

Universidade Federal de Juiz de Fora
Programa de Pós-Graduação em Química
Mestrado em Química

Eduardo Walneide Castilho Almeida

**ESTUDO TEÓRICO DE ESTRUTURA, PROPRIEDADES E REATIVIDADE DE
TRIGLICERÍDEOS E ÉSTERES DE ÁCIDOS GRAXOS ENVOLVIDOS NA
PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO BIODIESEL**

Juiz de Fora

2010

Eduardo Walneide Castilho Almeida

**ESTUDO TEÓRICO DE ESTRUTURA, PROPRIEDADES E REATIVIDADE DE
TRIGLICERÍDEOS E ÉSTERES DE ÁCIDOS GRAXOS ENVOLVIDOS NA
PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO BIODIESEL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração: Físico-Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Hélio Ferreira Dos Santos

Juiz de Fora

2010



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

UFJF
Pós-Graduação
em Química

A presente dissertação, intitulada “**Estudo Teórico de Estrutura, Propriedades e Reatividade de Triglicérides e Ésteres de Ácidos Graxos Envolvidos na Produção e Composição do Biodiesel**” de autoria de Eduardo Walneide Castilho Almeida, submetida à Comissão Examinadora abaixo assinada, foi aprovada para obtenção do grau de **MESTRE EM QUÍMICA** em 26 de fevereiro de 2010.

Juiz de Fora, 26 de fevereiro de 2010.

Prof. Dr. Hélio Ferreira dos Santos
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Wagner Batista de Almeida
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira
Universidade Federal de Juiz de Fora

À minha família, amigos e companheiros que, de uma forma ou de outra, contribuíram para o êxito deste trabalho após tão longa jornada.

AGRADECIMENTOS

Uma etapa concluída é sempre fruto de muitas experiências vividas. Algumas nos fazem sentir aquela empolgação típica de adolescentes diante de um fato inédito; outras nos trazem aquele amargo sentimento de reprovação que custa a passar. Em comum, ambas possuem as pessoas. Aqueles seres que passam por nossas vidas e deixam marcas irreparáveis.

Por este motivo não posso deixar de agradecer aos meus amigos e companheiros especiais do NEQC: Alexandre, Antônio, Artur, Bruna, Cléber, Christian, Diego, Geórgia, Isabela, Leonardo, Lucas, Maikel, Marcely, Valdilei, Wesley e Willian. Obrigado pelo apoio, pelas conversas amigáveis e científicas e pela amizade.

Os companheiros da Pós-Graduação e iniciação científica também merecem seu crédito nisso tudo. Obrigado a todos os parceiros do NUPEQ, principalmente as amigas Elgte e Tatiane.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química, o meu agradecimento por propiciarem o meu desenvolvimento enquanto pesquisador e pessoa.

Por toda a colaboração que já se arrasta por mais de uma década, agradeço aos amigos do peito Hernandes e César e aos mais recentes membros da turma, Fábio, Guilherme, Lucas, Rafael e Ramon.

Àquelas pessoas que marcaram minha vida e contribuíram para o meu crescimento com palavras bem colocadas e com alegria: Darci, Jean, Marlúcia e Thaís.

Ao orientador e amigo, Hélio, pelo apoio às ideias mirabolantes, pela amizade e por acreditar no meu potencial durante todo o período de trabalho.

Aos meus pais, Márcio e Conceição, pela segurança, carinho e apoio dados nos momentos mais difíceis e pela paciência nos momentos de maior estresse.

Agradeço também aos órgãos de fomento: CAPES, CNPq e FAPEMIG e à Universidade Federal de Juiz de Fora pela disponibilidade de recursos.

Finalmente, agradeço a Ele que se manteve a todo o momento ao meu lado, mesmo sem eu perceber e acabou por me indicar o caminho do sucesso em meio a tantas dificuldades.

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.”

(Albert Einstein)

RESUMO

O presente trabalho se destina ao estudo de propriedades estruturais e termodinâmicas inerentes a triglicerídeos, ésteres de ácido graxo (EAG) e biodiesel por meio de metodologias teóricas e quimiométricas. Aliado a isso, o estudo do processo de transesterificação de triglicerídeos (TG) utilizando ciclodextrinas (CD) como potenciais catalisadores também foi contemplado. Inicialmente, por meio de um planejamento fatorial Box-Behnken 3^4 , foram avaliados os efeitos das variáveis envolvidas na simulação de dinâmica molecular (DM) de complexos de inclusão formados entre trilaurilglicerídeo (TLG – 12:0) e α -CD. Os resultados apontaram um protocolo de aquecimento de DM adequado para o tratamento de sistemas TG@n. α -CD com valores bem definidos para as variáveis envolvidas no processo: tempo de aquecimento (W), tempo de equilíbrio (E), passo da DM (S) e constante dielétrica (C). De posse deste protocolo, foram desenvolvidos estudos de DM contemplando complexos de inclusão formados entre modelos de TG utilizados para a síntese de biodiesel – trilaurilglicerídeo (TLG – 12:0), tripentadecanoilglicerídeo (TPDG – 15:0), trihexadecanoilglicerídeo (THDG – 16:0), triestearilglicerídeo (TESG – 18:0), trioleilglicerídeo (TOG – 18:1), trilinoleilglicerídeo (TLLG – 18:2) e trilinolenilglicerídeo (TLNG – 18:3) – e α -CD nativa e modificada (α -CD-NH₂). Os resultados apontaram uma correlação entre a estabilidade dos complexos de inclusão TG@1. α -CD e o tamanho e o grau de saturação das cadeias triglicerídicas inclusas. Complexos de inclusão formados com TG de cadeias longas e insaturadas apresentaram menores valores de energia de complexação frente àqueles formados com outros tipos de cadeia triglicerídica. Em outra parte deste estudo, o potencial catalítico de CD na reação de transesterificação de TG também foi investigado por meio de cálculos de otimização de geometria e de frequências harmônicas vibracionais via DFT. Os resultados apontaram evidências termodinâmicas para tal proposta utilizando α -CD como catalisador. Além disso, espectros infravermelho e Raman teóricos foram determinados para algumas espécies de TG e EAG, visando a elucidação de possíveis métodos capazes de contribuir para as análises experimentais de biodiesel. Algumas distinções interessantes foram notadas entre o perfil do espectro de espécies saturadas e insaturadas e de misturas contendo impurezas inerentes ao processo de produção de biodiesel.

Palavras-chave: Triglicerídeos. Biodiesel. Ciclodextrina.

ABSTRACT

The present work aims the study of structural and thermodynamic properties for process involving triglycerides (TG), fatty acid esters (EAG) and biodiesel through theoretical and chemometrical methodologies. The study of the transesterification reaction of triglycerides (TG) using cyclodextrin (CD) as a potential catalyst were also carried out. Initially, through a Box-Behnken 3^4 factorial design, the effects of the variables involved in the molecular dynamics simulation (MD) of inclusion compounds formed between triaurylglyceride (TLG – 12:0) and α -CD were evaluated. The results lead to an appropriated MD heating protocol for the treatment of TG@n.CD systems with specific values for the variables involved in the process: time of heating (W), equilibrium time (E), time step of the dynamics (S) and dielectric constant of the medium (C). Starting from the best protocol, MD studies were developed contemplating inclusion complexes formed between TG models used to the biodiesel synthesis – triaurylglyceride (TLG – 12:0), tripentadecanoylglyceride (TPDG – 15:0), trihexadecanoylglyceride (THDG – 16:0), tristearylglyceride (TESG – 18:0), trioylelglyceride (TOG – 18:1), trilinoleylglyceride (TLLG – 18:2) e trilinolenylglyceride (TLNG – 18:3) – and native α -CD and modified cyclodextrin (α -CD-NH₂). The results pointed out a correlation between the stability of the TG@1. α -CD inclusion compounds and the size and saturation degree of the triglyceridic included chain. The catalytic potential of CD in the transesterification reaction of TG was also investigated through geometry optimization and vibrational harmonic frequencies calculations via DFT. The results show thermodynamic evidences for such proposal using α -CD as catalyst. Besides, theoretical infrared and Raman spectra were determined for some TG and EAG species, looking for the elucidation of possible methods capable to contribute for the experimental analysis of biodiesel. Some interesting fingerprints were noticed in the spectrum of saturated and unsaturated species, allowing the characterization of complex mixtures obtained in the biodiesel production.

Keywords: Triglycerides. Biodiesel. Cyclodextrin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1	Número de publicações envolvendo o termo "biofuels" de acordo com pesquisa efetuada na base de dados Web of Knowledge no dia 23 de dezembro de 2009.	18
Gráfico 2	Matriz energética brasileira no ano de 2007 (BRASIL, 2008).....	20
Figura 1	Ilustração das estruturas gerais de um TG (a) e de um éster metílico de ácido graxo (b), bem como da composição de um biodiesel comercial (c).....	22
Figura 2	Esquema geral da reação de transesterificação.	25
Figura 3	Mecanismo geral de transesterificação de triglicerídeos via catálise ácida (SUAREZ et al., 2007).....	28
Figura 4	Mecanismo geral de transesterificação de triglicerídeos via catálise básica (SUAREZ et al., 2007).	29
Figura 5	Mecanismo geral de transesterificação de triglicerídeos via catálise metálica, onde $M = Sn^{+2}$, Pb^{+2} , Hg^{+2} e Zn^{+2} (ABREU et al., 2003, 2004, 2005; SUAREZ et al., 2007).	30
Figura 6	Mecanismo geral de catálise enzimática do processo de transesterificação proposto por Al-Zuhair e colaboradores (AL-ZUHAIR et al., 2007).....	31
Figura 7	Estrutura genérica das ciclodextrinas, ressaltando as estruturas de α -D-glicose e a ligação α -1,4 entre monômeros. (n assume, em geral, os valores 1, 2 e 3)....	34
Figura 8	Esquema base da degradação das cadeias de amido pela ação da enzima CGT-ase, gerando ciclodextrinas como produto.	35
Figura 9	Esquema representativo da estrutura de uma ciclodextrina ressaltando suas características de polaridade e suas hidroxilas (No exemplo: α -CD).	35
Figura 10	Esquema representativo do processo de formação de complexos de inclusão envolvendo ciclodextrinas em solução aquosa.	38
Figura 11	Representação gráfica dos ensaios a serem realizados em um planejamento 3^4 do tipo Box-Behnken.	46
Fluxograma 1	Algoritmo genérico para um cálculo de Dinâmica Molecular Clássica.....	48
Figura 12	Representação de um processo de solvatação envolvendo água como solvente apresentando os dipólos individuais (a) e o campo contínuo atribuído ao vetor P , destacando a cavidade do soluto definida (b).....	55
Fluxograma 2	Interdependência das principais variáveis DFT.	59

Fluxograma 3	Método autoconsistente KS-SCF.	63
Figura 13	Estrutura genérica de um triglicerídeo enfatizando suas cadeias R derivadas de ácidos graxos e seu esqueleto base derivado do glicerol.	75
Figura 14	Estruturas dos complexos de inclusão estudados via DM, sendo TLG@1.α-CD (a), TLG@2.α-CD (b) e TLG@3.α-CD (c).	75
Figura 15	Curvas referentes à energia potencial e distância entre grupos da α-CD e do TLG para o ensaio 5, evidenciando o instante de desinclusão.....	79
Figura 16	Correlação entre os valores observado e calculado de FT% para a 1 ^a (a) e 2 ^a desinclusão (b) no sistema TLG@2α-CD. A linha vermelha nos gráficos corresponde a perfeita correlação entre FT% _{obs} e FT% _{calc}	88
Figura 17	FT% calculado de acordo com o modelo obtido para o sistema TLG@2.α-CD.	89
Figura 18	Correlação entre os valores observado e calculado de FT% para a 1 ^a (a), 2 ^a (b) e 3 ^a desinclusão (c) no sistema TLG@3.α-CD. A linha vermelha nos gráficos corresponde a perfeita correlação entre FT% _{obs} e FT% _{calc}	90
Figura 19	FT% calculado de acordo com o modelo obtido para o sistema TLG@3.α-CD.	91
Figura 20	Energias de complexação obtidas para o sistema TLG@1.α-CD a partir de simulações de DM efetuadas para diferentes protocolos de aquecimento. Todos os ensaios resultaram em FT% = 100%.....	93
Figura 21	Perfil do raio de rotação para os principais ensaios aplicados ao sistema TLG@1.α-CD durante a DM. Todos os ensaios resultaram em FT% = 100%.94	
Figura 22	Estrutura das moléculas α-CD (a) e α-CD-NH ₂ (b) utilizadas nos estudos com TG.	97
Figura 23	Representação dos modos de inclusão investigados.	97
Figura 24	Estrutura de um complexo de inclusão envolvendo o triglicerídeo TEGS e uma α-CD.....	100
Figura 25	Estruturas das cadeias insaturadas dos TG, ressaltando a isomeria <i>cis</i>	100
Figura 26	Valores para o Raio de Rotação (R _g) ao longo da DM para os complexos de inclusão envolvendo modelos de TG reais. Na região em destaque, a fase de análise das médias da DM.....	101
Figura 27	Valores de RMSD, ao longo da DM, assumidos pelos complexos de inclusão envolvendo modelos de TG reais.....	102

Figura 28	Representação das distâncias entre os sítios reativos para o ataque nucleofílico na carbonila da cadeia onde se encontra incluída a α -CD (r_1) e na cadeia vizinha (r_2).....	103
Figura 29	Distâncias médias entre a hidroxila da α -CD e a carbonila dos TG da mesma cadeia onde se encontram incluídas a α -CD (a) e da cadeia vizinha (b).....	104
Figura 30	Comparação do sítio ativo (a) da enzima lipase (PDB, 2007) (b) com a estrutura de uma CD (c).....	106
Figura 31	Mecanismo de catálise proposto para a transesterificação de TG utilizando α -CD como catalisador.....	106
Figura 32	Mecanismo de transesterificação sem o uso de um catalisador.	108
Figura 33	Flutuação dos valores de Δ_rG para os diferentes TG nas etapas de reação consideradas.....	112
Figura 34	Entalpias de reação para os processos de transesterificação sem (a) e com catalisador (b). A entalpia dos reagentes foram consideradas nulas para todos os TG analisados.	114
Figura 35	Estruturas geradas ao longo da DM do TOG evidenciando a busca por uma estrutura com um valor de energia próximo à média da fase de análise das médias.	118
Figura 36	Análise de RMSD para a DM do TLNG evidenciando a convergência estrutural.	118
Figura 37	Espectro IV completo dos TG estudados (a) e respectiva expansão na região compreendida entre 2000 cm^{-1} e 500 cm^{-1} (b).	120
Figura 38	Espectro IV completo dos EMAG estudados (a) e respectiva expansão na região compreendida entre 2000 cm^{-1} e 500 cm^{-1} (b).....	123
Figura 39	Espectro IV completo dos EEAG estudados (a) e respectiva expansão na região compreendida entre 2000 cm^{-1} e 500 cm^{-1} (b).	124
Figura 40	Espectros IV correspondentes a misturas de TG entre $2000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ nas proporções (A) 16:0 (60%), 18:0 (40%) e (B) 18:1 (72%), 18:2 (22%) e 18:3 (6%).....	128
Figura 41	Espectros IV correspondentes à mistura de EMAG e EEAG nas proporções (A) 16:0 (60%), 18:0 (40%) e (B) 18:1 (72%), 18:2 (22%) e 18:3 (6%).	128
Figura 42	Espectros IV de misturas de EMAG (a) e EEAG (b) de acordo com as composições: (A) 16:0 (6%), 18:0 (4%), 18:1 (25%), 18:2 (50%) e 18:3 (5%); (B) 16:0 (6%), 18:0 (4%), 18:1 (25%), 18:2 (50%), 18:3 (5%), 1% de THDG,	

	TESG, TOG, TLLG e TLNG e 5% de glicerol e (C) 16:0 (6%), 18:0 (4%), 18:1 (25%), 18:2 (50%), 18:3 (5%) e glicerol (10%).	130
Figura 43	Espectro IV calculado para o glicerol evidenciando as principais bandas detectáveis em uma mistura com EAG.	131
Figura 44	Comparação entre os espectros teórico (em preto) e experimental (em vermelho) para o linolenato de etila (18:3).	132
Figura 45	Espectro Raman completo dos EMAG estudados (a) e respectiva expansão na região compreendida entre 2000 cm^{-1} e 500 cm^{-1} (b).	134
Figura 46	Espectro Raman completo dos EMAG estudados (a) e respectiva expansão na região compreendida entre 2000 cm^{-1} e 500 cm^{-1} (b).	136
Figura 47	Espectros Raman correspondentes à mistura de EMAG e EEAG nas proporções (A) 16:0 (60%), 18:0 (40%) e (B) 18:1 (72%), 18:2 (22%) e 18:3 (6%).	137
Figura 48	Comparação entre os espectros Raman de um derivado insaturado (18:3) de TG, EMAG e EEAG.	138

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição dos derivados de ácidos graxos em algumas fontes de óleos (PINTO, 2005).....	23
Tabela 2	Dados estruturais e propriedades físicas das α , β e γ -CD (CONNORS, 1997; EASTON & LINCOLN, 1999; SZEJTLI, 1988, 1998).	36
Tabela 3	Exemplos de alguns planejamentos de processos (DE BARROS NETO <i>et al.</i> , 2007).....	41
Tabela 4	Parâmetros utilizados na análise de variância para o ajuste de um modelo de acordo com o método dos mínimos quadrados. n_i é o número de repetições no nível i ; m equivale ao número de níveis distintos da variável x ; n corresponde ao número total de medidas efetuadas (ni); e p é o número de parâmetros do modelo de ajuste. O índice i relaciona-se ao nível da variável x , enquanto o índice j possui relação com as réplicas efetuadas em um determinado nível de x . Os somatórios abrangem o intervalo de $i = 1$ a $i = m$, com exceção para os segundos somatórios em SQ_r , SQ_{ep} e SQ_t que compreendem o intervalo de $j = 1$ a $j = n_i$. y_m corresponde à média de todos os valores de y ; y_{im} equivale à médias das réplicas num dado nível i	43
Tabela 5	Níveis das variáveis a serem considerados nos ensaios de acordo com o protocolo de Box-Benhken. Nota-se que cada linha da tabela corresponde a um fatorial completo 2^2	45
Tabela 6	Exemplos de alguns termos potenciais comumente utilizados nos principais campos de força (SUTTMANN, 2002).	53
Tabela 7	Equações para o cálculo da entropia, energia térmica interna e capacidade calorífica a volume constante, obtidas através das funções de partição.....	67
Tabela 8	Valores trabalhados para as variáveis envolvidas nas DM nos três níveis (-1, 0 e 1) e os respectivos protocolos de DM analisados nos ensaios teóricos envolvendo estes níveis para as variáveis consideradas neste estudo (W, E, S, C).....	77
Tabela 9	Níveis estabelecidos para as variáveis e interação das mesmas conforme requerido na matriz X. As interações de variáveis correspondem, matematicamente, ao produto dos níveis das mesmas para cada ensaio.....	80
Tabela 10	Valores de FT% calculados via DM para os sistemas de inclusão TLG@1. α -CD, TLG@2. α -CD, TLG@3. α -CD.	82

Tabela 11 Efeitos calculados para as variáveis e interações das mesmas nos sistema de inclusão trabalhados baseado nos valores de TF% obtidos pela DM.....	83
Tabela 12 Modelos ajustados para os processos de desinclusão dos sistemas TLG@1.α-CD, TLG@2.α-CD e TLG@3.α-CD apontando os valores do teste F calculado para a regressão (F_{reg}) e do coeficiente de correlação (R^2). Em vermelho encontram-se aqueles parâmetros calculados que não apresentam significância, uma vez que possuem valor menor que o do erro associado.....	86
Tabela 13 Modelos de complexo de inclusão TG@n.α-CD estudados.....	96
Tabela 14 Estabilidade dos complexos de inclusão estudados; (-) aponta o colapso do complexo de inclusão ao fim da DM; (+) aponta a estabilidade do mesmo; (+*) aponta que o complexo encontra-se em iminência de desestabilização ao fim da DM.	98
Tabela 15 Energias de complexação para os complexos de inclusão estáveis a 298,15 K.	99
Tabela 16 Propriedades termodinâmicas associadas às etapas de transesterificação, sem uso de catalisador, obtidas na fase gás a 298,15K.....	110
Tabela 17 Propriedades termodinâmicas associadas às etapas de transesterificação, com o uso de α-CD como catalisador, obtidas na fase gás a 298,15K.....	113
Tabela 18 Estruturas dos modelos de TG, EMAG e EEAG submetidos à análise vibracional.	117
Tabela 19 Frequências vibracionais (em cm^{-1}) e atribuições de algumas bandas características no IV para os TG estudados.....	122
Tabela 20 Frequências vibracionais (em cm^{-1}) e atribuições de algumas bandas características no IV para os EMAG estudados.	126
Tabela 21 Frequências vibracionais (em cm^{-1}) e atribuições de algumas bandas características no IV para os EEAG estudados.....	126
Tabela 22 Frequências vibracionais (em cm^{-1}) e atribuições de algumas bandas características no Raman para os EMAG estudados.	135
Tabela 23 Frequências vibracionais (em cm^{-1}) e atribuições de algumas bandas características no Raman para os EEAG estudados.	135

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMBER	<i>Assisted Model Building with Energy Refinement</i>
ANOVA	Análise de Variância
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
B4	Biodiesel comercial contendo 4% de ésteres de ácido graxo
B5	Biodiesel comercial contendo 5% de ésteres de ácido graxo
B20	Biodiesel comercial contendo 20% de ésteres de ácido graxo
B100	Biodiesel comercial contendo 100% de ésteres de ácido graxo
BIOD	Biodiesel
BO	Aproximação de Born-Oppenheimer
C	Constante dielétrica
CD	Ciclodextrina(s)
CGT-ase	Enzima Ciclodextrina Glicosil-Transferase
CHARMM	<i>Chemistry at Harvard Molecular Mechanics</i>
CNPE	Conselho Nacional de Política Energética
COSMO	<i>Conductor-like Screening Model</i>
DOE	<i>Design of Experiments</i>
DFT	<i>Density Functional Theory</i>
DG	Diglicerídeo
DM	Dinâmica Molecular clássica
E	Tempo de equilíbrio
EAG	Éster(es) de Ácido Graxo
EEAG	Éster(es) Etfílico(s) de Ácido Graxo
EMAG	Éster(es) Metílico(s) de Ácido Graxo
FT%	Fator Temporal
GB	Método <i>Generalized Born</i>
GB/SA	<i>Generalized Born Surface Area model</i>
H	<i>Head</i> – face primária (cabeça) das ciclodextrinas
HK	Hohenberg-Kohn
INT	Coordenadas internas
IV	Infravermelho
KS	Kohn-Sham

KS-SCF	Método do Campo Autoconsistente de Kohn-Sham
LDA	<i>Local Density Approximation</i>
LSDA	<i>Local Spin-Density Approximation</i>
MSR	Metodologia de Superfícies de Resposta
MWC	<i>Mass Weighted Cartesian Coordinates</i>
NO _x	Óxidos de Nitrogênio
OPEP	Organização dos Países Exportadores de Petróleo
OPLS	<i>Optimized Potentials for Liquid Simulations</i>
PB	Poisson-Boltzmann
PCM	<i>Polarizable Continuum Model</i>
PNPB	Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel
PRÓALCOOL	Programa Nacional do Álcool
RMSD	<i>Root Mean Square Displacement</i>
S	Passo da dinâmica molecular
SCF	Método do Campo Autoconsistente
T	<i>Tail</i> – face secundária (cauda) das ciclodextrinas
TG	Triglicerídeo
TESG	Triestearilglicerídeo (18:0)
THDG	Trihexadecanoilglicerídeo (16:0)
THG	Trihexilglicerídeo (6:0)
TLG	Trilaurilglicerídeo (12:0)
TLLG	Trilinoleilglicerídeo (18:2)
TLNG	Trilinolenilglicerídeo (18:3)
TNG	Trinonilglicerídeo (9:0)
TOG	Trioleilglicerídeo (18:1)
TPDG	Tripentadecanoilglicerídeo (15:0)
TPG	Tripropilglicerídeo (3:0)
UFF	<i>Universal Force Field</i>
W	Intervalo de aquecimento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 Biocombustíveis.....	18
1.2 Triglicerídeos, ésteres de ácido graxo e biodiesel.....	21
1.3 Processos catalíticos utilizados na obtenção de biodiesel.....	27
1.4 Estrutura e função de ciclodextrinas.....	32
1.5 Objetivos	39
2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	40
2.1 Quimiometria	40
2.1.1 Aspectos gerais.....	40
2.1.2 Planejamento e otimização de experimentos	41
2.1.3 Planejamento fatorial de Box-Benhken	44
2.2 Dinâmica Molecular Clássica	46
2.2.1 Aspectos gerais.....	46
2.2.2 As equações de movimento.....	49
2.2.3 Campo de Força	52
2.2.4 Modelo Contínuo do Solvente	54
2.3 Métodos Quânticos	57
2.3.1 A Teoria do Funcional de Densidade.....	57
2.3.2 Cálculo de propriedades termodinâmicas	65
2.3.3 Cálculo de propriedades vibracionais	68
2.4 Espectros teóricos na região do infravermelho e Raman.....	71
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
3.1 Análise quimiométrica aplicada à determinação de um protocolo de Dinâmica Molecular Clássica para sistemas de inclusão envolvendo triglicerídeos e alfa-ciclodextrina	74
3.1.1 Modelo Proposto	74
3.1.2 Análise quimiométrica	82
3.1.3 Análise estrutural	92
3.2 Análise estrutural e de estabilidade de complexos de inclusão envolvendo triglicerídeos e alfa-ciclodextrinas.....	95
3.2.1 Modelo Proposto	95

3.2.2 Análise estrutural	98
3.3 Estudo termodinâmico da reação de transesterificação de óleos vegetais (triglicerídeos) utilizando alfa-ciclodextrina como um possível catalisador	105
3.3.1 Modelo Proposto	105
3.3.2 Análise termodinâmica.....	110
3.4 Estudo teórico de espectros infravermelho e Raman de triglicerídeos e ésteres de ácido graxo.....	115
3.4.1 Modelo Proposto	115
3.4.2 Análise espectroscópica no infravermelho.....	119
3.4.3 Análise espectroscópica Raman	132
4 CONCLUSÕES.....	139
4.1 Considerações finais e perspectivas.....	139
4.2 Produções científicas resultantes	140
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	141

1. INTRODUÇÃO

1.1. Biocombustíveis

No atual contexto mundial o fator energético tem ganhado cada vez mais peso nas relações políticas, econômicas e sociais. As escassas reservas de petróleo ainda existentes no mundo anunciam uma catástrofe energética global em curto prazo. Além disso, os problemas ambientais inerentes ao uso de combustíveis de origem fóssil vêm, cada vez mais, contribuindo para a busca por alternativas renováveis de energia (DEMIRBAS, 2007a, 2008a). Neste contexto, diversas alternativas baseadas em biomassa têm se mostrado economicamente viáveis e ecologicamente sustentáveis (BOZBAS, 2008; DEMIRBAS, 2007a, 2007b, 2008; SHARMA *et al.*, 2008).

Os biocombustíveis surgiram como uma alternativa consideravelmente recente e de grande apelo e, por isso, vêm despertando a atenção de cientistas no mundo todo. O número de pesquisas envolvendo este tipo de alternativa energética vem sofrendo um aumento substancial nos últimos anos; fato que ratifica o argumento anteriormente exposto e o apelo deste trabalho (Gráfico 1).

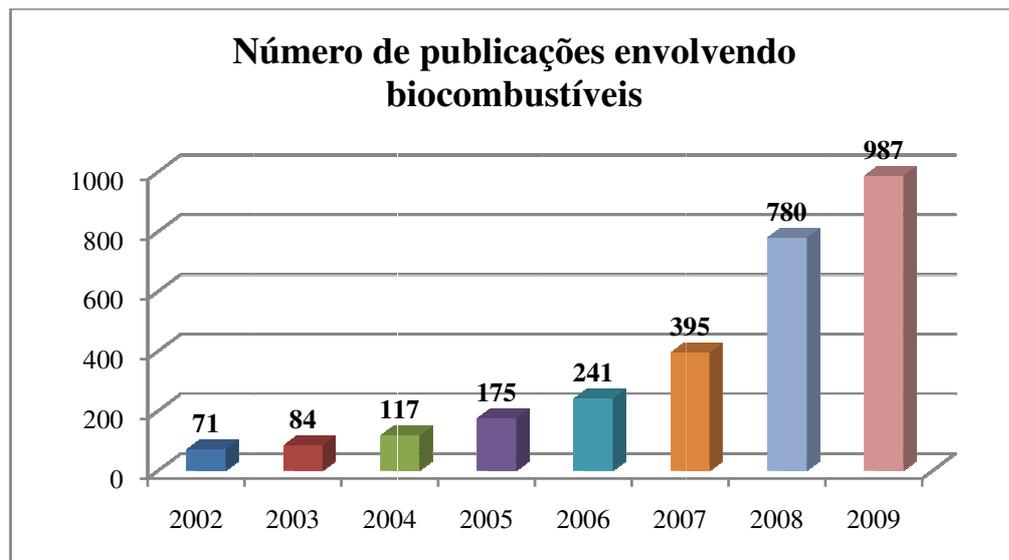


Gráfico 1. Número de publicações envolvendo o termo "biofuels" de acordo com pesquisa efetuada na base de dados Web of Knowledge no dia 23 de dezembro de 2009.

No Brasil, os avanços nas pesquisas e no desenvolvimento de tecnologias para a produção de biocombustíveis datam da década de 80 com o PRÓALCOOL (BIODIESELBR, 2008; POUSA *et al.*, 2007; WHEALS *et al.*, 1999), programa que incentivou a utilização em larga escala do etanol como combustível para os automóveis. Na atual gestão federal, foi instituído o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) (BRASIL, 2004; GARCEZ & VIANNA, 2009). Os alicerces deste programa começaram a ser edificados no ano de 2003 quando o PNPB foi considerado por um Grupo de Trabalho Interministerial, um programa de ação estratégica e prioritária para o Brasil. Após seu lançamento oficial no ano de 2004 algumas metas foram estabelecidas segundo a Lei N.º 11.097 de janeiro de 2005. Esta estabeleceu o valor de 5% a 20% de ésteres de ácido graxo (B5-B20) na mistura do biodiesel comercial para o ano de 2013 (BRASIL, 2004; SCHUCHARDT *et al.*, 1998).

Atualmente o Brasil ocupa as primeiras posições entre os maiores produtores de etanol no mundo, tendo produzido no período compreendido entre o segundo semestre de 2008 e o primeiro semestre de 2009, um total de 27,5 bilhões de litros de álcool (UNICA, 2009). No mesmo período, a produção nacional de biodiesel puro (B100) foi de cerca de 1,30 bilhões de litros, bem aquém dos 2,82 bilhões de litros registrados pela Alemanha, líder mundial na produção deste combustível, no mesmo período (BIODIESELBR, 2009a; BRASIL, 2009a; DEMIRBAS, 2009a).

A matriz energética brasileira conta com grande contribuição de derivados de biomassa, conforme o gráfico apresentado no Gráfico 2 (BRASIL, 2008). Esta percentagem de colaboração vem aumentando a cada ano e se deve, em boa parte, à contribuição gerada pela produção nacional de etanol e biodiesel. Outros biocombustíveis têm sido pesquisados e até mesmo implantados em pequena escala nas matrizes energéticas brasileira e mundial e correspondem aos chamados biocombustíveis de segunda geração. Estes correspondem, basicamente, aos derivados de lignocelulose, rejeito importante do processo de obtenção daqueles biocombustíveis de primeira geração, além do biogás e do biohidrogênio (DEMIRBAS, 2009a; GUTIÉRREZ *et al.*, 2009; PERSSON *et al.*, 2002; SIMS *et al.*, 2010). Estes surgem como uma alternativa aos biocombustíveis de primeira geração (etanol e biodiesel) que tendem a sofrer uma limitação de produção dentro em breve devido a importantes fatores políticos e econômicos. Os problemas atrelados à escassez de terras produtivas para o cultivo das espécies vegetais frente à crescente necessidade de terras para plantio com fins alimentícios é um dos principais entraves ao aumento da produção mundial de biodiesel e etanol. A elevação dos níveis produtivos aparece como uma necessidade iminente diante da crescente demanda que se vislumbra em um futuro próximo. Além disso,

os crescentes custos atrelados aos processos de produção dos biocombustíveis de primeira geração (incentivos agrícolas, gastos com transporte e processamento das matérias-primas), têm onerado demasiadamente os Estados, incentivando a busca por novas alternativas energéticas viáveis (SIMS *et al.*, 2010).

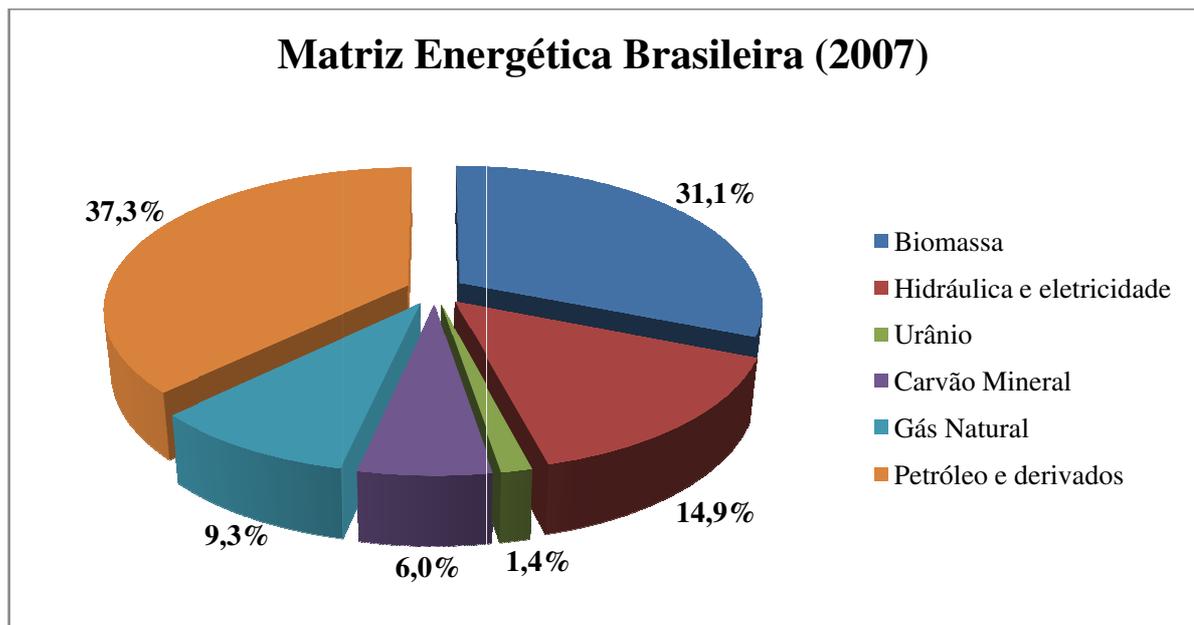


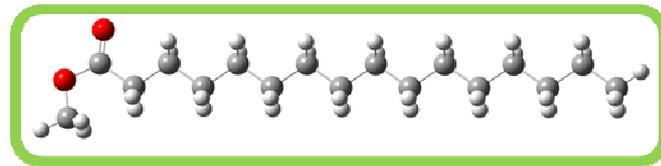
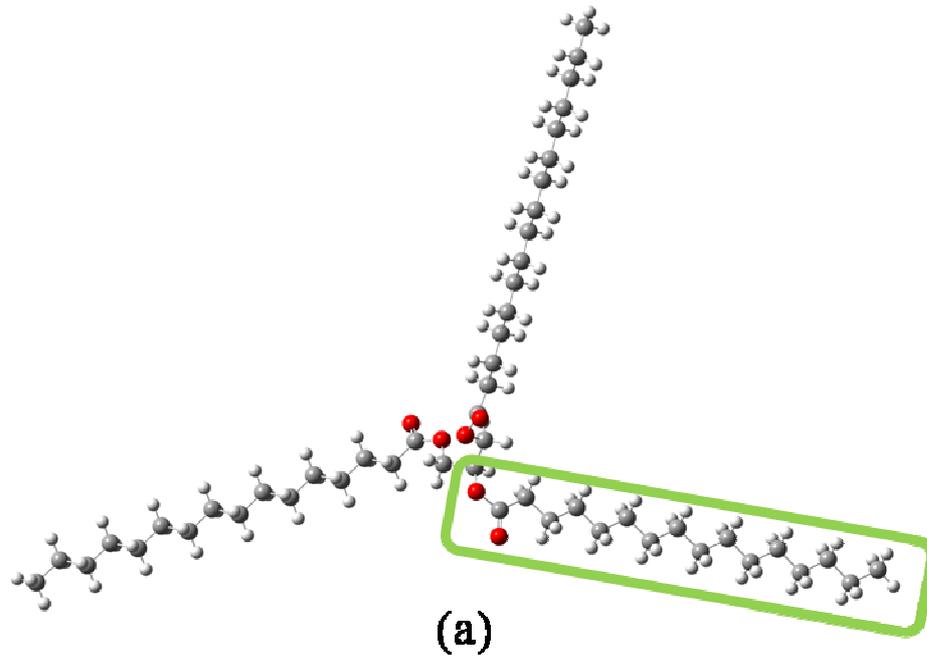
Gráfico 2. Matriz energética brasileira no ano de 2007 (BRASIL, 2008).

Em resumo, os biocombustíveis cumprem um importante papel hoje não só na busca por fontes energéticas renováveis e menos poluentes, mas também como alternativa de desenvolvimento econômico para comunidades carentes em países subdesenvolvidos. Mesmo nos países desenvolvidos modelos voltados para o crescimento das microeconomias regionais vêm sendo implementados com sucesso (CHARLES *et al.*, 2007; ROZAKIS & SOURIE, 2005). No caso brasileiro, o PNPB traz em sua essência uma grande preocupação com o desenvolvimento da agricultura familiar, principalmente nas regiões Norte e do Semiárido brasileiro (compreendida do norte de Minas Gerais ao sul do Maranhão) através do Selo Combustível Social. Tal programa visa conceder benefícios àquelas empresas que adquirem matérias-primas produzidas por pequenos agricultores. Dessa forma, propicia-se a subsistência através do incentivo à agricultura familiar e o desenvolvimento da indústria nacional de biocombustíveis através de incentivos tributários e facilidades na venda do biodiesel produzido (BRASIL, 2004, 2005).

