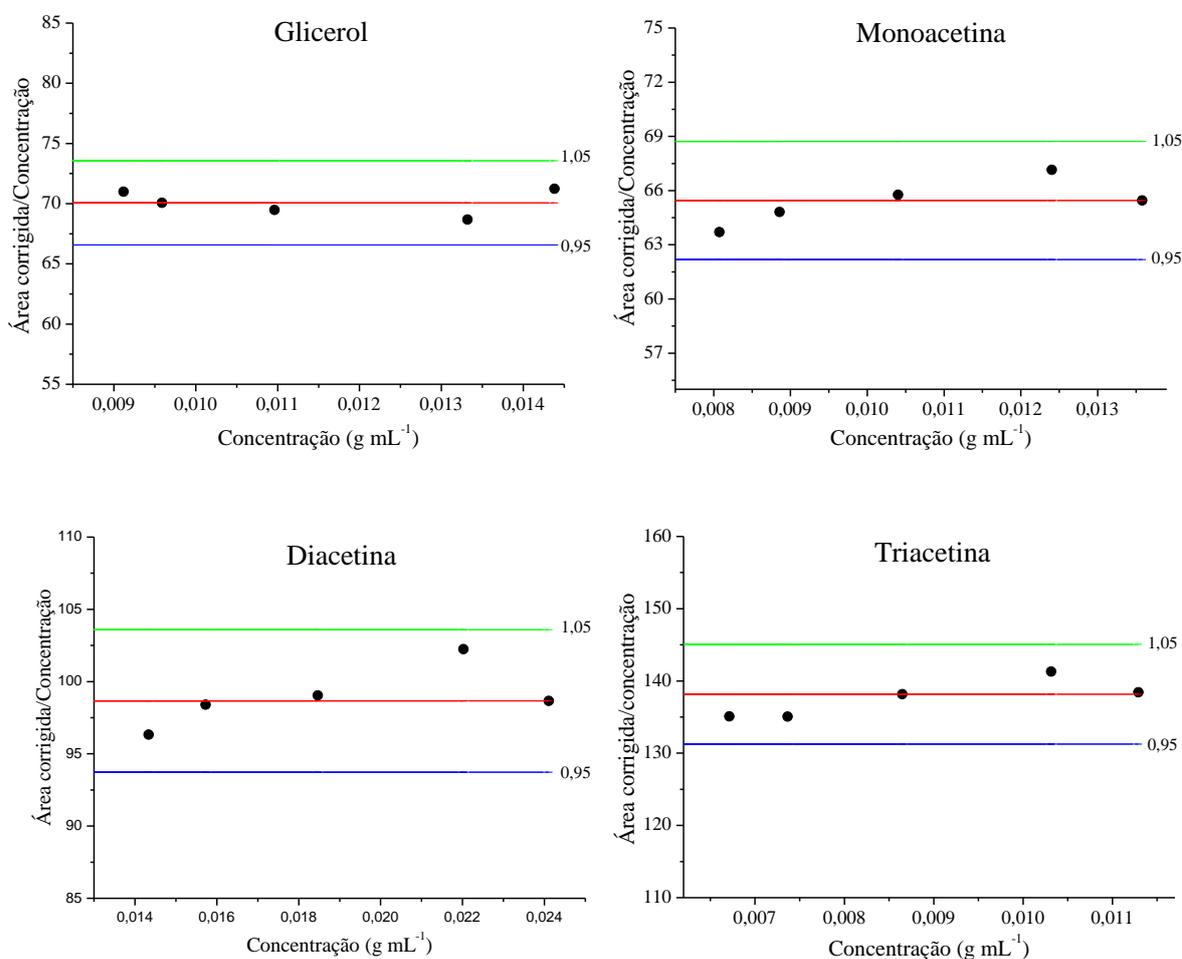
Fonte: autora, 2021.

Os resultados de linearidade supracitados mostraram-se satisfatórios, visto que os valores dos coeficientes de correlação encontram-se na faixa de 0,9952 a 0,9982, e $R > 0,99$ são aceitáveis para a maioria dos métodos analíticos (CASS et al., 2001), demonstrando que as retas são consideradas adequadas como modelo matemático para a estimativa da concentração do analito na amostra (NASCIMENTO et al., 2018; INMETRO, 2020).

A fim de verificar se todos os pontos das curvas analíticas estavam dentro da faixa linear dinâmica, ou seja, se os resultados obtidos eram proporcionais à concentração do

analito (INMETRO, 2020), foram construídos gráficos relativos ao quociente do sinal analítico (área) por concentração (A/C , eixo x) *versus* concentrações (eixo y), e em paralelo a esse gráfico delinear-se linhas horizontais equivalentes aos intervalos de confiança da linha da faixa linear (95 e 105%) (RIBANI et al., 2004). Os resultados desse estudo podem ser vistos na Figura 8, a seguir:

Figura 8 – Curvas de linearidade determinadas a partir dos pontos experimentais e respostas obtidas para Glicerol (GLI), monoacetina (MA), diacetina (DA) e triacetina (TA).



Fonte: autora, 2021.

Com base nas curvas de linearidade obtidas (Figura 8), pode-se inferir que o método demonstrou ser linear dentro dos intervalos de confiança estabelecidos, logo, as faixas de concentrações utilizadas correspondem a faixa linear de trabalho aplicável para os diferentes analitos (GLI, MA, DA e TA) avaliados.

5.3.4.3 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Detecção (LOQ)

Os limites de detecção, referentes ao menor valor detectado com confiabilidade e precisão aceitável para analitos GLI, MA, DA e TA em amostras reacionais de acetilação de glicerol com ácido acético, foram determinados com base na curva analítica e equação 3 (ver Tabela 3 – pág. 80), cujos resultados obtidos foram: 0,0007 g mL⁻¹ (GLI); 0,00262 g mL⁻¹ (MA); 0,0060 g mL⁻¹ (DA); 0,0029 g mL⁻¹ (TA). Os limites de quantificações, por sua vez, definido como a menor quantidade do analito na amostra que pode ser quantificado com precisão e exatidão (RIBANI et al., 2004; INMETRO, 2020), assim como LOD, também foram determinados com bases nas respectivas curvas dos analitos e equação 4 (Tabela 3 – pág. 80), e assim foram obtidos os seguintes valores: 0,0022 g mL⁻¹ (GLI); 0,0079 g mL⁻¹ (MA); 0,0184 g mL⁻¹ (DA); 0,0086 g mL⁻¹ (TA).

5.3.4.4 Precisão

Testes relativos à concordância entre várias medições experimentais foram realizados com base na precisão do método, o qual implicou na avaliação dos seguintes parâmetros: a) repetitividade (ou precisão intra-ensaio) e b) reprodutibilidade (ou precisão intermediária). Esses ensaios foram expressos em termos de desvio padrão relativo (DPR) ou também chamado de coeficiente de variação (CV), em %, e para melhorar a confiabilidade dos resultados obtidos, aplicou-se o teste de Grubbs como sistema de rejeição de valores dispersos anômalos (LEITE, 2002; INMETRO 2020).

Diante desse contexto, tem-se:

a) Repetitividade (ou precisão intra-ensaio)

Este parâmetro expressa a precisão dos resultados intra-ensaio, isto é, o grau de concordância entre os resultados obtidos com a aplicação do método em estudo para a determinação do analito em medições realizadas sob a mesma condição de preparo, mesmo analista, mesmos instrumentos e mesmo dia (NASCIMENTO et al., 2018). Os resultados desse ensaio encontram-se disponíveis na Tabela 6, cujos valores de CV variam de 2,4 a 3,1% e demonstraram serem inferiores ao valor de 4,0% para analitos na concentração de 1% na amostra (BRITO et al., 2003). Além disso, os baixos valores dos desvios-padrões obtidos expressam a mínima variabilidade do conjunto de medidas realizadas (LEITE, 2002).

Tabela 6 – Resultados dos ensaios de repetitividade com análise de uma amostra de acetinas (Preparada e injetada 10 vezes em triplicata).

Repetições	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{X}	σ	CV (%)
GLI	1,05	*1,18	1,07	*0,93	1,02	1,02	1,09	*1,14	1,04	1,00	1,05	0,03	3,13
MA	0,88	*0,93	*0,91	*0,85	0,85	0,88	0,89	0,89	0,88	0,91	0,88	0,02	2,32
DA	2,46	*2,58	2,56	2,38	*2,41	2,45	2,56	2,48	2,46	*2,56	2,49	0,06	2,02
TA	1,57	1,66	1,64	*1,49	1,64	1,55	*1,69	1,58	*1,54	1,64	1,60	0,04	2,59

Nota: avaliação expressa em termos de área corrigida com padrão interno. Concentração dos analitos na amostra: GLI = 0,01 g mL⁻¹; MA = 0,01 g mL⁻¹; DA = 0,02 g mL⁻¹; e TA = 0,01 g mL⁻¹. *Valores discrepantes eliminados pelo teste de Grubbs.

Fonte: autora, 2021.

Tabela 7 – Resultados dos ensaios de reprodutibilidade com análise de uma amostra de acetinas (Preparada e injetada 10 vezes em triplicata por um segundo analista em dias diferentes do primeiro analista).

Repetições	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{X}	σ	CV (%)
GLI	*0,97	0,93	0,95	0,91	0,95	0,91	0,86	0,92	*0,84	*0,84	0,91	0,03	3,33
MA	0,78	*0,86	0,82	*0,77	0,79	0,83	0,82	0,83	*0,76	0,83	0,81	0,02	2,70
DA	2,28	2,28	2,30	2,24	2,21	2,26	*2,38	*2,38	2,34	*2,16	2,29	0,03	1,74
TA	1,44	1,48	*1,40	1,43	*1,53	1,43	1,53	1,41	1,40	*1,54	1,46	0,04	3,00

Nota: avaliação expressa em termos de área corrigida com padrão interno. Concentração dos analitos na amostra: GLI = 0,01 g mL⁻¹; MA = 0,01 g mL⁻¹; DA = 0,02 g mL⁻¹; e TA = 0,01 g mL⁻¹. *Valores discrepantes eliminados pelo teste de Grubbs.

Fonte: autora, 2021.

b) Reprodutibilidade (ou precisão intermediária)

O ensaio de reprodutibilidade refere-se à precisão avaliada sob condições em que utiliza-se o mesmo procedimento de medição, porém, aplica-se algumas mudanças, tais como: diferentes analistas, diferentes equipamentos e diferentes dias (INMETRO, 2020). Os resultados obtidos para esse parâmetro podem ser visualizados na Tabela 7, cujos valores de CV obtidos, variaram de 2,3 a 3,4%, demonstrando estar de acordo com os critérios estabelecidos por BRITO et al., 2003, para analitos na concentração de 1% ($CV \geq 4,0\%$), além disso, os baixos valores de desvios-padrões corroboram com a homogeneidade do conjunto de dados obtidos.