1.2. Triglicerídeos, ésteres de ácido graxo e biodiesel

Os óleos vegetais, ao contrário do que se imagina, apresentam grande aplicabilidade no contexto energético desde o início do século XX. Em 1900, o próprio Rudolph Diesel se utilizou de óleo cru de amendoim como combustível para a apresentação de seu motor à combustão interna (Ciclo Diesel) na Exposição de Paris (ALTIN *et al.*, 2001; BOZBAS, 2008; DEMIRBAS, 2002, 2008b, 2009c; JANAUN & ELLIS, 2009; MA & HANNA, 1999; POUSA *et al.*, 2007; SHAY, 1993; SRIVASTAVA & PRASAD, 2000; SUAREZ *et al.*, 2007). Os óleos vegetais, bem como as gorduras animais apresentam em sua composição grande percentagem de moléculas que possuem uma estrutura singular e uma versatilidade química importante; os triglicerídeos (TG). Esta classe de compostos apresenta influência direta em nossas vidas. Ao mesmo tempo em que se apresentam como os principais vilões de diversos problemas de saúde, principalmente os cardiovasculares (TZAGOURNIS, 1978), os TG propiciam a produção de sabões e de biodiesel por meio de processos químicos triviais.

Os TG se caracterizam quimicamente como derivados do glicerol, nos quais os grupos hidroxila apresentam-se substituídos por grupamentos carboxilatos derivados dos ácidos graxos (Figura 1a, p. 21). Este fato leva a diferentes composições triglicéridicas nos óleos e gorduras, uma vez que as três cadeias substituintes podem apresentar tamanhos e saturações diferentes. Com isso, as composições de ésteres de ácido graxo no biodiesel se tornam dependentes da fonte de origem dos óleos ou gorduras (Tabela 1), fato preponderante para as propriedades físicas do biodiesel obtido (KNOTHE *et al.*, 2006).



(b)

Diesel Mineral
+
Ésteres de Ácido Graxo

(c)

Figura 1. Ilustração das estruturas gerais de um TG (a) e de um éster metílico de ácido graxo (b), bem como da composição de um biodiesel comercial (c).

Tabela 1. Composição dos derivados de ácidos graxos em algumas fontes de óleos (PINTO, 2005).

Óleo Vegetal	Palmítico (16:0)	Estearico (18:0)	Palmitoléico (16:1)	Oléico (18:1)	Linoléico (18:2)	Ricínico 12-OH-oléico	Outros
Sebo bovino	29,0	24,5	-	44,5	-	-	-
Óleo de coco	5,0	3,0	-	6,0	-	-	65,0
Óleo de oliva	14,6	-	-	75,4	10,0	-	-
Óleo de amendoim	8,5	6,0	-	51,6	26,0	-	-
Óleo de algodão	28,6	0,9	0,1	13,0	57,2	-	0,2
Óleo de milho	6,0	2,0	-	44,0	48,0	-	-
Óleo de soja	11,0	2,0	-	20,0	64,0	-	3,0
Semente de avelã	4,9	2,6	0,2	81,4	10,5	-	0,3
Semente de papoula	12,6	4,0	0,1	22,3	60,2	-	0,8
Semente de canola	3,5	0,9	0,1	54,1	22,3	-	9,1
Semente de cártamo	7,3	1,9	0,1	13,5	77,0	-	0,2
Semente de girassol	6,4	2,9	0,1	17,7	72,8	-	0,1
Óleo de rícino	-	3,0	3,0	3,0	1,2	89,5	0,3

No início do desenvolvimento do motor que segue o Ciclo Diesel, os óleos vegetais crus foram largamente utilizados, uma vez que apresentavam baixo custo e um razoável desempenho energético. O uso de tais óleos, no entanto, foi desencorajado em virtude da grande oferta e do baixo valor de mercado do petróleo, fato que incentivou o uso dos hidrocarbonetos em detrimento aos óleos vegetais (POUSA *et al.*, 2007). No entanto, durante as décadas de 30 e 40 do século passado o uso de óleos vegetais crus foi novamente difundido, haja vista a facilidade de obtenção dos mesmos, a razoável eficiência energética já comprovada nos motores do Ciclo Diesel e os problemas gerados por situações de instabilidade mundial e, conseqüentemente, de abastecimento (MA & HANNA, 1999; SUAREZ *et al.*, 2007). Entretanto, um problema ainda se opunha ao uso de tais óleos vegetais; a incompatibilidade dos motores a Diesel para com os óleos crus. A alta viscosidade (10 a 20 vezes maior que a do Diesel) (DEMIRBAS, 2002; SCHUCHARDT *et al.*, 1998), e a maior densidade dos triglicerídeos (TG) constituíam-se nos principais entraves ao uso destes como combustíveis (DEMIRBAS, 2002; GERIS *et al.*, 2007; SCHUCHARDT *et al.*, 1998; SUAREZ *et al.*, 2007). A saída para tal problema se deu através da diminuição da viscosidade e da densidade de tais óleos, de modo que as propriedades físicas se assemelhassem ao máximo com as do diesel comum (mistura de hidrocarbonetos).

Como alternativa a este entrave tecnológico, surgiram vários métodos direcionados a adequar as propriedades físicas dos triglicerídeos, tais como a pirólise (DEMIRBAS, 2008a, 2008b, 2009c; FUKUDA *et al.*, 2001; MA & HANNA, 1999; PINTO *et al.*, 2005; SCHUCHARDT *et al.*, 1998; SRIVASTAVA & PRASAD, 2000), a formação de microemulsões com alcoóis de cadeia curta e triglicerídeos (ALLEN *et al.*, 1999; DEMIRBAS, 2008a, 2008b, 2009c; FUKUDA *et al.*, 2001; MA & HANNA, 1999; PINTO *et al.*, 2005; SCHUCHARDT *et al.*, 1998; SRIVASTAVA & PRASAD, 2000), a diluição com diesel comum (DEMIRBAS, 2009c; SRIVASTAVA & PRASAD, 2000) e a transesterificação (DEMIRBAS, 2003, 2007b; FREEDMAN *et al.*, 1986; LEUNG *et al.*, 2009; MA & HANNA, 1999; MARCHETTI *et al.*, 2007; PINTO *et al.*, 2005; SAKA & KUSDIANA, 2001; SCHUCHARDT *et al.*, 1998) (Figura 2). Atualmente, este último método é o mais utilizado para a produção de biodiesel. A patente do mesmo, data de 1937 e pertence a Chavanne (CHAVANNE, 1938).

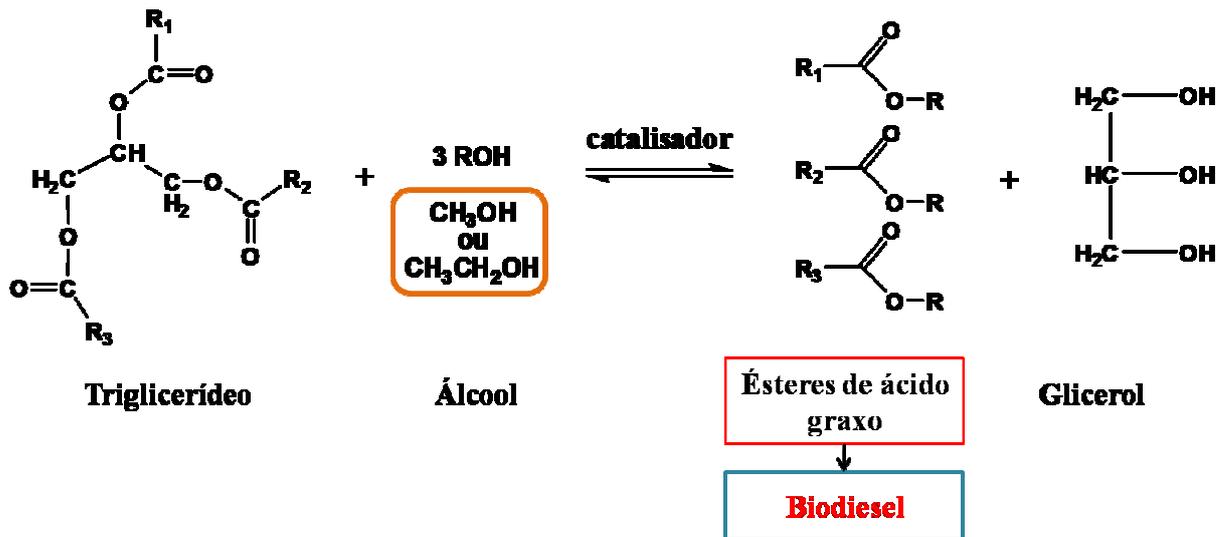


Figura 2. Esquema geral da reação de transesterificação.

Após a Segunda Guerra Mundial o panorama político e econômico do mundo passou por grandes mudanças. A indústria de combustíveis e energia, por ser de importância estratégica, sofreu ainda mais as influências desta alteração na Ordem Mundial. Em 17 de setembro de 1960, um grande cartel mundial da indústria do petróleo foi fundado; nascia a Organização dos Países Exportadores de Petróleo (OPEP). Esta organização passou então a defender os lucros dos países produtores de petróleo frente às ambições de baixo preço das empresas compradoras do produto. Não bastasse tal situação, o conflito árabe-israelense serviu como estopim para o aumento descomunal do preço do petróleo no mundo; uma represália ao apoio do Mundo Ocidental ao Estado Israelita.

Na década de 70, além da ocorrência da crise do petróleo, descobriu-se que esta fonte de energia não garantiria a demanda energética indefinidamente, uma vez que suas reservas não são renováveis. Este fato abalou os alicerces da economia mundial e alertou para a necessidade da busca por novas fontes de energia, preferencialmente, renováveis. Aliado a isso, a conscientização ambiental e o aumento da demanda mundial de energia, pesaram sobremaneira na busca por fontes de energia renováveis e limpas. A biomassa (DEMIRBAS, 2008a) passou a ser o foco das pesquisas envolvendo energia e, neste contexto, emergiram novamente as idéias antevistas por Diesel e Chavanne. Dessa forma, os ácidos graxos e triglicerídeos oriundos de vegetais começaram a ser trabalhados através de processos já citados anteriormente, tornando-se ésteres de ácido graxo (EAG) (Figura 1b, p. 21), os quais

apresentam propriedades extremamente semelhantes às do diesel fóssil. Tais substâncias podem ser obtidas por meio de alcoólises (transesterificação) envolvendo, principalmente, álcoois de cadeia curta. Os mais utilizados são o metanol e o etanol. Este último, sobretudo no Brasil, possui um apelo especial, haja vista a grande capacidade produtiva da indústria sucroalcooleira nacional.

O biodiesel comercial (Figura 1c, p. 21) que se encontra atualmente à disposição nos postos de combustível do Brasil se trata de uma mistura de diesel fóssil (96%) e ésteres de ácido graxo (4%), constituindo o chamado B4 (quatro por cento de ésteres de ácido graxo na mistura combustível), conforme resolução N.º 2/2009 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) do Ministério de Minas e Energia (BRASIL, 2009b). Em outubro de 2009, o mesmo ministério indicou um novo percentual de EAG na mistura combustível, estabelecendo o B5 como obrigatório no Brasil a partir de janeiro de 2010 (BRASIL, 2009c). Com esta medida, o governo federal antecipa a implementação do B5, anteriormente prevista para 2013, e estima um aumento substancial na produção brasileira de biodiesel que, em 2010, pode chegar a 2,5 bilhões de litros (BIODIESELBR, 2009b).

Comparado ao diesel convencional, o biodiesel apresenta várias vantagens, tais como a origem em fontes renováveis, menor emissão de enxofre e de gases poluentes, biodegradabilidade, ausência de compostos aromáticos e lubricidade otimizada (BOZBAS, 2008; DEMIRBAS, 2008a, 2009c). Além disso, o fato de o biodiesel ser um combustível alternativo a uma fonte findável de energia faz com que o PNPB vise a garantia da necessidade de combustíveis do Brasil em longo prazo, mantendo uma menor dependência dos combustíveis fósseis.

As principais desvantagens deste combustível alternativo residem no fato de a combustão do mesmo produzir uma menor potência e um menor torque no motor a diesel, além de levar a um maior consumo (DEMIRBAS, 2008a) e a uma maior liberação de óxidos de nitrogênio (NO_x), gases com comprovado impacto em prol do efeito estufa (BAN-WEISS *et al.*, 2007; SZYBIST *et al.*, 2005). Além disso, o biodiesel se congela com facilidade a baixas temperaturas e se decompõe com facilidade quando estocado por longos períodos (BOZBAS, 2008). Outra desvantagem específica deste combustível encontra-se no campo político; embora se constitua em um combustível renovável, diversos organismos internacionais vêem o biodiesel como um entrave à produção mundial de alimento, fato que merece uma discussão detalhada e um estudo específico para se chegar a uma conclusão consensual que não penda para situações de interesse puramente político e econômico.

1.3. Processos catalíticos utilizados na obtenção de biodiesel

Como foi dito anteriormente, o principal processo de produção de biodiesel e também o mais utilizado é a transesterificação (GERIS *et al.*, 2007; MA & HANNA, 1999; SCHUCHARDT *et al.*, 1998) (Figura 2). Este é extremamente simples e pode ser realizado domesticamente; seu único entrave ocorre na catálise devido a complicações inerentes aos principais processos reacionais e a separação dos produtos e subprodutos de reação (DEMIRBAS, 2008a; GERIS *et al.*, 2007; SCHUCHARDT *et al.*, 1998). O processo reacional consiste basicamente na conversão dos triglicerídeos em ésteres de ácido graxo mediante a um excesso de álcool (preferencialmente de cadeia curta) e um catalisador que pode ser de diferentes naturezas químicas. Atualmente destacam-se as catálises ácida (DEMIRBAS, 2008b; FUKUDA *et al.*, 2001; MA & HANNA, 1999; MARCHETTI *et al.*, 2007; PINTO *et al.*, 2005; SCHUCHARDT *et al.*, 1998), básica (DEMIRBAS, 2008b; FUKUDA *et al.*, 2001; LOTERO *et al.*, 2005) MA & HANNA, 1999; MARCHETTI *et al.*, 2007; PINTO *et al.*, 2005; SCHUCHARDT *et al.*, 1998), com complexos metálicos (ABREU *et al.*, 2003, 2004, 2005; SUAREZ *et al.*, 2007) e enzimática (AL-ZUHAIR *et al.*, 2007; DEMIRBAS, 2008b; FJERBAEK *et al.*, 2009; FUKUDA *et al.*, 2001; KAIEDA *et al.*, 2001; MA & HANNA, 1999; MARCHETTI *et al.*, 2007; PINTO *et al.*, 2005; RANGANATHAN *et al.*, 2008; SCHUCHARDT *et al.*, 1998) como as mais utilizadas no processo de síntese do biodiesel, cada qual com vantagens e desvantagens a serem ponderadas mediante o processo de produção considerado. Os mecanismos gerais das catálises ácida, básica e metálica encontram-se representados nas Figuras 3, 4 e 5. Os mesmos quando repetidos por três vezes (nas três cadeias triglicéridicas) levam à formação de uma molécula de glicerol e de três moléculas dos ésteres de ácido graxo (ASAKUMA *et al.*, 2009).

Além disso, os catalisadores utilizados também apresentam diferenciação quanto a seu estado físico em relação aos reagentes utilizados. Os processos catalíticos podem ser homogêneos ou heterogêneos, sendo estes últimos, os mais utilizados por facilitarem os processos de separação dos produtos de reação (DI SERIO *et al.*, 2007; HELWANI *et al.*, 2009). A aplicação de catalisadores heterogêneos na síntese destes combustíveis também vem sendo largamente empregada, uma vez que estes apresentam características que corroboram para a melhor separação dos produtos da transesterificação além de proporcionar um rendimento muito bom. (GERIS *et al.*, 2007; JOTHIRAMALINGAM & WANG, 2009; PINTO *et al.*, 2005; SRIVASTAVA & PRASAD, 2000). Neste sentido, catalisadores

heterogêneos inovadores derivados de subprodutos de biomassa e de outras substâncias biodegradáveis tem sido largamente utilizados e estudados (BOEY *et al.*, 2009; LOU *et al.*, 2008; NUNES *et al.*, 2009; OKAMURA *et al.*, 2006; TAKAGAKI *et al.*, 2006; TODA *et al.*, 2005; WEI *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2009).

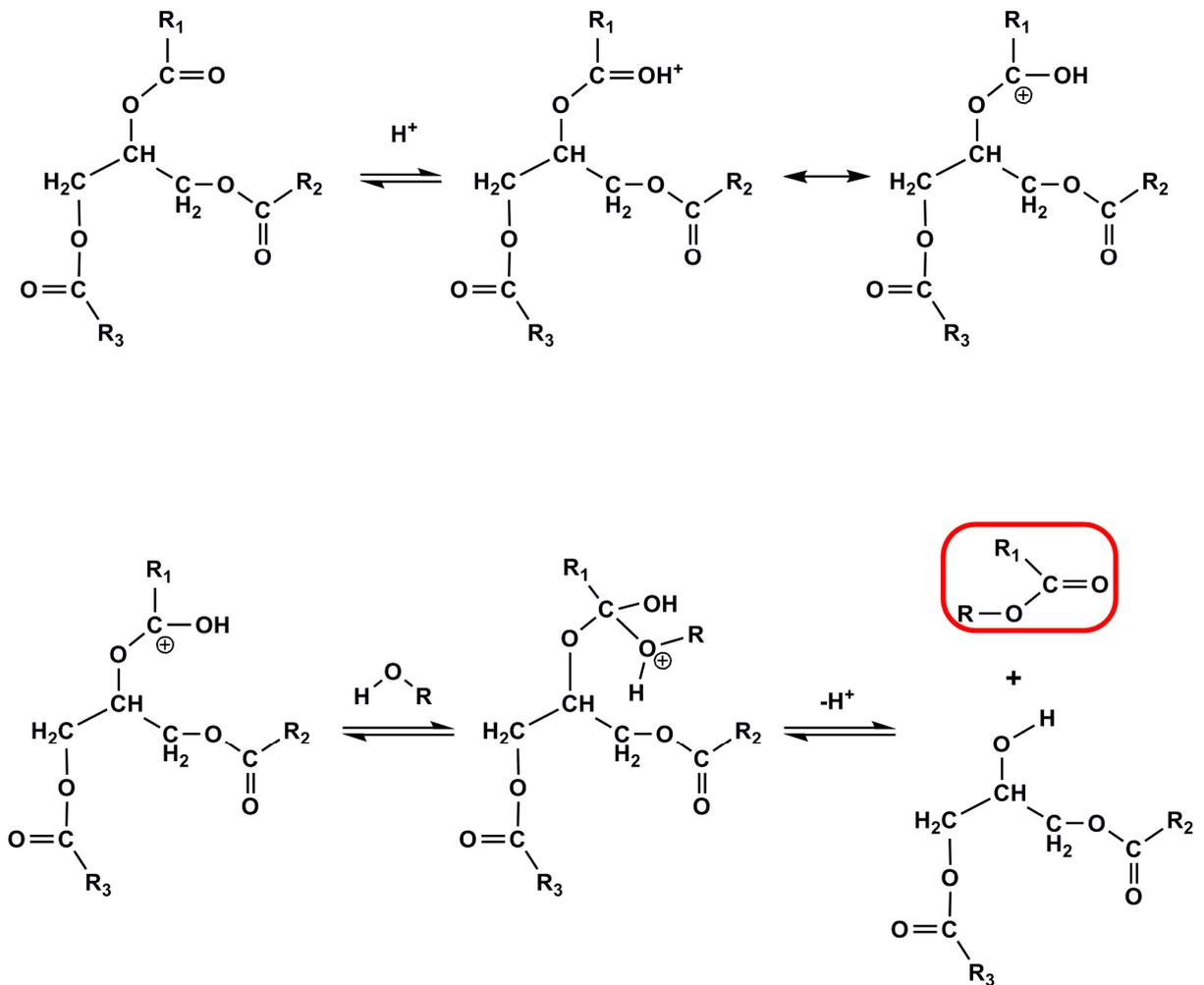


Figura 3. Mecanismo geral de transesterificação de triglicerídeos via catálise ácida (SUAREZ *et al.*, 2007).

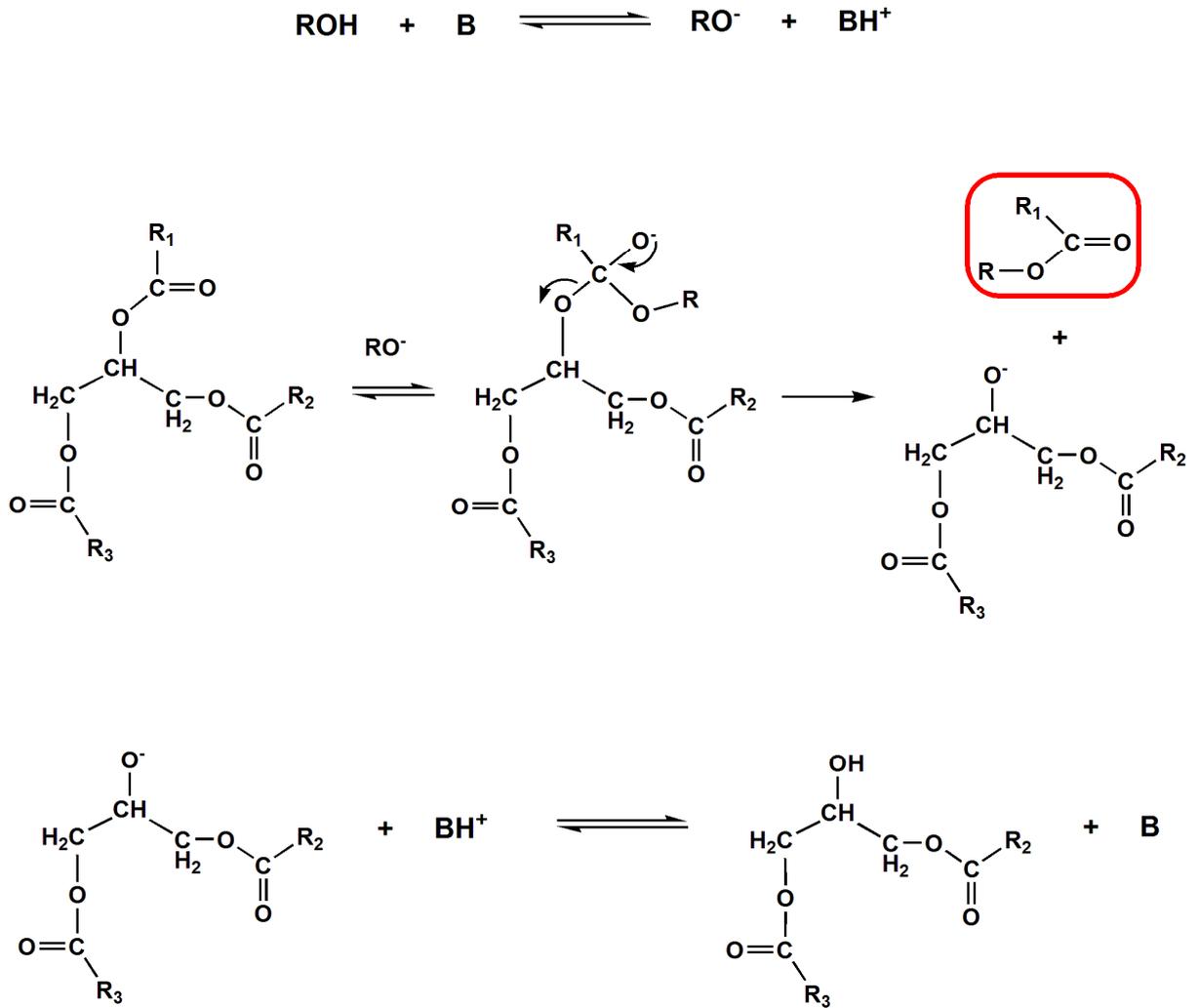


Figura 4. Mecanismo geral de transesterificação de triglicerídeos via catálise básica (SUAREZ *et al.*, 2007).

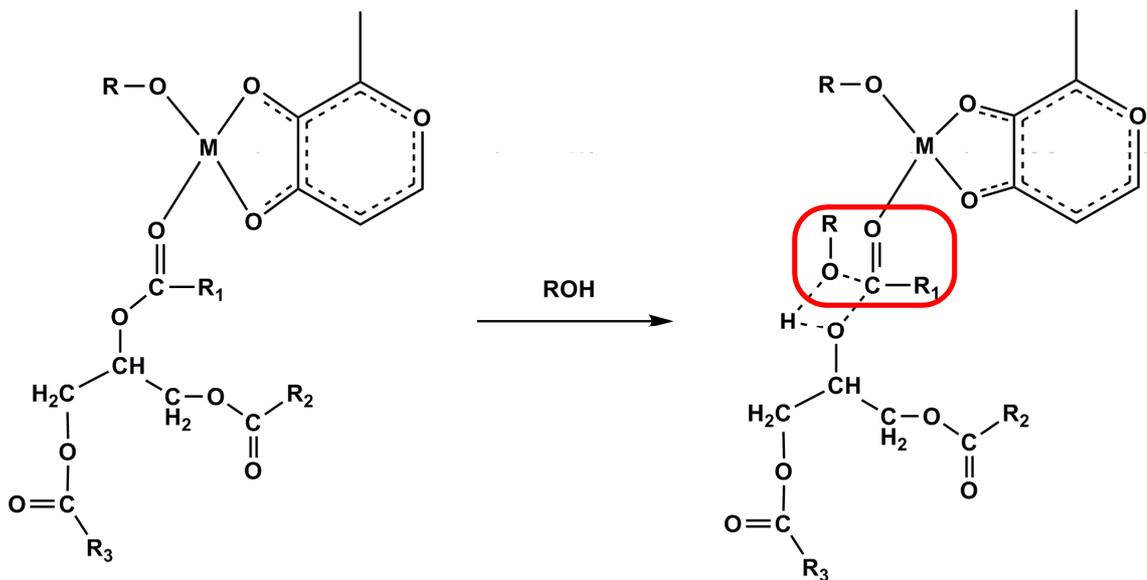
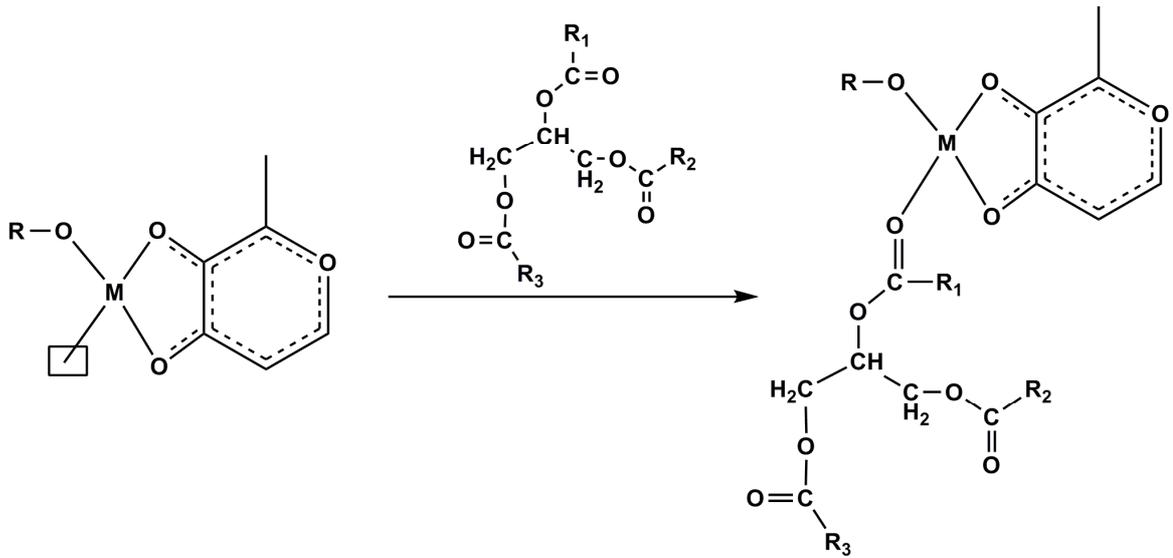
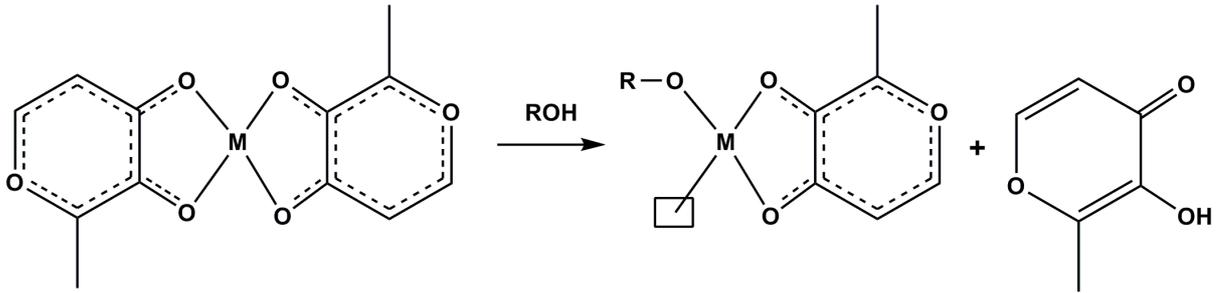


Figura 5. Mecanismo geral de transesterificação de triglicerídeos via catálise metálica, onde $M = \text{Sn}^{+2}, \text{Pb}^{+2}, \text{Hg}^{+2}$ e Zn^{+2} (ABREU *et al.*, 2003, 2004, 2005; SUAREZ *et al.*, 2007).

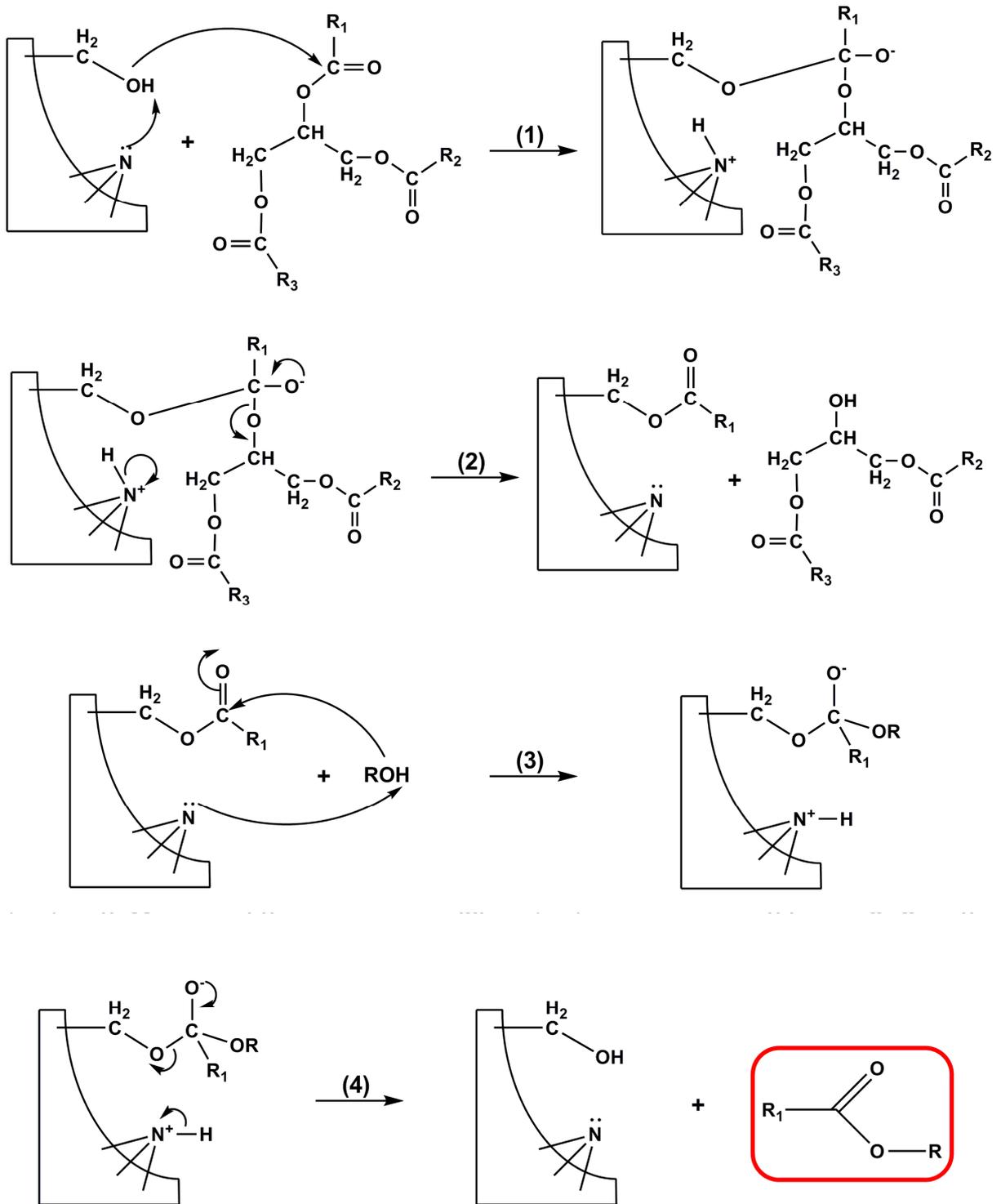


Figura 6. Mecanismo geral de catálise enzimática do processo de transesterificação proposto por Al-Zuhair e colaboradores (AL-ZUHAIR *et al.*, 2007).

A transesterificação como processo produtivo ainda possui diversas imperfeições. Os esforços, naturalmente, têm se voltado para a resolução dos principais problemas inerentes à síntese de ésteres de ácidos graxos por meio deste processo. Neste caso, percebe-se a necessidade de se buscar novos catalisadores que possibilitem um maior rendimento da reação, uma melhor separação dos produtos da reação e a menor produção de subprodutos não desejáveis.

Al-Zuhair e colaboradores (AL-ZUHAIR *et al.*, 2007) descreveram uma rota de síntese para o biodiesel via transesterificação, utilizando-se de enzimas lipase derivadas do organismo *Mucor miehei*. O mecanismo geral proposto para tal processo aparece melhor descrito na Figura 6. Outros tipos de enzima também são relatados na literatura e apresentam a mesma função catalítica dependendo do tipo de álcool utilizado na alcoólise (ANTCZAK *et al.*, 2009; DIZGE & KESKINLER, 2008; FJERBAEK *et al.*, 2009; ISO *et al.*, 2001; KAIEDA *et al.*, 2001; NIELSEN *et al.*, 2008; RANGANATHAN *et al.*, 2008). Alguns entraves tecnológicos ainda são encontrados, principalmente no que tange ao trabalho com estruturas tão sensíveis como enzimas, fato que impossibilita a aplicação de tal tipo de catálise em escala comercial (DIZGE & KESKINLER, 2008; FJERBAEK *et al.*, 2009; NIELSEN *et al.*, 2008; RANGANATHAN *et al.*, 2008).

1.4. Estrutura e função de ciclodextrinas

Em 1891, A. Villiers (*apud* SZEJTLI, 1998) por obra do acaso descobriu uma das moléculas mais interessantes e versáteis dentro do campo da química supramolecular (SZEJTLI, 1998). Da digestão de 1000g de amido pela ação de uma provável colônia mista das bactérias *Bacillus macerans* (*apud* SZEJTLI, 1998) e *Bacillus amylobacter* foram obtidos 3g de um produto cristalino, batizado por seu descobridor de “celulosina”, graças a seu caráter não-redutor e à sua resistência a hidrólise ácida, semelhante à celulose (VENTURINI *et al.*, 2007; NASCIMENTO JR., 2003). Além dessas características, um ponto importante a se destacar nesta descoberta de Villiers, foi o fato de o produto final apresentar duas formas cristalinas distintas, as quais forão atribuídas *a posteriori* às α e β -ciclodextrinas (CD).

Em 1903, finalmente, Schardinger (*apud* SZEJTLI, 1998) e seus colaboradores conseguiram determinar um método para obtenção e separação das CD (“celulosinas”)

chegando a obter um rendimento de 25-30% de conversão do amido em dextrinas. Um grande mérito deste grupo na oportunidade foi distinguir as duas formas cristalinas encontradas por Villiers. Através da reação de Lugol (iodo-iodeto), percebeu-se que uma das formas cristalinas (α -CD) formava um complexo com o reagente de Lugol de coloração azulada quando úmida e verde-acinzentada quando seca, enquanto a outra forma (β -CD) formava um complexo marrom-avermelhado tanto úmido, quanto seco (*apud* SZEJTLI, 1998).

Nos anos posteriores diversos estudos foram realizados com tais moléculas visando, sobretudo, decifrar sua estrutura molecular. Freudenberg e colaboradores em meados da década de trinta chegaram à conclusão de que as dextrinas de Schardinger eram, na verdade, compostas por unidades de D-glicose ligadas entre si por ligações α -1,4 formando estruturas cíclicas (*apud* SZEJTLI, 1998) (Figura 7).

O desenvolvimento das pesquisas em torno das ciclodextrinas levou à patente das mesmas por Freudenberg, Cramer e Plieninger em 1953 (*apud* SZEJTLI, 1998). Durante um bom tempo o estudo acerca de sua produção em escala industrial foi questionado, haja vista os custos para tal processo e a toxicidade que se atribuía a tais moléculas, graças a testes pouco esclarecedores com camundongos (SZEJTLI, 1998), somente desmentida após 1970 (VENTURINI *et al.*, 2007). Além deste passo importante, inúmeros avanços, tais como a descoberta de ciclos formados por mais unidades de D-glicose (γ , δ , ϵ -CD) e a possibilidade da formação de complexos de inclusão envolvendo tais moléculas, impulsionaram e impulsionam um grande número de pesquisas até os dias de hoje.

De maneira resumida podemos dizer que a produção das CD passa pelo processo básico de digestão do amido solubilizado a temperaturas adequadas por meio de bactérias específicas que contém a enzima ciclodextrina glicosil-transferase (CGT-ase) (PISHTIYSKI & ZHEKOVA, 2006). Após o resfriamento do amido pré-hidrolisado até uma temperatura ótima, a enzima entra em ação digerindo-o e formando as CD (Figura 8).

As CD são muito conhecidas por seu formato característico; uma sessão basal de um cone. Este formato deriva da presença exclusiva das ligações α -1,4 entre as unidades glicosídicas. A partir disso, conseguimos distinguir duas porções bem definidas neste tipo de moléculas, denominadas cabeça (head – H) e cauda (tail – T), formadas por hidroxilas secundárias e primárias, respectivamente. Deste fato, surgem algumas possibilidades de interações intermoleculares (H-H, H-T, T-T,...) que vêm sendo largamente estudadas (ANCONI *et al.*, 2008a, 2008b).

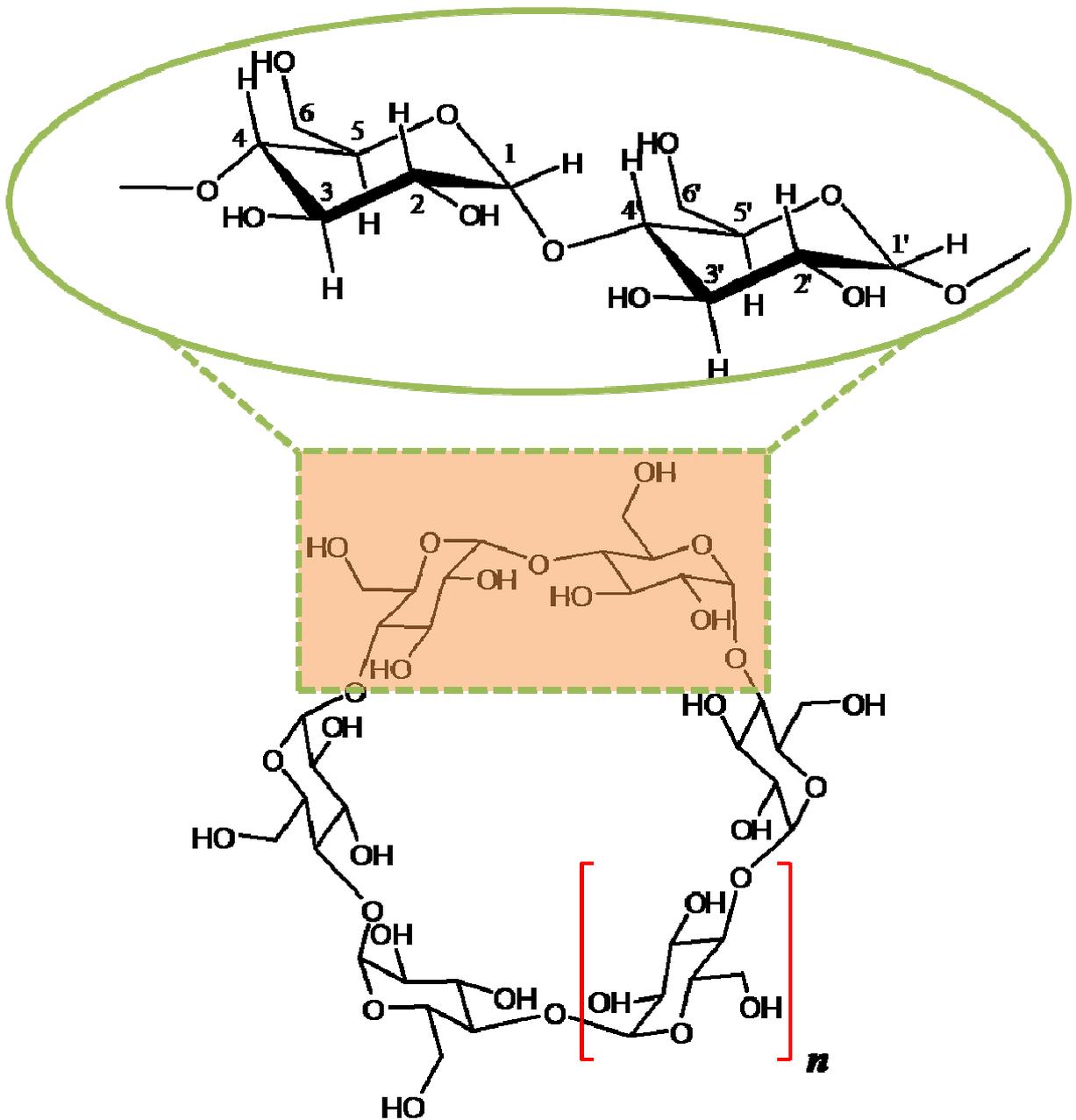


Figura 7. Estrutura genérica das ciclodextrinas, ressaltando as estruturas de α -D-glicose e a ligação α -1,4 entre monômeros. (n assume, em geral, os valores 1, 2 e 3).

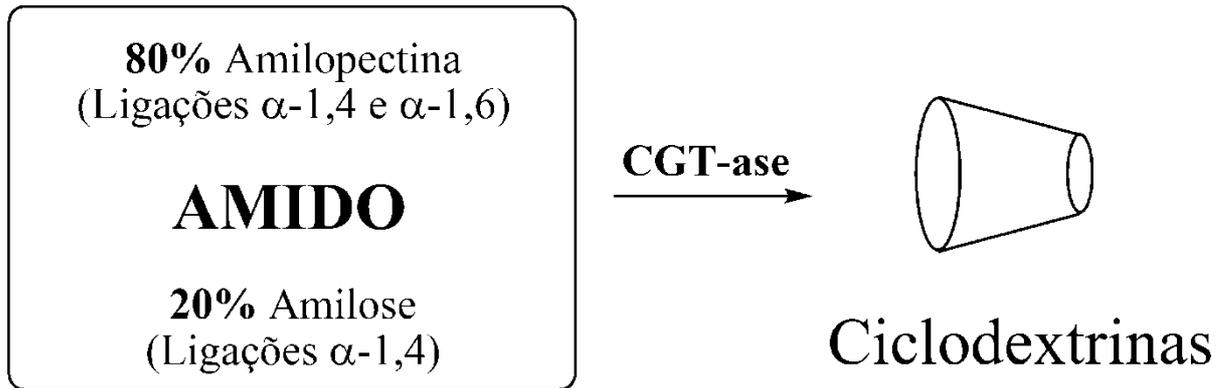


Figura 8. Esquema base da degradação das cadeias de amido pela ação da enzima CGT-ase, gerando ciclodextrinas como produto.

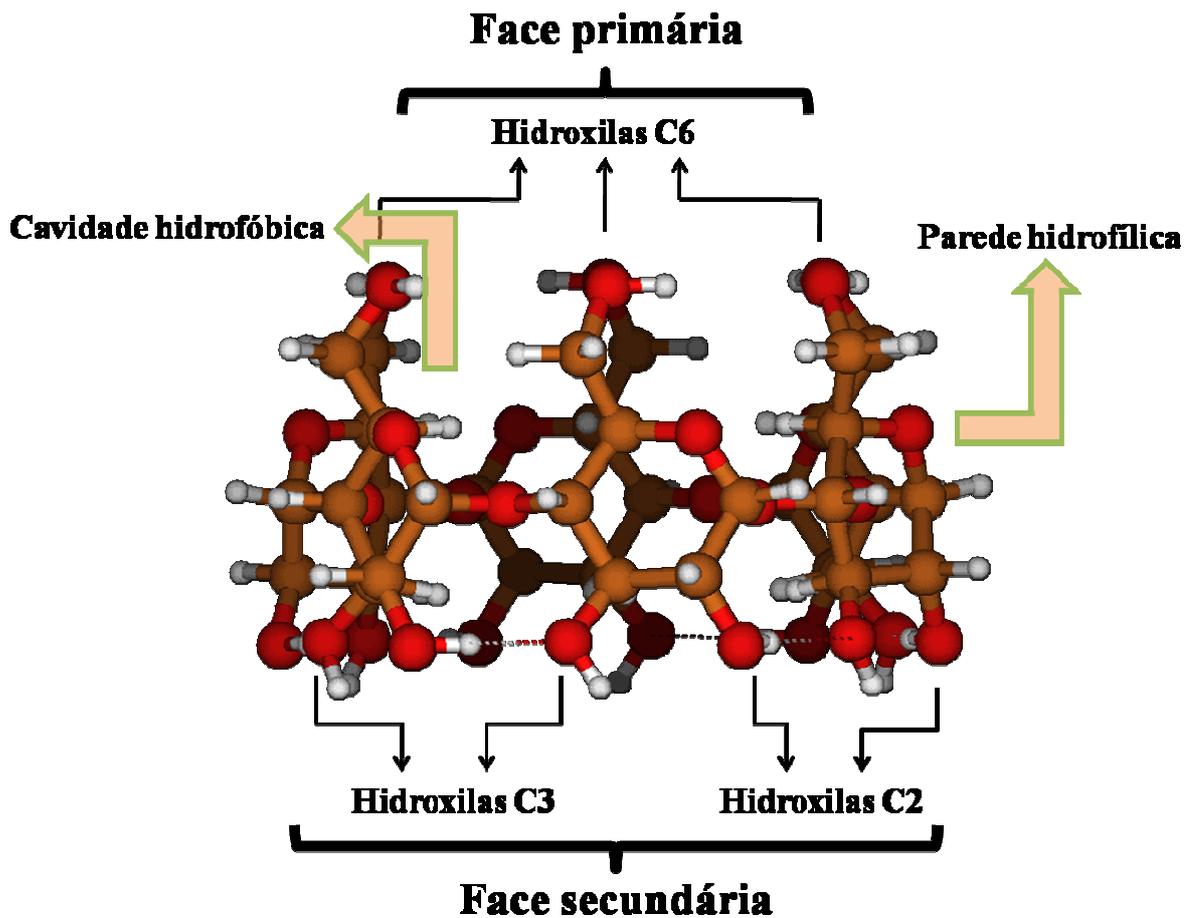
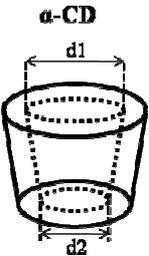
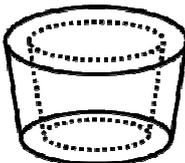
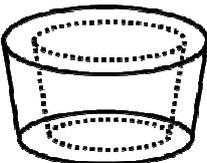


Figura 9. Esquema representativo da estrutura de uma ciclodextrina ressaltando suas características de polaridade e suas hidroxilas (No exemplo: α -CD).

A estrutura macrocíclica verificada para as CD se estabiliza, sobretudo, através de ligações de hidrogênio intramoleculares estabelecidas entre as hidroxilas dos carbonos 2 (C2-OH) e 3 (C3-OH) de unidades glicosídicas adjacentes que se encontram na conformação de cadeira (mais estável) (CONNORS, 1997). Deste fato, deriva certa rigidez atribuída a tais moléculas, a qual vem sendo muito discutida atualmente, inclusive na investigação da possível relação íntima entre a rigidez e a solubilidade das CD em água (DODZIUK, 2002; NAIDOO *et al.*, 2004; SZEJTLI, 1988, 1998). Outra característica desta família de moléculas é a presença de uma cavidade hidrofóbica e de extremidades hidrofílicas, resultantes das interações dos oxigênios glicosídicos e dos hidrogênios presentes em C3 e C5 na parte interna; e das hidroxilas livres na parte externa, respectivamente (Figura 9).

Em suma, podemos dizer que a quantidade de unidades de D-glicose envolvidas em cada CD é o fator preponderante para a determinação de suas propriedades físico-químicas e de suas peculiaridades estruturais dentro do cenário geral apresentado anteriormente (Tabela 2).

Tabela 2. Dados estruturais e propriedades físicas das α , β e γ -CD (CONNORS, 1997; EASTON & LINCOLN, 1999; SZEJTLI, 1988, 1998).

	α -CD	β -CD	γ -CD
			
Nº de unidades de glicose	6	7	8
Solubilidade (g/100mL de H ₂ O)	14,5	1,85	23,2
Diâmetros (d2 – d1)/Å	4,7-5,2	6,0-6,4	7,5-8,3
Altura	7,9±0,1	7,9±0,1	7,9±0,1
Volume (Å ³)	174	262	427
pK _a O(2)H e O(3)H (25°C)	12,33	12,20	12,08

O histórico das CD na formação de complexos de inclusão é extenso. Desde a década de 50, quando da patente de tais moléculas por parte de Freudenberg, Cramer e Plieninger, existem registros da aplicação de CD formando complexos de inclusão com os mais diversos objetivos (NASCIMENTO JR, 2003; SZEJTLI, 1998; VENTURINI *et al.*, 2007). Suas aplicações atuais são as mais diversas possíveis, indo desde a indústria farmacêutica até a indústria de biocatálise, na qual as mesmas são empregadas como miméticos de enzimas (BRESLOW, 1970, 1996, 1998; VILLALONGA *et al.*, 2007).

A grande variedade de complexos de inclusão existentes com as CD deriva de sua estrutura espacial específica que permite a interação com moléculas hospedeiras, formando os chamados complexos do tipo *host-guest*. Algumas drogas comercializadas pelo mundo se utilizam desta propriedade das CD tais como o Brexin (complexo Piroxicam/ β -CD) e o Prostavasin (Prostraglandina E1/ α -CD) (NASCIMENTO JR, 2003; SZEJTLI, 1998). Estudos envolvendo a utilização das CD como reatores moleculares também vêm se desenvolvendo muito, haja vista a estrutura favorável das mesmas para a ocorrência de processos estereoespecíficos de tal envergadura (BLENKE *et al.*, 2007). Em geral as CD são utilizadas visando carrear substratos pouco solúveis em meio aquoso. As razões de proporção para os complexos de inclusão hospedeiro-hóspede mais conhecidos e comuns envolvendo CD são 1:1, 2:1, 1:2 e 2:2 (EASTON & LINCOLN, 1999; SZEJTLI, 1998).

De modo geral, podemos dizer que os processos de formação dos complexos de inclusão, em meio aquoso, com ciclodextrinas começam por um passo simples: a aproximação da molécula de substrato a ser incluída em relação à molécula receptora. Este passo possui um grande fator energético envolvido, correspondente à quebra do cinturão de moléculas de água que circundam o substrato em solução; a estrutura inicialmente organizada das moléculas polares de água em torno do soluto apolar, pela ação das interações hidrofóbicas, passa subitamente a um estado de desordem acentuado, proporcionando uma grande contribuição entrópica. Esta viabiliza e justifica, sobremaneira, os processos de inclusão que ocorrem entre substratos apolares e moléculas de CD e CD substituídas (EASTON & LINCOLN, 1999). Logo em seguida, outro passo energeticamente favorável relacionado às interações hidrofóbicas da água (inicialmente inclusa) com a CD ocorre por uma simples questão de favorecimento energético: a diminuição da entalpia envolvida com o processo de saída das moléculas de água do interior da cavidade hidrofóbica, devido à diferença de polaridade entre as mesmas, favorece a inclusão futura do substrato apolar na cavidade de polaridade semelhante, o que se configura na terceira etapa do processo de formação do complexo de inclusão. Ao final da síntese de tal complexo, resta somente a reconstituição

da estrutura de hidratação do mesmo através de interações de hidrogênio entre as moléculas de água e a parede externa das CD (Figura 10) (CONNORS, 1997; NASCIMENTO JR, 2003; SZEJTLI, 1998). A formação de tais interações, totalmente favoráveis energeticamente, tendem a estabilizar o sistema, completando o processo de formação dos complexos de inclusão. A formação dos mesmos, todavia, não se restringe a situações em solução. No estado sólido o substrato apresenta-se como o disperso da matriz de carboidratos formando um sólido micro cristalino. Tal fato pode ocorrer, inclusive, com moléculas gasosas (SZEJTLI, 1998).

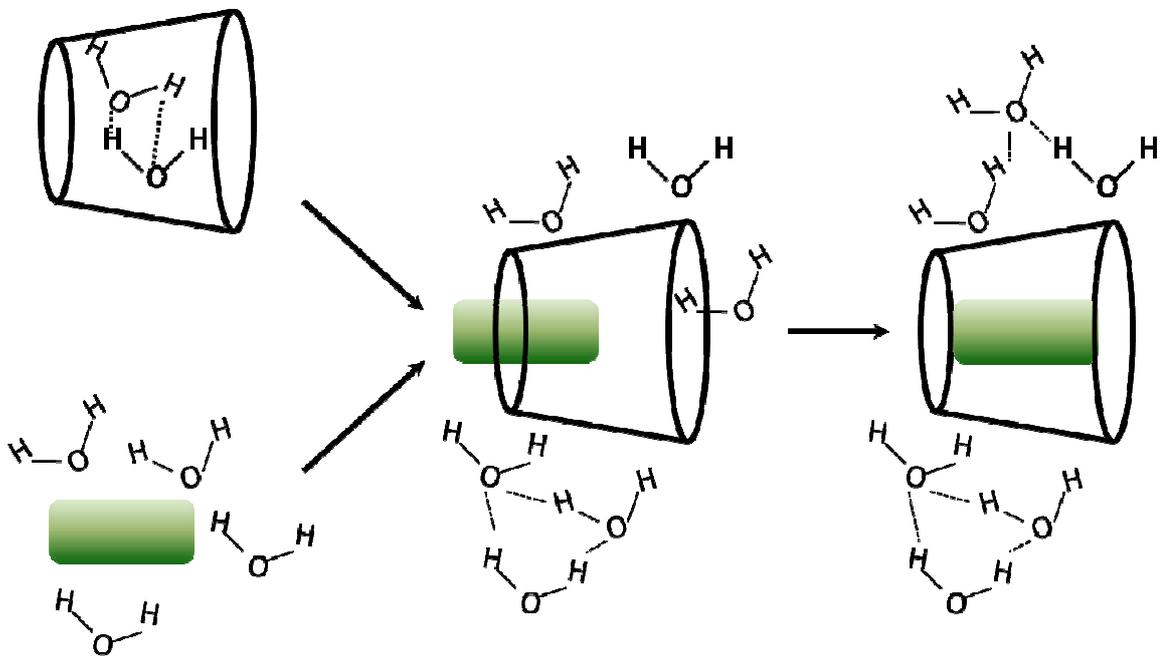


Figura 3. Esquema representativo do processo de formação de complexos de inclusão envolvendo ciclodextrinas em solução aquosa.

Outro fator preponderante e peculiar no estudo de complexos de inclusão envolvendo CD é o número de moléculas de água de hidratação capazes de se manterem incluídas na cavidade hidrofóbica. De acordo com a literatura especializada (CONNORS, 1997; EASTON & LINCOLN, 1999), a α -CD apresenta-se em 3 formas cristalinas distintas, sendo duas hexaidratadas (α -CD.6H₂O) apresentando diferença somente no que tange ao número de moléculas de água no interior da cavidade (4 e 5 H₂O) e uma terceira forma (α -CD.7,57H₂O), apresentando 2,57 moléculas de água no interior da cavidade (distribuídas estatisticamente) e

5 destas moléculas no exterior da estrutura cristalina. Para a β -CD há registros de formas dodecaidratadas (β -CD.12H₂O) com 6,5 moléculas de H₂O presentes no interior da cavidade hidrofóbica. Já para a γ -CD, o dado que se tem aponta para uma estrutura γ -CD.13,3H₂O com 5,3 moléculas de água estatisticamente distribuídas no interior da CD.

De certa forma, a capacidade de formação de complexos de inclusão vai ao encontro de outra propriedade intrínseca de CD e CD modificadas; a capacidade de mimetização de enzimas. Em alguns casos relatados na literatura, a ação catalítica das CD sucede uma inclusão com o substrato alvo. Neste sentido, a obtenção de um bom mimético encerra um grande desafio que se encontra na fidedignidade da enzima artificial em ser seletiva em termos reacionais, tal como a enzima natural. Embora a maioria dos casos de miméticos de enzimas baseados em CD se dê por meio de substituições nestas, existem situações nas quais a CD simples atua como catalisador. Neste sentido, o emprego de ciclodextrinas e ciclodextrinas modificadas como possíveis miméticos das enzimas utilizadas se configura como um passo viável rumo ao entendimento de tais processos e à obtenção de novos catalisadores.

1.5. Objetivos

Os estudos envolvendo biocombustíveis e suas áreas afins têm gerado inúmeros esforços nas mais diversas áreas do conhecimento. Em química, grande atenção tem sido dada aos aspectos referentes ao processo de produção e caracterização de biocombustíveis, com destaque para o biodiesel. A crescente busca pela resolução de problemas que se configuram em gargalos para a produção de biodiesel e expansão do mercado consumidor é uma realidade. Entretanto, tal mobilização não alcançou os laboratórios de química teórica, restringindo-se às buscas experimentais.

Neste sentido, o presente trabalho objetiva a elucidação não só de aspectos relacionados ao processo de produção, mas também àqueles processos de controle de qualidade de biodiesel, utilizando-se de metodologias e ferramentas de química computacional para isso. A obtenção de parâmetros estruturais relativos aos ácidos graxos (precursores do biodiesel) e do estudo de um possível catalisador (α -CD) alternativo para a conversão dos mesmos em biodiesel, também se configura em um dos propósitos deste trabalho.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1. Quimiometria

2.1.1. Aspectos gerais

Os inúmeros dados gerados em análises de problemas químicos sempre impuseram dificuldades aos profissionais da área, principalmente no que tange à extração de respostas de interesse dentre vários valores numéricos. Neste sentido, a quimiometria surgiu na década de 70 do século passado como uma área da química voltada para o planejamento experimental, tratamento e organização dos dados oriundos de experimentos analíticos, principalmente, utilizando para tal, ferramentas matemáticas e estatísticas poderosas (DE BARROS NETO *et al.*, 2006; BRUNS & FAIGLE, 1985; KOWALSKI, 1975). Entretanto, esta área via o seu desenvolvimento limitado pelo baixo poder de processamento de dados dos computadores existentes na época. Com o advento dos computadores modernos portando processadores cada vez mais potentes, a quimiometria passou a agregar ferramentas estatísticas mais poderosas voltadas, principalmente, para o reconhecimento de padrões e calibrações multivariadas (BRUNS & FAIGLE, 1985). Assim como estas duas subáreas da quimiometria supracitadas, outras importantes se destacam, tais como: Calibrações multivariadas, Métodos estatísticos, Processamento de sinais digitais e Planejamento de experimentos (BRERETON, 2003).

Estas principais linhas de aplicação da quimiometria vêm alcançando adeptos em diversas áreas do conhecimento em virtude, principalmente, do amparo matemático dado aos métodos a serem aplicados. Neste sentido, a padronização dos experimentos executados mediante os protocolos estatisticamente elaborados, torna-se uma ferramenta de credibilidade para a divulgação de resultados envolvendo um grande número de dados.

No Brasil três principais subáreas da quimiometria têm merecido destaque: Planejamento e Otimização de experimentos, Reconhecimento de padrões e Calibração multivariada (DE BARROS NETO *et al.*, 2006). A propagação desta área no Brasil pode ser ilustrada pelo número de publicações nos dois principais periódicos nacionais na área de química – Journal of the Brazilian Chemical Society e Química Nova – nos últimos dez anos. Entre 1999 e 2009 foram publicados 112 artigos envolvendo quimiometria, nas revistas

citadas (Pesquisa efetuada no banco de dados ISI Web of Knowledge na busca pelos termos: *Chemometrics*, *Factorial design*, *Pattern recognition* e *Multivariate calibration* nos periódicos: *Quimica Nova* e *Journal of the Brazilian Chemical Society*).

2.1.2. Planejamento e otimização de experimentos

Planejar-se antes da execução de uma dada tarefa investigativa é uma ação que demanda certo tempo, mas que agiliza a execução dos trabalhos e leva, inevitavelmente, a uma grande economia de materiais e esforços posteriores. Seguindo esta linha de raciocínio, as técnicas de Planejamento e Otimização de Experimentos (DOE – *Design of Experiments*) visam orientar e dinamizar a prospecção por respostas diante de uma situação problema bem colocada.

Inúmeras são as situações que merecem investigação em química, cada qual com suas particularidades inerentes. Logicamente para solucioná-las deve-se, primeiramente, saber qual o problema a ser resolvido, como achar a resposta para o mesmo e qual o método que deverá ser utilizado para tal. De posse de uma boa organização daquilo que deve ser efetuado os resultados de interesse surgem de maneira mais confiável. Neste sentido, a quimiometria surge como uma boa técnica de determinação de respostas matematicamente embasadas, apresentando para tal intento, diversas ferramentas que se adéquam a diferentes situações problema (Tabela 3).

Tabela 3. Exemplos de alguns planejamentos de processos (DE BARROS NETO *et al.*, 2007).

Objetivo	Técnica
Triagem de variáveis importantes	Planejamentos fracionários
Avaliação da influência de variáveis	Planejamentos fatoriais completos
Construção de modelos empíricos	Modelagem por mínimos quadrados
Otimização	MSR e Simplex
Construção de modelos mecanísticos	Dedução a partir de princípios

Os planejamentos fatoriais completos são aqueles de mais fácil entendimento. A enumeração dos ensaios a serem efetuados por meio destes planejamentos deriva das possibilidades enumeradas pelas k variáveis em seus p níveis (p^k experimentos). Quando alguns destes ensaios apontados pelo planejamento completo são criteriosamente omitidos, temos os planejamentos fatoriais fracionários. Nestes, uma das k variáveis estudadas é, na realidade, encarada como uma variável de “confundimento” em termos de outras variáveis. Esta estratégia propicia uma análise mais rápida do sistema sem grandes perdas relativas a informações do mesmo.

A aplicação de planejamentos fracionários se apresenta como o foco de parte deste trabalho, uma vez que o sistema teórico analisado não possui dados na literatura, sendo necessária a triagem (*screening*) das variáveis envolvidas no processo investigado. Neste sentido, uma grande vantagem desta técnica se baseia no fato de a mesma possibilitar a modificação dos valores (níveis) de todas as variáveis envolvidas em um dado problema ao mesmo tempo (análise multivariada), permitindo assim, a identificação das variáveis que apresentam maior peso para o processo analisado, bem como das interações importantes entre as mesmas (FERREIRA, S. *et al.*, 2007a).

Dentre os principais planejamentos fracionários destacam-se os do tipo 2^{k-n} (onde k é o número de variáveis e n é o número inteiro correspondente às variáveis que se deve omitir do planejamento inicial), de Plackett e Burman, Taguchi e Box-Benhken. Sendo este último, objeto de maiores detalhamentos na seção que se segue.

Em geral, a otimização de experimentos permite a adaptação de um modelo matemático capaz de descrever o comportamento da resposta monitorada em função dos níveis das variáveis analisadas. Este modelo permite a inserção de parâmetros lineares, quadráticos e de outras ordens, conforme a fidedignidade da descrição do modelo. Para tanto, a validação do ajuste se torna imprescindível para a aplicação do modelo dentro da faixa de níveis considerados para as variáveis. Neste sentido, a análise de variância (ANOVA), surge como uma metodologia de grande aplicabilidade para verificação de possível ocorrência de falta de ajuste do modelo e na implementação de superfícies de resposta. Esta pode ser determinada a partir da equação ajustada e só é passível de interpretação quando dotada de sentido físico, fato que depende da validação do modelo mediante alguns parâmetros estatísticos bem determinados (Tabela 4; PIMENTEL & DE BARROS NETO, 1996).

Tabela 4. Parâmetros utilizados na análise de variância para o ajuste de um modelo de acordo com o método dos mínimos quadrados. n_i é o número de repetições no nível i ; m equivale ao número de níveis distintos da variável x ; n corresponde ao número total de medidas efetuadas ($\sum n_i$); e p é o número de parâmetros do modelo de ajuste. O índice i relaciona-se ao nível da variável x , enquanto o índice j possui relação com as réplicas efetuadas em um determinado nível de x . Os somatórios abrangem o intervalo de $i = 1$ a $i = m$, com exceção para os segundos somatórios em SQ_r , SQ_{ep} e SQ_t que compreendem o intervalo de $j = 1$ a $j = n_i$. y_m corresponde à média de todos os valores de y ; y_{im} equivale à médias das réplicas num dado nível i .

Fonte	Soma Quadrática	G.L.	Média Quadrática
Modelo	$SQ_{reg} = \sum n_i [(y_e)_i - y_m]^2$	$p - 1$	$MQ_{reg} = \frac{SQ_{reg}}{p - 1}$
Residual	$SQ_r = \sum \sum [y_{ij} - (y_e)_i]^2$	$n - p$	$MQ_r = \frac{SQ_r}{n - p}$
Falta de ajuste	$SQ_{faj} = \sum n_i [(y_e)_i - y_{im}]^2$	$m - p$	$MQ_{faj} = \frac{SQ_{faj}}{m - p}$
Erro puro	$SQ_{ep} = \sum \sum [y_{ij} - y_{im}]^2$	$n - m$	$MQ_{ep} = \frac{SQ_{ep}}{n - m}$
Total	$SQ_{ep} = \sum \sum [y_{ij} - y_m]^2$	$n - 1$	

Estes parâmetros de validação estatística servem de base para o cálculo de três valores primordiais para a validação do modelo ajustado: o valor do teste-F calculado para a falta de ajuste (F_{faj}), o valor do teste-F calculado para a regressão (F_{reg}) e o valor da variação percentual explicada pelo modelo (R^2). Este último pode ser determinado através da razão entre a soma quadrática da regressão (SQ_{reg}) e a soma quadrática total (SQ_t) e pode variar no intervalo compreendido entre 0 e 1; quanto mais próximo de 1 for o valor de R^2 calculado, mais bem descrita se dá a variação em y e, portanto, melhor o modelo ajustado. Os outros parâmetros (F_{faj} e F_{reg} – Equações 2.1 e 2.2) relacionam-se com o teste-F, o qual se encontra associado aos graus de liberdade descritos na Tabela 4 para as diferentes fontes consideradas na ANOVA. Neste ponto, torna-se necessária a comparação dos valores calculados de F frente aos valores associados à distribuição F (DE BARROS NETO *et al.*, 2007). O parâmetro F_{faj} calculado deve ser menor que o valor de F tabelado para que o modelo ajustado

não possui evidências estatísticas de falta de ajuste. Em contrapartida, quanto maior o valor de F_{reg} frente ao valor F tabelado, mais significativa será a regressão.

$$F_{faj} = \frac{MQ_{faj}}{MQ_{ep}} \quad (2.1)$$

$$F_{reg} = \frac{MQ_{reg}}{MQ_r} \quad (2.2)$$

2.1.3. Planejamento Box-Benhken

Como já foi dito na seção anterior, o planejamento fatorial fracionário consiste em uma ferramenta importante para uma varredura inicial das variáveis envolvidas em sistemas pouco conhecidos. Determinar as variáveis de maior peso e a interação entre as mesmas é o passo inicial para a avaliação da verdadeira influência de variáveis importantes em um estudo fatorial completo. Em termos resumidos, o planejamento Box-Benhken é um tipo de planejamento fracionário que leva em consideração três diferentes níveis para as variáveis analisadas. Estes níveis correspondem aos valores investigados e são denominados nível baixo (-1), nível médio (0) e nível alto (+1), seguindo uma ordem de intensidade ou de outra natureza, conforme o tipo de variável (quantitativa ou qualitativa). O número de ensaios a serem efetuados varia conforme o número de variáveis contidas no sistema a ser analisado (Equação 2.3) (FERREIRA, S. *et al.*, 2007a, 2007b).

$$N = 2k(k - 1) + C_0 \quad (2.3)$$

Nesta, o número de ensaios (N) efetuados apresenta-se como função do número de variáveis k e do número de ensaios elaborados no ponto central, C_0 (nível médio de todas as variáveis). Um fatorial completo envolvendo três níveis envolveria para um caso de três, quatro e cinco variáveis, respectivamente, 27, 81 e 243 ensaios para satisfazer as condições de análise. Entretanto, através do planejamento Box-Benhken, as mesmas situações são analisadas por meio de 15, 27 e 81 ensaios, respectivamente. Este planejamento considera vários fatoriais completos 2^2 (ver Figura 11 e Tabela 5) para a composição das respostas a

serem analisados e, desta maneira, estabelece um “confundimento” envolvendo as variáveis que, no caso, passam a responder com menor significância. A perda de informações neste caso é irrelevante e, de certa forma, necessária para o bom entendimento geral de uma situação desconhecida envolvendo um número considerado de variáveis. A intenção deste tipo de planejamento de experimentos é alcançada com um pequeno número de ensaios.

Tabela 5. Níveis das variáveis a serem considerados nos ensaios de acordo com o protocolo de Box-Benhken. Nota-se que cada linha da tabela corresponde a um fatorial completo 2^2 .

3 variáveis			4 variáveis				5 variáveis				
X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅
±1	±1	0	±1	±1	0	0	±1	±1	0	0	0
0	±1	±1	0	0	±1	±1	0	0	±1	±1	0
±1	0	±1	±1	0	0	±1	0	±1	0	0	±1
0	0	0	0	±1	±1	0	±1	0	±1	0	0
-	-	-	±1	0	±1	0	0	0	0	±1	±1
-	-	-	0	±1	0	±1	0	±1	±1	0	0
-	-	-	0	0	0	0	±1	0	0	±1	0
-	-	-	-	-	-	-	0	0	±1	0	±1
-	-	-	-	-	-	-	±1	0	0	0	±1
-	-	-	-	-	-	-	0	±1	0	±1	0
-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0

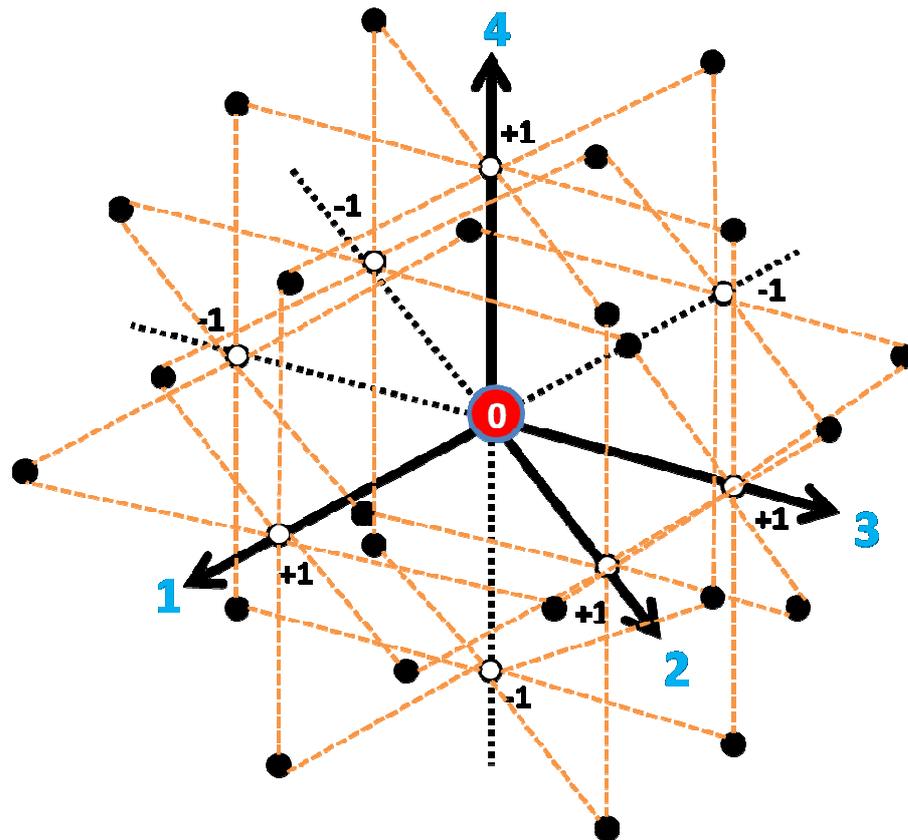


Figura 4. Representação gráfica dos ensaios a serem realizados em um planejamento 3^4 do tipo Box-Behnken.

2.2. Dinâmica Molecular Clássica

2.2.1. Aspectos gerais

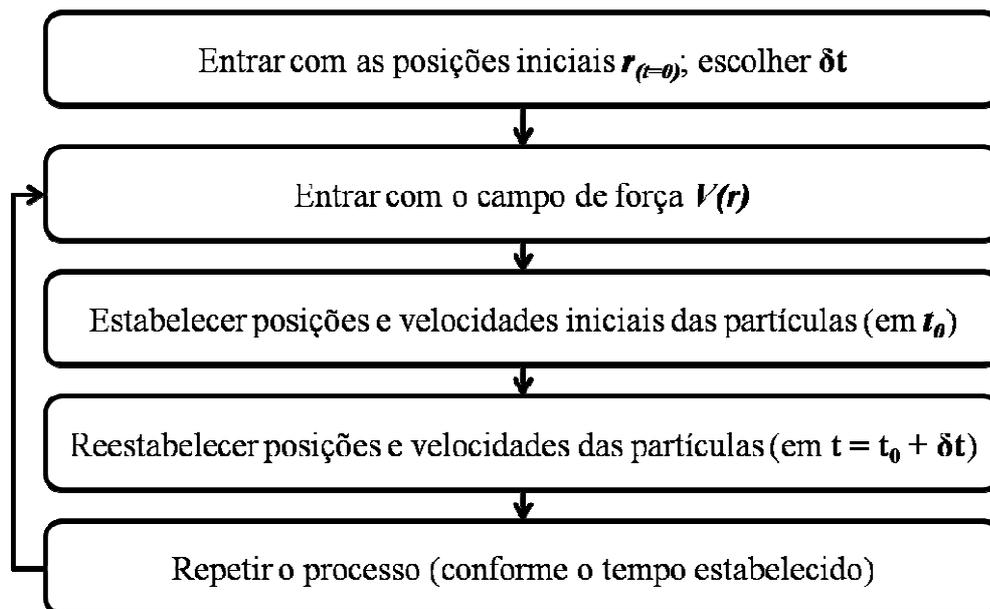
A Dinâmica Molecular clássica (DM) pode ser entendida como uma interface entre a rotina experimental e a teoria em química, uma vez que interpreta física e numericamente os fenômenos considerados no cotidiano químico macroscópico (ALLEN & TILDESLEY, 1987). Os primeiros esforços em prol do desenvolvimento dessa área do conhecimento em química teórica tiveram início na década de 50 do século passado com os trabalhos de Alder e Wainwright envolvendo modelos de esferas rígidas (ALDER & WAINWRIGHT, 1957, 1959). A viabilidade e efetiva implementação dos métodos de DM se deu somente na década de 70 do referido século, com o advento de computadores com maior capacidade de

processamento (HAILE, 1997). Os experimentos de simulação visam entender sob o ponto de vista da mecânica clássica, como se comportam determinados sistemas em função da temperatura no decorrer de um determinado intervalo de tempo sob a ação de um potencial de interação entre as partículas (campo de força).

Neste sentido, pode-se encarar a DM como uma técnica determinística, uma vez que as condições iniciais das partículas no sistema são as únicas informações que se tem para a obtenção do comportamento das condições futuras ao longo do tempo. A partir das sequências geradas pela progressão do sistema, torna-se possível a determinação de propriedades macroscópicas, conforme ditam os princípios da Mecânica Estatística (MORGON & COUTINHO, 2006). Em outras palavras, podemos dizer que os problemas e métodos de DM se baseiam na resolução de um problema de mecânica clássica envolvendo um sistema contendo N -partículas interagentes que se baseiam, basicamente, nos seguintes princípios:

- As partículas devem ser consideradas como esferas possuidoras de uma carga líquida;
- As partículas interagem como “molas” e as interações são regidas por potenciais clássicos;
- Tais interações são determinadas para um conjunto de átomos específicos;
- Essas interações determinam as energias e a distribuição espacial das partículas.