Com o intuito de garantir que os resultados dos diferentes analistas são comparáveis, e que a precisão de ambos apresenta coerência, aplicou-se o teste estatístico de Fischer (**Teste F**), em que implica no quociente dos quadrados dos maiores (S_1) e menores (S_2) valores de desvio-padrão (HARRIS, 2001; LEITE, 2002). Esse conjunto de dados encontra-se na Tabela 8.

Tabela 8 – Teste F aplicado para os desvios-padrões obtidos nos ensaios de repetitividade e reprodutibilidade.

Analitos	S_1^2	S_2^2	Teste F
MA	$1,11 \times 10^{-3}$	$1,00 \times 10^{-3}$	1,15
DA	$5,00 \times 10^{-4}$	$4,24 \times 10^{-4}$	1,15
TA	$3,00 \times 10^{-3}$	$2,00 \times 10^{-3}$	1,63
GLI	$2,00 \times 10^{-3}$	$2,00 \times 10^{-3}$	1,09

Fonte: autora, 2021.

Considerando a utilização da média das análises em triplicata das 7 medidas adotadas, após exclusão dos valores anômalos pelo teste de Grubbs para os ensaios de repetibilidade e reprodutibilidade, aplicou-se o grau de liberdade igual a 6 (n-1) com 95% de confiança, cujo valor tabelado corresponde a 4,28. Dessa forma, ao comparar os valores calculados com o crítico, os resultados obtidos mostraram-se inferiores a 4,28, confirmando que os desvios-padrões para os dois analistas não apresentam diferenças significativas, confirmando a reprodutibilidade do método proposto nas condições de ensaio aplicadas.

5.3.4.5 Exatidão (Recuperação)

O estudo da exatidão do método foi realizado via ensaios de fortificação e recuperação, isto é, o método sob validação foi aplicado em amostra reacional de acetilação do glicerol em seu estado original e em outra porção que sofreu adição (fortificação) de quantidade conhecida dos analitos de interesse, por meio da adição do padrão analítico de DA e GLI em três níveis de fortificação, como mostra a Tabela 9.

Tabela 9 – Recuperação com fortificação da amostra obtida da acetilação do glicerol em três níveis de concentração.

Composto	Adição (g mL ⁻¹)	Recuperação (%)
Glicerol	0,0091	80,81
	0,0101	90,40
	0,0144	86,40
Monoacetina	0,0081	96,14
	0,0104	101,60
	0,0136	101,04
Diacetina	0,0143	86,97
	0,0108	90,38
	0,0241	92,40
Triacetina	0,0067	87,52
	0,0086	87,60
	0,0112	93,07

Fonte: autora, 2021.

Via de regra, define-se a recuperação como sendo a proporção da quantidade do analito de interesse presente na amostra, a qual o método é capaz de efetivamente quantificar, estando diretamente relacionada com o nível de concentração do analito na amostra (NASCIMENTO et al., 2008). Segundo o documento orientativo do INMETRO (DOQ-CGCRE-008) valores de concentração ≥ 1 e $\geq 0,1\%$ implicam em intervalos aceitos de

recuperação iguais a 97-103% e 95-105%, respectivamente, e nessas faixas sugeridas, apenas as concentrações de MA encontram-se dentro do critério estabelecido, entretanto, deve-se ponderar que no processo de fortificação em amostra real pode-se ocorrer a redução da concentração do analito na amostra devido ao uso de solvente, tal como descrito por LEITE, 2002 e BRITO et al., 2003, e reforçado pelo próprio documento de orientação, o qual ressalta a importância dos laboratórios em estabelecerem critérios de aceitação com base em orientações normativas.

Em virtude disso, decidiu-se estabelecer o que preconiza a agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (EPA, do inglês *United States Environmental Protection Agency*), que as recuperações de grande parte das substâncias químicas fortificadas nas amostras devem encontrar-se no intervalo de 70% a 130%, e essa faixa deverá ser adotada como critério de avaliação de desempenho interno no controle de amostras dentro do laboratório. Desse modo, verifica-se que o método proposto apresenta recuperações aceitáveis, as quais compreendem as faixas de 80,81 a 101,60% no intervalo de concentração de 0,0091-0,0143 g mL⁻¹.

5.3.4.6 Robustez

Segundo o INMETRO, a robustez corresponde a capacidade do método em não ser afetado por mínimas variações nos parâmetros do sistema em execução, e trata-se de um parâmetro opcional dentro dos estudos de validação, pois em geral está associada à otimização do método. Dessa maneira, os resultados referentes à troca do solvente no preparo de amostra e os diferentes volumes de injeção aqui utilizados, encontram-se na Tabela 10, em forma dos desvios-padrões obtidos das análises realizadas em triplicata.

Tabela 10 – Robustez do método variando o solvente e volumes de injeção.

Condição padrão	Compostos	σ Repetitividade	σ Reprodutibilidade	σ isopropanol	σ 0,5 μ L	σ 1,0 μ L
Etanol e $V_{amostra} = 0,3 \mu$ L	GLI	0,04	0,03	0,02	0,01	0,01
	MA	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01
	DA	0,06	0,03	0,04	0,02	0,01
	TA	0,04	0,04	0,01	0,02	0,002

Fonte: autora, 2021.

Os resultados apresentados na Tabela 13 mostram que todos os valores de desvios-padrões (σ) obtidos com a mudança do solvente, de etanol para isopropanol, e volumes de amostra iguais a 0,5 e 1,0 μL , mostraram-se inferiores aos valores dos desvios-padrões obtidos no ensaio de repetitividade e reprodutibilidade, indicando que o método proposto é robusto sob as variações aplicadas.

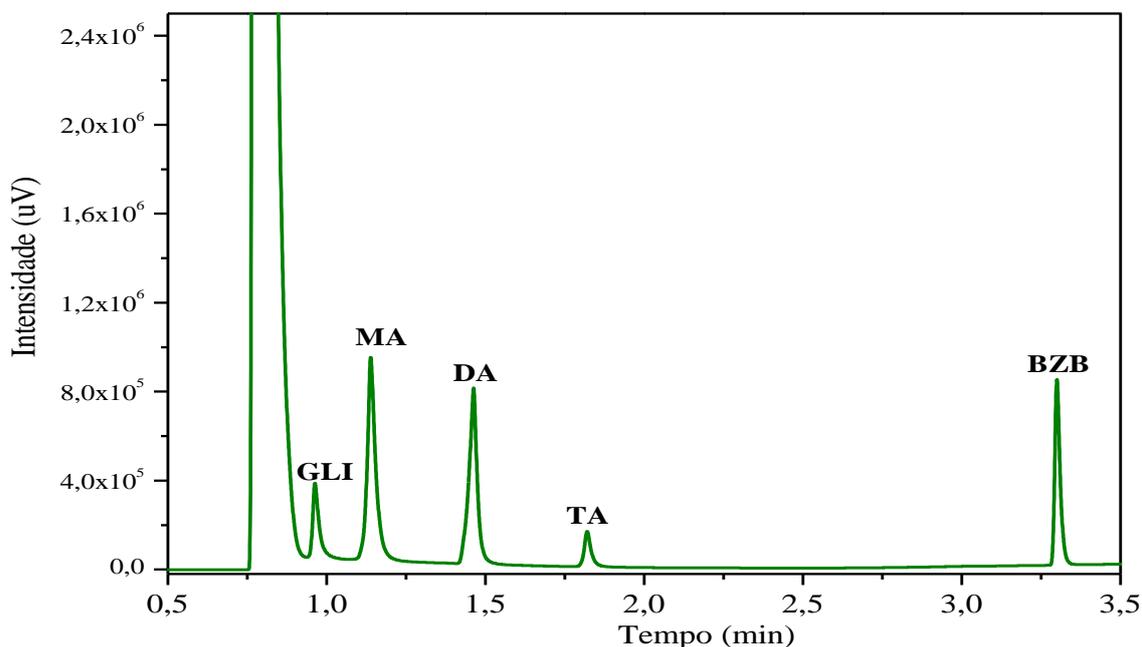
Por fim, é importante salientar, que o método validado traz novas perspectivas quanto ao trabalho de GOMES et al., 2020 (único método analítico validado até o momento), NEBEL et al., 2008, SUSTERE et al., 2014 e CASAS et al., 2012, que são:

- Diminuição da geração de resíduos originadas do uso do HPLC (GC-FID);
- Diminuição do tempo de análise ($\sim 3,3$ min);
- Diminuição do volume de amostra a ser analisada (0,3 μL *versus* 20 μL);
- Clareza na obtenção dos parâmetros quantitativos do método (curvas analíticas, ensaio de exatidão-recuperação e aplicação de fator de resposta), haja vista tratar-se de padrões analíticos que não são encontrados na sua forma pura (i.e., MA e DA);
- E por fim, diferente dos demais, o método proposto nesta Tese foi aplicado em amostras reais, tais como mostram os resultados a seguir.

5.3.4.7 Aplicação do método validado em amostra reacional da acetilação de glicerol

Após o processo de validação, o método proposto foi aplicado inicialmente em uma amostra real de acetilação de GLI puro, a fim de verificar a separação e quantificação dos analitos. O cromatograma obtido para esta análise encontra-se na Figura 9.

Figura 9 – Aplicação do método validado em amostra reacional de acetilação com GLI puro, sob a razão molar de 3:1 (AA:GLI), a 80 °C e 2 h de reação, conduzidas com BuSnCl₃.