O mecanismo técnico de resolução de um problema de DM fica claro através do algoritmo genérico apresentado no Fluxograma 1. Partindo de um conjunto de informações prévias acerca do sistema trabalhado (posição das partículas, orientação das mesmas, etc.) e de um potencial definido sob a forma de um campo de força, responsável por estabelecer as relações interpartículas no sistema, são estabelecidas novas posições, velocidades e orientações para as partículas em um instante de tempo consecutivo. Este ciclo se repete indefinidamente conforme o tamanho da simulação estabelecida.



Fluxograma 1. Algoritmo genérico para um cálculo de Dinâmica Molecular Clássica.

Alguns parâmetros considerados nos cálculos de DM passam necessariamente pela triagem regida pela natureza do sistema simulado. O passo da DM (*time step*), os tempos de equilíbrio, as rampas de aquecimento consideradas em alguns casos e o próprio tamanho total da simulação se relacionam diretamente com os processos dinâmicos de interesse, bem como com a convergência estatística necessária para a validação das propriedades. Neste sentido algumas ferramentas de análise apresentam forte apelo baseado no conceito estatístico atrelado à DM. O RMSD (*Root Mean Square Displacement*) é uma destas ferramentas e possibilita uma série de análises que levam a uma ligação direta entre observáveis experimentais e dados de simulação (MORGON & COTINHO, 2006). A evolução temporal do sistema analisada por RMSD (Equação 2.4) pode levar a informações interessantes relativas a parâmetros geométricos e conformacionais de estruturas moleculares.

$$RMSD = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^N [r_j(t_i) - r_0]^2}{N}} \quad (2.4)$$

Na equação em questão, N se relaciona com o número de átomos do sistema; $r_j(t_i)$ corresponde à posição do átomo ou fragmento j no instante de tempo i ; e r_0 aponta a posição de referência para cada partícula.

Outro parâmetro estrutural importante relacionado com o grau de empacotamento da estrutura em relação a seu centro de massa é o raio de rotação (R_g). O mesmo relaciona as coordenadas dos átomos ou resíduos (r_i) com a posição do centro de massa (r_{CM}) de acordo com a Equação 2.5:

$$R_g = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |r_i - r_{CM}|^2} \quad (2.5)$$

Neste trabalho estas ferramentas de análise estrutural foram amplamente utilizadas, juntamente com outros parâmetros numéricos obtidos por meio de DM.

2.2.2. As equações de movimento

Os métodos de DM têm como base o formalismo apresentado pela mecânica clássica. Dessa forma, faz-se necessário um conjunto de equações capazes de reger os movimentos das partículas de acordo com este formalismo. Neste sentido, habitualmente nos referimos a tal ferramental matemático como Equações de Movimento de Newton (Equações 2.6 e 2.7). Em verdade, tal assertiva é correta, embora existam outros formalismos adequados para a descrição matemática necessária para o movimento das partículas na DM. As Equações de Movimento de Hamilton (Equações 2.8 e 2.9) e Lagrange (Equação 2.10) também se prestam a tal função.

$$v_i = \frac{\partial r_i}{\partial t} = \frac{p_i}{m_i} \quad (2.6)$$

$$F_i = \frac{\partial p_i}{\partial t} = -\frac{\partial V(\{r_i\})}{\partial r_i} \quad (2.7)$$

$$v_i = \frac{\partial r_i}{\partial t} = \frac{\partial \mathcal{H}}{\partial p_i} \quad (2.8)$$

$$F_i = \frac{\partial p_i}{\partial t} = - \frac{\partial \mathcal{H}}{\partial r_i} \quad (2.9)$$

$$\frac{d}{dt} \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial v_i} = \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial r_i} \quad (2.10)$$

As equações apresentadas acima permitem o cálculo das energias, momentos lineares (p_i), velocidades (v_i), acelerações e forças (F_i) que agem sobre cada partícula i – integrante do sistema de estudo – que se encontra na posição r_i . O potencial ($V(\{r_i\})$) determina as forças da mecânica Newtoniana que atuam sobre cada partícula do sistema e se apresenta como uma soma de termos potenciais relativos a termos geométricos.

$$V = V_{lig.} + V_{ang.} + V_{died.} + V_{intermol.} \quad (2.11)$$

Do mesmo modo, o Hamiltoniano (\mathcal{H}) e o Lagrangiano (\mathcal{L}) – energias totais do sistema – conduzem à obtenção das equações de movimento de Newton. Tais operadores se diferenciam pelo fato de que o Hamiltoniano é escrito em função das posições e dos momentos lineares das partículas, enquanto o Lagrangiano se expressa em termos das posições e das velocidades das mesmas.

Resumidamente, podemos extrair todas as informações da mecânica clássica relevantes ao sistema submetido à DM na Equação 2.12, derivada diretamente da Segunda Lei de Newton:

$$m_i \frac{\partial^2 r_i}{\partial t^2} = - \frac{\partial V(\{r_i\})}{\partial r_i} \quad (2.12)$$

A determinação das principais propriedades do sistema encontra-se atrelada à resolução das equações de movimento para o sistema em questão. Para tanto, existem algoritmos voltados exclusivamente para o trabalho de integração das referidas equações, possibilitando a geração da simulação de DM. Dentre estes, podemos destacar o *Leap-Frog*, *Beeman*, *Velocity Verlet*, *Verlet*, entre outros (ALLEN & TILDESLEY, 1987; HAILE, 1997).

No método de Verlet – largamente empregado na solução computacional de problemas de DM – as equações de Newton são resolvidas para cada átomo em cada instante de tempo. Nessas condições, considerando um passo de DM (incremento de tempo) pequeno – δt – as

posições no instante seguinte e anterior à $r(t)$ podem ser obtidas por meio de uma expansão em série de Taylor truncada em seu quarto termo:

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + \frac{dr_i}{dt}\Delta t + \frac{1}{2}\frac{d^2r_i(t)}{dt^2}\Delta t^2 + \frac{1}{3!}\frac{d^3r_i(t)}{dt^3}\Delta t^3 + O(\Delta t^4) \quad (2.13)$$

$$r_i(t - \Delta t) = r_i(t) - \frac{dr_i}{dt}\Delta t + \frac{1}{2}\frac{d^2r_i(t)}{dt^2}\Delta t^2 - \frac{1}{3!}\frac{d^3r_i(t)}{dt^3}\Delta t^3 + O(\Delta t^4) \quad (2.14)$$

Por meio da soma e da diferença entre as expansões apresentadas nas Equações 2.13 e 2.14, podemos obter os algoritmos de Verlet dedicados à determinação das posições (2.15) e das velocidades das partículas (2.16).

$$r_i(t + \Delta t) = 2r_i(t) - r_i(t - \Delta t) + \frac{d^2r_i(t)}{dt^2}\Delta t^2 + O(\Delta t^4) \quad (2.15)$$

$$v_i(t) = \frac{r_i(t + \Delta t) - r_i(t - \Delta t)}{2\Delta t} \quad (2.16)$$

É interessante notar que o método de Verlet desconsidera as velocidades das partículas como uma variável interessante para a determinação das trajetórias. Para tal, utilizam-se somente as posições das partículas nos instantes t e $t - \delta t$ e a força atuante no instante t . Entretanto, a obtenção das mesmas através da Equação 2.17 se faz necessária, uma vez que o cálculo das energias cinéticas das partículas depende diretamente do valor das mesmas. Essa grandeza possui grande importância para a determinação da temperatura do sistema que é calculada com base na Equação 2.17:

$$T = \frac{1}{3N} \sum_{i=1}^N \frac{|p_i|^2}{2m_i} \quad (2.17)$$

Computacionalmente, o método de Verlet é bastante acessível, apresentando seu maior gargalo atrelado ao cálculo das forças à partir das posições geradas para a determinação das acelerações das partículas. O tempo gasto nesta fase encontra-se diretamente ligado à

complexidade dos termos inseridos no campo de força (Equação 2.11), os quais serão pormenorizados na sessão seguinte.

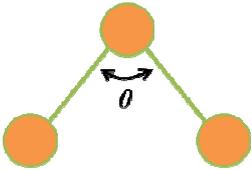
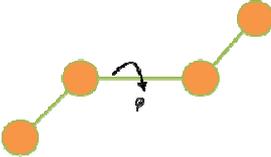
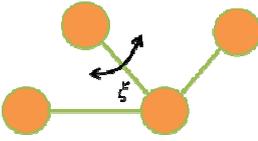
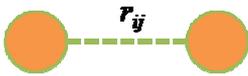
2.2.3. Campo de Força

Como já foi dito anteriormente, o campo de força ou potencial consiste no elemento chave da DM. Somente a partir dele é possível estabelecer a resolução das equações do movimento relativas às partículas integrantes do sistema, uma vez que:

$$\vec{F}_i = -\vec{\nabla}_i V \quad (2.18)$$

O potencial V apresentado de forma genérica na Equação 2.11 relaciona as informações geométricas do sistema químico com cada termo apresentado. O fato de existirem campos de força diferenciados para classes de moléculas específicas se relaciona com o fato de que cada termo potencial associado a um parâmetro geométrico pode apresentar ponderações diferentes conforme as características que se deseja enfatizar no sistema em questão. Dentre os principais campos de força, podemos citar: AMBER* (WEINER *et al.*, 1984), CFF95 (PENG *et al.*, 1997), CHARMM (MACKERELL JR. *et al.*, 1995), DREIDING (MAYO *et al.*, 1990), MM3 (CUI *et al.*, 1993), MM4 (NEVINS *et al.*, 1996), OPLS (JORGENSEN *et al.*, 1996), UFF (RAPPÉ *et al.*, 1992) e VALBOND (CLEVELAND & LANDIS, 1996). A Tabela 6 apresenta alguns termos potenciais comumente presentes nos principais campos de força.

Tabela 6. Exemplos de alguns termos potenciais comumente utilizados nos principais campos de força (SUTTMANN, 2002).

Parâmetro geométrico	Representação gráfica	Termo potencial
Estiramento de ligação		$V_{lig.} = \frac{1}{2} \sum_{lig.} K_r (r - r_0)^2$
Deformação angular		$V_{ang.} = \frac{1}{2} \sum_{ang.} K_\theta (\theta - \theta_0)^2$
Diedros próprios		$V_{dp} = \frac{1}{2} \sum_{dp} V_n [1 - (-1)^n \cos(n\phi + \gamma_n)]$
Diedros impróprios		$V_{di} = \frac{1}{2} \sum_{di} K_\xi (\xi - \xi_0)^2$
Interação eletrostática		$V_{elet} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{i < j} \frac{q_i q_j}{r_{ij}}$
Interação de Van der Waals (6-9)		$V_{vdw} = 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^9 - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right]$
Interação de Van der Waals (6-12)		$V_{vdw} = 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right]$

Os termos referentes aos estiramentos, às deformações angulares e aos diedros impróprios baseiam-se em potenciais harmônicos; neles temos que r_0 , θ_0 e ξ_0 correspondem ao comprimento e ângulos de equilíbrio da ligação e do diedro formado, respectivamente, sendo K_r , K_θ e K_ξ as respectivas constantes de força. No termo de diedros próprios, uma série de Fourier é implementada e, geralmente, aparece truncada no terceiro termo da expansão nos campos de força. A porção relativa às interações intermoleculares traz um termo de Lennard-Jones acrescido de um termo eletrostático. Nestes, q_i e q_j correspondem às cargas parciais, σ_{ij} (diâmetro da partícula) e ϵ_{ij} (energia potencial mínima – profundidade do potencial) correspondem aos parâmetros de Lennard-Jones para a interação das partículas i e j . Um

exemplo de campo de força aparece na Equação 2.19. A mesma se refere ao campo de força AMBER* (WEINER *et al.*, 1984) – utilizado nas etapas de DM deste trabalho. Note que neste o termo de diedros impróprios é omitido. Todavia, um novo termo relativo às ligações de hidrogênio surge, fazendo com que este campo de força conte com uma maior contribuição desta interação para a obtenção das forças agentes sobre as partículas a serem trabalhadas.

$$\begin{aligned}
 V = & \sum_{\text{ligações}} K_r (r - r_0)^2 + \sum_{\text{ângulos}} K_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \frac{1}{2} \sum_{n, \text{diedro}} V_n [1 - (-1)^n \cos(n\varphi + \gamma_n)] \\
 & + \sum_{\text{intermol.}(i,j)} 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\varepsilon_0 r_{ij}} + \sum_{\text{lig.H}} 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{10} \right] \quad (2.19)
 \end{aligned}$$

2.2.4. Modelo Contínuo do Solvente

Os estudos envolvendo Dinâmica Molecular clássica, em sua maioria, são efetuados sem considerar o efeito do solvente sobre o sistema analisado (MACROMODEL, 2007). Entretanto, em alguns casos se torna interessante a investigação sobre a influência do mesmo com relação a algumas propriedades consideradas inicialmente no vácuo, tais como: conformação, reatividade, coeficiente de partição, entre outras (CHENG *et al.*, 2000). A implementação de um modelo de solvente pode ocorrer considerando-o explicitamente (moléculas de solvente em torno do soluto) ou de forma implícita (por meio de modelos contínuos, por exemplo). As duas metodologias apresentam sucesso na descrição do efeito do solvente, entretanto, grande destaque tem sido dado aos métodos contínuos, uma vez que os custos computacionais atrelados aos mesmos são bem menores e a descrição das forças eletrostáticas de longo alcance – primordiais para a descrição do fenômeno de solvatação – é bem efetuada (CRAMER & TRUHLAR, 1999; PLIEGO JR., 2006; QIU *et al.*, 1997; STILL *et al.*, 1990). Dentre os principais modelos de solvente implícitos utilizados, podemos citar o PCM, o COSMO e o GB/SA (CRAMER & TRUHLAR, 1999).

O papel dos modelos contínuos passa pela substituição da atuação das moléculas explícitas por dipólos pontuais que podem ser descritos por meio do vetor $\vec{\mu}_i$. Dessa forma, em uma região de volume ΔV contendo n moléculas do solvente, podemos definir um vetor resultante \vec{P} advindo da média térmica sobre os vetores de dipolo individuais (Equação 2.20).

$$\vec{P} = \frac{1}{\Delta V} \sum_{i=1}^n \langle \vec{\mu}_i \rangle \quad (2.20)$$

A definição deste vetor polarização (\vec{P}) possibilita a substituição dos dipolos pontuais por um *continuum*, fato que leva a uma interpretação que se torna clara por meio da Figura 12. Nesta também se nota a cavidade criada no modelo contínuo para abrigar o soluto em meio ao campo solvente. Esta geralmente é criada a partir da sobreposição de esferas de raios definidos centradas sobre os átomos que constituem a molécula solubilizada.

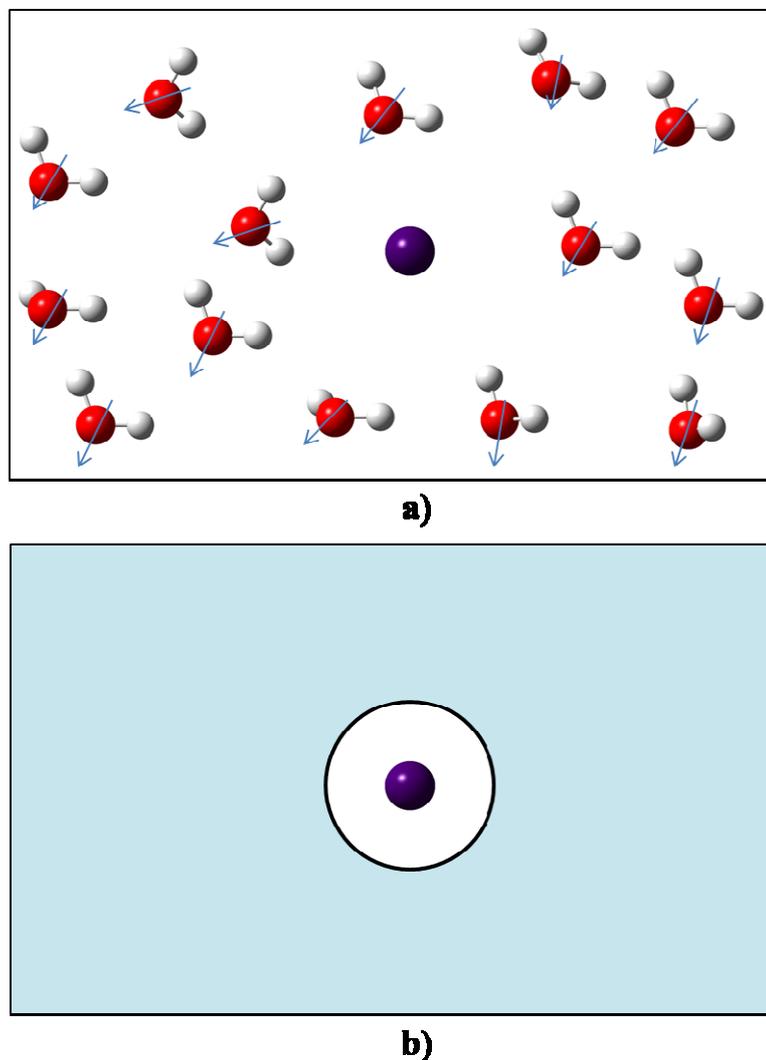


Figura 12. Representação de um processo de solvatação envolvendo água como solvente apresentando os dipólos individuais (a) e o campo contínuo atribuído ao vetor \vec{P} , destacando a cavidade do soluto definida (b).

Para considerarmos o efeito do solvente em um modelo contínuo dependemos da determinação de um parâmetro que estabeleça bem a interação soluto-solvente. Neste sentido, a energia livre de solvatação (G_{solv}) surge como uma boa opção, uma vez que estabelece relação direta com o potencial químico do soluto (*apud* PLIEGO JR., 2006). O modelo GB/SA (*Generalized Born Surface Area*) – utilizado em alguns pontos deste trabalho – parte desta grandeza e do fato da mesma ser aditiva. Para tanto, este método considera as contribuições de três termos de Gibbs: um para a interação solvente-solvente (G_{cav}) na cavidade gerada para a acomodação do solvente – de acordo com o método SA –; outro responsável pela representação das interações de Van der Waals entre soluto e solvente (G_{vdw}); e um terceiro dedicado à polarização soluto-solvente (G_{pol}) (FERREIRA, B. *et al.*, 1999).

$$G_{solv} = G_{cav} + G_{vdw} + G_{pol} \quad (2.21)$$

Para determinarmos o valor de G_{solv} devemos considerar duas equações associadas aos termos de Gibbs representados na Equação 2.21. A primeira (Equação 2.22) relaciona os termos G_{cav} e G_{vdw} e aponta a proporcionalidade direta da soma destes com a soma das áreas superficiais acessíveis do soluto (SA_k) de acordo com o tipo de átomo, representado pelo parâmetro empírico de solvatação (σ_k) determinado para cada átomo k .

$$G_{cav} + G_{vdw} = \sum \sigma_k \cdot SA_k \quad (2.22)$$

A segunda (Equação 2.23) relaciona as interações eletrostáticas envolvidas na solvatação. Para isso, leva em consideração a equação de Born generalizada (GB) modificada pela equação de Poisson-Boltzmann (PB):

$$G_{pol} = -166 \left(1 - \frac{1}{\varepsilon}\right) \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \frac{q_i q_j}{f_{GB}} \quad (2.23)$$

Nesta, o termo f_{GB} corresponde a $(r_{ij}^2 + \alpha_{ij}^2 e^{-D})^{1/2}$, onde r_{ij} é a distância entre os átomos i e j ; α_{ij} equivale à média entre os raios de Bohr para os átomos i e j ; D corresponde ao termo $\frac{r_{ij}^2}{(2\alpha_{ij})^2}$; q_i e q_j são as cargas atômicas de i e j ; e ε representa a constante dielétrica do

meio solvente considerado (FERREIRA, B. *et al.*, 1999). Com isso, a determinação da energia livre de solvatação de acordo com as Equações 2.21, 2.22 e 2.23, assume a seguinte forma:

$$G_{solv} = \sum \sigma_k \cdot SA_k - 166 \left(1 - \frac{1}{\varepsilon}\right) \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \frac{q_i q_j}{f_{GB}} \quad (2.24)$$

Neste trabalho, o referido método foi utilizado visando possibilitar a inserção do efeito do solvente sobre um sistema complexo sem o aumento exorbitante dos custos computacionais.

2.3. Métodos Quânticos

2.3.1. A Teoria do Funcional de Densidade

Em química quântica a resolução da Equação de Schrödinger independente do tempo (Equação 2.25) se configura no principal objetivo dos métodos aplicados, uma vez que a mesma é capaz de fornecer uma função de onda descritora do sistema e, dessa forma, uma gama de informações físicas a respeito do mesmo.

$$\hat{H}\Psi(\vec{r}) = E\Psi(\vec{r}) \quad (2.25)$$

Nesta equação, \vec{r} representa o conjunto de coordenadas eletrônicas e nucleares e \hat{H} equivale ao operador hamiltoniano de energia, que abarca termos de energia cinética e potencial (LEVINE, 2001). A resolução desta equação não é trivial e é plenamente possível apenas para sistemas hidrogenóides (portadores de apenas um elétron). Em casos multieletrônicos, as soluções obtidas não passam de meras aproximações obtidas por meio de métodos teóricos que visam contornar o problema imposto pela dependência multipartícula apresentada no termo de energia potencial constante no operador hamiltoniano.

Dentre os inúmeros métodos disponíveis para tal fim, a DFT (*Density Functional Theory* – Teoria do Funcional de Densidade) surge como uma alternativa interessante para a resolução da estrutura eletrônica de sistemas de médio e grande porte (MORGON & COUTINHO, 2006). O fato de se constituir em um método computacionalmente mais acessível e qualitativamente comparável frente a métodos de melhor correlação, faz da DFT uma opção adequada para o estudo de sistemas semelhantes àqueles estudados neste trabalho.

Toda a base do formalismo DFT encontra-se ligada aos primeiros estudos de Paul Drude envolvendo a densidade eletrônica $\rho(r)$ como uma variável de interesse no estudo de um sistema homogêneo do tipo gás de elétrons para metais. Os aperfeiçoamentos deste modelo levaram à obtenção do funcional de energia de Thomas-Fermi-Dirac (TFD), que serviu de base para o desenvolvimento da DFT moderna por parte de Hohenberg e Kohn em 1964 (HOHENBERG & KOHN, 1964). Estes cientistas elaboraram dois teoremas fundamentais para o desenvolvimento do referido método. Como base para o entendimento destes, devemos iniciar nossa análise pelo operador Hamiltoniano de um sistema eletrônico molecular (em unidades atômicas – distâncias em raios de Bohr e energias em Hartree) portador de M núcleos e N elétrons, segundo a aproximação de Born-Oppenheimer (BO), desconsiderando os efeitos relativísticos:

$$\hat{H}_{BO} = \underbrace{-\sum_i^N \frac{1}{2} \nabla_i^2}_{\hat{T}} - \underbrace{\sum_A^M \sum_i^N \frac{Z_A}{|R_A - r_i|}}_{\hat{U}} + \underbrace{\sum_{i < j}^N \sum_j^N \frac{1}{|r_i - r_j|}}_{\hat{V}_e} + \underbrace{\sum_{B < A}^M \sum_A^M \frac{Z_A Z_B}{|R_A - R_B|}}_{\hat{E}_{rep}} \quad (2.26)$$

Nesta equação, i e j representam elétrons; A e B compreendem núcleos atômicos; r_i e R_A dizem respeito, respectivamente, às coordenadas do elétron i e do núcleo A ; e Z_A corresponde ao número atômico do átomo A . Notam-se na mesma equação a presença de termos relativos aos operadores energia cinética (\hat{T}), repulsão elétron-elétron (\hat{V}_e) – incluindo os termos de troca e correlação –, repulsão núcleo-núcleo (\hat{E}_{rep}) e potencial externo relacionado aos elétrons, normalmente devido às cargas dos núcleos Z_A .

Outra equação de interesse para nosso entendimento enuncia a densidade eletrônica $\rho(r)$ com base na solução do estado fundamental (Ψ) do Hamiltoniano.

$$\rho(r) = \int \dots \int \Psi(r_1, r_2, \dots, r_N)^* \Psi(r_1, r_2, \dots, r_N) dr_1 dr_2 \dots dr_N \quad (2.27)$$

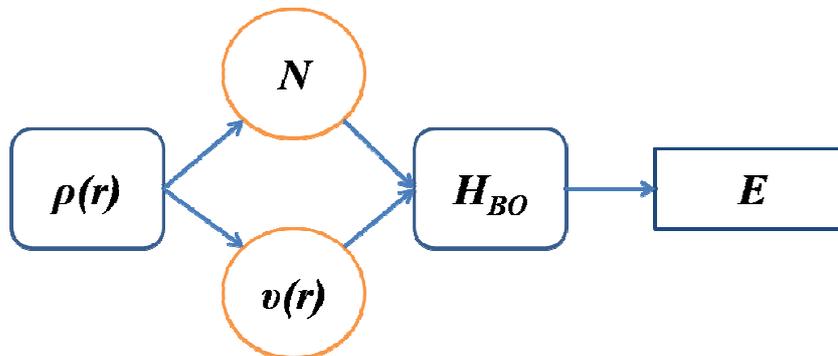
Logo, a energia total do sistema pode ser dada por:

$$E_0 = \int \Psi(r_1, r_2, \dots, r_N)^* \hat{H}_{BO} \Psi(r_1, r_2, \dots, r_N) dr_1 dr_2 \dots dr_N = \langle \Psi | \hat{H}_{BO} | \Psi \rangle \quad (2.28)$$

Considerando as Equações 2.26, 2.27 e 2.28, podemos estabelecer uma nova equação para a energia total (Equação 2.29). Entretanto, nesta o operador \hat{H}_{BO} aparece desmembrado, uma vez que o potencial externo \hat{U} pode ser descrito como um funcional de densidade eletrônica.

$$E_0 = \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_e | \Psi \rangle + \int \rho(r) v(r) dr \quad (2.29)$$

A interpretação da Equação 2.29 é clara. Como \hat{T} e \hat{V}_e são funções exclusivas do número total de elétrons (N) do sistema, temos que estes definem bem o Hamiltoniano. Uma contribuição no mesmo sentido surge através do potencial externo expresso por meio de um funcional de densidade eletrônica. Na realidade, a referida equação é a forma matemática do primeiro teorema de Hohenberg-Kohn (HK) que “estabelece que o potencial externo é um funcional único de $\rho(r)$ além de uma constante aditiva” (MORGON & COUTINHO, 2006). Ou seja, conhecendo a densidade eletrônica, determina-se o potencial externo e o número de elétrons N do sistema, possibilitando assim, a determinação do Hamiltoniano respectivo (Fluxograma 2).



Fluxograma 2. Interdependência das principais variáveis DFT.

A resolução da Equação de Schrödinger independente do tempo ($\hat{H}_{BO}\Psi = E\Psi$) segundo a aproximação de BO nos fornece a energia do sistema. Seguindo a lógica exposta na Fluxograma 2, podemos inferir que a energia calculada se comporta como um funcional da densidade eletrônica (função do potencial externo), de maneira que:

$$E = E_v[\rho(r)] \quad (2.30)$$

Numa ideia muito semelhante àquela aplicada ao teorema Variacional, o segundo teorema de HK enuncia que “havendo qualquer aproximação da densidade eletrônica, $\tilde{\rho}(r)$, de modo que $\tilde{\rho}(r) \geq 0$ e $\int \tilde{\rho}(r)dr = N$, a energia total será sempre maior ou igual a energia exata do sistema, ou seja, $E[\tilde{\rho}] \geq E[\rho] = E_0$ ”. Dessa forma, podemos definir uma parcela universal (Equação 2.30) para todos os sistemas; aquela correspondente aos operadores cinético \hat{T} e potencial elétron-elétron \hat{V}_e .

$$F[\rho] = \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_e | \Psi \rangle \quad (2.31)$$

Com isso, a Equação 2.29 assume um novo formato considerando o princípio variacional para o DFT:

$$E_0 = F[\rho] + \int \rho(r)v(r)dr \leq F[\tilde{\rho}] + \int \tilde{\rho}(r)v(r)dr \quad (2.32)$$

Todo o formalismo apresentado até aqui sobre o método DFT visa possibilitar a determinação da energia do estado fundamental a partir da densidade eletrônica tridimensional, ao invés da complexa função de onda para N-elétrons. Entretanto, duas questões relevantes se apresentam em virtude do princípio variacional: a v e a N -representatividades. A primeira questiona o fato de a densidade eletrônica tentativa ($\tilde{\rho}$) determinar um potencial externo fidedigno. A última se relaciona com a confiabilidade do número de elétrons total N obtido por $\tilde{\rho}$. A v -representatividade pode ser solucionada pelo método da procura restrita de Levy (*Levy Constrained Search*) que consiste na geração de funções de onda que minimizem a parcela universal ($F[\rho]$) para todas as densidades tentativas na busca por aquela que represente bem o potencial externo (v). O problema da N -representatividade possui uma solução mais simples que consiste em um pressuposto para a solução da v -representatividade pelo método de Levy: a função de onda descritora deve ser

antissimétrica. Em termos matemáticos, fica fácil exprimir a solução para o número de elétrons por meio das Equações 2.33, 2.34 e 2.35.

$$\rho(r) \geq 0 \quad (2.33)$$

$$\int \rho(r) dr = N \quad (2.34)$$

$$\int |\nabla \rho(r)^{1/2}|^2 dr < \infty \quad (2.35)$$

O fato de existirem várias densidades eletrônicas tentativas nos faz pensar que uma delas é capaz de fornecer a energia exata, conforme descrito matematicamente na Equação 2.32. O encontro desta densidade eletrônica exata torna possível a aplicação de DFT em cálculos computacionais. Em 1965, Kohn e Sham propuseram um método capaz de tornar viáveis as aplicações do DFT por meio das equações KS (*apud* MORGON & COUTINHO, 2006). Para iniciarmos a discussão neste tema devemos, primeiramente, satisfazer o princípio estacionário para o princípio variacional apresentado na Equação 2.32.

$$\delta \left\{ E_v[\rho] - \mu \left[\int \rho(r) dr - N \right] \right\} = 0 \quad (2.36)$$

Nesta, μ corresponde ao potencial químico dos elétrons – relacionado com a tendência dos mesmos de saírem do equilíbrio em um dado sistema – e é denominado multiplicador de Lagrange.

A explicitação do termo de repulsão elétron-elétron coulombiano foi efetuada por Kohn e Sham na Equação 2.29, produzindo uma nova função universal ($G[\rho]$):

$$E_v[\rho] = G[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{|r_1 - r_2|} dr_1 dr_2 + \int \rho(r)v(r)dr \quad (2.37)$$

Onde:

$$G[\rho] = T_s[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (2.38)$$

Na Equação 2.38, o termo $T_s[\rho]$ se refere ao funcional de energia cinética de um sistema de elétrons que não interagem entre si. O outro termo, $E_{xc}[\rho]$, inclui o termo de troca e correlação e a parte residual da energia cinética, resultante da interação entre elétrons. A ideia básica desta estratégia é utilizar um sistema de referência visando facilitar os cálculos para um sistema eletrônico. De acordo com este princípio, Kohn e Sham chegaram a um Hamiltoniano (H^{KS}) que contempla elétrons que não interagem, baseando-se somente em suas energias cinéticas e no potencial local efetivo:

$$H^{KS} = -\frac{1}{2}\nabla^2 + v_{ef}(r) \quad (2.39)$$

Para obtermos as energias de cada estado para o sistema em questão, devemos aplicar o Hamiltoniano (Equação 2.39) à equação de Schrödinger (conforme Equação 2.40). Como o potencial efetivo não é conhecido, devemos utilizar uma função de onda qualquer para o estado i , visando a obtenção da energia ε_i por métodos numéricos. Tal como no método de Hartree-Fock, um produto antissimétrico de N funções de onda de um elétron (orbitais Kohn-Sham) gera uma função de onda aproximada (Ψ^{KS}), de acordo com um determinante do tipo Slater.

$$\left(-\frac{1}{2}\nabla^2 + v_{ef}\right)\psi_i^{KS} = \varepsilon_i\psi_i^{KS} \quad (2.40)$$

Como o sistema escolhido aborda a situação envolvendo elétrons que não interagem, faz-se necessário uma correlação entre esta aproximação e a realidade. Para tanto, o potencial efetivo determinado deve ser capaz de indicar a densidade eletrônica resultante, $\rho_s(r)$, como a densidade eletrônica fundamental, $\rho_o(r)$, de forma que:

$$\rho_s(r) = \sum_i^N 2|\psi_i^{KS}(r)|^2 = \rho_o(r) \quad (2.41)$$

Da mesma forma, a energia cinética resultante pode ser obtida:

$$T_s[\rho] = \sum_i^N \left\langle \psi_i^{KS} \left| -\frac{1}{2} \nabla_i^2 \right| \psi_i^{KS} \right\rangle \quad (2.42)$$

Calculando o mínimo da expressão de energia (Equação 2.37), obtemos o potencial efetivo, considerando que as funções de um elétron respeitem a condição de ortonormalidade ($\delta_{ij} = \langle \psi_i^{KS} | \psi_j^{KS} \rangle$).

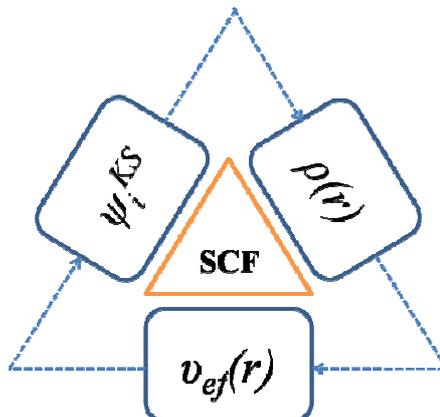
$$v_{ef}(r) = v(r) + \int \frac{\rho(r_1)}{|r - r_1|} dr_1 + v_{xc}(r) \quad (2.43)$$

Sendo:

$$v_{xc}(r) = \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (2.44)$$

A determinação da densidade eletrônica resultante, $\rho_s(r)$, do potencial efetivo, $v_{ef}(r)$, e dos orbitais de Kohn-Sham, ψ_i^{KS} , permitem a construção de um método autoconsistente para a DFT, denominado *Kohn-Sham – Self Consistent Field* (KS-SCF, Fluxograma 3). Em suma, a determinação de funções de onda arbitrárias para um elétron (ψ_i^{KS}), leva a uma densidade eletrônica preliminar (ρ) que permite a obtenção do potencial efetivo para cada elétron ($v_{ef}(r)$). Este, por sua vez, pode gerar um novo orbital KS que reiniciaria o ciclo.

O método KS nos permite obter a densidade eletrônica do estado fundamental de sistemas eletrônicos. As demais propriedades do sistema podem também ser acessadas, desde que os funcionais de densidade eletrônica sejam conhecidos.



Fluxograma 3. Método autoconsistente KS-SCF.

Ao contrário dos métodos *ab initio* convencionais que permitem um melhoramento bem definido quanto à precisão e qualidade dos cálculos, a DFT não apresenta um ordenamento claro nesse sentido. Dessa forma, a escolha dos funcionais de troca-correlação se dá, em geral, pela boa reprodução da energia de correlação tradicional. Neste sentido, a constituição do sistema representa um bom indício para a definição de um determinado funcional de densidade, conforme dados constantes na literatura definidos com base na comparação dos funcionais.

Em algumas etapas deste trabalho o funcional de troca-correlação utilizado foi o LSDA (*Local Spin-Density Approximation*). A aproximação da densidade de *spin* local tem por base o modelo do gás homogêneo de elétrons. Basicamente, considera-se o sistema não-homogêneo (molécula ou átomo, por exemplo) aproximando-se o funcional de troca-correlação, $E_{xc}[\rho]$, pelo valor dado a um gás de elétrons homogêneo de densidade eletrônica definida, $\rho(r)$. Para facilitar nossa análise, podemos desmembrar o funcional E_{xc} em dois termos relativos à troca e correlação, respectivamente (Equação 2.45).

$$E_{xc}[\rho^\alpha, \rho^\beta] = E_x[\rho^\alpha, \rho^\beta] + E_c[\rho^\alpha, \rho^\beta] \quad (2.45)$$

O funcional de troca para um gás de elétrons homogêneo foi obtido por Paul Dirac considerando *spin* polarizado:

$$E_x[\rho^\alpha, \rho^\beta] = 2^{1/3} \left[\frac{3}{4} \left(\frac{3}{\pi} \right)^{1/3} \right] \int [(\rho^\alpha)^{4/3} + (\rho^\beta)^{4/3}] dr \quad (2.46)$$

O termo relativo à correlação se constitui em um grande alvo investigativo na busca por aproximações mais adequadas para o modelo do gás homogêneo de elétrons com *spin* polarizado. O referido termo leva em consideração a correlação eletrônica não incluída nas energias de Coulomb e de troca, além da contribuição relativa à diferença entre a energia cinética exata, T , e a energia cinética para elétrons que não interagem, T_s . Uma descrição interessante do funcional de correlação no limite de um gás homogêneo foi proposto por Volsko, Wilk e Nusair (*apud* MORGON & COUTINHO, 2006).

$$E_c^{VWN}[\rho^\alpha, \rho^\beta] = \int \rho(r) \varepsilon_c[\rho, \zeta] dr \quad (2.47)$$

A função ζ que aparece como integrante do funcional de energia de correlação, na realidade, consiste na polarização de *spin*, definida por:

$$\zeta = \frac{\rho^\alpha - \rho^\beta}{\rho} = \frac{\rho^\alpha - \rho^\beta}{\rho^\alpha + \rho^\beta} \quad (2.48)$$

Quando aplicamos as Equações 2.46, 2.47 e 2.48 ao esquema KS, chegamos ao LSDA. Para um sistema não-polarizado ($\rho^\alpha = \rho^\beta$) a aproximação é denominada LDA (*Local Density Approximation*). Podemos escrever o termo da energia total obtida a partir do LSDA conforme apresentado na Equação (2.49).

$$E = \sum \varepsilon_i - \frac{1}{2} \int \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{|r_1 - r_2|} dr_1 dr_2 + 2^{1/3} \left[\frac{3}{4} \left(\frac{3}{\pi} \right)^{1/3} \right] \int [(\rho^\alpha)^{4/3} + (\rho^\beta)^{4/3}] dr \quad (2.49)$$

$$+ \int \rho(r)\varepsilon_c[\rho, \zeta] dr - \int \rho(r)v_{xc}(r) dr$$

Por se tratar de um método computacionalmente barato, o LSDA serve de base para estudos iniciais em sistemas com poucas referências na literatura ou para sistemas com um grande número de átomos. Os cálculos de otimização de geometrias e de frequências harmônicas vibracionais foram efetuados neste trabalho segundo a metodologia DFT.