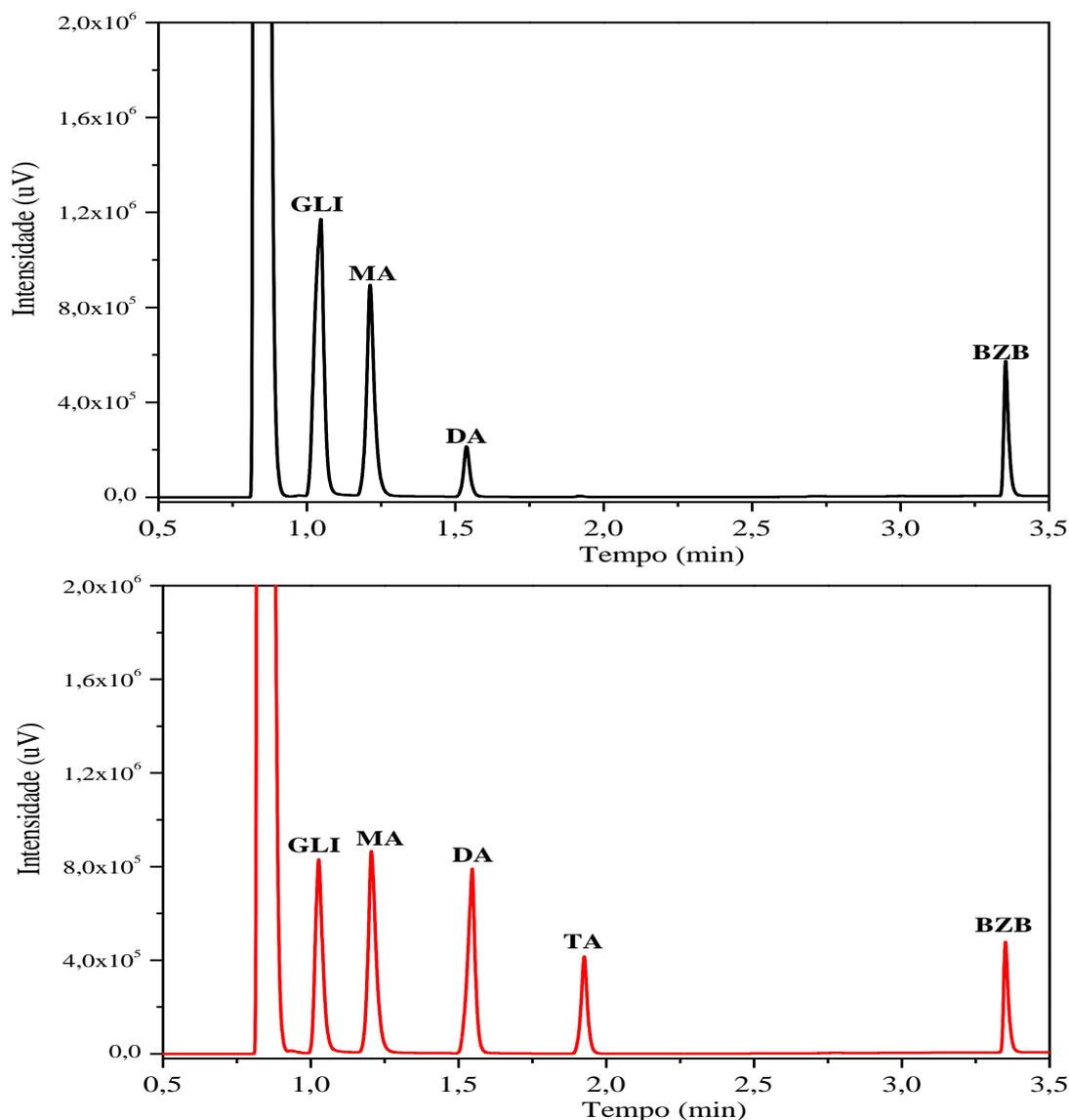


Fonte: autora, 2021.

Como pode ser visto na Figura 9, o método demonstrou separar efetivamente todos os picos cromatográficos de interesse, referentes aos analitos GLI, MA, DA, TA e PI, e os valores encontrados foram iguais a 12,00% ± 0,04; 52,88 ± 0,02; 29,86 ± 0,06; e 3,57 ± 0,04, respectivamente.

No que diz respeito à aplicação do método em amostra real de acetilação de GB (glicerol bruto de biodiesel), com e sem catalisador de estanho, os cromatogramas obtidos seguem representados pela Figura 10.

Figura 10 – Aplicação do método validado e das condições reacionais otimizadas, em amostra reacional de glicerol residual do biodiesel, utilizando a razão molar de 4:1 (AA:GLI), a 80 °C e 3 h de reação, conduzidas sem catalisador (cromatograma preto) e com BuSnCl_3 (cromatograma vermelho).



Fonte: autora, 2021.

Com base nos cromatogramas obtidos, representados pela Figura 10, pode-se inferir que o método proposto, mostrou-se eficiente tanto na identificação das acetinas e de glicerol quanto na quantificação, cujas conversões de GLI implicaram em $66,39\% \pm 0,04$ com formação de MA ($37,57\% \pm 0,02$), DA ($21,77\% \pm 0,06$) e TA ($7,20\% \pm 0,04$) ao utilizar o catalisador BuSnCl_3 , e sem o uso do catalisador, a conversão de GLI resultou em aproximadamente $45,79\% \pm 0,04$, formando apenas MA ($39,10\% \pm 0,02$) e DA ($4,97\% \pm 0,06$), demonstrando que as condições reacionais estudadas, bem como, a metodologia analítica desenvolvida foram satisfatórias.

5.4 CONCLUSÕES DA SEÇÃO

O método proposto totalizou em 3,3 min para a determinação de todos os compostos acetilados de glicerol, além de glicerol não convertido e o padrão interno utilizado (benzoato de benzila). Todos os parâmetros de desempenhos da validação mostraram-se adequados com base na literatura e em documento de orientação do INMETRO, e, portanto, o método validado foi aplicado em duas amostras reais de acetinas originadas da acetilação com ácido acético de GLI puro (padrão), e de GB (proveniente de transesterificação com metanol para produção de biodiesel), o qual demonstrou ser capaz de identificar e quantificar com precisão e exatidão todas as espécies de interesse do trabalho, mesmo em condição de possíveis interferentes, como foi o caso do GB.

6. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

A partir dos resultados apresentados, produziram-se os seguintes trabalhos:

Artigos publicados em Periódicos:

DA SILVA, D.S.; ALTINO, F.M. R. S.; BORTOLUZZI, J.H.; MENEGHETTI, S.M. P. *Investigation of Sn(IV) catalysts in glycerol acetylation*. **Molecular Catalysis**, 494 (2020) 111130.

Altino, F. M. R. S.; Silva, D. S.; Bortoluzzi, J. H., Meneghetti, S. M. P. *Investigation of glycerol acetylation in the presence of Sb catalysts*. **Biomass Conversion and Biorefinery**, under review (2020) SPRINGER VERLAG.

Resumos Publicados em Anais de Congresso:

DA SILVA, D. S.; ALTINO, F. M. R. S.; MENEGHETTI, S. M. P.; BORTOLUZZI, J. H. *Obtention of acetins via catalytic esterification of glycerol*. **XVII Latin American Symposium on Chromatography and Related Techniques/Brazilian Symposium on Chromatography/Workshop on Recent Advances in Sample Preparation**. Aracaju, 2019.

DA SILVA, D. S.; ALTINO, F. M. R. S.; MENEGHETTI, S. M. P.; BORTOLUZZI, J. H. *Aplicação de catalisadores à base de estanho (IV) na conversão de glicerol em insumos químicos de valor agregado*. **Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia e Inovação de Biodiesel**. 7º, 2019, Florianópolis/SC, 165-166.

DA SILVA, D. S.; ALTINO, F. M. R. S.; MENEGHETTI, S. M. P.; BORTOLUZZI, J. H. *Otimização de uma metodologia analítica para a determinação dos produtos da esterificação do glicerol com ácido acético*. **Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia e Inovação de Biodiesel**. 7º, 2019, Florianópolis/SC, 165-166.

F. M. R. S.; SILVA, D. S.; BORTOLUZZI, J. H.; MENEGHETTI, S. M. P. *Complexos clorados de Antimônio como catalisadores alternativos para obtenção de acetais de glicerol*. **Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia e Inovação de Biodiesel**. 7º, 2019, Florianópolis/SC, 277-278.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto até aqui, é possível delinear em linhas gerais que a aplicação de catalisadores de Sn(IV), em especial o butiltricloroestanho (BuSnCl_3), favorece fortemente à formação de acetinas, as quais são compostos químicos valiosos de ampla aplicação comercial, e que o método desenvolvido e validado para a determinação destas espécies mostrou-se eficiente tanto em amostras provenientes da conversão do glicerol puro quanto glicerol bruto. Portanto, à luz dos resultados apresentados, este trabalho cumpriu eficazmente os objetivos inicialmente propostos, e por fim, espera-se que o mesmo implique em novas contribuições para a comunidade científica, e em longo prazo coopere com a minimização do impacto ambiental gerado pelo excedente de glicerol, e consequentemente na consolidação do biodiesel como biocombustível.

REFERÊNCIAS

- ABHBASHLO, M.; TABATABAEI, M.; RASTEGARI, H.; BHAZIASKAR, H. *Exergy-based sustainability analysis of acetins synthesis through continuous esterification of glycerol in acetic acid using Amberlyst®36 as catalyst*. Journal of Cleaner Production, 183, 1265–1275, 2018.
- ALI, O.; MAMAT, R.; ABDULLAH, N.; ABDULLAH, A. *Analysis of blended fuel properties and engine performance with palm biodieselediesel blended fuel*. Renewable Energy, v. 86, p. 59 – 67, 2016.
- ALTINO, F.M. R. S.; DA SILVA, D.S; BORTOLUZZI, J.H.; MENEGHETTI, S.M. P. *Investigation of glycerol acetylation in the presence of Sb catalysts*. Biomass Conversion and Biorefinery. Biomass Conversion and Biorefinery, under review (2020) SPRINGER VERLAG.
- ANITHA, M.; KAMARUDIN, S.K.; KOFLI, N.T. *The Potential of Glycerol as a Value-Added Commodity*. Chemical Engineering Journal, 295, 119-130, 2016.
- ANP. Biodiesel. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/biodiesel> > Acesso em: 06 de Setembro de 2021.
- ATKINS, P.W.; JONES, Loretta. *Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente*. 3.ed. Porto Alegre: Bookman, 2006. 965 p.
- AUGUSTO, F. *Cromatografia a Gás: Curso em Diapositivos*. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 2000.
- AZEEM, M.; HANIF, M.; AL-SABAHI, J. *Production of biodiesel from low priced, renewable and abundant date seed oil*. Renewable Energy, v. 86, p. 124 – 132, 2016.
- BAILEY, A. E.; HUI, Y. H. *Bailey's industrial oil and fat products*. 5. ed. p. 275-308, New York: John Wiley v. 5, 2005.
- BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y.J.K.; DE LIMA, D.P. *Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas*. Química Nova, 34 (2), 306-319, 2011.
- BIODIESEL NO DIESEL: TUDO O QUE VOCÊ PRECISA SABER. pocfiltros.com.br. Disponível em: < <http://www.pocfiltros.com.br/blog/biodiesel-diesel/> > Acesso em: 09, agosto de 2021.
- BRITO, N.M.; JR. AMARANTE, O.P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M.L. *Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão*. Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, vol. 13, 2003.
- CARDOSO, A.L. *Estudo cinético das reações de esterificação de ácidos graxos catalisadas por ácidos de Lewis e de Brønsted para produção de biodiesel*. Dissertação, Universidade Federal de Viçosa (UFV), 2008.

CASS Q. B.; DEGANI A.L.G. *Desenvolvimento de métodos por HPLC: fundamentos, estratégias e validação*. Editora EdUFSCar, 2001 p.77.