2.3.2. Cálculo de propriedades termodinâmicas

A obtenção de propriedades termodinâmicas a partir dos cálculos computacionais traduz-se em umas das principais aplicações da teoria na busca por comparações com valores experimentais. Neste sentido, a termodinâmica estatística surge como uma ferramenta de grande potencial na aplicação ao modelo do gás ideal implementado no pacote computacional Gaussian03 (FRISCH *et al.*, 2004) utilizados nos cálculos quânticos apresentados neste trabalho. Além da aproximação do gás ideal, desconsideram-se os estados eletrônicos excitados, fato que torna os cálculos menos apurados, mas que não leva a resultados ruins na maioria dos casos.

As propriedades termodinâmicas derivam basicamente das Equações 2.50, 2.51 e 2.52.

$$S = R \left(\ln(q_t q_e q_r q_v e) + T \left(\frac{\partial \ln q}{\partial T} \right)_V \right) \quad (2.50)$$

$$E = RT^2 \left(\frac{\partial \ln q}{\partial T} \right)_V \quad (2.51)$$

$$C_V = \left(\frac{\partial E}{\partial T} \right)_{N,V} \quad (2.52)$$

A entropia (S), a energia térmica interna (E) e a capacidade calorífica a volume constante (C_V) servem de base para obtenção das demais propriedades de interesse. Estas encontram-se atreladas às funções de partição translacional, eletrônica, rotacional e vibracional. A obtenção das mesmas se dá por meio das Equações 2.53, 2.54, 2.55 e 2.56.

$$q_t = \left(\frac{2\pi m k_B T}{h^2} \right)^{3/2} \frac{k_B T}{P} \quad (2.53)$$

$$q_e = \omega_0 e^{-\epsilon_0/k_B T} + \omega_1 e^{-\epsilon_1/k_B T} + \omega_2 e^{-\epsilon_2/k_B T} + \dots \approx \omega_0 \quad (2.54)$$

$$q_r = \frac{\pi^{1/2}}{\sigma_r} \left(\frac{T^{3/2}}{(\Theta_{r,x} \Theta_{r,y} \Theta_{r,z})^{1/2}} \right) \quad (2.55)$$

$$q_v = \prod_K \frac{e^{-\Theta_{v,K}/2T}}{1 - e^{-\Theta_{v,K}/T}} \quad (2.56)$$

Estas funções de partição encontram-se implementadas no pacote computacional e são utilizadas para a obtenção dos parâmetros termodinâmicos anteriormente apresentados (Equações 2.50, 2.51 e 2.52). Algumas delas se configuram em aproximações, as quais são utilizadas visando a diminuição dos custos computacionais. Como exemplo disso, podemos citar a aproximação efetuada na Equação 2.54; a mesma assume que a primeira energia de excitação eletrônica (ϵ_1) é muito maior que o termo $k_B T$, o que leva à desconsideração dos termos superiores a ϵ_1 . Para a função de partição rotacional, também existem situações específicas relativas ao número de átomos do sistema e à geometria do mesmo (linear ou não-linear) (OCHTERSKI, 2000). As contribuições translacionais, eletrônicas, rotacionais e

vibracionais para entropia, energia térmica interna e capacidade calorífica a volume constante encontram-se nas equações dispostas na Tabela 7.

Tabela 7. Equações para o cálculo da entropia, energia térmica interna e capacidade calorífica a volume constante, obtidas através das funções de partição.

	Entropia (S)	Energia térmica interna (E)	Capacidade calorífica a volume constante (C_V)
Translacional	$R \left(\ln q_t + 1 + \frac{3}{2} \right)$	$\frac{3}{2} RT$	$\frac{3}{2} R$
Eletrônico	$R(\ln q_e)$	0	0
Rotacional	$R \left(\ln q_r + \frac{3}{2} \right)$	$\frac{3}{2} RT$	$\frac{3}{2} R$
Vibracional	$R \sum_K \left(\frac{\Theta_{v,k}/T}{e^{\Theta_{v,k}/T} - 1} - \ln(1 - e^{\Theta_{v,k}/T}) \right)$	$R \sum_K \Theta_{v,k} \left(\frac{1}{2} + \frac{1}{e^{\Theta_{v,k}/T} - 1} \right)$	$R \sum_K e^{\Theta_{v,k}/T} \left(\frac{\Theta_{v,k}/T}{e^{\Theta_{v,k}/T} - 1} \right)$

Nos termos vibracionais, nota-se a presença do índice K , relativo a cada um dos $3N-6$ modos vibracionais possíveis (para moléculas não-lineares, onde N = número de átomos). Como se pode notar, as propriedades relativas a esta contribuição levam em conta todos os modos vibracionais, como fica explícito nos somatórios em relação a K apresentados na Tabela 7.

Considerando todas as contribuições das funções de partição utilizadas, chegamos aos valores totais para a entropia, energia térmica total e capacidade calorífica a volume constante:

$$S_{total} = S_t + S_e + S_r + S_v \quad (2.57)$$

$$E_{total} = E_t + E_e + E_r + E_v \quad (2.58)$$

$$C_{V,total} = C_{V,t} + C_{V,e} + C_{V,r} + C_{V,v} \quad (2.59)$$

Os valores obtidos através das Equações 2.57, 2.58 e 2.59 são apresentados nos arquivos *output* dos cálculos de frequências harmônicas vibracionais. A partir dos mesmos e de duas relações básicas (Equações 2.60 e 2.61) torna-se possível a determinação das grandezas entalpia (H) e energia livre de Gibbs (G). A primeira é obtida na forma de uma correção efetuada sobre a energia total (E_{total}). Já a segunda deriva desta grandeza corrigida e da entropia total (S_{total}).

$$H_{corr} = E_{total} + k_B T \quad (2.60)$$

$$G_{corr} = H_{corr} + TS_{total} \quad (2.61)$$

A determinação de propriedades inerentes à reações químicas pode se dar por meio da análise das correções de entalpia e energia livre de Gibbs para reagentes e produtos. Os cálculos de frequências harmônicas vibracionais fornecem a soma das entalpias e energias de Gibbs com a energia eletrônica do sistema (ϵ_o). Implementando estes valores nas Equações 2.62 e 2.63, chegamos à entalpia e energia livre de Gibbs padrão de reação (298,15K).

$$\Delta_r H^o = \sum (\epsilon_o + H_{corr})_{produtos} - \sum (\epsilon_o + H_{corr})_{reagentes} \quad (2.62)$$

$$\Delta_r G^o = \sum (\epsilon_o + G_{corr})_{produtos} - \sum (\epsilon_o + G_{corr})_{reagentes} \quad (2.63)$$

2.3.3. Cálculo de propriedades vibracionais

A rotina de obtenção de dados relativos a propriedades vibracionais de sistemas químicos por via teórica, passa pela otimização das geometrias – capaz de fornecer o mínimo da derivada da energia em relação às coordenadas atômicas – seguida do cálculo de frequências harmônicas vibracionais – efetuado sobre a estrutura otimizada segundo o mesmo nível de teoria empregado e mesmas funções de base utilizadas no primeiro processo. O pacote computacional Gaussian03 (FRISCH *et al.*, 2004) obtém a partir deste cálculo algumas propriedades importantes para o estabelecimento das propriedade vibracionais. A massa

reduzida (μ), as constantes de força (k), as frequências harmônicas (f) e os deslocamentos cartesianos (l_{cart}) são algumas delas (OCHTERSKI, 1999).

A determinação das constantes de força – tal qual as dos sistemas massa-mola regidas pela Lei de Hooke – que agem sobre cada par atômico (ij) se configura no primeiro passo a ser realizado. O cálculo da segunda derivada do potencial harmônico, V , com relação aos deslocamentos atômicos (ζ) determinados em coordenadas cartesianas sobre as posições de equilíbrio dos átomos ocorre de acordo com a Equação 2.64.

$$f_{CART,ij} = \left(\frac{\partial^2 V}{\partial \xi_i \partial \xi_j} \right) \quad (2.64)$$

Como se pode perceber a expressão acima se relaciona a uma matriz $3N \times 3N$ (com N equivalente ao número de átomos) denominada matriz Hessiana, na qual os elementos correspondem às constantes de força (k). Uma conversão dos valores das constantes de força em novos valores ponderados pelas massas atômicas pode ser realizada dando origem a uma nova matriz denominada MWC (*Mass Weighted Cartesian Coordinates*):

$$f_{MWC,ij} = \frac{f_{CART,ij}}{\sqrt{m_i m_j}} = \left(\frac{\partial^2 V}{\partial \xi_i \partial \xi_j} \right) \quad (2.65)$$

O processo de diagonalização de $f_{MWC,ij}$ gera $3N$ autovetores e $3N$ autovalores. Os autovetores relativos a modos normais são desconsiderados *a priori*, sendo calculados somente após a separação dos modos normais relativos à rotação e à translação. Os autovalores, por sua vez, fornecem as frequências fundamentais para a molécula que podem ser reais ou imaginárias, sendo estas últimas, em geral, caracterizadas como pontos de sela de energia.

Outro passo importante consiste na obtenção dos momentos e produtos de inércia. Para a determinação dos mesmos faz-se necessário transladar o centro de massa do sistema, levando em consideração, para isso, a posição de cada átomo. O centro de massa é dado por:

$$R_{COM} = \frac{\sum_{\alpha} m_{\alpha} r_{\alpha}}{\sum_{\alpha} m_{\alpha}} \quad (2.66)$$

A partir dos deslocamentos estabelecidos para cada átomo a partir do centro de massa torna-se possível a construção de uma matriz I capaz de fornecer os dados sobre momentos e produtos de inércia para cada átomo α . A diagonalização da matriz I gera os autovalores – momentos principais de inércia – e uma matriz X contendo os autovetores de I . Estes são usados para a definição dos vetores para a translação e rotação infinitesimais. A obtenção destes passa pela formulação de 3 vetores D de tamanho $3N$ que apontam a translação molecular e de outros 3 vetores D que se relacionam com a rotação molecular. Os $3N - 6$ modos restantes se dedicam à vibração molecular (no caso de moléculas não lineares).

Os vetores D apontam novas coordenadas internas. Entretanto os modos vibracionais calculados por meio da Equação 2.65 apresentam-se em coordenadas MWC. Para corrigir esse problema e transformar os modos vibracionais (N_{vib}) em coordenadas internas (INT), procedemos de acordo com a Equação 2.67.

$$f_{INT} = D^\dagger f_{MWC} D \quad (2.67)$$

Uma submatriz de f_{INT} é formada por $N_{vib} \times N_{vib}$ que contém as constantes de força em coordenadas internas. Diagonalizando-a, chegamos a N_{vib} autovalores ($\lambda_i = 4\pi\nu_i^2$) e N_{vib} autovetores. A obtenção dos autovalores pode ser dada pelo auxílio da matriz transformação L . A matriz diagonal Λ contém todos os autovalores λ_i .

$$\Lambda = L^\dagger f_{INT} L \quad (2.68)$$

Possuindo os valores de cada comprimento de onda (λ_i) associado ao modo vibracional i , podemos determinar o número de onda (em cm^{-1}) a partir da Equação 2.69.

$$\bar{\nu}_i = \sqrt{\frac{\lambda_i}{4\pi^2 c^2}} \quad (2.69)$$

Nesta, c corresponde à velocidade da luz no vácuo; e $\bar{\nu}_i$ diz respeito ao número de onda associado ao modo vibracional. Estes valores calculados podem ser complexos, desde que λ_i seja negativo.

Além destes valores, o pacote computacional também fornece os dados relativos à massa reduzida, constantes de força e deslocamentos cartesianos para cada modo vibracional

de acordo com as Equações 2.70, 2.71 e 2.72. Os mesmos integram as ferramentas capazes de elucidar as intensidades infravermelho e Raman, utilizadas neste trabalho.

$$\mu_i = \left(\sum_k^{3N} l_{CART,k,i}^2 \right)^{-1} \quad (2.70)$$

$$k_i = 4\pi^2 \bar{\nu}_i^2 \mu_i \quad (2.71)$$

$$l_{CART} = \sum_j^{3N} \left(\frac{D_{k,j} L_{j,i}}{\sqrt{m_j}} \right) \quad (2.72)$$

Nestas equações temos que l_{CART} corresponde ao vetor coluna que compreende os modos normais em coordenadas cartesianas; D e L são matrizes de transformação; e m_j diz respeito às massas atômicas dos átomos.

2.4. Espectros teóricos na região do infravermelho e Raman

A espectroscopia consiste em um método eficaz para o esclarecimento de estruturas moleculares desconhecidas. Neste sentido, os estudos envolvendo a interação da radiação eletromagnética na região do infravermelho com a matéria merecem destaque, haja vista a viabilidade e os bons resultados gerados pelo referido método. Nesta região espectral, as transições entre níveis vibracionais do sistema molecular merecem destaque e são alvo das técnicas de espectroscopia infravermelho e Raman. Embora se dediquem às vibrações moleculares, ambas as técnicas apresentam diferenças significantes e, por isso, podem ser entendidas como técnicas complementares para a resolução estrutural de um dado sistema. Enquanto a espectroscopia no infravermelho se baseia na absorção de uma radiação de frequência ν por parte do sistema molecular, a espectroscopia Raman leva em consideração a frequência ν' do fóton espalhado pelo material de estudo, após a incidência de um fóton de frequência ν . Computacionalmente, a rotina para o cálculo das frequências vibracionais encontra-se bem implementada, conforme apresentado na seção anterior.

Os $3N - 6$ modos de vibração são disponibilizados teoricamente junto de suas intensidades que possuem íntimo vínculo com os elementos da matriz representada pela Equação 2.72. Através desta, a obtenção das intensidades infravermelho e Raman se dá, computacionalmente, segundo as Equações 2.73 e 2.74, respectivamente (POREZAG & PEDERSON, 1996).

$$I_i^{IR} = \frac{\mathcal{N}\pi}{3c} \left| \frac{d\mu_i}{dl_{CART}} \right|^2 \quad (2.73)$$

$$I^{RAMAN} = 45 \left(\frac{d\alpha}{dl_{CART}} \right)^2 + 7 \left(\frac{d\beta}{dl_{CART}} \right)^2 \quad (2.74)$$

Nestas, \mathcal{N} é um parâmetro de densidade; c é a velocidade da luz no vácuo; μ_i é o momento de dipólo elétrico do sistema para o modo normal i e; α e β são os termos de polarizabilidade advindos da expansão do momento de dipolo elétrico em uma série de Taylor.

Diferentemente dos espectros experimentais, não existe um perfil de curva associado ao espectro teórico de uma espécie química. Entretanto, um ajuste matemático permite transformar um conjunto de linhas (valores teóricos) em uma curva ajustada que permita uma comparação com os espectros experimentais. O programa SIMULAT2 (DOS SANTOS *et al.*, 1999) se utiliza de uma função do tipo Lorentziana (Equação 2.75) para ajustar as intensidades e suas respectivas frequências na forma de uma curva que descreva o espectro da estrutura de interesse.

$$A(\nu) = \left[\ln \left(\frac{I_0}{I} \right) \right] = nl \sum_{i=1}^{3n-6} \left[A_i \frac{2\omega_i}{\pi} \frac{1}{4(\nu - \nu_i)^2 + \omega_i^2} \right] \quad (2.75)$$

Nesta equação, a absorvância ajustada, $A(\nu)$, para a frequência ajustada (ν) se relaciona com as intensidades de luz incidente e transmitida, respectivamente. De maneira análoga, a concentração da amostra, n (mol/cm³); o caminho óptico, l (cm); a intensidade do modo de vibração, A_i (cm.mol⁻¹) e sua respectiva frequência, ν_i (cm⁻¹); e a largura do ajuste da banda à meia altura, ω_i , contribuem para a determinação do ajuste do perfil espectral. Os

únicos parâmetros a serem inseridos para a elaboração do ajuste são n , l , ω_i e a região espectral a ser contemplada.

Neste trabalho os espectros infravermelho e Raman obtidos teoricamente receberam o tratamento de ajuste descrito acima.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Otimização de um protocolo de dinâmica molecular clássica para sistemas de inclusão envolvendo triglicerídeos e alfa-ciclodextrina

3.1.1. Modelo Proposto

Um dos objetivos propostos neste trabalho se volta para o estudo da possível ação catalítica de ciclodextrinas (CD) no processo de transesterificação de triglicerídeos (TG) produzindo ésteres de ácidos graxos (EAG), componentes principais do biodiesel comercial. Tal proposta se fundamenta no largo histórico de aplicações de CD como miméticos de enzimas (BRESLOW, 1970, 1996, 1998; VILLALONGA *et al.*, 2007) e na semelhança estrutural entre o sítio ativo da enzima lipase (AL-ZUHAIR *et al.*, 2007) e a face secundária das CD.

No entanto, a ausência de estudos envolvendo sistemas constituídos por TG e CD faz com que uma análise mais apurada da interação entre tais moléculas se apresente como uma etapa inicial imprescindível para a continuidade das investigações teóricas. Neste sentido, uma evidência química empírica foi utilizada para a constituição de um modelo inicial: o caráter hidrofóbico dos TG. Esta evidência vai ao encontro da propriedade das CD de receber moléculas com tal caráter em sua cavidade formando complexos de inclusão. Os TG apresentam uma estrutura baseada no glicerol, na qual os átomos de hidrogênio das hidroxilas alcoólicas encontram-se substituídos por radicais R carboxilatos derivados de ácidos graxos, responsáveis pelo caráter hidrofóbico verificado (GERIS *et al.*, 2007; SCHUCHARDT *et al.*, 1998) (Figura 13).

Na busca por uma metodologia adequada para o estudo de um sistema com grande quantidade de átomos, a dinâmica molecular clássica (DM) mostrou-se uma ferramenta adequada para tal intento, conforme os argumentos já enunciados na seção 2.2 deste trabalho e referências da literatura para trabalhos com CD (LIPKOWITZ, 1998). Entretanto, por não haver parâmetros de estudo para tal sistema na literatura, um planejamento de experimentos se faz necessário para a busca de um protocolo de DM adequado para a simulação computacional. O estabelecimento deste estudo para diversos TG se tornaria inviável, uma

vez que o número de ensaios requeridos para uma análise quimiométrica é muito extenso. Sendo assim, um modelo de TG com cadeias substituintes derivadas do ácido láurico (12:0 – 12 carbonos e nenhuma insaturação) – TLG (trilaurilglicerídeo) – foi considerado, uma vez que dentre aqueles TG que se encontram na natureza, o mesmo apresenta uma das menores cadeias substituintes. Além disso, foram consideradas também três possíveis estequiometrias para o complexo de inclusão formado entre o TLG e o α -CD (CD considerada neste trabalho): TLG@1. α -CD, TLG@2. α -CD e TLG@3. α -CD (Figura 14).

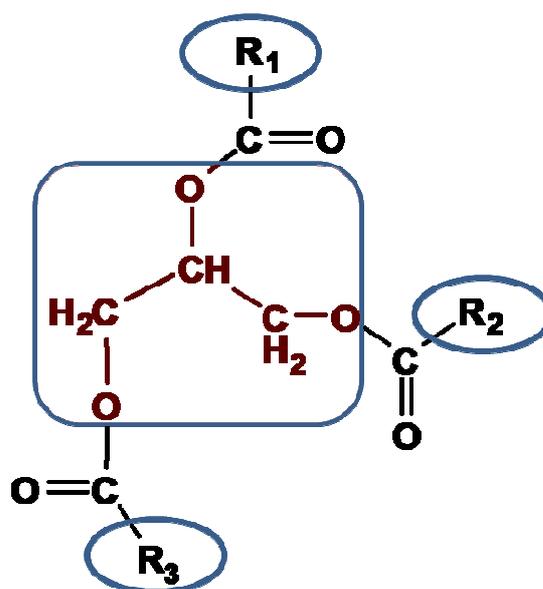


Figura 5. Estrutura genérica de um triglicerídeo enfatizando suas cadeias R derivadas de ácidos graxos e seu esqueleto base derivado do glicerol.

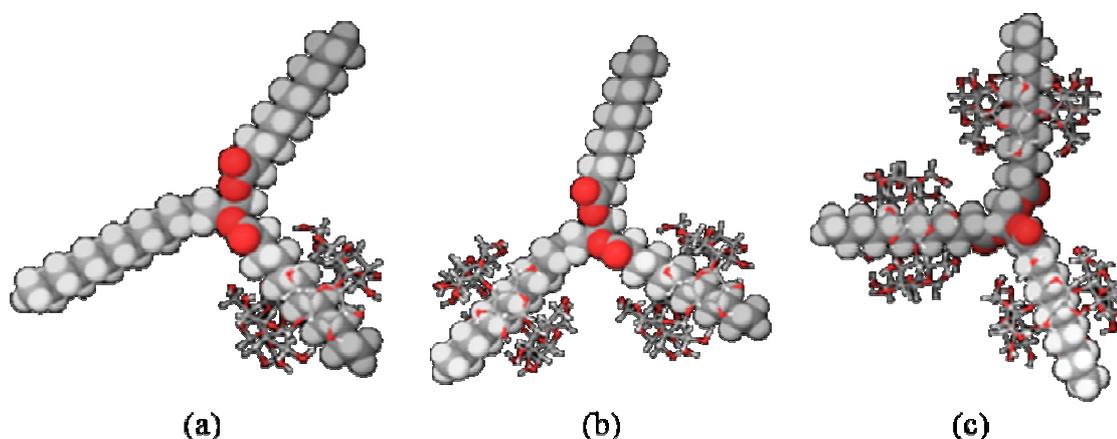


Figura 14. Estruturas dos complexos de inclusão estudados via DM, sendo TLG@1. α -CD (a), TLG@2. α -CD (b) e TLG@3. α -CD (c).

A simulação de DM utilizada para o estudo deste sistema apresenta alguns detalhes que merecem destaque. Um dos principais se relaciona ao protocolo de aquecimento utilizado, o qual pode influenciar de forma negativa na concepção das estruturas de equilíbrio e, conseqüentemente, na estabilidade das espécies inclusas.

Neste sentido, o estudo dos parâmetros da simulação computacional na fase de aquecimento se torna necessário visando a obtenção de um protocolo de DM que forneça estruturas de partida adequadas para a análise físico-química da estabilidade dos complexos de inclusão considerados. Basicamente, quatro variáveis devem ser analisadas no protocolo de aquecimento utilizado: a rampa de aquecimento (W) – relativa aos intervalos de aquecimento a que são submetidos os sistemas na DM; influi diretamente na estabilidade dos complexos de inclusão, uma vez que mudanças muito abruptas na temperatura podem levar ao colapso do sistema –, o tempo de equilíbrio (E) – relativo ao tempo em que as estruturas são deixadas sob ação de uma dada temperatura durante o processo de aquecimento na DM; podem contribuir para a estabilização do sistema de inclusão –, o passo da dinâmica (S) – parâmetro matemático relativo à integração numérica entre dois instantes consecutivos no processo de DM – e a constante dielétrica do meio (C) – a qual define o meio solvente dentro do formalismo dos modelos contínuos. Para avaliar o efeito que cada variável atribui ao sistema de maneira sistemática e multivariada, o uso de uma ferramenta quimiométrica, mostra-se atrativo. Sendo assim, o emprego de planejamento de experimentos torna-se extremamente interessante para o estudo criterioso com o intuito de estabelecer um protocolo de DM que possibilite considerar, com propriedade, sistemas de inclusão envolvendo TG e CD. Tal intento apresenta ainda maior apelo, uma vez que estudos detalhados de DM envolvendo a análise dos referidos parâmetros envolvidos no processo de aquecimento apresentam grandes lacunas a serem preenchidas na literatura.

Dentro deste contexto foram implementados 25 diferentes protocolos de DM criteriosamente planejados através de um planejamento Box-Behnken 3^4 (FERREIRA, S. *et al.*, 2007a, 2007b). Segundo esta metodologia, as quatro variáveis anteriormente citadas (W, E, S e C) foram consideradas em três diferentes níveis (valores) assinalados como alto (+1), médio (0) e baixo (-1) (Tabela 8). A escolha dos valores dos níveis para as variáveis se deu com base no trabalho de Bonnet e colaboradores (BONNET *et al.*, 2001) para DM clássicas de dímeros de α , β e γ -CD. Neste, a rampa de aquecimento (W), o tempo de equilíbrio (E), a constante dielétrica (C) e o passo da DM (S) utilizados respeitam a gradação aqui representada pelo nível baixo destas variáveis (-1). Na notação utilizada, o protocolo de Bonnet e colaboradores é representado de acordo com os níveis (-1/-1/-1/-1).

Tabela 8. Valores trabalhados para as variáveis envolvidas nas DM nos três níveis (-1, 0 e 1) e os respectivos protocolos de DM analisados nos ensaios teóricos envolvendo estes níveis para as variáveis consideradas neste estudo (W, E, S, C).

Variable	Low Level (-1)				Medium Level (0)				High Level (+1)			
W/(K)^a	5/50/100/150/200/250				5/20/35/50/100/150/200/250				5/25/50/75/100/125/150/175/200/225/250/275			
E/(ps)	100				200				400			
S/(fs)	1,0				1,5				2,0			
C	1				36				80			
Essay	W	E	S	C	Essay	W	E	S	C			
1	-1	-1	0	0	15	0	1	-1	0			
2	1	-1	0	0	16	0	-1	1	0			
3	-1	1	0	0	17	0	1	1	0			
4	1	1	0	0	18	0	0	0	0			
5	0	0	-1	-1	19	-1	0	-1	0			
6	0	0	1	-1	20	1	0	-1	0			
7	0	0	-1	1	21	-1	0	1	0			
8	0	0	1	1	22	1	0	1	0			
9	0	0	0	0	23	0	-1	0	-1			
10	-1	0	0	-1	24	0	1	0	-1			
11	1	0	0	-1	25	0	-1	0	1			
12	-1	0	0	1	26	0	1	0	1			
13	1	0	0	1	27	0	0	0	0			
14	0	-1	-1	0								

^aOs valores assinalados representam as temperaturas (em K) atingidas durante o processo de aquecimento.

*Protocolo de referência (BONNET *et al.*, 2001): W = -1, E = -1, S = -1, C = -1.

Os três complexos de inclusão estudados foram submetidos a DM clássicas de 1.000 ps a 298,15 K (correspondente à fase de análise das médias). O tempo da fase de aquecimento foi variável de acordo com o protocolo de DM utilizado. As DM foram efetuadas no *software* MacroModel (MOHAMADI *et al.*, 1990) utilizando o campo de força AMBER* (CORNELL *et al.*, 1995; WEINER *et al.*, 1984). Cada complexo de inclusão foi testado com os 27 protocolos de DM (Tabela 8), os quais se pautam pela diferenciação dos valores das quatro variáveis básicas já citadas anteriormente.

A intenção desta análise do protocolo de aquecimento reside na busca por um conjunto de parâmetros que proporcione a estabilidade dos complexos de inclusão por um maior tempo. Neste contexto, a definição do instante de desinclusão e de um parâmetro que estabeleça uma relação entre os protocolos com diferentes durações se configura em um passo importante para o prosseguimento da análise dos sistemas apresentados. Para tanto, uma variável foi implantada visando relacionar o instante de desinclusão e o tempo total de DM (ambos em ps) em termos percentuais, conforme a Equação 3.1:

$$FT\% = \frac{t_{desinc}}{t_{total}} \times 100\% \quad (3.1)$$

O fator temporal (FT%), no entanto, depende de uma definição complexa que se relaciona com o instante de desinclusão. A Figura 15 apresenta duas grandezas de importância para a definição de t_{desinc} : a energia potencial do sistema e a distância entre uma hidroxila secundária da α -CD e a carbonila da cadeia triglicéridica incluída. A primeira sofre uma gradativa diminuição de seu valor com a desinclusão do sistema em virtude do afastamento das estruturas rumo ao infinito. A última, em contrapartida, sofre um aumento substancial do valor, reportando o afastamento das estruturas consideradas.

A importância da definição de uma resposta (valor numérico aferido) na forma de uma grandeza genérica e de fácil entendimento, como o FT%, é fundamental para aplicação dos métodos quimiométricos. A partir da determinação dos valores de FT% para os três sistemas trabalhados de acordo com os 25 diferentes protocolos apontados conforme o planejamento Box-Behnken, torna-se possível a aferição dos efeitos relativos a cada variável investigadas, bem como do efeito de interação entre as mesmas, no valor de FT% determinado para cada protocolo estudado. Esta fase, na realidade, apresenta-se como uma das principais de um planejamento de experimentos, uma vez que permite uma análise primária das variáveis estudadas, possibilitando o melhoramento do modelo final, em função dos efeitos aferidos. O

cálculo destes efeitos para o planejamento Box-Benhken se dá por meio dos estimadores calculados de acordo com o modelo de ajuste (Equação 3.2). Os valores dos efeitos correspondem ao dobro do valor encontrado para o respectivo estimador em 3.2.

Nesta equação, o fator k equivale a p^{n-1} – onde p equivale ao número de níveis considerados e n se relaciona ao número de variáveis analisadas –, exceto para o cálculo da média geral, onde o fator k é igual a p^n (FERREIRA, S. *et al.*, 2007a).

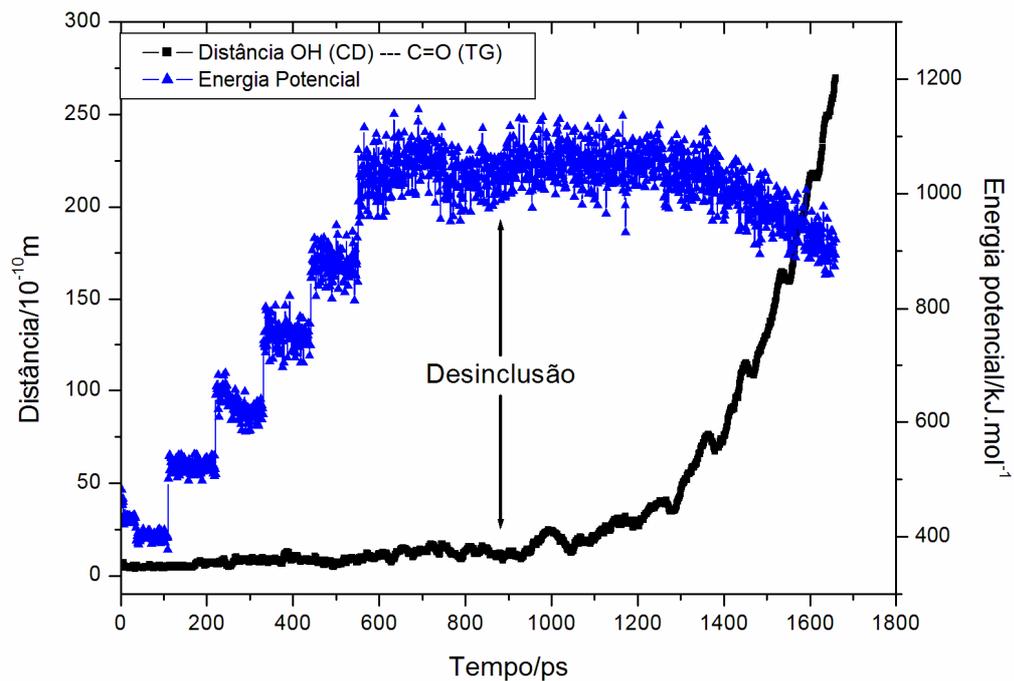


Figura 15. Curvas referentes à energia potencial e distância entre grupos da α -CD e do TLG para o ensaio 5, evidenciando o instante de desinclusão.

A análise das respostas em termos de FT% juntamente com os protocolos utilizados, permite ainda a construção de um modelo matemático descritivo que defina a dependência dos valores de FT% com relação às variáveis analisadas. Em termos gerais, torna-se possível o ajuste de um modelo quadrático incompleto contendo nove coeficientes lineares (β_n) nos parâmetros, conforme descrito pela Equação 3.2. Cada β_n corresponde ao coeficiente relativo ao parâmetro X_n , onde n equivale à variável analisada ou à combinação das mesmas.

$$\hat{y} = \hat{\beta}_0 + \sum_{i=1}^k \hat{\beta}_i x_i + \sum_{i=1}^k \hat{\beta}_{ii} x_i^2 + \sum_i \sum_j \hat{\beta}_{ij} x_i x_j + r_i \quad (3.2)$$

Observamos que os estimadores apresentados na Equação 3.2 trazem informações tanto dos efeitos das variáveis sozinhas, quanto das interações existentes entre as mesmas. A determinação dos termos da equação utilizada para o ajuste da superfície de resposta se dá por meio do método dos mínimos quadrados empregado em sua forma matricial. Na Equação 3.3 o valor b calculado corresponde a um vetor que apresenta todos os valores de β_n para a Equação 3.2;

$$b = (X^T \cdot X)^{-1} \cdot (X^T \cdot Y) \quad (3.3)$$

Os estimadores calculados da Equação 3.2, todavia, merecem um tratamento criterioso. Eles devem ser primeiramente tratados via Análise de Variância visando a verificação da validade do ajuste quadrático efetuado (PIMENTEL & DE BARROS NETO, 1996). Estes parâmetros de validação estatística servem de base para o cálculo de três valores que devem ser considerados para a validação do modelo ajustado: o valor do teste-F calculado para a falta de ajuste (F_{faj}), o valor do teste-F calculado para a regressão (F_{reg}) e o valor da variação percentual explicada pelo modelo (R^2). Quanto mais próximo de 1 for o valor de R^2 calculado, mais bem descrita se dá a variação em Y (FT%) e, portanto, melhor o modelo ajustado. Os outros parâmetros (F_{faj} e F_{reg}) relacionam-se com o teste F, o qual se encontra associado a determinados graus de liberdade para as diferentes fontes consideradas na análise de variância. Neste ponto, torna-se necessária a comparação dos valores calculados de F frente aos valores associados à distribuição F (DE BARROS NETO *et al.*, 2007). O parâmetro F_{faj} calculado deve ser menor que o valor de F tabelado para que o modelo ajustado não possua evidências estatísticas de falta de ajuste. Em contrapartida, quanto maior o valor de F_{reg} frente ao valor F tabelado, mais significativa é a regressão. O teste de Shapiro-Wilk (SW) também funciona como um bom parâmetro para a validação do modelo. O mesmo visa verificar a normalidade dos resíduos (diferença entre $FT\%_{calc}$ e $FT\%_{obs}$) apontando a evidência de validade do modelo nos casos onde o valor de $SW_{calc} > SW_{tab}$.

3.1.2. Análise estatística

Os resultados de FT% obtidos para os três sistemas estudados apresentam-se na Tabela 10. Para aqueles sistemas envolvendo mais de uma α -CD, observamos que existem valores de FT% associados a cada um dos processos de desinclusão possíveis. Tais valores foram estabelecidos com base na análise das estruturas geradas pela DM observando o instante do colapso dos sistemas de inclusão, conforme apresentado na Figura 15.

Tabela 10. Valores de FT% calculados via DM para os sistemas de inclusão TLG@1. α -CD, TLG@2. α -CD, TLG@3. α -CD.

Ensaio (ps)*	TLG@1. α -CD	TLG@2. α -CD		TLG@3. α -CD		
	FT%	1° FT%	2° FT%	1° FT%	2° FT%	3° FT%
1 (1.660)	51,81	27,35	54,28	34,04	39,70	51,26
2 (2.320)	50,95	52,89	72,54	45,99	52,93	100,0
3 (3.550)	60,42	60,28	100,0	60,00	69,46	77,55
4 (6.100)	76,76	67,57	79,80	70,80	75,46	82,16
5 (3.000)	100,0	73,07	93,33	59,00	100,0	100,0
6 (3.000)	100,0	70,33	87,47	59,67	82,93	100,0
7 (3.000)	69,13	59,00	65,67	65,20	65,40	66,53
8 (3.000)	58,67	59,00	60,33	58,83	60,80	75,00
9 (3.000)	63,07	82,70	90,20	60,13	62,53	68,23
10 (2.500)	100,0	57,52	81,48	55,84	72,28	100,0
11 (4.000)	100,0	63,25	86,95	71,35	77,37	79,03
12 (2.500)	55,36	51,20	62,88	51,60	56,64	64,00
13 (4.000)	57,80	66,60	75,87	69,25	72,40	75,60
14 (1.880)	94,84	52,61	57,50	46,28	47,71	51,59
15 (4.400)	79,82	58,29	68,45	54,59	58,98	58,98
16 (1.880)	88,35	56,70	70,69	47,98	66,33	67,87
17 (4.400)	68,45	67,25	75,54	60,98	70,54	80,57
18 (3.000)	63,07	82,70	90,20	60,13	62,53	68,23
19 (2.500)	63,76	51,00	54,80	62,68	63,16	66,68
20 (4.000)	100,0	66,25	70,50	65,60	69,00	78,05
21 (2.500)	100,0	46,64	86,36	50,20	62,96	100,0
22 (4.000)	75,60	63,13	70,25	66,80	71,30	81,60
23 (1.880)	100,0	78,35	84,31	41,38	47,71	100,0
24 (4.400)	100,0	87,36	100,0	69,73	80,25	100,0
25 (1.880)	37,82	52,98	55,16	37,02	45,26	64,31
26 (4.400)	94,16	66,07	75,45	68,91	69,82	83,75
27 (3.000)	63,07	82,70	90,20	60,13	62,53	68,23

*Os tempos relativos às fases de aquecimento correspondem aos valores totais apresentados na tabela decrescidos de 1.000 ps, relativo à fase de análise das médias comum à todas DM efetuadas.

O primeiro passo da análise dos dados se deu pelo cálculo dos efeitos inerentes às quatro variáveis investigadas e às interações entre elas. Esse cálculo se processou levando em consideração todas as possíveis interações entre as variáveis analisadas. Os resultados reportados na Tabela 11 indicam os referidos resultados para os ensaios efetuados.

Tabela 11. Efeitos calculados para as variáveis e interações das mesmas nos sistema de inclusão trabalhados baseado nos valores de TF% obtidos pela DM.