COLLINS, H.; GILBERTO L.; BONATO, S.P. *Fundamentos de Cromatografia*. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2006.

CASAS, A.; RAMOS, M.J.; PEREZ, A.; SIMON, A.; TORRES, C. L.; MORENO, A. *Rapid quantitative determination by ¹³C NMR of the composition of acetylgllycerol mixtures as byproduct in biodiesel synthesis*. Fuel 92 (2012) 180–186.

DA SILVA, M. A.; DOS SANTOS, A.S.S; NETO, A.J.S.; GIERTYAS, C.J.; BORTOLUZZI, J.H.; MENEGHETTI, M. R.; MENEGHETTI, S.M.P. *Evaluation of Esterification of Oleic Acid and Glycerol in the Presence of Organotin(IV) Compounds*. European Journal of Lipid Science and Technology, 121 (6), 1900103, 2019.

DA SILVA, J.P.V.; BRITO, Y.C.; FRAGOSO, FRAGOSO, D.M.A. ; MENDES, P.R. ; BARBOSA, A.SL. ; BORTOLUZZI, J.H.; MENEGHETTI, M.R. ; MENEGHETTI, SIMONI M.P. *Influence of different alkyl and carboxylate substituents on Sn(IV) organometallic catalysts during fatty acid methyl ester production*. Catalysis Communications (Print), 58, 204-208, 2015.

DE JESUS, R.A.; DA CONCEIÇÃO, P.; DA SILVA, J.P.V.; BRAINER, N.S.; MENEGHETTI, M.R.; MENEGHETTI, S.M.P. *Different Strategies to Anchor Organotin Methoxides on Silica and Their (Re)Use as Heterogeneous Catalysts for Transesterification Reactions*. J. Braz. Chem. Soc. 30 (9) • Sept 2019.

DOS SANTOS, J.; DA SILVA, F.P; ALTINO, F.M.R.; MENEGHETTI, M. R.; MENEGHETTI, S.M.P. *Cellulose Conversion in the Presence of Catalysts Based on Sn (IV)*. Catalysis Science & Technology, 3 (3), 673–78, 2013.

DOS SANTOS, V.T.; BRAINER, N.S.; PRYSTON, D.B.A.; AVELINO, D.O.S.; DORNELAS, C. B.; MENEGHETTI, M.R.; MENEGHETTI, S.M.P. *Study of Neat and Mixed Sn(IV) and Mo(VI) Oxides for Transesterification and Esterification: Influence of the Substrate on Leaching*. Catalysis Letters volume 149, 3132–3137 (2019).

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. SW-846 Test Method 8000D: *Determinative Chromatographic Separations*. Estados Unidos da América, 2018. Disponível em:<<https://www.epa.gov/hw-sw846/sw-846-test-method-8000d-determinative-chromatographic-separations> > Acesso em: 25 de Agosto de 2021

FARMACOPEIA MERCOSUL: CROMATOGRAFIA TENDO EM VISTA: O Tratado de Assunção, o Protocolo de Ouro Preto e as Resoluções N° 31/11 e 22/14 do Grupo Mercado Comum.

FARIAS, R. F.; SOUZA, A.A. *Cinética Química: teoria e prática*. 2. ed. Campinas: Átomo, 2013.

FELIZZOLA, J. F.; COSTA, C.F.G.; STEEL, S. V. *Passo a passo para uso do cromatógrafo gasoso modelo GC-CP3800 variam para análises de gases de efeito estufa (GEEs)*. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2014.

FERREIA, P.; FONSECA, I.M.; RAMOS, A.M.; CASTANHEIRO, J.E. *Glycerolacetylation over dodecatungstophosphoric acid immobilized into a silica matrix as catalyst*. Applied Catalysis B: Environmental, 91, 416–422, 2009.

FILGUEIRAS, C. A. L. “*A nova química do estanho*”. Química Nova, 21 (2), 176–92, 1998.

GHOREISHI, K. B.; YARMO, M.A.; NORDIN, N.M.; SAMSUDIN, M.W. *Enhanced Catalyst Activity of WO_3 Using Polypyrrole as Support for Acidic Esterification of Glycerol with Acetic Acid*. Journal of Chemistry, 2013, 1–10, 2013.

GOMES, J.T.S.; SANTOS, J.H.S.; ABREU, C.A.M.; MEDEIROS, E.B.M.; COELHO, L.C.D.; FARIA, R.P.V.; RODRIGUES, A.E.; FILHO, N.M.L. *Development and validation of analytical method for mono, di and triacetin analysis by HPLC/UV Vis/DAD detection with ^{13}C NMR identification*. Results in Chemistry 2 (2020) 100063.

GOEL, R. G.; PRASAD, H.S.; BANCROFT, G.M.; SHAM, T.K. *Preparation, Mossbauer and Vibrational Spectra of Diorganotin Chromates and Carbonates*. Canadian Journal of Chemistry, 54 (5), 711–17, 1976.

GOSCIANSKA, J.; MALAIKA, A. *A facile post-synthetic modification of ordered mesoporous carbon to get efficient catalysts for the formation of acetins*. Catalysis Today, 2019.

HUBERT, PH.; CHIAP, P.; CROMMEN, J.; BOULANGER, B.; CHAPUZET, E.; MERCIER, N.; BERVOAS-MARTIN, S.; CHEVALIER, P.; GRANDJEAN, D.; LAGORCE, P.; LALLIER, M.; LAPARRA, M.C.; LAURENTIE, M.; J.C. NIVET. *The SFSTP guide on the validation of chromatographic methods for drug bioanalysis: from the Washington Conference to the laboratory*. Analytica Chimica Acta 391 (1999) 135±148.

HU, W.; ZHANG, Y.; HUANG, Y.; WANG, J.; GAO, J.; XU, J. *Selective Esterification of Glycerol with Acetic Acid to Diacetin Using Antimony Pentoxide as Reusable Catalyst*. Journal of Energy Chemistry, 24(5), 632–36, 2015.

I., KIM; J. KIM; D.A., LEE. *A comparative study on catalytic properties of solid acid catalysts for glycerol acetylation at low temperatures*. Applied Catalysis B, 148–149 (2014) 295–303.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). *Orientação sobre validação de métodos analíticos*, DOQ-CGCRE-008, 2020.

JENNINGS, W.; MITTFELDLT, E.; STREMPLE, P. *Analytical Gas Chromatography*, Second Edition. Elsevier Inc., 1997.

KHAYOO, M.S.; HAMEED, B.H. *Acetylation of glycerol to biofuel additives over sulfated activated carbon catalyst*. Bioresource Technology, 102, 9229–9235, 2011.

KONG, P.S.; AROUA, M.K.; DAUD, W.M.A.W.; LEE, H.V.; COGNET, P.; PÉRES, Y. *Catalytic role of solid acid catalysts in glycerol acetylation for the production of bio-additives: a review*. Royal Society of Chemistry, 6, 68885, 2016.

LANÇAS, F. M. *Fundamentos da Cromatografia Gasosa*. Campinas: Átomo, 2016.

LANDRY, J.M.; KATON, J.E.; HUGHE, J.M. *The polarized infrared spectra and crystal structure of dimethyltin dichloride*. Spectrochimica Acta, 41, 291–298, 1985.

LEITE, F.; *Validação em análise química*. Campinas, SP: Editora Átomo, 2002. 4ª edição.

LIAO, X.; ZHU, Y.; WANG, S.G.; LI, Y. *Producing triacetyl glycerol with glycerol by two steps: Esterification and acetylation*. Fuel Processing Technology, 90, 988–993, 2009.

LOPES, D.V.M. *Acetilação catalítica de compostos polihidroxilados (glicerina) com obtenção de ésteres de glicerol*. Dissertação, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), 2013.

LIDE, D. R. Handbook of Chemistry and Physics, 87th ed., Taylor and Francis Group: Boca Raton, 2006.

LIN, C.S.K.; PFALTZGRAFF, L.A.; LORENZO, H.D.; MUBOFU, E.B.; ABDERRAHIM, S.; CLARK, J.H.; KOUTINAS, A.A.; KOPSAHELIS, N.; STAMATELATOU, K.; DICKSON, F.; THANKAPPAN, S.; MOHAMED, Z.; BROCKLESBY, R.; LUQUE, R. *Food Waste as a Valuable Resource for the Production of Chemicals, Materials and Fuels. Current Situation and Global Perspective*. Energy & Environmental Science, 6 (2), 2013.

LUCENA, G. L.; SOUZA, J. J. N.; MAIA, A. S.; SOLEDADE, L. E. B.; LONGO, E.; SOUZA, A. G.; SANTOS, I. M. G. *New Methodology for a Faster Synthesis of SrSnO₃ by the Modified Pechini Method*. Cerâmica, 59 (350), 249–53, 2013.

MALLICK, S.; PARDIA, K. M. *Studies on Heteropoly Acid Supported Zirconia II Liquid Phase Bromination of Phenol and Various Organic Substrates*. Catalysis Communications, 8, 889–93, 2007.

MEIRELES, B.A.; V.L.P., PEREIRA. *Synthesis of bio-additives: transesterification of ethyl acetate with glycerol using homogeneous or heterogeneous acid catalysts*. J. Braz. Chem. Soc. 24 (1) (2013) 17–25.

MEIRELES, B.A.; PEREIRA, V. L. P. *Processo para produção de acetinas a partir do glicerol via transesterificação em pregando catálise ácida homogênea ou heterogênea*. PI 1002386-0 A2, 17 dez. 2013. 14p.

MELERO, J.A.; GRIEKEN, R.V.; MORALES, G.; PANIAGUA, M. *Acidic Mesoporous Silica for the Acetylation of Glycerol: Synthesis of Bioadditives to Petrol*. Energy & Fuel, 21, 617–625, 2007.

MENA-CERVANTES, V.Y.; ALTAMIRANO, R.H.; TISCAREÑO-FERRER, A. *Development of a green one-step neutralization process for valorization of crude glycerol obtained from biodiesel*. Environmental Science and Pollution Research (2020) 27:28500–28509.

MENEGHETTI, M. R.; MENEGHETTI, S.M.P. *Sn(IV) Based Organometallics as Catalysts for the Production of Fatty Acid Alkyl Esters*. *Catalysis Science & Technology*, 5 (2), 765–71, 2015.

MENEZES, R. S (organizador). *Biodiesel no Brasil: impulso tecnológico - volume 1*. Lavras: UFLA, 2016. 244 p.

MILAZZO, M.F; SPINA, F.; VINCI, A., ESPRO, C.; BART, J. *Brassica biodiesels: Past, present and future*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 18, 350–389, 2013.

MONTEIRO, M. R.; KUGELMEIER, C. L.; PINHEIRO, R. S.; BATALHA, M. O.; CÉSAR, A. S. *Glycerol from biodiesel production: Technological paths for sustainability Renewable and Sustainable*. *Energy Reviews*, 88, 109–122, 2018.

MOTA, C.J.A.; PINTO, B.P. *Transformações catalíticas do glicerol para inovação na indústria química*. *Revista Virtual de Química*, 9 (1), 135-149, 2017.

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

MUFRODI Z, ROCHMADI R, SUTIJAN S, BUDIMAN A (2014). *Synthesis acetylation of glycerol using batch reactor and continuous reactive distillation column*. *Engl. J.* 18(2): 29–40.

NANDA, M.R.; ZHANG, Y.; YUAN, Z.; QIN, W.; GHAZIASKAR, H. S.; XU, C. *Catalytic conversion of glycerol for sustainable production of solketal as a fuel additive: A review*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Volume 56, April 2016, Pages 1022-1031.

NASCIMENTO, R.F.; DE LIMA, A.C.A.; BARBOSA, P.G.A.; DA SILVA, V.P.A. *Cromatografia gasosa [recurso eletrônico]: aspectos teóricos e práticos*. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2018.

NEBEL, B. MITTELBACH, M.; GEORG URAY, G. *Determination of the Composition of Acetylglycerol Mixtures by ¹H NMR Followed by GC Investigation*. *Analytical Chemistry*, 80 (22), 8712–16, 2008.

NETO, A.J.S. *Problemas com o formato dos picos em cromatografia líquida*. *Scientia Chromatographica*. Vol. 1, n.4, 2009.

NOVI, J.C; OLIVEIRA, S.V.W.B; SALGADO, A.P.J, OLIVEIRA, M.M.B. *Análise da gestão do glicerol: riscos e oportunidades sobre sua destinação frente à lacuna normativa e aspectos sustentáveis*. *REAd. Revista Eletrônica de Administração (Porto Alegre)*, 24 (3), 217–43, 2018.

NOUREDDINI, H.; ZHU, D. *Kinetics of transesterification of soybean oil*. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74 (1997) 1457–1463.

NUNES, R. S.; ALTINO, F.M.R.; MENEGHETTI, M. R.; MENEGHETTI, S.M.P. *New mechanistic approaches for fatty acid methyl ester production reactions in the presence of Sn (IV) catalysts*. *Catalysis Today*, 289, 121–26, 2017.

OKOYE, P.U.; ABDULLAH, A.Z.; HAMEED, B.H. *A review on recent developments and progress in the kinetics and deactivation of catalytic acetylation of glycerol—A byproduct of biodiesel*. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 74, 387–401, 2017.

PAGLIARO, M.; CIRIMINNA, R.; KIMURA, H.; ROSSI, M.; PINA, C. D. *From Glycerol to Value-Added Products*. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, 46, 4434 – 4440.

PEITER, G.C.; ALVES, H.J.; SEQUINEL, R.; BAUTITZ, I.R. *Alternativas para o uso do glicerol produzido a partir do biodiesel*. *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, 5 (4), 519-537, 2016.

PORTE, A.; PORTE, L.H.M.; OLIVEIRA, L.M. *Cromatografia gasosa quiral na resolução de enantiômeros envolvidos em flavours de frutas*. *Quim. Nova*, Vol. 37, No. 10, 1670-1679, 2014

PINTO, B. P.; DE LYRA, J. T.; NASCIMENTO, A.C.J.; CLAUDIO J.A. MOTA. *Ethers of glycerol and ethanol as bioadditives for biodiesel*. *Fuel*, 168, 76–80, 2016.

PITT, F.D.; DOMINGOS, A.M.; BARROS, A.A.C. *Purification of residual glycerol recovered from biodiesel production*. *South African Journal of Chemical Engineering* 29 (2019) 42–51.

QUISPE, C.A.G; CORONADO, C.J.R; CARVALHO, J.A.J. *Glycerol: production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 475-493, 2013.

RASTEGARI, H.; HASSAN, S. G. *From glycerol as the by-product of biodiesel production to value-added monoacetin by continuous and selective esterification in acetic acid*. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 21, 856–61, 2015.

RIBANI, M., BOTTOLI, C.B.G., COLLINS, C.H., JARDIM, I.C.S.F., MELO, L.F.C. *Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos*. *Química Nova*. Vol. 27, 771 – 780, 2004.

RODRÍGUEZ, D.; GAIGNEAUX, E.M. *Glycerol acetylation catalysed by ion exchange resins*. *Catalysis Today*, 195, 14–21, 2012.

REINOSO, D.M.; BOLDRINI, D.E. *Kinetic study of fuel bio-additive synthesis from glycerol esterification with acetic acid over acid polymeric resin as catalyst*. *Fuel* 264 (2020) 116879.

REZAYAR, M.; GHAZIASKAR, H.S. *Continuous synthesis of glycerol acetates in supercritical carbon dioxide using Amberlyst 15*. *Green Chemistry*, 11, 710–715, 2009.

RODRÍGUEZ, D.; GAIGNEAUX, E.M. *Glycerol acetylation catalysed by ion exchange resins*. *Catalysis Today*, 195, 14–21, 2012.

SERRA, T.M.; DE MENDONÇA, D.R.; DA SILVA, J.P.V.; MENEGHETTI, M.R.; MENEGHETTI, S.M.P. *Comparison of soybean oil and castor oil methanolysis in the presence of tin(IV) complexes*. Fuel, Volume 90, Issue 6, June 2011, Pages 2203-2206

SILVA, F.L.; MELO, L.N.; WOLF, C.R.; MENEGHETTI, S.M. P.; BORTOLUZZI, J.H. *Determination of Alkyl Esters Content by Gas Chromatography: Validation of Method Based on Short Column and Response Factor*. J. Braz. Chem. Soc. 29 (6) • June 2018 • <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170232>

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH. *Fundamentos de Química Analítica*, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006.

SUAREZ, P. A. Z.; MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; WOLF, C. R. *Transformação de triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: algumas aplicações da catálise na oleoquímica*. Química Nova, 30 (3), 667-676, 2007.

SUSTERE, Z.; KAMPARE, R.; LIEPINS, E.; KAMPARS, V. *The Composition of Commercial Acetylated Glycerol Samples Determined by ¹³C and ¹H NMR. The Comparison with Gas Chromatography*. ISSN 1061-9348, Journal of Analytical Chemistry, 2014, Vol. 69, No. 8, pp. 763–768.

TAN, H.W.; AZIZ, A.R.; AROUA, M.K. *Glycerol production and its applications as a raw material: A review*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 27, 118-127, 2013.

TERENCE, B. *Learn About the Properties, Production, and Applications of Tin*. The Balance, <https://www.thebalance.com/metal-profile-tin-2340157>. Acessado em 15 de julho 2019.

TERRA, V.R.; BARBIÉRI, R.S.; CASTELO BRANCO, P.A.C.; ABRAS, A. *Síntese e caracterização de compostos diorganoestânicos com ácido dl-mandélico*. Eclética Química, 23, 17–30, 1998.

TESTA, M.L.; PAROLA, V.L.; LIOTTA, L.F., VENEZIA, A.M. *Screening of different solid acid catalysts for glycerol acetylation*. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 367, 69-76, 2013.

UMPIERRE, A.P.; MACHADO, F. *Gliceroquímica e valorização do glicerol*. Revista Virtual de Química, 5 (1) 106-116, 2013.

VELUTURLA, S.; NARULA, A.; RAO, S.; SHETTY, S.P. *Kinetic study of synthesis of bio-fuel additives from glycerol using a heteropolyacid*. Resource-Efficient Technologies, 3, 337–341, 2017.

WANG, S.; GUIN, J.A. *Silica-Supported Sulfated Zirconia: A New Effective acid Solid for Etherification*. Chemical Communications, 24, 2499–500, 2000.

WEBSTER, G.K.; KUMAR, S. *Expanding the Analytical Toolbox: Pharmaceutical Application of Quantitative NMR*. Anal. Chem. 2014, 86, 11474–11480

ZHOU, L.; AL-ZAINI, E.; ADESINA, A.A. *Catalytic characteristics and parameters optimization of the glycerol acetylation over solid acid catalysts*. Fuel, 103, 617–625, 2013.

ANEXOS

ANEXO A (SEÇÃO 2)

Figura 1 – gráficos construídos com o logaritmo natural da conversão de GLI *versus* tempo para obtenção da constante de velocidade nas reações com e sem catalisador de Sn(II) a 80 °C, empregando RM-AA:GLI de 4:1.