Parâmetro	TLG@1.α-CD	TLG@2.α-CD		TLG@3.α-CD		
	FT%	1º FT%	2º FT%	1º FT%	2º FT%	3º FT%
Média	63.1	82.7	90.2	60.1	62.5	68.2
W	4.96	14.3	2.68	12.6	9.04	6.16
E	9.31	14.3	17.5	22.1	20.8	8.00
S	-2.75	0.47	6.73	-1.48	1.77	13.9
C	-37.8	-12.5	-23.0	-1.03	-15.0	-25.0
W ²	3.07	-35.5	-15.4	1.43	1.60	12.0
E ²	5.80	-22.0	-15.9	-15.2	-13.0	2.57
S ²	29.6	-23.1	-24.1	-0.15	10.7	4.78
C ²	23.2	-7.74	-7.11	2.34	13.7	25.1
WE	8.60	-9.12	-19.2	-0.58	-3.62	-22.1
WS	-30.3	0.62	-15.9	6.84	1.25	-14.9
WC	1.22	4.84	3.76	1.07	5.34	16.3
ES	-2.44	2.44	-3.05	2.34	-3.53	2.66
EC	28.2	2.04	2.30	1.77	-3.99	9.72
SC	-5.23	1.37	0.26	-3.52	6.24	4.24

Os efeitos das variáveis sobre os sistemas estudados correspondem à capacidade de mudança que o aumento ou diminuição dos níveis das mesmas pode exercer sobre o valor de FT% obtido. Sendo assim, efeitos positivos indicam que o aumento do nível da variável (ou combinação das mesmas) leva a um aumento da estabilidade dos sistemas de inclusão – maiores valores de FT%. Em contrapartida, valores de efeito negativos apontam para a diminuição da estabilidade do sistema – diminuição do valor de FT% – com o aumento do nível da referida variável.

Uma análise geral acerca dos efeitos individuais de cada variável para os sistemas trabalhados aponta efeitos positivos para as variáveis W (rampa de aquecimento) e E (tempo de equilíbrio), sendo o valor desta última, um pouco mais significativo. Os efeitos relativos a

estas variáveis apontam que o aumento do nível das mesmas promove uma maior estabilidade dos complexos de inclusão trabalhados. Em termos físicos isto indica que rampas de aquecimento com níveis de temperatura mais intercalados (nível alto de W) e maiores intervalos de equilíbrio (nível alto de E) entre processos de elevação de temperatura consecutivos, promovem uma maior estabilidade do sistema de inclusão. Em contrapartida, a variável C (constante dielétrica do meio) contribui negativamente para a estabilidade dos sistemas, o que se reflete na diminuição do valor de FT%. A variável S (passo da dinâmica) possui um comportamento singular, apresentando um efeito favorável à estabilidade dos sistemas (efeito positivo) para a maioria dos casos, exceto nas situações referentes à primeira desinclusão (1° FT%), para a qual verificamos valores negativos ou ligeiramente positivos. Nota-se, também, que a contribuição positiva para a manutenção do sistema de inclusão aumenta à medida que se aumentam as ordens da desinclusão (efeito 1° FT% < efeito 2° FT < efeito 3° FT). Tais efeitos relativos às variáveis isoladas refletem, tão somente, o comportamento geral das mesmas diante da resposta observada (FT%), em função da flutuação dos níveis inicialmente estipulados para cada variável. Vale salientar que os valores e as conclusões extraídas dos efeitos calculados possuem validade somente para o intervalo de níveis analisado; em situações diferentes tais efeitos podem se intensificar, se atenuar, ou até mesmo se inverter com relação ao sentido da contribuição (positivo ou negativo).

As interações possíveis entre as variáveis trazem outro tipo de informação relevante para a análise dos protocolos de aquecimento; as possíveis relações de sinergismo ou antagonismo existente entre as variáveis analisadas. Os resultados apontam, em geral, interações pouco significativas entre as variáveis, com exceção das interações WE, WS, WC e EC. A primeira apresenta um comportamento interessante por apontar um efeito sinérgico (positivo) na interação das variáveis para o sistema contendo uma CD e valores negativos (antagônicos) para os demais processos de desinclusão, sendo que o módulo dos mesmos sofre um aumento de acordo com a ordem da desinclusão. Tal fato é interessante, uma vez que vai de encontro às tendências inicialmente expostas para os efeitos individuais das variáveis. Embora pareça contraditória, a interação entre as variáveis traz informações distintas daquelas passadas pelo efeito individual das mesmas e apontam qual o peso inerente à interação para a avaliação do valor de FT% calculado. A interação WS apresenta valores antagônicos ou muito pouco sinérgicos para os processos de desinclusão analisados, apontando que a combinação de tais variáveis não possui vinculação significativa no que tange à alteração no nível das mesmas para a estabilização do complexo de inclusão. A interação WC apresenta um efeito positivo, principalmente para o processo de desinclusão da

terceira CD no sistema TLG@3.α-CD. Para os outros sistemas o efeito positivo é pequeno (<6.0) e não apresenta um importante papel para a estabilidade do modelo. Já a interação EC possui um efeito sinérgico significativo apenas para o sistema TLG@1.α-CD, sendo para os demais sistemas, um efeito a ser desconsiderado. Os efeitos envolvendo parâmetros quadráticos (W^2 , E^2 , S^2 e C^2) se relacionam ao peso das variáveis na determinação dos valores máximos de FT%. Neste sentido, somente uma análise estatística relativa ao modelo matemático de ajuste é válida, já que não há um sentido físico diretamente associado aos efeitos mencionados.

Os efeitos calculados nos fornecem informações iniciais sobre o comportamento do sistema em função dos níveis das variáveis analisados. Todavia, a análise de cada sistema levando em consideração os resultados de FT% encontrados, configura-se como uma etapa necessária para a tentativa de determinação de um modelo matemático ou de alguma evidência física que descreva os protocolos adequados para o estabelecimento de DM que levem a sistemas de inclusão estáveis. Tal estabilidade, pois, apresenta-se atrelada a parâmetros físicos, bem como a parâmetros do protocolo, conforme evidenciado na discussão anterior.

Os três sistemas estudados foram então ajustados de acordo com o modelo apresentado na Equação 3.3. As equações ajustadas, bem como os parâmetros de validação dos modelos apresentam-se na Tabela 12. Nota-se que os valores de F_{reg} , R^2 e SW para os modelos TLG@1.α-CD e para a terceira desinclusão no modelo TLG@3.α-CD, apresentam resultados pouco significativos, o que não permite o uso de tal modelo preditivo para a inferência acerca do comportamento de tais sistemas. Na seção seguinte deste capítulo (3.1.3. Análise Estrutural) o modelo contendo um TG e uma α-CD será esclarecido à luz de outros parâmetros, contando com uma indicação inicial ditada pela análise dos dados efetuada.

Tabela 12. Modelos ajustados para os processos de desinclusão dos sistemas TLG@1.α-CD, TLG@2.α-CD e TLG@3.α-CD apontando os valores do teste F calculado para a regressão (F_{reg}) e do coeficiente de correlação (R^2). Em vermelho encontram-se aqueles parâmetros calculados que não apresentam significância, uma vez que possuem valor menor que o do erro associado.

TLG@1.α-CD				
	Modelo ajustado	F_{reg}	R^2	SW ^a
1 ^a desinclusão	$Y = (63,1) + (2,48).W + (4,65).E - (1,37).S - (18,9).C + (1,54).W^2 + (2,90).E^2 + (14,8).S^2 + (11,6).C^2$	3,66	0,62	0,929 (0,085)
TLG@2.α-CD				
	Modelo ajustado	F_{reg}	R^2	SW
1 ^a desinclusão	$Y = (82,7) + (7,14).W + (7,16).E + (0,24).S - (6,25).C - (17,8).W^2 - (11,0).E^2 - (11,6).S^2 - (3,87).C^2$	11,92	0,84	0,947 (0,299)
2 ^a desinclusão	$Y = (90,2) + (1,34).W + (8,73).E + (3,37).S - (11,5).C - (7,70).W^2 - (7,95).E^2 - (12,1).S^2 - (3,55).C^2$	6,21	0,73	0,952 (0,358)
TLG@3.α-CD				
	Modelo ajustado	F_{reg}	R^2	SW
1 ^a desinclusão	$Y = (60,1) + (6,29).W + (11,0).E - (0,74).S - (0,51).C + (0,72).W^2 - (7,59).E^2 - (0,08).S^2 + (1,17).C^2$	14,20	0,86	0,972 (0,683)
2 ^a desinclusão	$Y = (62,5) + (4,52).W + (10,4).E + (0,88).S - (7,52).C + (0,80).W^2 - (6,51).E^2 + (5,36).S^2 + (6,83).C^2$	6,53	0,74	0,900 (0,190)
3 ^a desinclusão	$Y = (68,2) + (3,08).W + (4,00).E + (6,93).S - (12,5).C + (6,02).W^2 + (1,28).E^2 + (2,39).S^2 + (12,6).C^2$	3,23	0,59	0,963 (0,492)

^aSW: Teste de Shapiro-Wilk (p-valor)

Os modelos preditivos que contam com os melhores parâmetros legitimadores da regressão (desinclusões para os sistemas TLG@2.α-CD e TLG@3.α-CD) apontam um resultado já notado anteriormente. Os efeitos das variáveis E e C – apontados como satisfatórios – apresentam contribuições consideráveis nos modelos preditivos em questão.

Os sistemas constituídos por 1 TG e 2 α-CD foram analisados acerca das 2 possíveis desinclusões que poderiam ser sofridas durante a DM. Todos os ensaios efetuados levaram à desinclusão da primeira α-CD – possivelmente pela instabilidade gerada pela proximidade das CD quando inclusas nas cadeias do TG – e a resposta FT% para tais encontra-se disponível na Tabela 10. A partir dos valores de FT% observados (FT%_{obs}) foram ajustados modelos para a primeira e segunda desinclusões que determinam os valores de FT% calculado (FT%_{calc}) através dos níveis inicialmente estipulados para cada variável em cada ensaio, conforme a Tabela 8. Os valores de F_{reg} , R^2 e SW apresentam-se conforme o esperado para um modelo com validade estatística, o que corrobora para a definição dos melhores protocolos para este sistema. Para F_{reg} um valor calculado consideravelmente maior que o tabelado ($F_{tab(8,18),5\%} = 2,51$) atende as expectativas para um modelo de previsão. Já para R^2 , o valor próximo de 1 aponta uma boa correlação para o modelo. Nota-se que o F_{reg} diminui à metade do modelo da primeira desinclusão para o modelo ajustado para a segunda desinclusão, o que evidencia a perda de algumas informações físicas e estatísticas, em virtude do aumento da complexidade do sistema, fato que se reflete no ajuste matemático. Associado a estes parâmetros, o teste de Shapiro-Wilk (SW) implementado para os processos de desinclusão mostrou o mesmo; a distribuição normal verificada para os resíduos (diferença entre FT%_{calc} e FT%_{obs}) é uma indicação da validade do modelo matemático (p-valor > 0,05).

Através dos modelos apontados para a primeira e segunda desinclusões, podem-se obter os valores esperados de FT% (FT%_{calc}) para todos os protocolos elaborados nos 25 diferentes ensaios (27 no total) efetuados. Os mesmos encontram-se relativamente próximos daqueles observados (FT%_{obs}). Isto se comprova através da análise dos gráficos de correlação entre o FT%_{calc} e o FT%_{obs} para os processos de 1ª e 2ª desinclusões (Figura 16a e 16b, respectivamente).

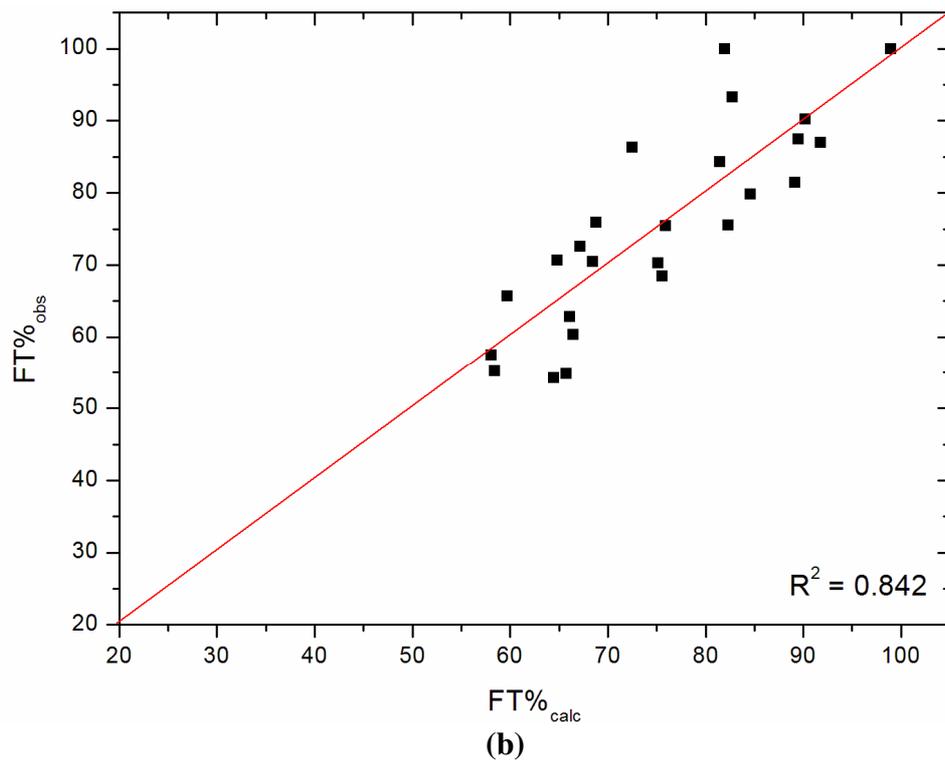
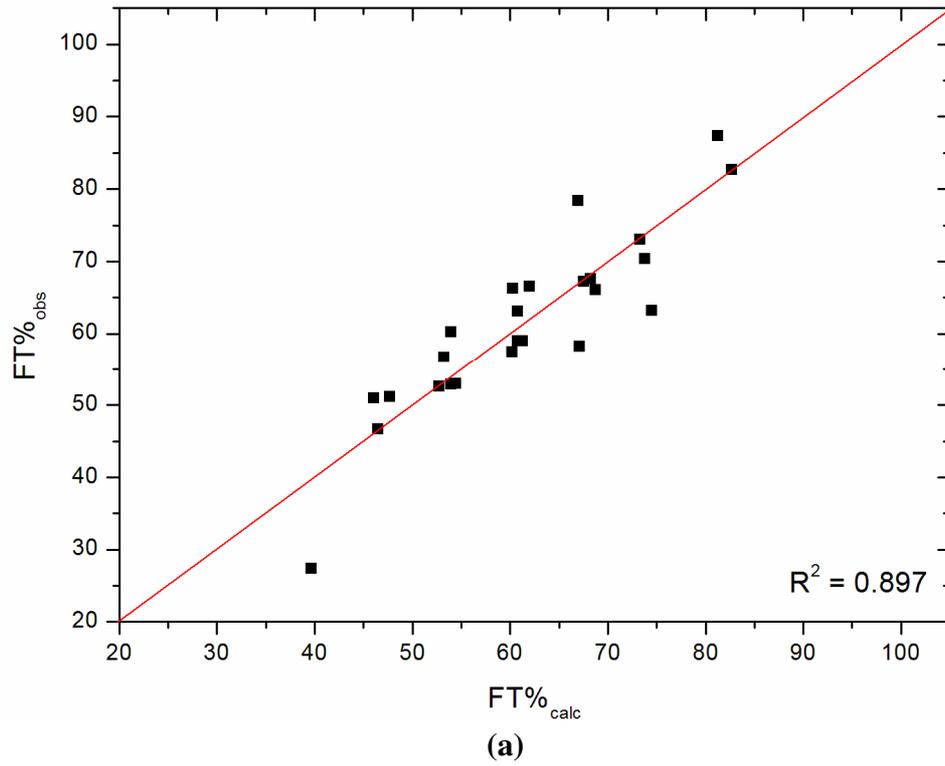


Figura 16. Correlação entre os valores observado e calculado de FT% para a 1^a (a) e 2^a desinclusão (b) no sistema TLG@2 α -CD. A linha vermelha nos gráficos corresponde a perfeita correlação entre FT%_{obs} e FT%_{calc}.

Analisando os valores de FT% fornecidos pelos modelos para a primeira e segunda desinclusões (Figura 17), percebemos que existem dois protocolos que se destacam (ensaios 9 e 24), fornecendo os maiores valores de FT% - complexos de inclusão estáveis por mais tempo. Os protocolos utilizados nestes ensaios também apresentam um alto valor de FT%_{obs}, sendo que o protocolo correspondente ao ensaio 24 obteve maiores valores observados para os dois processos de desinclusão frente ao protocolo aplicado no ensaio 9.

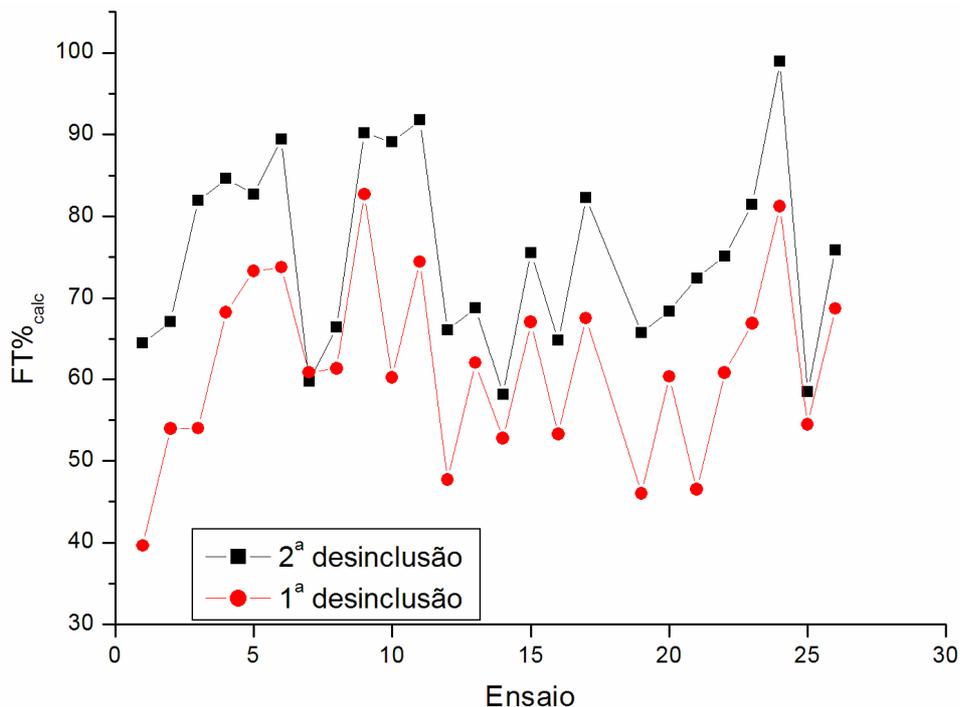
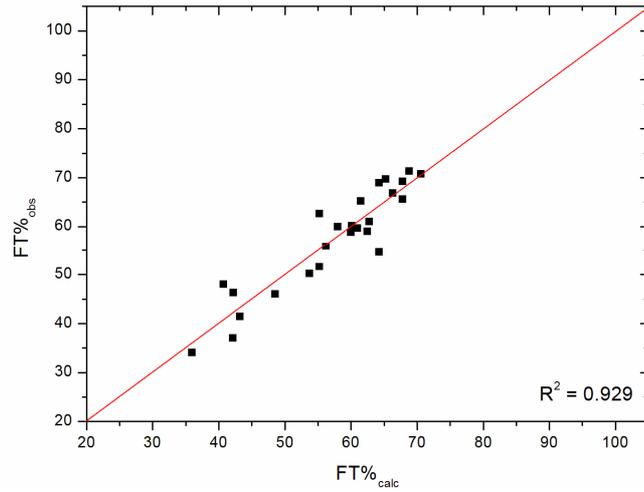
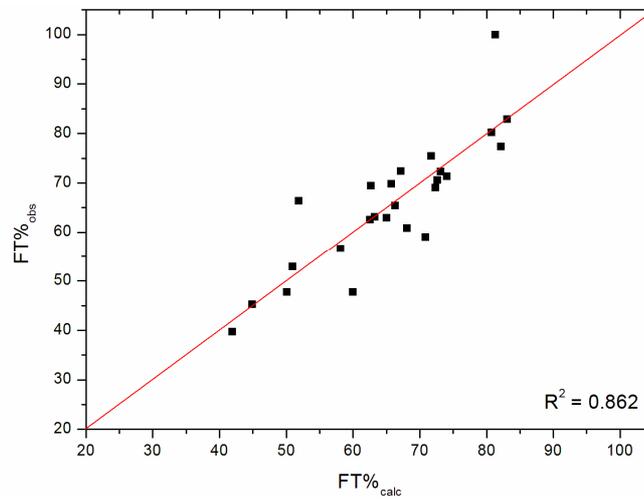


Figura 17. FT% calculado de acordo com o modelo obtido para o sistema TLG@2.α-CD.

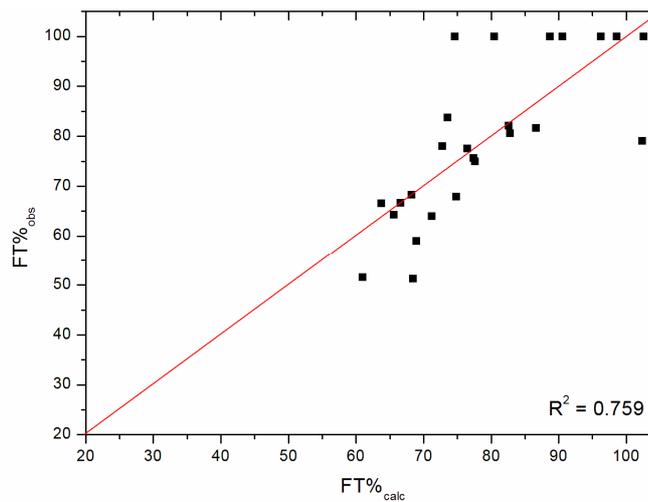
O sistema portador de três CD e um TLG foi submetido à mesma análise efetuada acerca do sistema com duas CD. O modelo quadrático sem os termos cruzados foi novamente implementado, uma vez que o mesmo gerou os melhores parâmetros de ajuste possíveis, conforme apresentado na Tabela 12. Novamente verificou-se um decréscimo na qualidade do ajuste de acordo com a ordem da desinclusão analisada, sendo a primeira desinclusão aquela que aponta os melhores fatores de ajuste. Tal conclusão se torna mais inteligível a partir das análises dos desvios verificados entre os valores observados e calculados para FT% em uma análise de correlação de tais fatores para os três processos de desinclusão possíveis (Figura 18a e 18b e 18c).



(a)



(b)



(c)

Figura 18. Correlação entre os valores observado e calculado de FT% para a 1^a (a), 2^a (b) e 3^a desinclusão (c) no sistema TLG@3.α-CD. A linha vermelha nos gráficos corresponde a perfeita correlação entre FT%_{obs} e FT%_{calc}.

Os modelos propostos para os colapsos dos complexos de inclusão apontaram os protocolos dos ensaios 6, 11 e 24 como os mais adequados para a estabilidade dos sistemas contendo 3 α -CD (Figura 19).

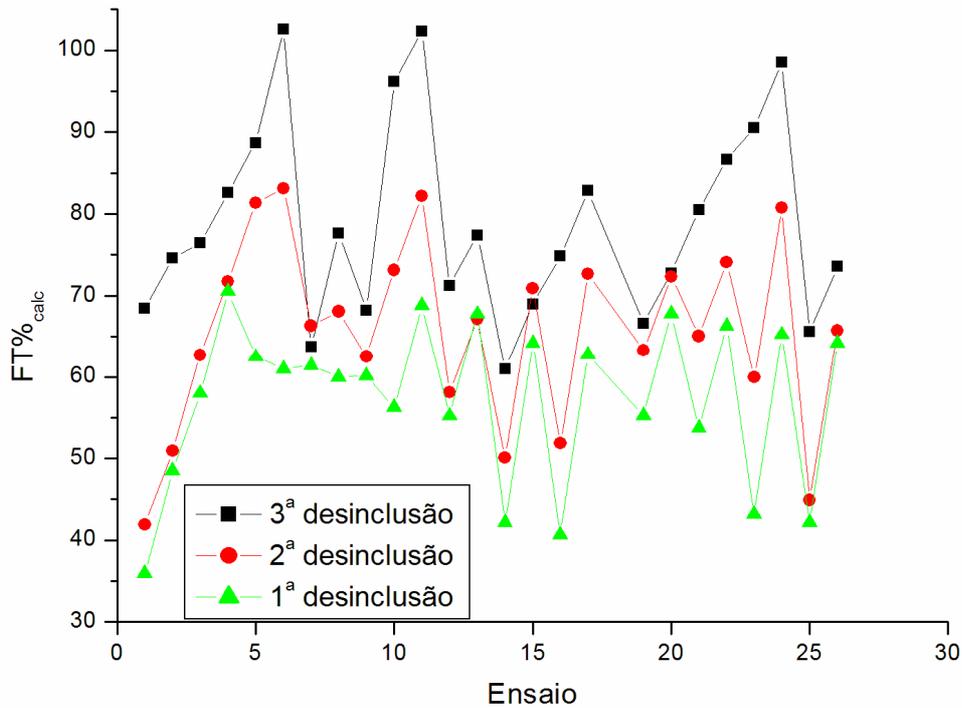


Figura 19. FT% calculado de acordo com o modelo obtido para o sistema TLG@3.α-CD.

A análise dos sistemas de inclusão com duas e três α -CD apontou quatro protocolos em destaque: 6, 9, 11 e 24. Para estes, os valores de FT%_{calc} e FT%_{obs} foram os maiores constatados. Considerando a análise inicial relativa aos efeitos das variáveis e combinação das mesmas, podemos sugerir que o protocolo 24 desponta como o mais adequado para o tratamento dos sistemas de inclusão. Este protocolo apresenta nível alto (+1) para a variável E e nível baixo (-1) para a variável C. Analisando os efeitos determinados para tais variáveis, verificou-se que o nível alto de E concorre para a estabilização do complexo de inclusão, uma vez que os efeitos calculados são positivos para todos os casos de desinclusão estudados (ver Tabela 11). Fisicamente o nível alto de E se relaciona a um maior tempo de estabilização do sistema simulado entre dois processos de aquecimento consecutivos, fato que é factível mediante os resultados descrito pela análise dos dados. O nível baixo da variável C atua no mesmo sentido, todavia o que se verifica são valores negativos dos efeitos da mesma (ver

Tabela 11). Além disso, o nível médio (0) para a variável W aponta a necessidade de um aquecimento brando no início da simulação, o que vai ao encontro do senso físico para que não haja o colapso do sistema mediante um aquecimento muito abrupto. Neste sentido, os protocolos utilizados nos ensaios 6, 9 e 11 se tornam menos atraentes para a aplicação em DM de sistemas de inclusão envolvendo TG e CD, uma vez que dados quimiométricos apontam a maior compatibilidade do protocolo exposto no ensaio 24 frente aos demais.

3.1.3. Análise estrutural

Embora o intento inicial tenha sido utilizar somente a análise quimiométrica como base para a determinação de um protocolo de DM adequado para o tratamento de sistemas envolvendo TG e α -CD, a análise de parâmetros estruturais se mostrou necessária para o esclarecimento de algumas situações não esclarecidas pela quimiometria. Um caso claro diz respeito ao estudo do sistema TLG@1. α -CD. O modelo ajustado para a determinação dos valores de FT% a partir dos ensaios efetuados não se mostrou adequado devido a problemas com parâmetros de ajuste anteriormente apresentados (Tabela 12). Dessa forma, o uso de parâmetros tais como a energia de complexação ($E_{complexação}$) e o raio de rotação (R_g) surgem como possibilidades a serem aplicadas àqueles protocolos que promoveram valores de FT% = 100%. A Tabela 10 aponta os protocolos 5, 6, 10, 11, 20, 21, 23 e 24 como aqueles capazes de manter o sistema formado por um TLG e uma α -CD inclusos até o fim da DM.

O cálculo das energias de complexação via DM se dá conforme a Equação 3.4. Esta grandeza, embora seja calculada com base em valores médios de energia, é capaz de fornecer informações concernentes à influência dos protocolos na estabilidade dos sistemas de inclusão. Na equação abaixo, $E_{complex}$ se refere à energia potencial do complexo de inclusão; E_{CD} corresponde à energia potencial da ciclodextrina e; E_{TG} diz respeito à energia potencial do triglicerídeo. Estes valores de energia foram obtidos ao fim da DM.

$$E_{complexation} = E_{complex} - E_{CD} - E_{TG} \quad (3.4)$$

Para os oito protocolos selecionados com relação ao sistema TLG@1. α -CD, nota-se uma flutuação interessante para os valores de energia de complexação (Figura 20). Os ensaios

20 e 21 apresentaram baixa estabilidade frente aos demais que se encontram numa faixa bem definida de valores de energia.

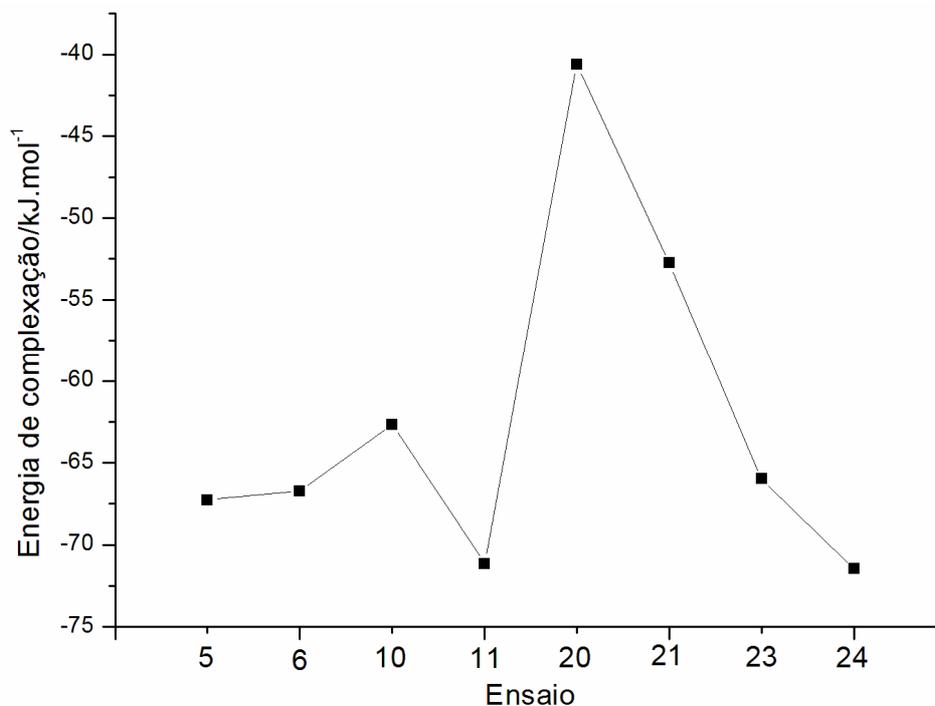


Figura 6. Energias de complexação obtidas para o sistema TLG@1.α-CD a partir de simulações de DM efetuadas para diferentes protocolos de aquecimento. Todos os ensaios resultaram em FT% = 100%.

Nesta faixa encontramos dois ensaios que apontaram uma maior estabilidade frente aos demais; 11 e 24. Entretanto, apontar tais sistemas como os mais estáveis não é adequado, uma vez que a flutuação nos valores das energias calculadas via DM é considerável, conforme já dito anteriormente. Dessa forma, somente a análise de outros fatores concorrerá para a determinação de uma resposta quanto ao protocolo mais adequado dentre os oito analisados. Neste sentido, outra ferramenta auxiliar eficaz para avaliação da estabilidade de tais complexos é a análise do raio de rotação (R_g) das estruturas trabalhadas (Equação 2.6). Por meio desta análise, a estabilidade estrutural fica evidente, uma vez que o parâmetro calculado relaciona a posição dos átomos constituintes do sistema em relação ao centro de massa do mesmo, sendo pois, adequado e sensível o bastante para a análise estrutural de complexos de inclusão. Na Figura 21, encontram-se os perfis de comportamento do raio de rotação para os oito ensaios anteriormente citados. Claramente nota-se um perfil destoante dos ensaios 20 e

21 em comparação com os demais. Aliando essa análise à evidência fornecida para a estabilidade dos complexos de inclusão estabelecidos nestes protocolos, pode-se dizer que, estruturalmente, os protocolos 20 e 21 são menos favoráveis à estabilidade dos complexos submetidos à DM que os demais.

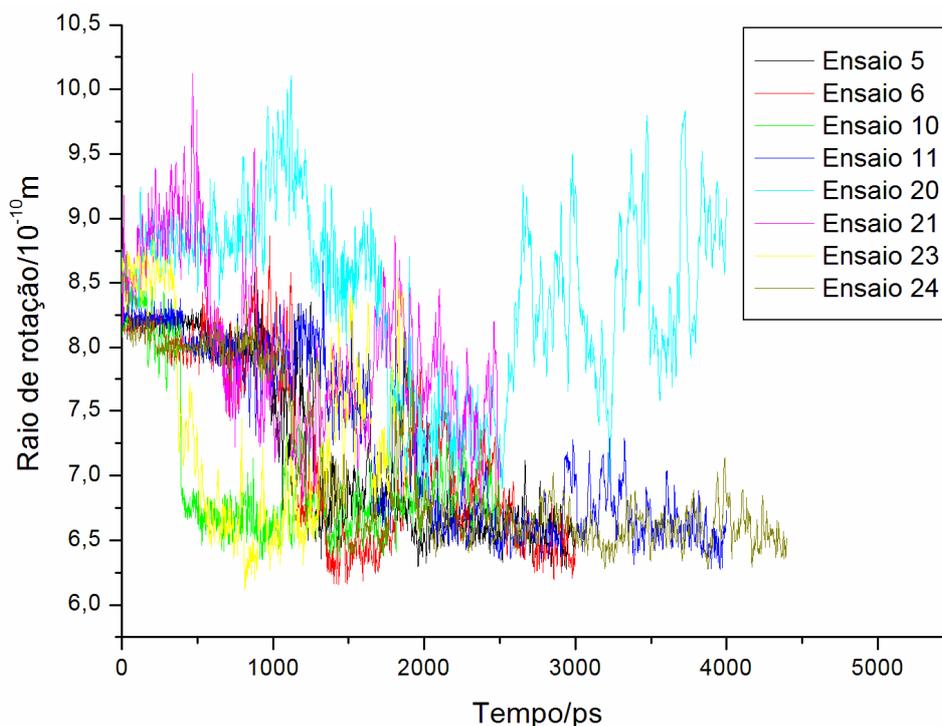


Figura 7. Perfil do raio de rotação para os principais ensaios aplicados ao sistema TLG@1.α-CD durante a DM. Todos os ensaios resultaram em FT% = 100%.

Os níveis atribuídos para os protocolos utilizados nos ensaios 20 e 21 apresentam diferenças apenas para as variáveis W e S, para os quais os níveis +1 e -1 apresentam-se alternados. É interessante notar que tais diferenças não levam a resultados distintos para a estabilidade dos complexos testados sob estes protocolos, uma vez que os efeitos destas variáveis possuem pouco peso para a estabilidade dos complexos. Os demais protocolos apresentam valores de energia de complexação e raio de rotação muito equivalentes, o que viabiliza o uso, em princípio, de qualquer um deles para o tratamento de sistemas envolvendo um TG e um α-CD.

Neste sentido, a discussão relativa aos efeitos das variáveis na escolha do protocolo ideal é a mesma utilizada na análise quimiométrica para sistemas contando com duas e três α-CD. Logo, o protocolo utilizado no ensaio 24, desponta como um dos mais adequados para a

aplicação em simulações de DM envolvendo os complexos de inclusão trabalhados. As análises quimiométricas e estruturais convergem para tal resultado.

Resumindo as informações para os três sistemas de inclusão trabalhados, percebe-se que a variável C (constante dielétrica) no protocolo 24 apresentou o nível baixo (-1) como sendo o ótimo, indo de encontro ao senso físico. O efeito negativo da variável C desempenha um papel importante dentre as variáveis analisadas, sugerindo que a simulação de DM no vácuo ($C = -1$; $\epsilon = 1$) produz complexos de inclusão mais estáveis ao fim da DM. No entanto, a implementação deste modelo contínuo não revela com propriedade o efeito do solvente na estabilidade dos complexos de inclusão, mesmo que a formação destes envolvendo CD seja favorecida, em meios com altos valores de constante dielétrica (C). O principal processo associado à estabilidade dos complexos de inclusão encontra-se diretamente ligado à contribuição entrópica associada ao aumento do grau de desordem do solvente em torno do substrato a ser incluído. Todavia, este processo não é contemplado pelo modelo contínuo de solvatação (NASCIMENTO JR., 2003; SZEJTLI, 1998), fato que corrobora com as conclusões apresentadas neste estudo, haja vista as limitações do modelo utilizado.