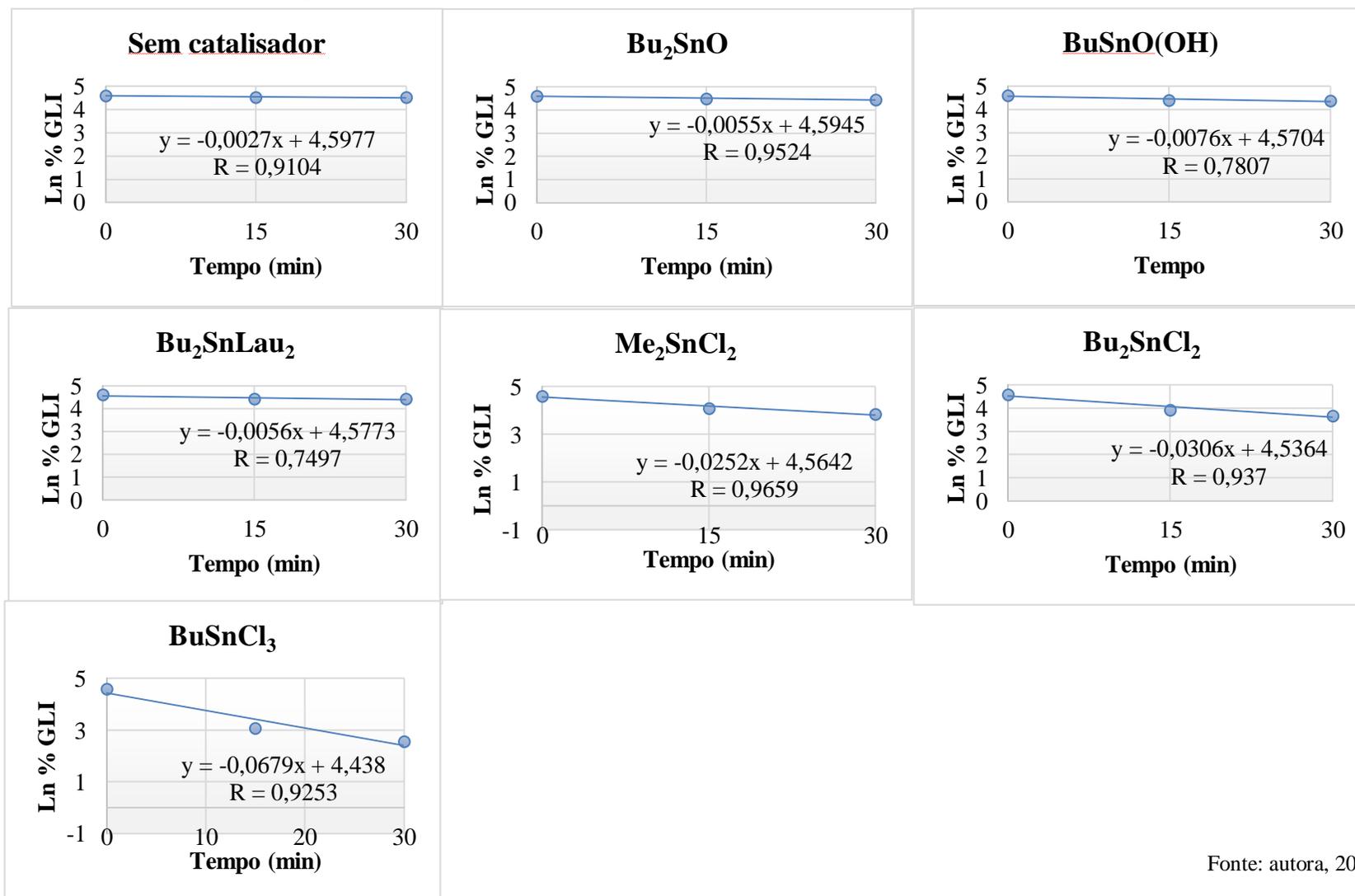


Figura 2 – gráficos construídos com o logaritmo natural da conversão de GLI *versus* tempo para obtenção da constante de velocidade nas reações com e sem catalisador de Sn(I) a 120 °C, empregando RM-AA:GLI de 4:1.

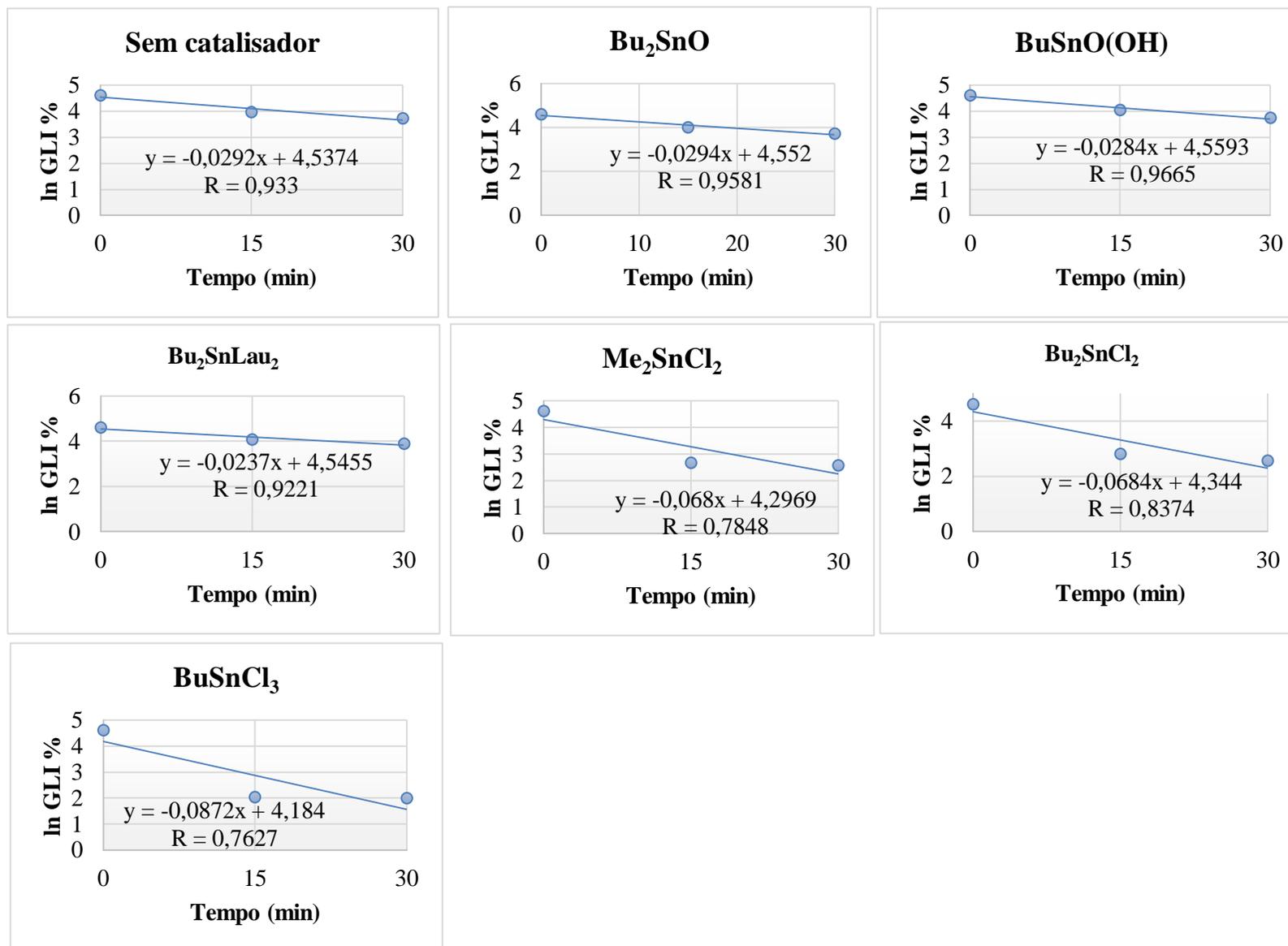


Figura 3 – gráficos construídos com o logaritmo natural da conversão de GLI *versus* tempo para obtenção da constante de velocidade nas reações com e sem catalisador de Sn(I) a 40 °C, empregando RM-AA:GLI de 4:1.

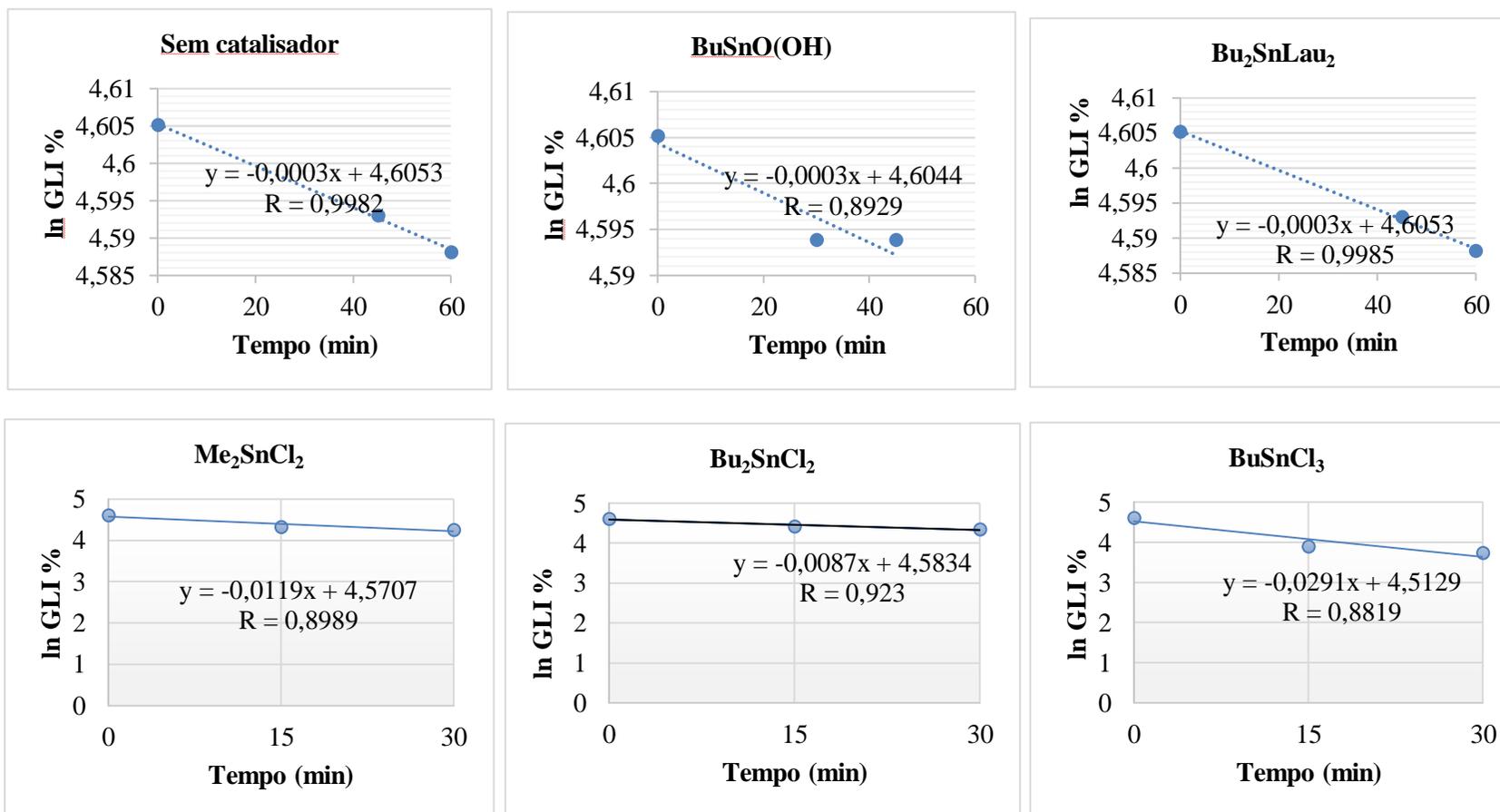
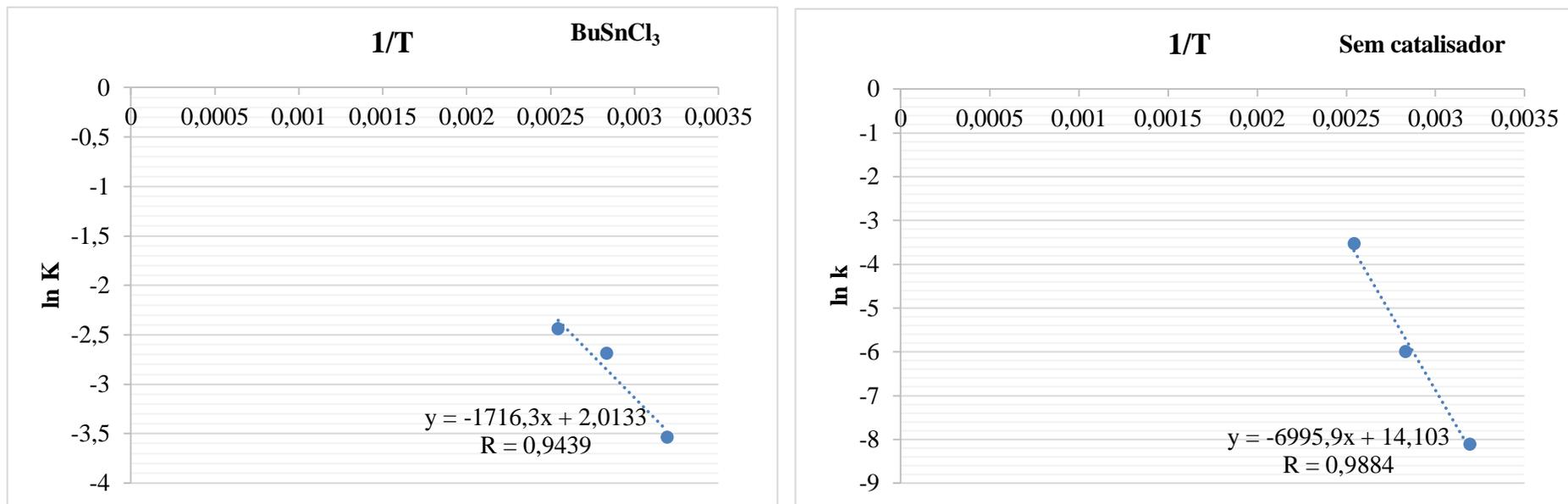


Figura 4 – gráficos de $1/T$ versus $\ln K$ para os dados experimentais da reação com BuSnCl_3 e sem catalisador e sem catalisador.



Fonte: autora, 2020.

ANEXO B (SEÇÃO 2)

Figura 1 – Espectros de RMN de ^{13}C de: (a) tricloreto de butilestanho (BuSnCl_3); (b) ácido acético (AA); (c) BuSnCl_3 + AA a $80\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h, com agitação; (d) BuSnCl_3 + AA + GLI a $80\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h, com agitação e utilizando CDCl_3 como solvente.

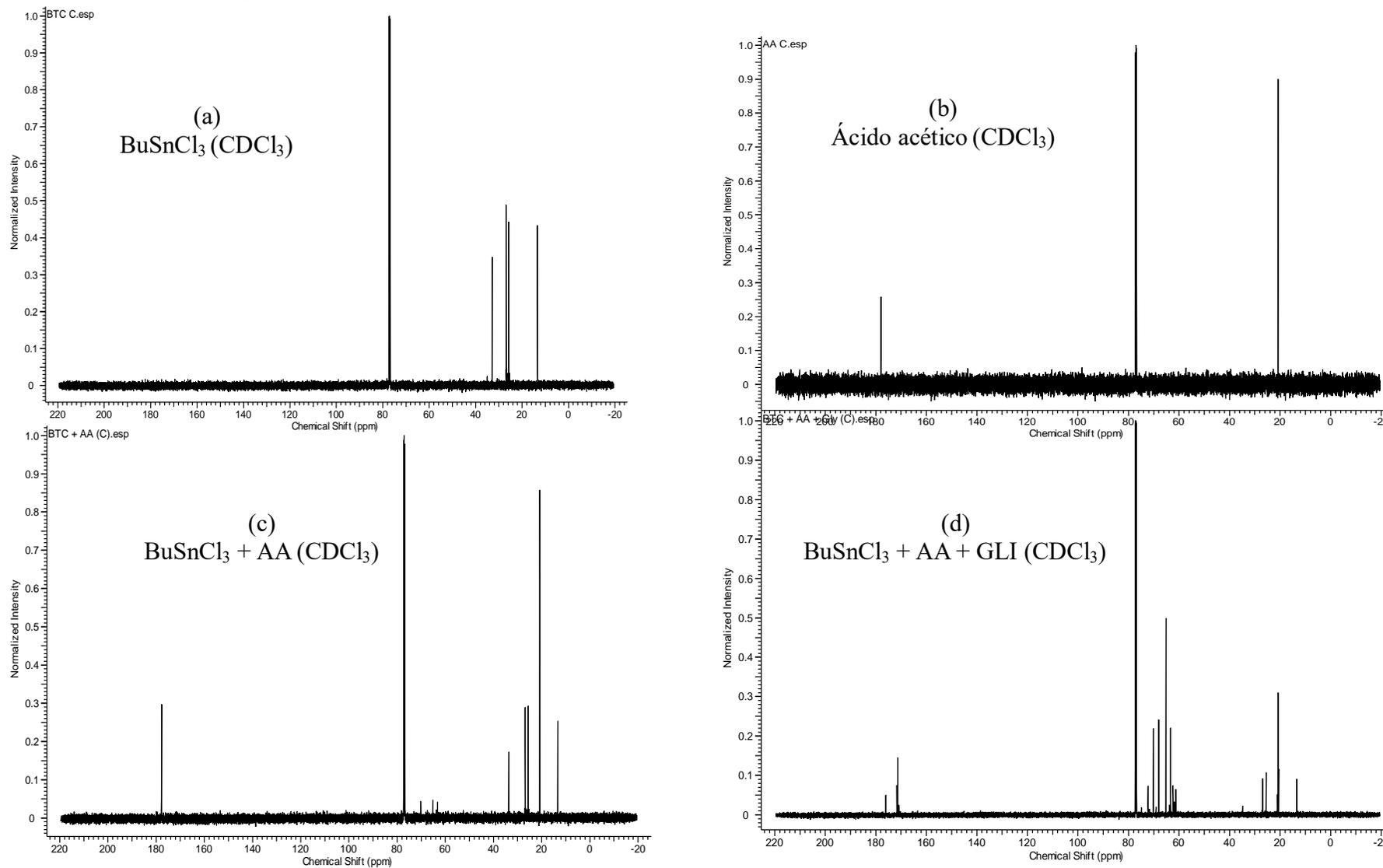
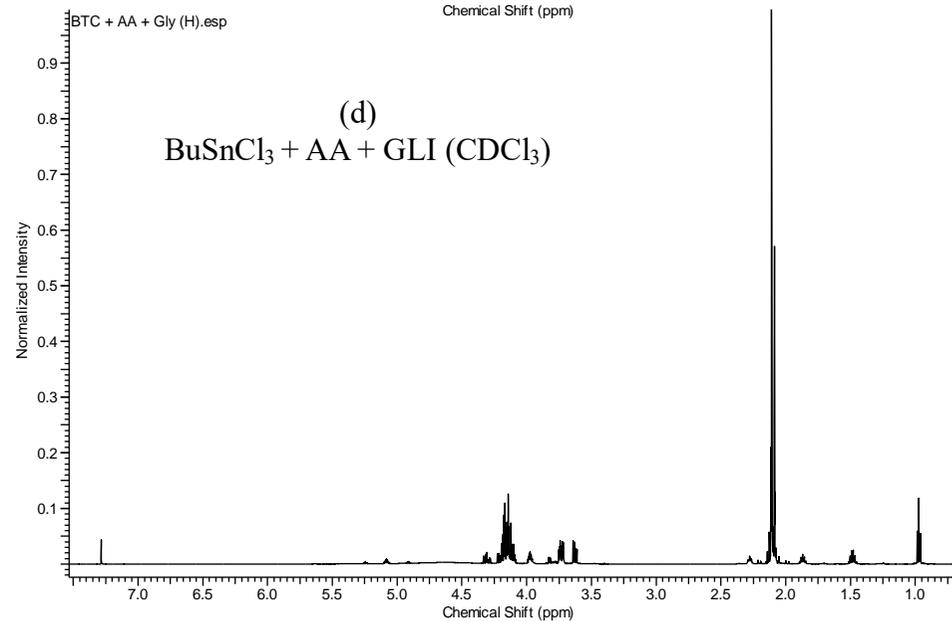
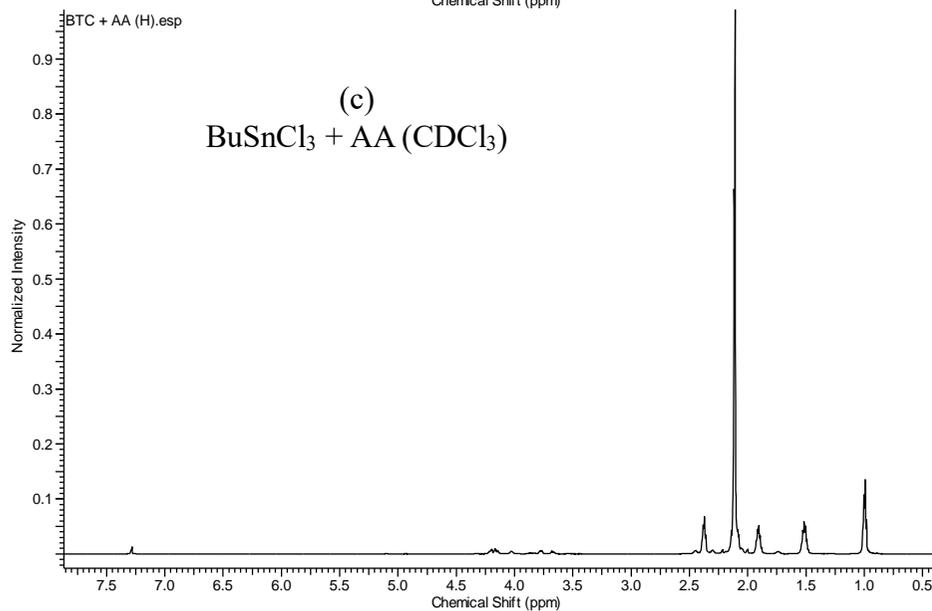
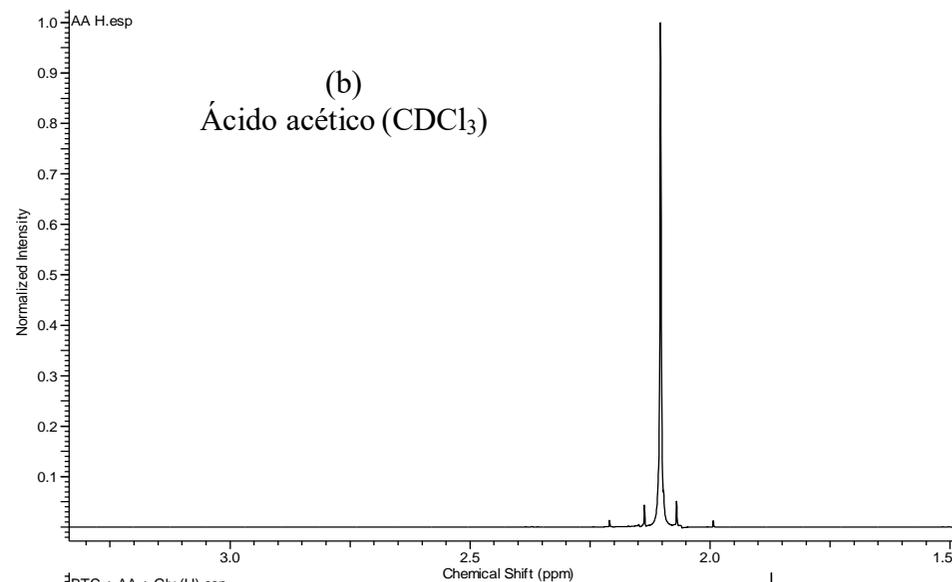
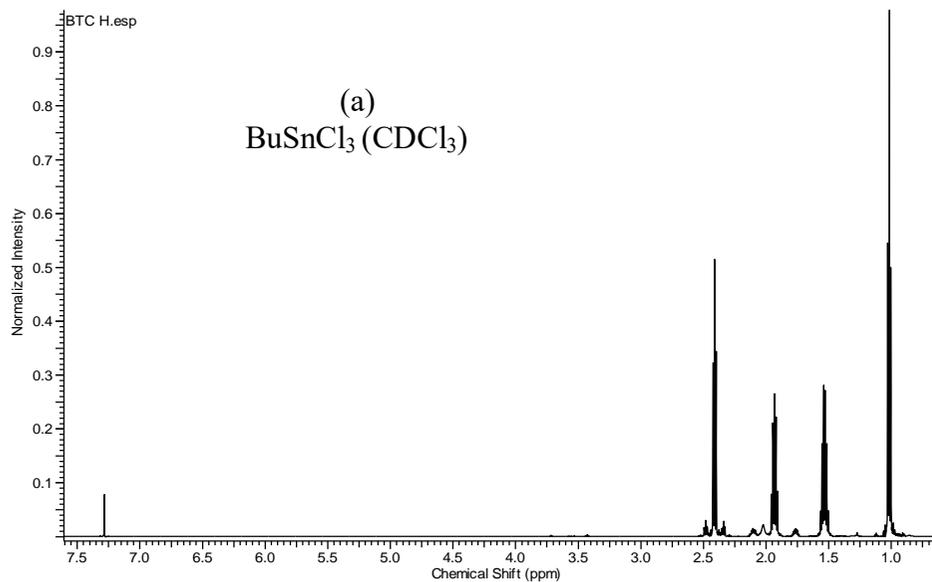
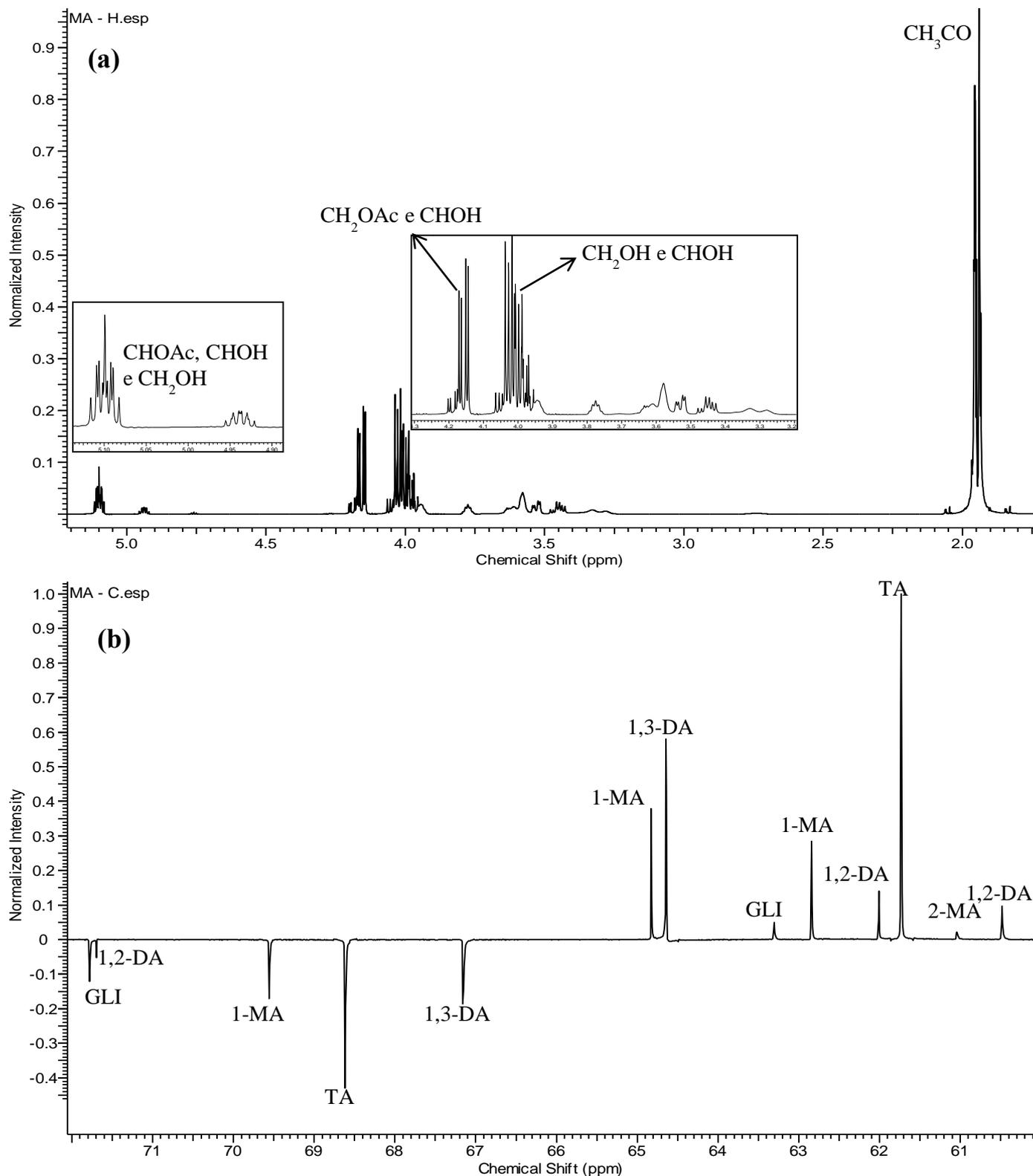