3.2. Análise estrutural e de estabilidade de complexos de inclusão envolvendo triglicerídeos e alfa-ciclodextrinas

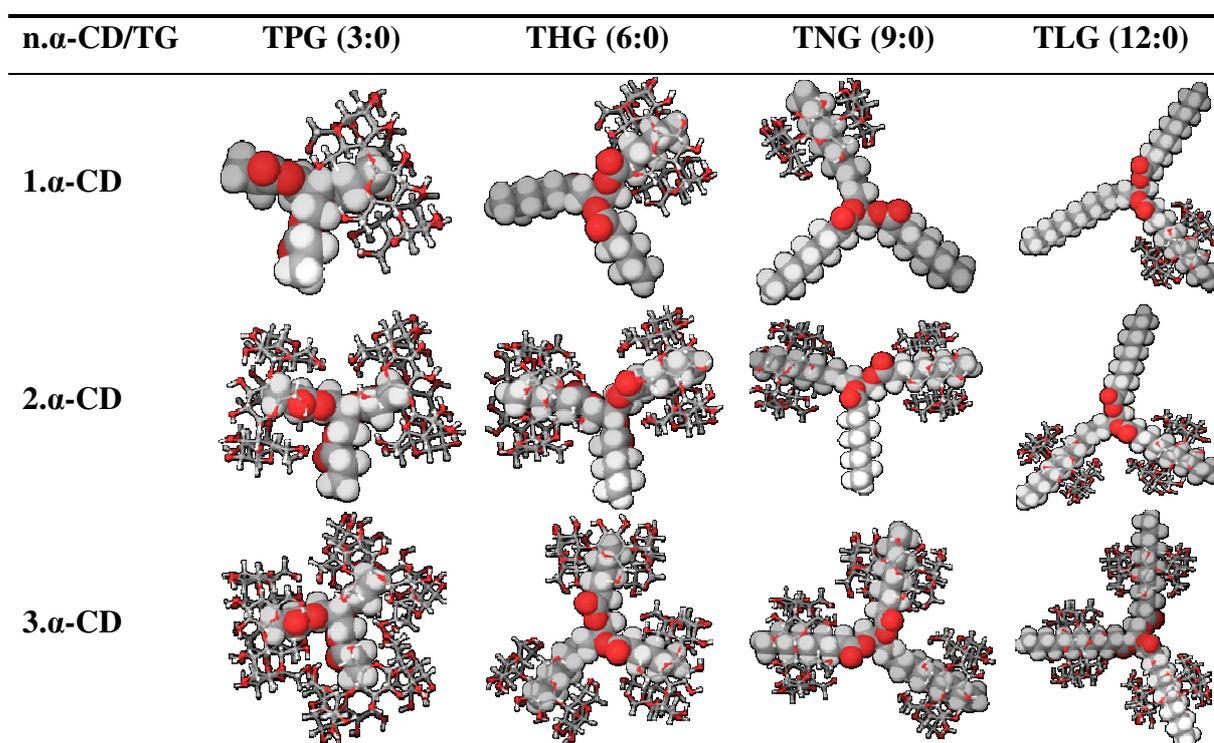
3.2.1. Modelo Proposto

A análise quimiométrica apresentada na Seção 3.1 deste material possibilitou o esclarecimento acerca daqueles parâmetros envolvidos na DM que se adéquam ao tratamento de sistemas de inclusão envolvendo TG e α -CD. A referida etapa se mostrou importante para o tratamento inicial de um sistema até então desconhecido. Como principal resultado da análise quimiométrica, obtivemos um protocolo de aquecimento adequado (utilizado no ensaio 24) com os níveis 0, 1, 0 e -1, respectivamente para as variáveis W, E, S e C, anteriormente apresentadas e discutidas. Todavia, conforme discussão apresentada na seção anterior, o nível da variável C (constante dielétrica) pode ser modificado, uma vez que a análise fatorial fracionária não evidencia o real efeito exercido pela mesma na DM de sistemas de inclusão do tipo TG@ α -CD. Dessa forma para a continuidade dos estudos

envolvendo complexos de inclusão deste tipo, consideraremos o nível alto (+1) da variável C no protocolo de aquecimento referente ao ensaio 24 uma vez que o mesmo representa a constante dielétrica da água ($\epsilon \approx 80$), meio no qual, verifica-se a formação de complexos de inclusão semelhantes aos tratados neste trabalho (SZEJTLI, 1998). Nesta etapa, as DM moleculares foram executadas a 298,15 K durante 1.000 ps (fase de análise das médias), tal qual na etapa anterior.

O estudo aprofundado de um sistema pouco estudado como este constituído por TG e CD, carece da adaptação de um modelo inicial visando a investigação de algumas possibilidades inseridas no contexto deste trabalho. Neste sentido, foram considerados inicialmente modelos de TG constituídos por cadeias saturadas contendo 3 (TPG), 6 (THG), 9 (TNG) e 12 (TLG) carbonos participando de complexos de inclusão com uma, duas e três CD (Tabela 13).

Tabela 13. Modelos de complexo de inclusão TG@n. α -CD estudados.



Além da α -CD nativa foram propostos complexos de inclusão de acordo com os modelos de TG anteriormente citados, considerando uma CD modificada com um grupamento amino substituindo uma das hidroxilas primárias (Figura 22; α -CD-NH₂; MATSUMOTO *et*

al., 1998). A proposta de uso desta molécula se dá a partir da semelhança química da mesma frente ao sítio ativo da enzima lipase – utilizada na síntese de biodiesel via catálise enzimática (AL-ZUHAIR *et al.*, 2007).

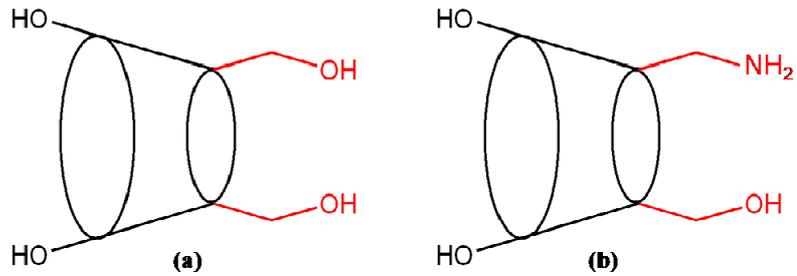


Figura 8. Estrutura das moléculas α -CD (a) e α -CD-NH₂ (b) utilizadas nos estudos com TG.

A possibilidade de inclusão dos TG também foi discutida, considerando dois possíveis modos de inclusão (Figura 23). A princípio o modo de inclusão “A” pode ser considerado como o mais adequado vislumbrando as aplicações de tais sistemas para a aplicação na transesterificação de TG (Seção 3.3), haja vista a maior reatividade das hidroxilas primárias frente às secundárias.

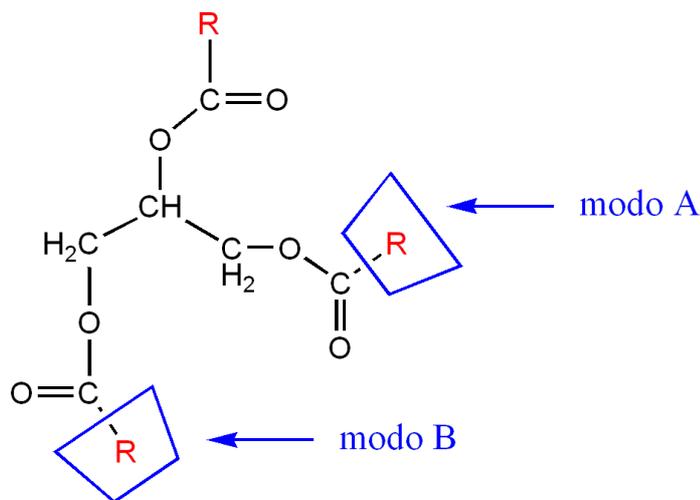


Figura 23. Representação dos modos de inclusão investigados.

3.2.2. Análise estrutural

Os resultados qualitativos relativos à estabilidade dos modelos de complexos de inclusão trabalhados encontram-se apresentados na Tabela 14. Percebe-se claramente uma relação do tamanho da cadeia com a estabilidade dos complexos de inclusão para os modelos analisados. Sistemas com cadeias triglicéridicas curtas não apresentam grande estabilidade mediante as condições de simulação empregadas. No caso, o uso de um modelo contínuo de solvente para água ($\epsilon \approx 80$) aliado a uma curta porção hidrofóbica do TG pode ter contribuído para o colapso dos sistemas de inclusão, uma vez que as interações hidrofóbicas se tornam pequenas mediante a interação do meio solvente (expresso pelo vetor de polarização \vec{P}) com as porções polares dos TG de cadeias curtas. Para todos os tipos de inclusão analisados, os sistemas constituídos pelo TG de maior cadeia (TLG – 12:0) apresentaram maior estabilidade relativa. Isto leva a uma possível evidência de que sistemas de inclusão formados entre TG derivados de óleos vegetais (que em geral, possuem cadeias longas) e CD apresentam tendência a um comportamento estável.

Dentre os modelos analisados, somente o TLG@1.α-CD/A apresentou certa estabilidade ao fim da DM. Essa constatação serviu de base para o uso da α-CD de acordo com o modo de inclusão “A” nas DM envolvendo complexos de inclusão com modelos de TG de cadeias maiores (modelos de TG reais).

Tabela 14. Estabilidade dos complexos de inclusão estudados; (-) aponta o colapso do complexo de inclusão ao fim da DM; (+) aponta a estabilidade do mesmo; (+*) aponta que o complexo encontra-se em iminência de desestabilização ao fim da DM.

Sistema	3:0 (TPG)	6:0 (THG)	9:0 (TNG)	12:0 (TLG)
1.α-CD/A	-	-	-	+
2.α-CD/A	--	--	--	--
3.α-CD/A	---	---	---	--+*
1.α-CD/B	-	-	-	-
2.α-CD/B	--	--	--	--
3.α-CD/B	---	---	--+*	--+*
1.α-CD-NH ₂ /A	-	-	-	-
2.α-CD-NH ₂ /A	--	--	--	--
3.α-CD-NH ₂ /A	---	---	--+*	--+*

As DM aplicadas aos complexos de inclusão envolvendo TG reais (cadeias longas) seguiram o mesmo protocolo apresentado anteriormente. Foram tratados nesta etapa os TG que apresentam 12 (TLG), 15 (TPDG), 16 (THDG) e 18 (TESG, TOG, TLLG e TLNG) átomos de carbono em cada uma das três cadeias da estrutura base dos TG, participando de complexos de inclusão com uma unidade de α -CD (Figura 24). O objetivo que se deseja alcançar a partir do estudo destes modelos envolve a relação do tamanho das cadeias triglicéridicas e da saturação das mesmas para a estabilidade dos complexos de inclusão TG@ α -CD. A análise das DM apontou um resultado interessante que corrobora com uma hipótese aventada anteriormente. Dentre os TG trabalhados, somente os de maior cadeia carbônica (18 carbonos) foram capazes de formar complexos de inclusão com α -CD estáveis ao fim da DM. O fato de se implementar o efeito do solvente (água, neste caso) por meio do modelo contínuo, contribui para a interação com sítios hidrofílicos da CD em cadeias curtas. No caso das maiores cadeias, o caráter hidrofóbico pronunciado leva à estabilização dos TG na cavidade das CD.

A Tabela 15 apresenta os valores das energias de complexação para os sistemas TG@ α -CD estáveis ao fim da DM. Embora estes valores não reflitam uma correlação entre os parâmetros analisados, pode-se dizer que existe uma forte dependência entre o aumento do número de insaturações na cadeia do TG e a estabilidade do complexo de inclusão estabelecido. O primeiro argumento para tal afirmação reside no fato de os TG insaturados apresentarem uma cadeia mais rígida em termos de graus de liberdade para o movimento frente a uma cadeia saturada. Os carbonos do tipo sp^2 (ligação dupla) impedem movimentos de “chicoteamento” das cadeias capazes de expulsar as CD alojadas nas mesmas. Um segundo argumento se relaciona ao fato de que os TG empregados neste trabalho assumem, exclusivamente, isomeria *cis*. Por este motivo, as cadeias em formato de “gancho” dos TG insaturados permitem a manutenção dos complexos de inclusão (Figura 25).

Tabela 15. Energias de complexação para os complexos de inclusão estáveis a 298,15 K.

Sistema de inclusão	Energia de complexação/kJ.mol ⁻¹
TESG@1. α -CD (18:0)	-35,9
TOG@1. α -CD (18:1)	-55,7
TLLG@1. α -CD (18:2)	-35,8
TLNG@1. α -CD (18:3)	-67,4

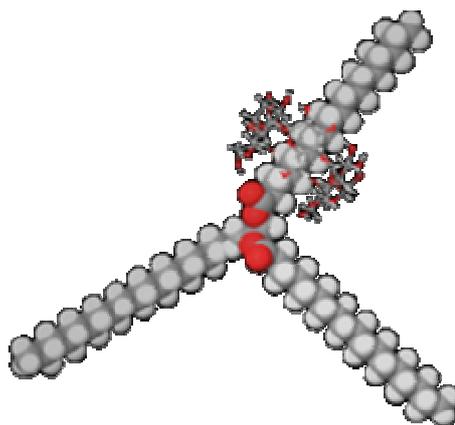


Figura 24. Estrutura de um complexo de inclusão envolvendo o triglicerídeo TESH e uma α -CD.

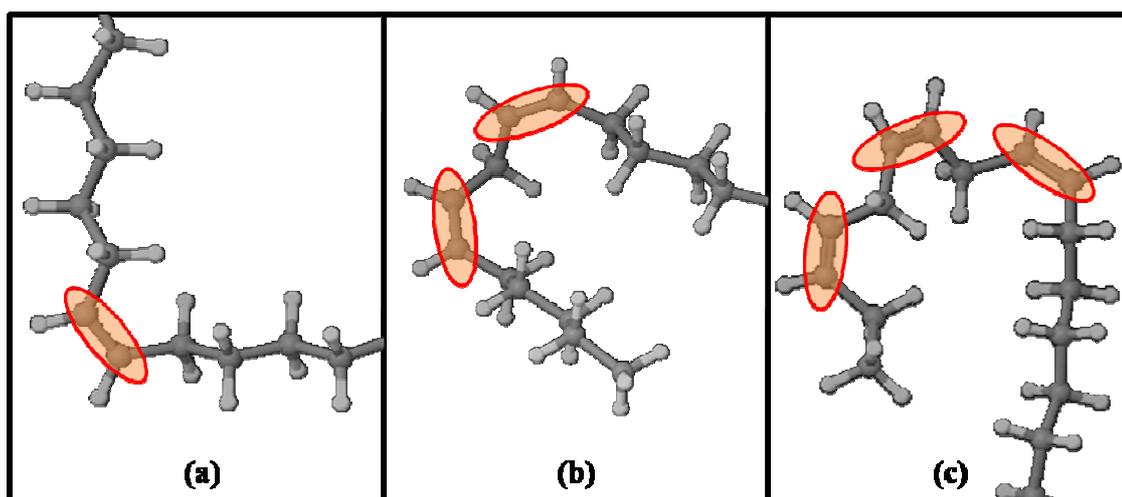


Figura 25. Estruturas das cadeias insaturadas dos TG, ressaltando a isomeria *cis*.

Em termos termodinâmicos, podemos dizer que a inclusão das CD nas cadeias saturadas leva à estabilização da mesma por meio da diminuição dos graus de liberdade. Sendo assim, pode-se considerar que existe uma diminuição da contribuição entrópica para o sistema em questão. Nas cadeias de TG insaturadas, não se verifica esta diminuição da parcela entrópica, uma vez que as próprias insaturações contribuem para a rigidez da cadeia, fato que justifica a maior estabilidade de tais complexos.

Os valores para energia de complexação expostos na Tabela 15 são obtidos por meio da energia potencial média ao fim da etapa de análise das médias na DM. Sendo assim, um

determinado erro encontra-se associado a essa flutuação dos valores de energia encontrados. Em geral, tais alterações derivam dos diferentes arranjos espaciais assumidos pelas estruturas ao longo da DM. Deste modo, o fato de o complexo de inclusão TLLG@1.α-CD apresentar menor estabilidade que o TOG@1.α-CD, nesta situação de estudo, deriva de uma grande flutuação estrutural para o primeiro, fato que concorre para alterações consideráveis no valor da energia potencial média para a estrutura. A Figura 26 aponta a grande alteração no valor do raio de rotação – parâmetro estrutural que considera o grau de empacotamento da estrutura em relação a seu centro de massa – para o sistema TLLG@1.α-CD na fase de análise das médias da DM. Enquanto os outros sistemas apresentam valores de raio de rotação com baixa flutuação (TOG@1.α-CD e TLNG@1.α-CD) ou flutuação esperada (TESG@1.α-CD – muitos graus de liberdade) – que contribuem para o cálculo de uma média energética mais fidedigna –, o complexo de inclusão TLLG@1.α-CD apresenta um conjunto de valores muito divergentes.

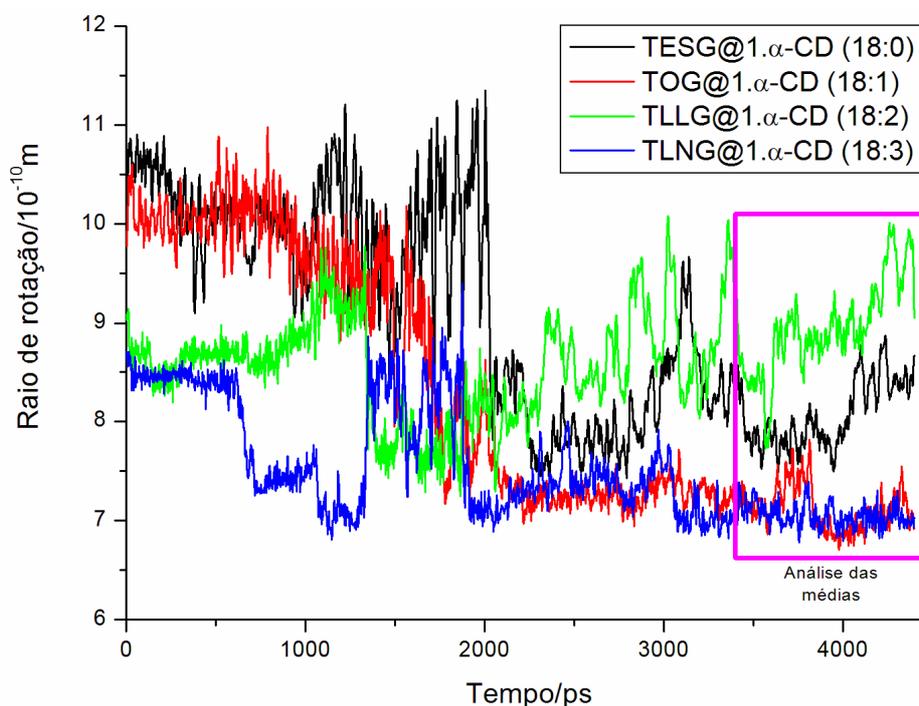


Figura 26. Valores para o Raio de Rotação (R_g) ao longo da DM para os complexos de inclusão envolvendo modelos de TG reais. Na região em destaque, a fase de análise das médias da DM.

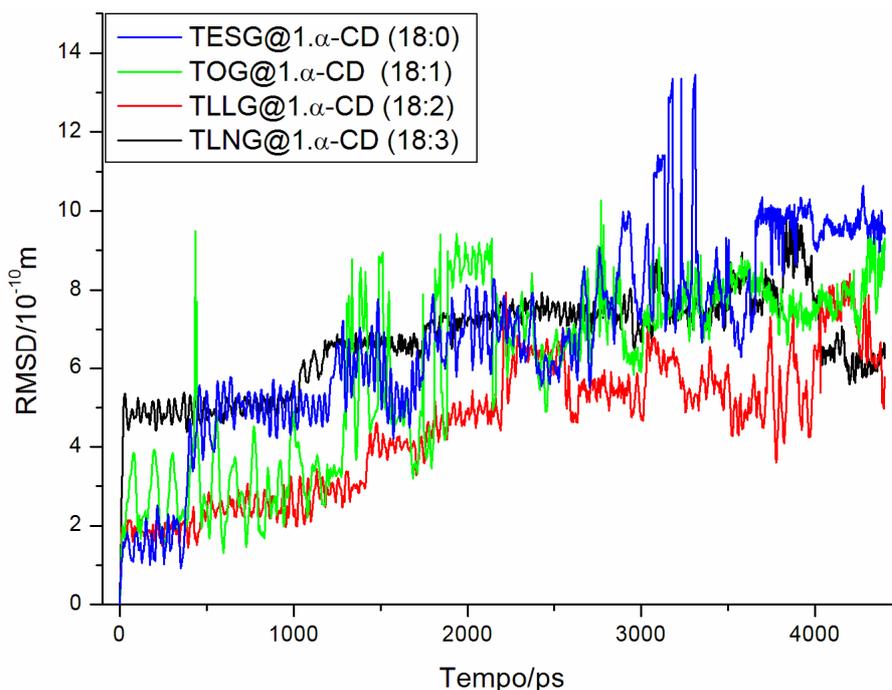


Figura 97. Valores de RMSD, ao longo da DM, assumidos pelos complexos de inclusão envolvendo modelos de TG reais.

A Figura 27 evidencia o mesmo argumento apresentado com relação à Figura 26. Além disso, percebe-se que o número de insaturações colabora para um menor desvio quadrático médio (RMSD) das estruturas geradas ao longo da DM em relação à primeira.

Além dos critérios de estabilidade discutidos outro ponto relativo à estrutura dos complexos de inclusão merece uma análise especial. Dentro de uma proposta de aplicação de CD como potenciais agentes catalíticos para a transesterificação de TG (Seção 3.3), uma análise da interação de tais estruturas moleculares se faz necessária. Sendo assim, a investigação inicial deve considerar a atuação da CD como catalisador estando participando de um complexo de inclusão com TG, ou não. Tendo em vista, os resultados encontrados nesta seção que apontam a estabilidade de algumas estruturas triglicéridicas quando incluídas em α -CD, partimos para uma análise considerando os potenciais sítios de interação entre as estruturas. No caso, considerando uma mimetização do processo de catálise enzimática (Seção 1.3; Figura 6), temos que o primeiro passo do processo se constitui em um ataque nucleófilo de uma das hidroxilas primárias da α -CD a uma das carbonilas do TG. Existem basicamente duas possibilidades para tal acontecimento: o ataque à carbonila da mesma cadeia onde se encontra incluída a α -CD; e o ataque à carbonila de uma cadeia vicinal (Figura 28).

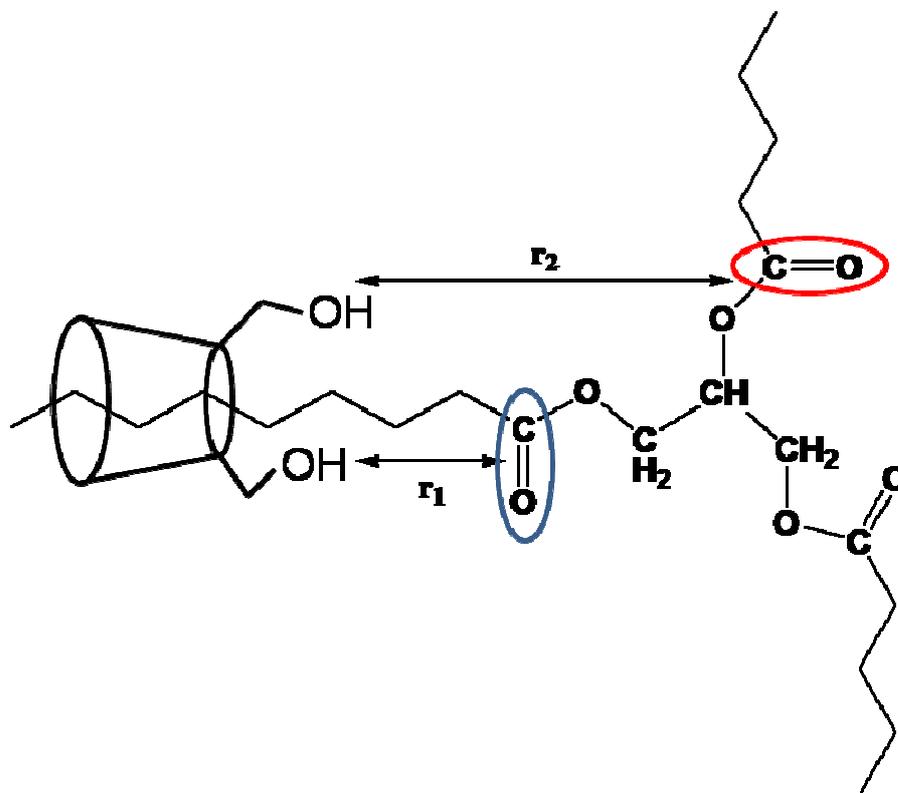


Figura 28. Representação das distâncias entre os sítios reativos para o ataque nucleofílico na carbonila da cadeia onde se encontra incluída a α -CD (r_1) e na cadeia vizinha (r_2).

Tendo em vista estas duas possibilidades, a investigação das distâncias entre os sítios de interesse ao longo das DM efetuadas se torna necessária. A Figura 29 aponta o comportamento destas distâncias ao longo das DM. No geral, verificou-se que as distâncias r_1 e r_2 monitoradas não apresentaram, em média, diferenças significativas. Isto deriva do fato de que o enovelamento verificado para as estruturas com o aumento da temperatura da DM leva a uma compensação recíproca das distâncias r_1 e r_2 . As distâncias verificadas para a maioria dos complexos que se mantiveram inclusos girou em torno de 10,0 Å. Entretanto, para o complexo (18:1) TOG@1. α -CD, foi verificada uma distância r_1 (mesma cadeia) da ordem de 4,0 Å para as estruturas finais da DM. Embora tenham sido registrados pequenos valores para a distância entre os sítios reativos, os mesmos não são suficientes para motivar o estudo de um processo catalítico partindo dos modelos de inclusão. Além desse fator, outro de maior envergadura se coloca como barreira para tal intento. Após o processo reacional proposto uma etapa posterior de desinclusão provavelmente seria necessária para a obtenção do produto de reação (EAG) e do potencial catalisador (α -CD).

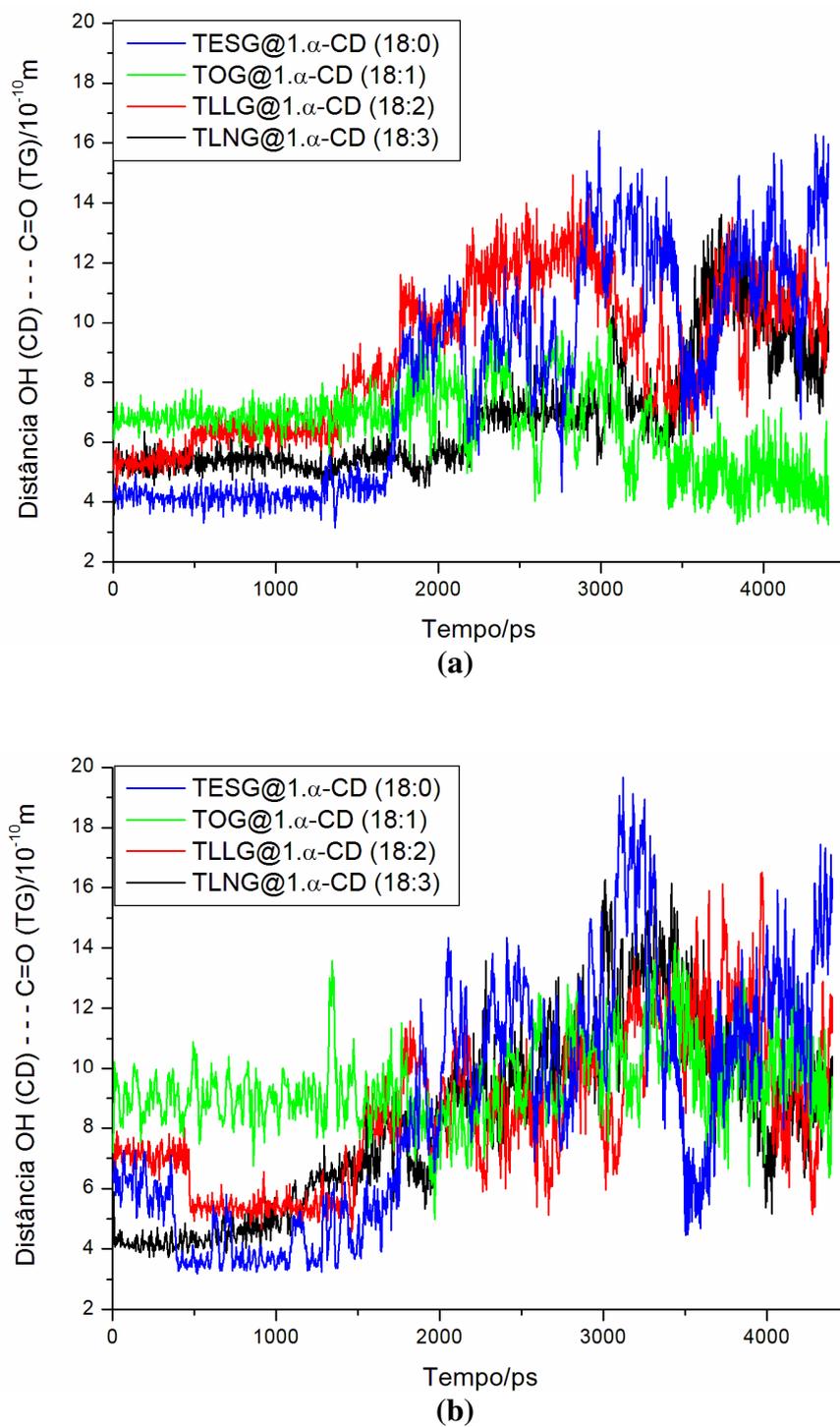


Figura 29. Distâncias médias entre a hidroxila da α -CD e a carbonila dos TG da mesma cadeia onde se encontram incluídas a α -CD (a) e da cadeia vizinha (b).

3.3. Estudo termodinâmico da reação de transesterificação de óleos vegetais (triglicerídeos) utilizando alfa-ciclodextrina como um possível catalisador

3.3.1. Modelo Proposto

A transesterificação como processo reacional para conversão de TG em EAG se constitui na técnica mais utilizada para a adequação das propriedades físicas dos óleos e gorduras às especificações dos motores do ciclo Diesel. Conforme já exposto na Seção 1.3 deste material, o gargalo tecnológico deste processo reside na catálise (DEMIRBAS, 2008a; GERIS *et al.*, 2007; HELWANI *et al.*, 2009; LEUNG *et al.*, 2009; SCHUCHARDT *et al.*, 1998). O simples descarte do uso de catalisadores não pode ser considerado, uma vez que a referida reação apresenta alto grau de reversibilidade. Neste sentido, a busca por novos catalisadores, principalmente que apresentem baixo impacto para a natureza e que proporcionem um bom rendimento para tal reação, torna-se cada vez mais em voga no cenário científico. Trabalhos recentes apontam o uso de catalisadores oriundos do reaproveitamento de resíduos, tais como: casca de ovo (WEI *et al.*, 2009), casca de camarão (YANG *et al.*, 2009) e siri (BOEY *et al.*, 2009), carboidratos (LOU *et al.*, 2008; OKAMURA *et al.*, 2006; TAKAGAKI *et al.*, 2006; TODA *et al.*, 2005) e restos de prensagem (torta) de sementes de café (NUNES *et al.*, 2009). A capacidade de aplicação de carboidratos como catalisadores, aliado ao histórico de CD como miméticos de enzimas (BRESLOW, 1970, 1996, 1998; VILLALONGA *et al.*, 2007) e ao mecanismo de ação da enzima lipase na ação catalítica, nos leva a uma proposta de estudo considerando a possibilidade de aplicação da α -CD como catalisador para a produção de EAG.

Considerando o sítio ativo da enzima lipase (AL-ZUHAIR *et al.*, 2007) e a estrutura das CD, podemos perceber certa semelhança estrutural entre ambas as estruturas (Figura 30). A possibilidade de aplicação das CD como possíveis miméticos se justifica também pela reatividade pronunciada de suas hidroxilas primárias, as quais são consideradas neste estudo como responsáveis pelo ataque nucleófilo (KHAN *et al.*, 1998). O mecanismo de reação proposto para a ação catalítica da α -CD considera quatro etapas reacionais de acordo com a rota metílica de produção de EAG, a partir de sete modelos de TG: TLG (12:0), TPDG (15:0), THDG (16:0), TESG (18:0), TOG (18:1), TLLG (18:2) e TLNG (18:3).

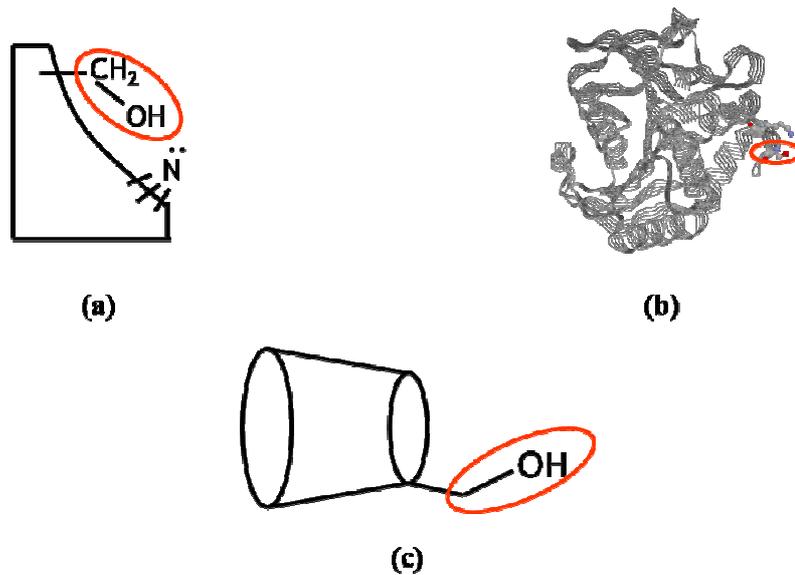


Figura 30. Comparação do sítio ativo (a) da enzima lipase (PDB, 2007) (b) com a estrutura de uma CD (c).

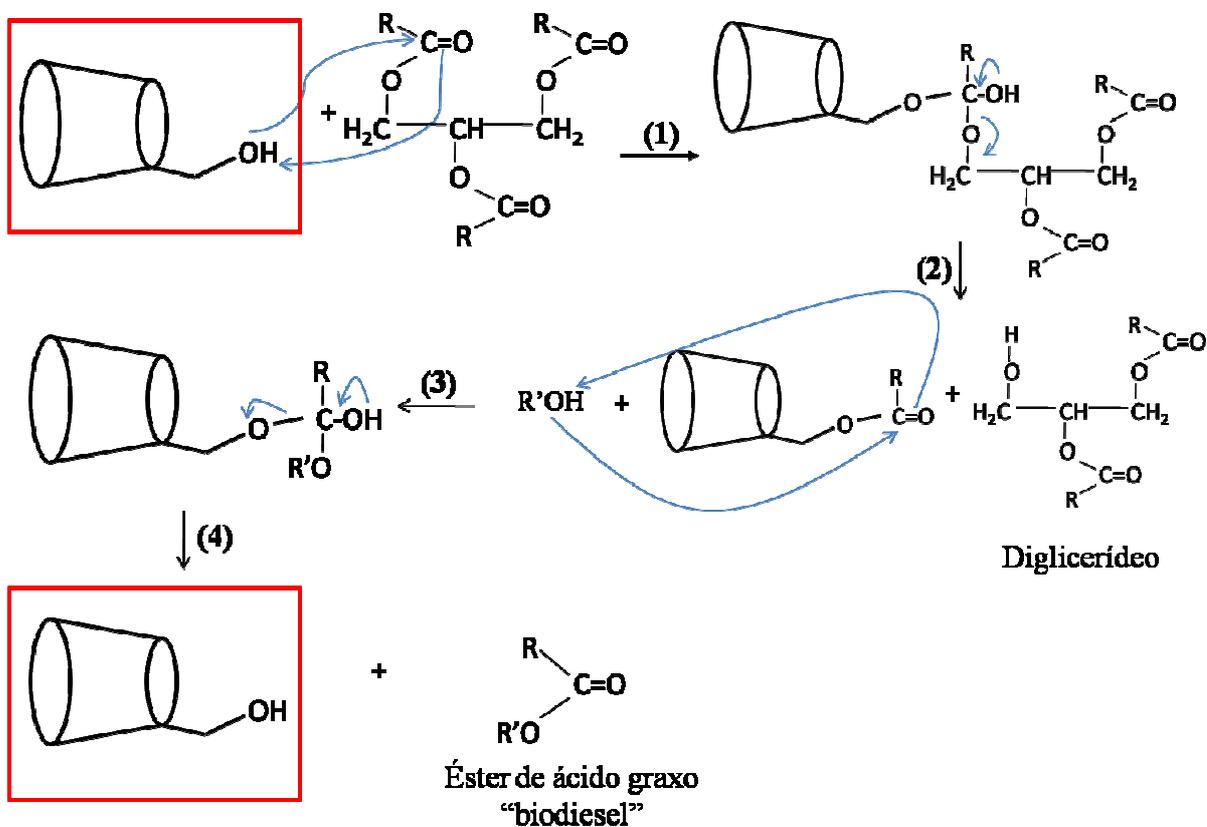


Figura 31. Mecanismo de catálise proposto para a transesterificação de TG utilizando α -CD como catalisador.