Figura 2 – Espectros de RMN de ^1H de: (a) tricloreto de butilestanho (BuSnCl_3); (b) ácido acético (AA); (c) BuSnCl_3 + AA a $80\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h, com agitação; (d) BuSnCl_3 + AA + GLI a $80\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h, com agitação e utilizando CDCl_3 como solvente.

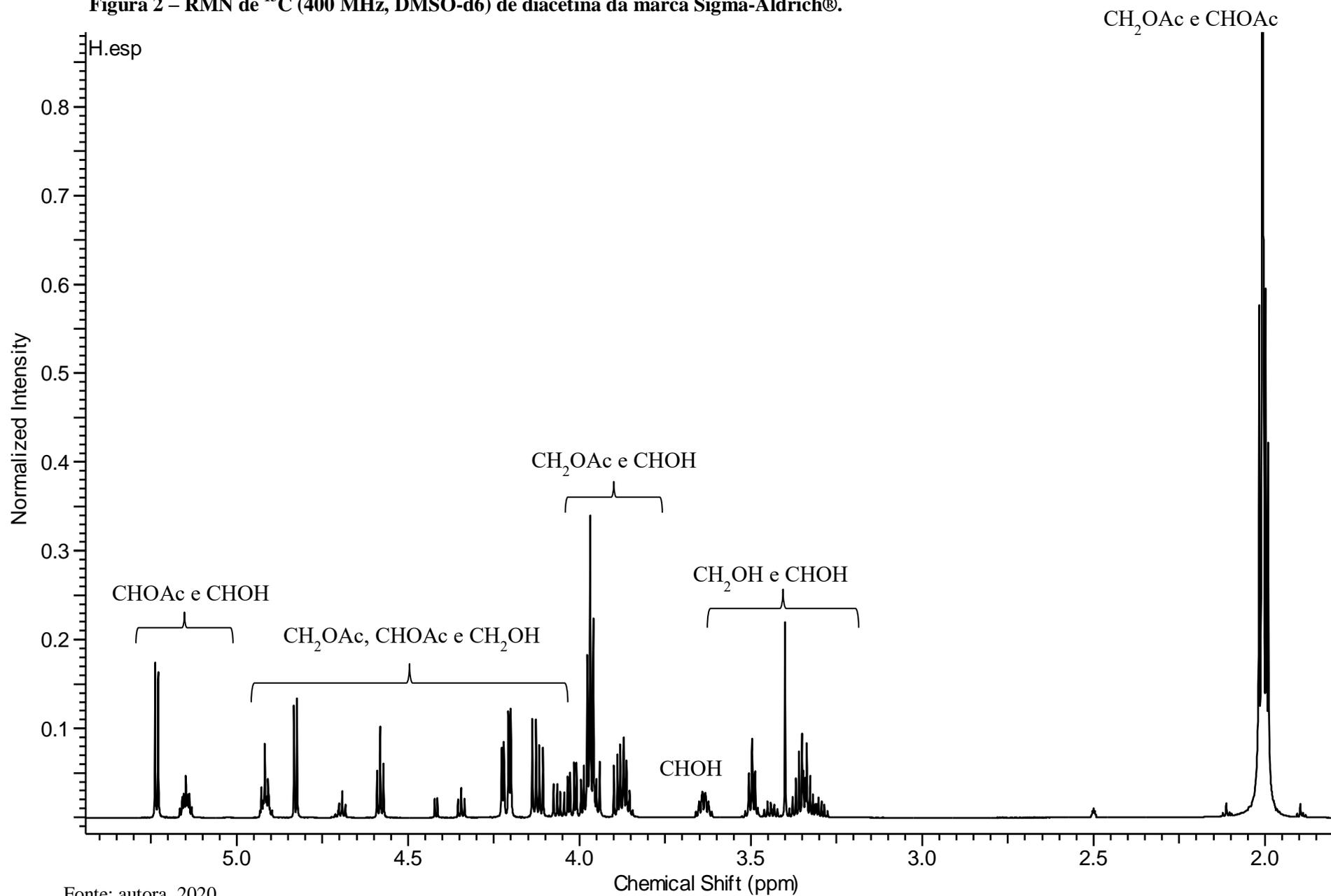


ANEXO A – SEÇÃO 3

Figura 1 – RMN (400 MHz, CDCl₃) de: (a) ¹H e (b) ¹³C da monoacetina da marca Alfa Aesar.



Fonte: autora, 2020.

Figura 2 – RMN de ^{13}C (400 MHz, DMSO-d₆) de diacetina da marca Sigma-Aldrich®.

Fonte: autora, 2020.