O estudo teórico envolvendo a reação de transesterificação sem o uso de um catalisador se faz necessário para o estabelecimento de um parâmetro de comparação para o potencial catalítico da α -CD. Dessa forma, foram propostas reações de transesterificação para os TG citados anteriormente seguindo as etapas de reação (Figura 31):

1. Ataque nucleofílico do oxigênio do álcool (CH_3OH) a uma das carbonilas do TG originando um aduto (I1);



2. Decomposição do aduto (I1) originando uma molécula de diglicerídeo (DG) e uma molécula de um éster de ácido graxo (EAG);



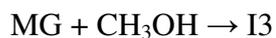
3. Ataque nucleofílico do oxigênio do álcool (CH_3OH) a uma das carbonilas do DG originando um novo aduto (I2);



4. Decomposição do aduto (I2) originando uma molécula de monoglicerídeo (MG) e uma molécula de um éster de ácido graxo (EAG);



5. Ataque nucleofílico do oxigênio do álcool (CH_3OH) a uma das carbonilas do MG originando um novo aduto (I3);



6. Decomposição do aduto (I3) originando uma molécula de glicerol e uma molécula de um éster de ácido graxo (EAG);



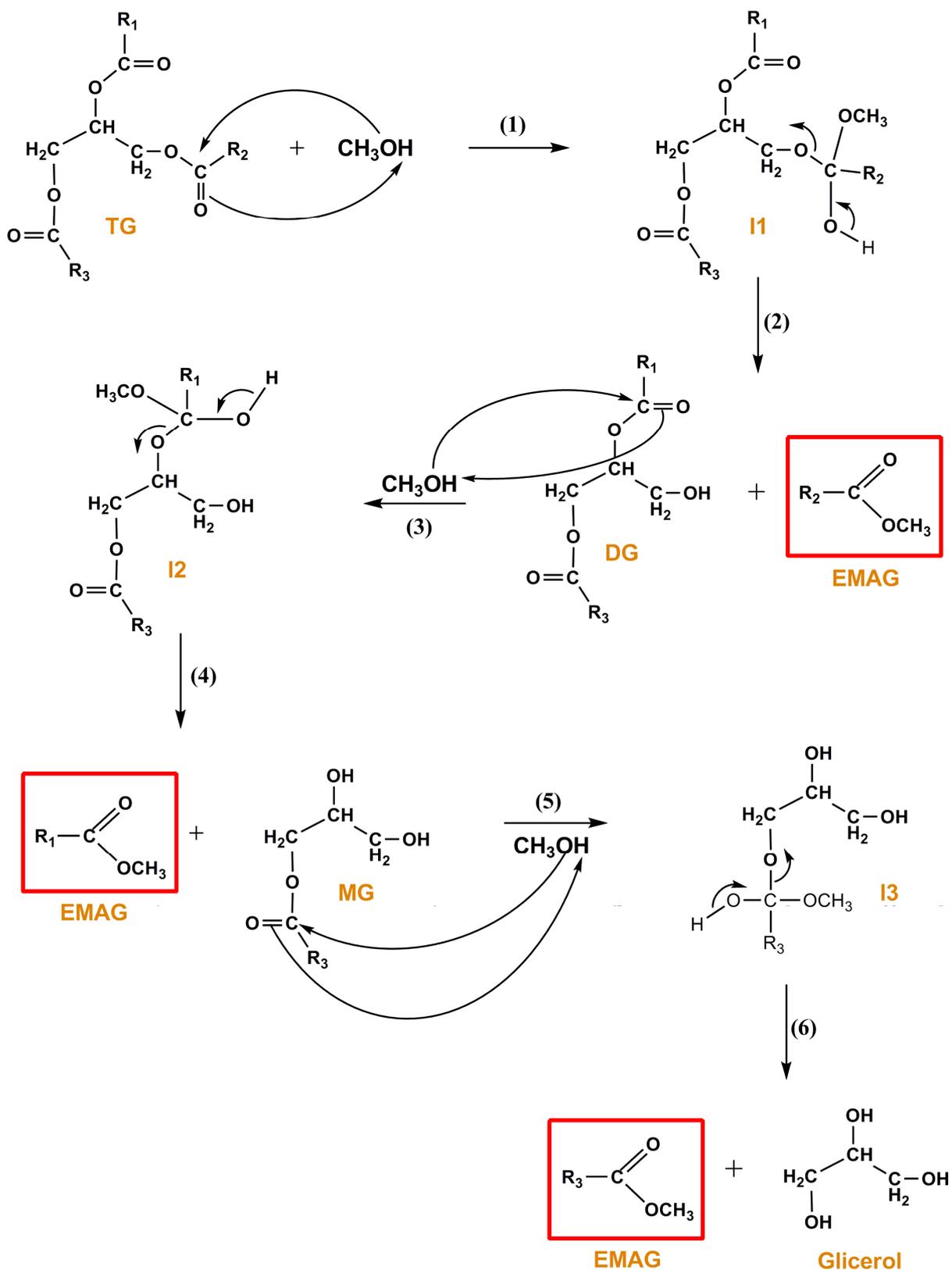
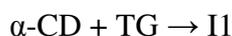


Figura 32. Mecanismo de transesterificação sem o uso de um catalisador.

No caso do processo descrito na Figura 32, a transesterificação é inteiramente efetuada, levando à produção de três moléculas de EAG a partir de uma molécula de TG. No processo catalítico proposto (Figura 31), entretanto, somente a produção de uma molécula de TG e de uma molécula de DG se apresenta como objeto de estudo, haja vista que os demais processos consistem em repetições da primeira substituição da cadeia triglicéridica.

As etapas do processo catalítico proposto consistem basicamente em:

1. Formação de um aduto (I1) a partir do ataque nucleofílico do oxigênio de uma hidroxila primária da α -CD a uma das carbonilas do TG;



2. Decomposição do aduto (I1) originando uma molécula de diglicérideo (DG) e um novo intermediário (I2);



3. Ataque nucleofílico do oxigênio do álcool (CH_3OH) à carbonila do intermediário (I2), simultaneamente à captura do próton do grupo alcoólico por parte do oxigênio carbonílico do intermediário (I2) produzindo outro intermediário (I3);



4. Decomposição do intermediário (I3) gerando uma molécula de EMAG e reconstituindo o catalisador CD.



Os processos descritos nesta seção foram estudados computacionalmente por meio de cálculos de otimização de geometrias seguidos de cálculos de frequências harmônicas vibracionais com relação à geometria otimizada. A DFT foi a metodologia utilizada para a abordagem de tal sistema, uma vez que apresenta resultados satisfatórios para estruturas com um grande número de átomos. O funcional LSDA foi implementado visando diminuir os custos computacionais. O conjunto de funções de base 6-31G foi utilizado nos cálculos.

3.3.2. Análise termodinâmica

O processo de transesterificação proposto sem o uso de um catalisador serve de base para a investigação do perfil termodinâmico das etapas associadas à produção dos TG. Na Tabela 16, encontram-se os valores de energia de reação para os processos e de grandezas termodinâmicas associadas aos processos investigados.

Tabela 16. Propriedades termodinâmicas associadas às etapas de transesterificação, sem uso de catalisador, obtidas na fase gás a 298,15K.

Etapa	kcal/mol	TLG	TPDG	THDG	TESG	TOG	TLLG	TLNG
1	ΔE	-15,6	-23,0	-13,9	-18,0	-26,7	-69,4	-17,0
	ΔH	-16,2	-23,6	-14,5	-18,6	-27,3	-70,0	-17,6
	ΔG	-10,3	-9,8	0,3	-4,4	-16,5	-44,9	-9,0
	$T\Delta S$	-5,9	-13,7	-14,8	-14,3	-10,9	-25,1	-8,6
2	ΔE	56,7	90,0	22,9	7,6	35,3	25,2	23,1
	ΔH	57,3	90,6	23,5	8,2	35,9	25,8	23,7
	ΔG	57,5	84,5	0,2	-6,0	17,5	6,0	1,1
	$T\Delta S$	-0,2	6,1	23,3	14,1	18,4	19,8	22,6
3	ΔE	-22,6	-32,3	24478,3	170229,0	-11,9	-20,3	-34,4
	ΔH	-23,2	-32,9	24477,7	170228,4	-12,5	-20,9	-35,0
	ΔG	-12,3	-18,2	24494,3	170247,8	-5,0	-9,4	-18,5
	$T\Delta S$	-10,8	-14,7	-16,5	-19,4	-7,5	-11,5	-16,5
4	ΔE	110,5	88,1	21,7	-170211,9	4,7	25,9	36,8
	ΔH	111,1	88,7	22,3	-170211,3	5,3	26,5	37,3
	ΔG	118,4	84,6	8,8	-170237,8	-8,5	-1,5	16,1
	$T\Delta S$	-7,3	4,1	13,5	26,5	13,8	28,0	21,2
5	ΔE	-76,2	-18,8	-24528,0	-33,4	-25,4	-32,5	-30,3
	ΔH	-76,8	-19,4	-24528,6	-34,0	-26,0	-33,1	-30,9
	ΔG	-73,3	-8,2	-24515,5	-19,4	-7,5	-12,2	-12,5
	$T\Delta S$	-3,5	-11,2	-13,1	-14,6	-18,5	-20,9	-18,3
6	ΔE	63,8	68,8	9,3	21,6	18,0	27,9	22,5
	ΔH	64,4	69,4	9,9	22,2	18,5	28,5	23,1
	ΔG	57,3	69,1	1,2	5,3	1,7	7,0	3,4
	$T\Delta S$	7,1	0,3	8,6	16,9	16,8	21,4	19,7
Global	ΔE	116,7	172,7	-9,8	-5,1	-6,0	-43,2	0,7
	ΔH	116,7	172,7	-9,8	-5,1	-6,0	-43,2	0,7
	ΔG	137,3	201,9	-10,8	-14,4	-18,3	-55,0	-19,4
	$T\Delta S$	-20,6	-29,1	1,0	9,3	12,2	11,8	20,1

A etapa 1 de produção de biodiesel que corresponde ao ataque nucleofílico da hidroxila do álcool (no caso, metanol) a uma carbonila do TG apresenta um perfil energeticamente favorável para todos os TG estudados. O valor negativo para a contribuição entrópica neste caso se explica pela diminuição dos graus de liberdade do sistema causado pela formação de um aduto (I1). Em contrapartida, as contribuições entálpica e da energia de Gibbs apontam para a espontaneidade do processo, fato experimentalmente comprovado. A decomposição do intermediário I1 formando um DG e um EMAG, todavia, apresenta-se como uma etapa energeticamente desfavorável. Destaca-se, neste sentido o grande peso da parcela de correção entálpica frente à pequena contribuição entrópica devida ao aumento dos graus de liberdade gerado pela decomposição do aduto.

A análise destas duas etapas iniciais (1 e 2) evidencia bem o perfil termodinâmico previsto para as etapas subsequentes (3, 4, 5 e 6). Como os processos descritos em 3 e 5 equivalem quimicamente àquele apresentado na etapa 1, os perfis energéticos e o caráter de espontaneidade se mantêm, embora existam diferenças nos módulos dos valores calculados, uma vez que os sistemas trabalhados não são equivalentes. Da mesma forma, os processos relativos às etapas 4 e 6 equivalem termodinamicamente ao descrito na etapa 2.

Uma observação interessante diz respeito à influência do tamanho da cadeia triglicerídica no perfil termodinâmico observado. Na Figura 33, notamos uma amortização das barreiras energéticas relativas às etapas 2, 4 e 6 em função do aumento do número de carbonos presentes nas cadeias dos TG. Empiricamente, tal constatação pode se explicar pelo fato de que a quebra dos adutos (I1, I2 e I3) formados nestas etapas se torna mais favorecida pela estabilização causada pelas cadeias triglicerídicas dotadas de muitos carbonos, fato que contribui para a diminuição da barreira energética de espontaneidade verificada.

Analisando os processos globais (produção de três moléculas de EMAG a partir de uma molécula de TG), verificamos novamente a indicação de maior estabilidade para os TG de cadeia maiores (18 carbonos). Esta resposta teórica vai ao encontro das informações experimentais que dão conta de que a transesterificação é um processo espontâneo que pode ocorrer a temperaturas próximas à ambiente. Todavia, o procedimento reacional sem o uso de catalisador gera um rendimento extremamente baixo, em virtude da reversibilidade da reação (o que se nota pelo perfil termodinâmico). O uso de catalisadores visa, tão somente, acelerar o processo e aumentar o rendimento da reação de formação de EAG.

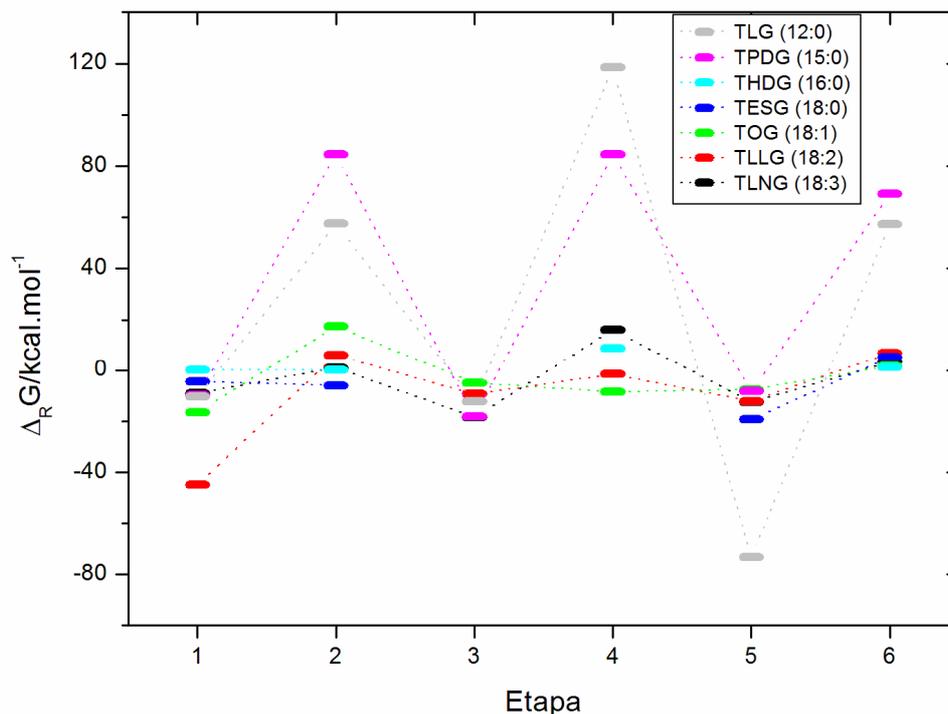


Figura 33. Flutuação dos valores de $\Delta_r G$ para os diferentes TG nas etapas de reação consideradas.

A proposta de catálise da reação de transesterificação considerando α -CD como agente catalítico abarca somente a comparação com as etapas 1 e 2 do processo anterior, uma vez que ambas possuem o mesmo processo global: $TG + CH_3OH \rightarrow DG + EMAG$. Analisando inicialmente as quatro etapas do processo envolvendo a α -CD (Tabela 17), nota-se a existência de duas etapas mais favoráveis em termos energéticos. As etapas 1 e 3 – correspondentes à formação dos adutos I1 e I3, respectivamente – apresentam contribuições relevantes relativas a ΔH e ΔG e uma parcela $T\Delta S$ desfavorável, em razão do aumento da organização do sistema. Em contrapartida, a contribuição entrópica se mostra positiva para as etapas 2 e 4. No entanto, as parcelas de Gibbs e de entalpia apresentem valores positivos que concorrem para o desfavorecimento energético dos processos apontados. É interessante notar que as conclusões termodinâmicas apresentadas para os processos apresentados com o uso de α -CD como catalisador, apontam para as mesmas conclusões extraídas dos processos de transesterificação sem o uso do mesmo, uma vez que as etapas químicas envolvidas apresentam grande semelhança qualitativa. Além disso, os processos globais apresentados apontam para a viabilidade energética dos processos ocorridos com TG de cadeias longas, conforme observado para o processo desconsiderando os catalisadores

Tabela 17. Propriedades termodinâmicas associadas às etapas de transesterificação, com o uso de α -CD como catalisador, obtidas na fase gás a 298,15K.

Etapa	kcal/mol	TLG	TPDG	THDG	TESG	TOG	TLLG	TLNG
1	ΔE	-23,2	-55,7	-16,8	-34,6	-31,2	-98,2	-96,9
	ΔH	-23,8	-56,3	-17,4	-35,2	-31,8	-98,8	-97,2
	ΔG	4,7	-26,6	3,7	-11,6	-20,1	-64,6	-63,0
	TAS	-28,4	-29,7	-21,1	-23,7	-11,6	-34,2	-34,2
2	ΔE	18,3	57,0	26,4	29,1	17,7	30,5	40,1
	ΔH	18,9	57,6	27,0	29,7	18,3	31,1	41,5
	ΔG	-10,0	28,3	-0,6	10,7	6,7	13,2	16,6
	TAS	28,9	29,2	27,6	19,0	11,5	17,8	24,9
3	ΔE	-41,9	-31,4	-8,0	-57,5	-56,5	-32,8	3,8
	ΔH	-42,5	-32,0	-8,6	-58,1	-2,9	-33,4	3,2
	ΔG	-29,1	-17,8	7,2	-40,3	8,5	-16,9	11,5
	TAS	-13,4	-14,2	-15,8	-17,8	-11,3	-16,5	-8,3
4	ΔE	87,9	97,2	7,4	52,6	78,6	56,3	8,9
	ΔH	88,5	97,8	7,9	53,1	24,9	56,9	9,5
	ΔG	81,7	90,8	-9,9	30,8	5,9	29,3	-8,4
	TAS	6,8	7,0	17,8	22,3	19,0	27,6	17,9
Global	ΔE	41,1	67,0	9,0	-10,5	8,5	-44,2	-44,1
	ΔH	41,1	67,0	9,0	-10,5	8,5	-44,2	-43,0
	ΔG	47,2	74,7	0,5	-10,3	1,0	-38,9	-43,3
	TAS	-6,1	-7,6	8,5	-0,1	7,5	-5,3	0,3

Visando investigar a real ação catalítica da α -CD foram efetuadas comparações entre os valores da variação de entalpia envolvidas nos processos de formação de EAG. Os caminhos reacionais relacionados comparam as duas primeiras etapas do processo de transesterificação sem o uso de catalisador com as quatro etapas relacionadas para o processo reacional envolvendo CD. Nota-se que embora o caminho de reação seja diferente para os dois processos trabalhados, os valores de entalpia associados ao processo reacional são idênticos (Figura 34). Tal constatação se constitui em uma evidência termodinâmica da potencial aplicação de α -CD como catalisador no processo de transesterificação. Argumentos cinéticos e dados experimentais se fazem necessários para a averiguação da real aplicabilidade desta molécula como agente catalítico.

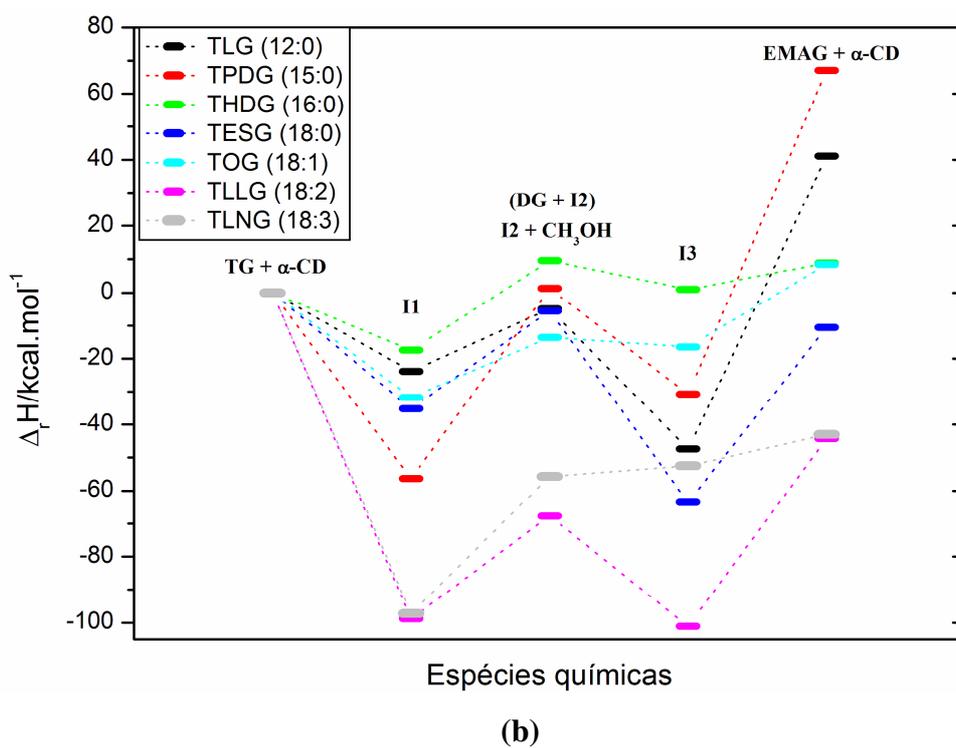
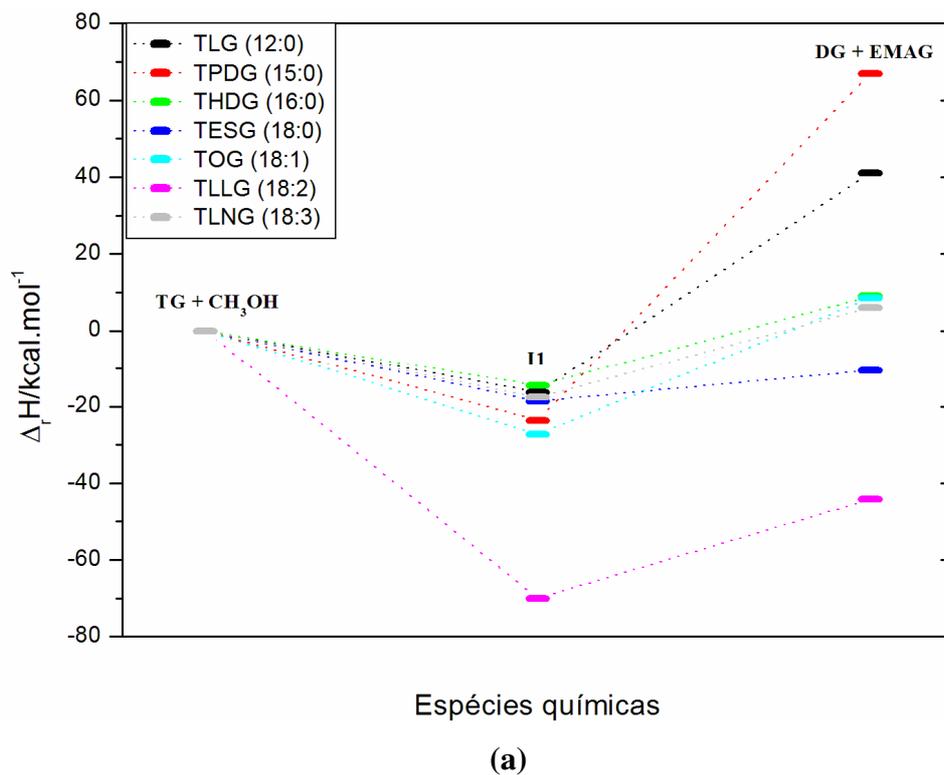


Figura 34. Entalpias de reação para os processos de transesterificação sem (a) e com catalisador (b). A entalpia dos reagentes foram consideradas nulas para todos os TG analisados.

3.4. Estudo teórico de espectros infravermelho e Raman de triglicerídeos e ésteres de ácido graxo

3.4.1. Modelo Proposto

As caracterizações envolvendo óleos vegetais, biodiesel (ésteres de ácidos graxos, EAG) e biodiesel comercial encontram-se em voga atualmente, haja vista a necessidade de se obter um parâmetro metodológico adequado ao controle de qualidade da fonte, bem como do combustível. No Brasil, uma Portaria de 2003 da Agência Nacional do Petróleo (PERKIN ELMER, 2003) traz algumas especificações para os ésteres de ácido graxo (biodiesel puro), entretanto, diversas análises ainda se fazem necessárias visando um melhor mapeamento do processo produtivo, bem como das características inerentes a todos os compostos envolvidos na obtenção do combustível. Neste sentido, uma boa alternativa se encontra na análise de TG e EAG via espectroscopia vibracional. No presente trabalho, espectros teóricos envolvendo tais espécies foram analisados visando a identificação de absorções características de tais sistemas a um baixo custo computacional.

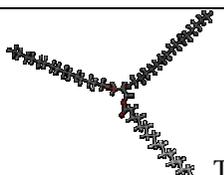
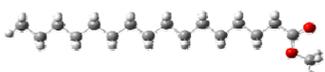
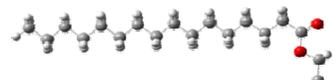
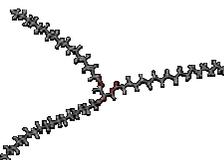
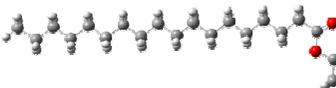
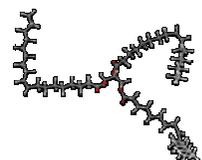
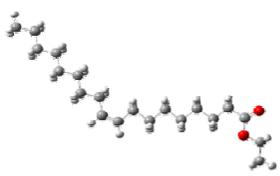
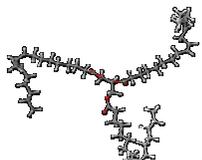
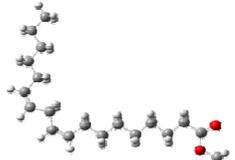
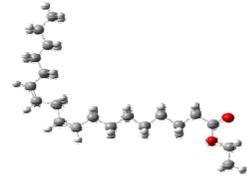
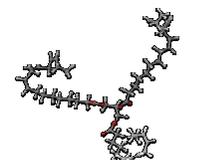
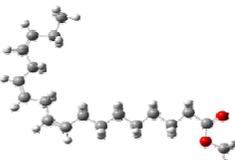
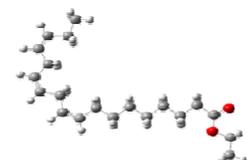
Recentemente nosso grupo iniciou os trabalhos nesta linha de pesquisa, amparado por um convênio estabelecido entre a UFJF e o INMETRO, responsável pelo estabelecimento de normatizações voltadas para o controle de qualidade de espécies envolvidas na produção de biodiesel. O objetivo e função de nosso grupo consiste em um amparo teórico aos experimentalistas nas atribuições de espectros vibracionais de TG, EAG e misturas destes.

Inicialmente as estruturas trabalhadas foram modelos propostos a partir da composição majoritária de TG no óleo de soja (Tabela 18). Tais moléculas foram submetidas a uma Dinâmica Molecular de 1.000 ps a 298,15 K conforme descrito na seção 2.2 deste material, visando um relaxamento da estrutura molecular. Entretanto, inúmeras estruturas são geradas ao longo da simulação, fazendo com que uma seleção seja necessária. Neste sentido, as estruturas finais do processo de DM que se encontram com valores de energia próximo à média para o processo de simulação são preferenciais para a continuação do processo (Figura 35). Em termos estruturais, podemos dizer que nesta situação encontramos geometrias com certa correspondência estrutural, fato que se reflete pela análise de RMSD em relação à estrutura inicial; após um determinado tempo, as estruturas convergem para um padrão de estabilidade que possibilita a escolha das mesmas para a próxima etapa do processo (Figura

36). As estruturas selecionadas pelas DM foram então otimizadas no nível de teoria SVWN/6-31G seguindo a metodologia DFT. Posteriormente, cálculos de frequências harmônicas e intensidades vibracionais foram realizados utilizando o mesmo nível de teoria aplicado para a otimização das estruturas. A obtenção e análise dos espectros foram efetuadas por meio dos pacotes computacionais SIMULAT2 (DOS SANTOS *et al.*, 1999) e GaussView (FRISCH *et al.*, 2004).

Os espectros vibracionais teóricos obtidos serviram de base para estudos envolvendo a distinção de composições de biodiesel; a identificação de algumas impurezas prováveis no combustível (TG e glicerol); a distinção espectroscópica entre EAG obtidos por rota metílica (EMAG) e etílica (EEAG); e a elucidação das atribuições relativas aos espectros de TG, EAG e EEAG. A discussão de tais pontos apresenta-se nas sessões que se seguem.

Tabela 18. Estruturas dos modelos de TG, EMAG e EEAG submetidos à análise vibracional.

Cadeia	Triglicerídeos (TG)	Ésteres metílicos de ácido graxo (EMAG)	Ésteres etílicos de ácido graxo (EEAG)
16:0	 THDG	 BIOD-THDG-MET	 BIOD-THDG-ET
18:0	 TESG	 BIOD-TEG-MET	 BIOD-TEG-ET
18:1	 TOG	 BIOD-TOG-MET	 BIOD-TOG-ET
18:2	 TLLG	 BIOD-TLLG-MET	 BIOD-TLLG-ET
18:3	 TLNG	 BIOD-TLNG-MET	 BIOD-TLNG-ET

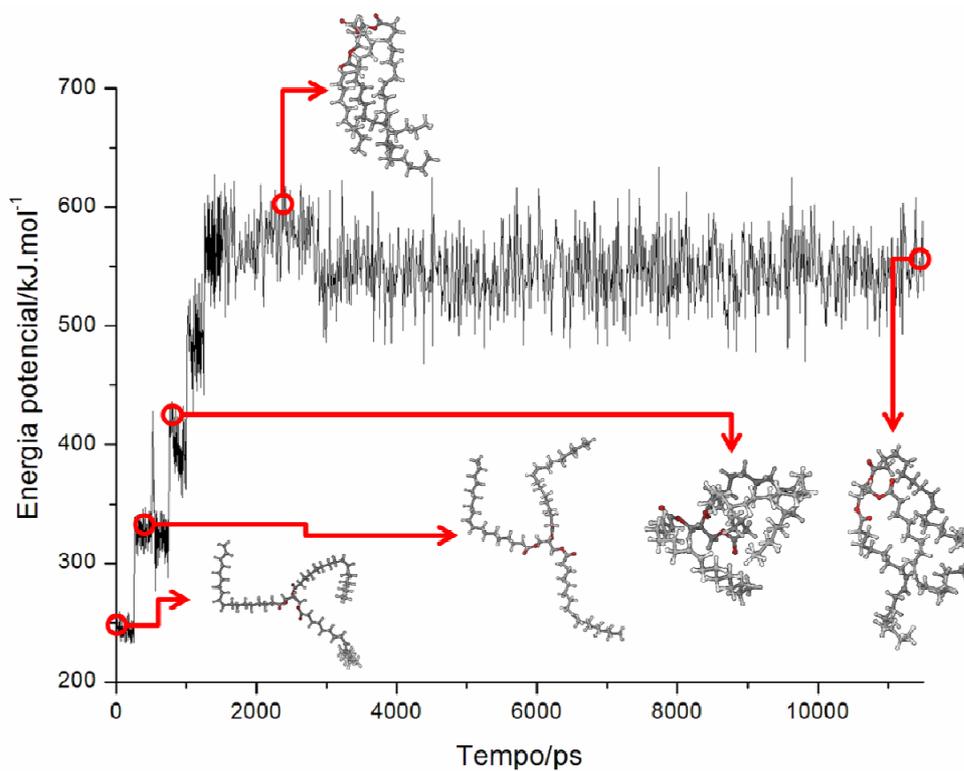


Figura 35. Estruturas geradas ao longo da DM do TOG evidenciando a busca por uma estrutura com um valor de energia próximo à média da fase de análise das médias.

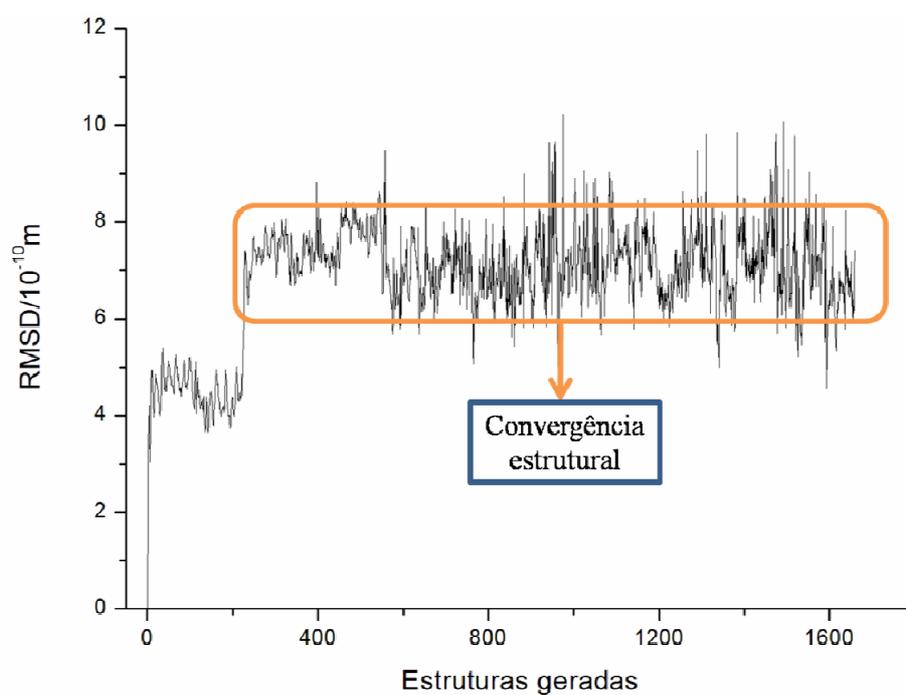


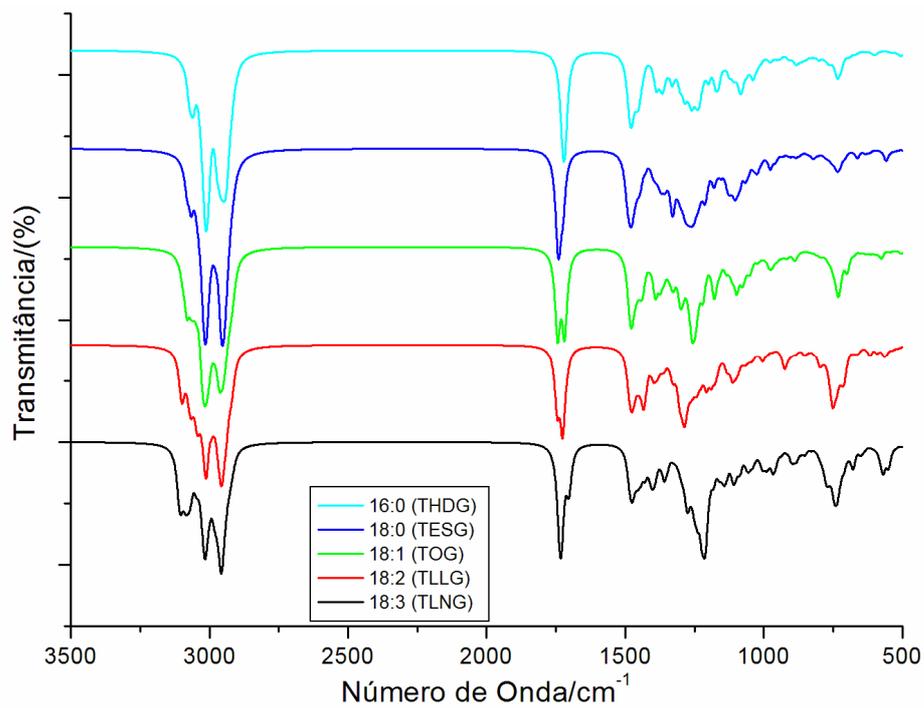
Figura 36. Análise de RMSD para a DM do TLNG evidenciando a convergência estrutural.

3.4.2. Análise espectroscópica no infravermelho

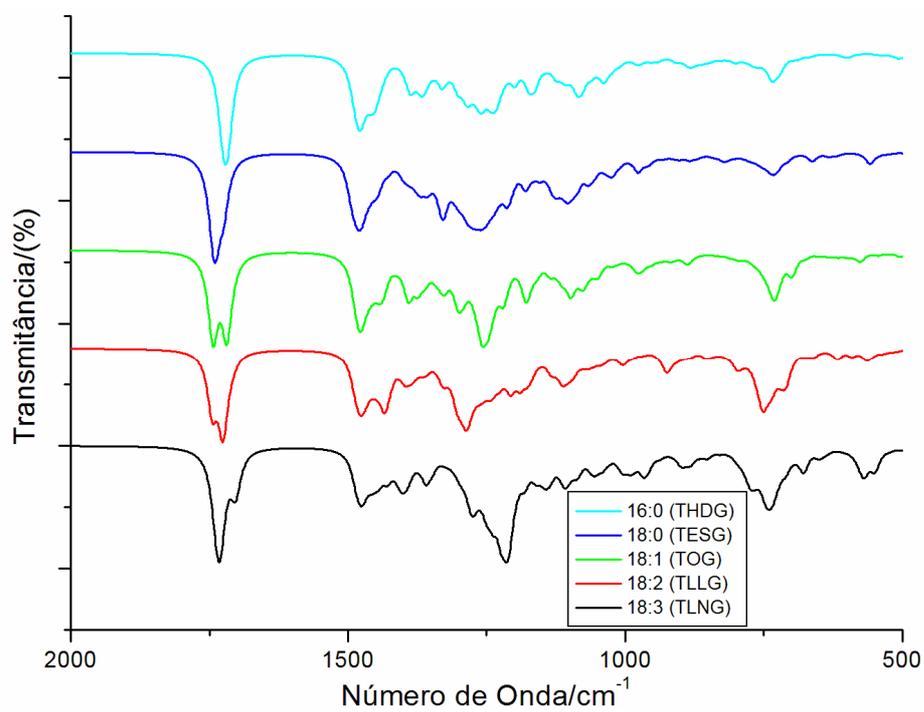
Os espectros infravermelho (IV) teóricos foram obtidos para todos os compostos apresentados na Tabela 18. Nesta, as representações relativas às cadeias são dadas pelo número de carbonos da cadeia seguido do número de insaturações da mesma (Exemplo: 18:2 – cadeia de dezoito carbonos com duas insaturações). O ajuste dos espectros a partir das intensidades e números de onda obtidos para os modos normais de vibração foram efetuados através do ajuste de uma função do tipo Lorentziana (Equação 2.76) utilizando os parâmetros de largura da banda à meia altura e concentração iguais a, respectivamente, 15 cm^{-1} e $1 \times 10^{-5} \text{ mol.cm}^{-3}$.

Os espectros obtidos para os TG (Figura 37a) apresentam bandas bem estabelecidas e comuns a todos os compostos trabalhados na região compreendida entre 3200 cm^{-1} e 2800 cm^{-1} (bandas relativas aos modos de estiramento da ligação C-H de olefinas e estiramentos simétrico e assimétrico do grupo CH_2). Sendo assim, a região de interesse para a análise espectroscópica se concentra entre 2000 cm^{-1} e 500 cm^{-1} , conforme evidenciado na Figura 37b, uma vez que apresenta as principais distinções entre os TG analisados.

Na região espectral próxima a 1750 cm^{-1} verificam-se características distinguíveis entre os espectros IV das moléculas estudadas. Notam-se desdobramentos das bandas relativas ao estiramento da ligação C=O – $\nu(\text{C=O})$ – nos espectros obtidos para os compostos insaturados. Esta constatação deve se valer ao enovelamento das cadeias insaturadas que conferem pequenas diferenças nos números de onda atribuídos a cada uma das três carbonilas dos TG que possuem cadeias olefínicas. Vale ressaltar que as intensidades calculadas das bandas de estiramento da ligação C=C apresentam valores relativos de 50 a 200 vezes menores (em relação à teoria e aos experimentos) que aqueles relativos aos estiramentos C=O fato que inviabiliza a atribuição das bandas observadas a este modo vibracional. A frequência correspondente ao modo $\nu(\text{C=O})$ vai ao encontro do valor da literatura (SILVERSTEIN *et al.*, 1979) para ésteres ($1750\text{-}1735 \text{ cm}^{-1}$). Para olefinas lineares não conjugadas, bandas de absorção com intensidade moderada a fraca são esperadas entre $1667\text{-}1640 \text{ cm}^{-1}$ atribuídas ao estiramento da ligação C=C. A frequência deste modo é superestimada no modelo teórico em função, principalmente, do uso da aproximação harmônica. Entretanto, de uma forma geral, as previsões na região compreendida entre $1500\text{-}2000 \text{ cm}^{-1}$ estão em satisfatório acordo com as informações experimentais para os correspondentes grupos funcionais.



(a)



(b)

Figura 37. Espectro IV completo dos TG estudados (a) e respectiva expansão na região compreendida entre 2000 cm^{-1} e 500 cm^{-1} (b).

A região compreendida entre 1500 cm^{-1} e 1000 cm^{-1} apresenta algumas bandas com intensidades moderadas e com valores muito próximos quando comparamos os espectros das cinco espécies de TG e que, portanto, são de difícil caracterização, tais como as que aparecem em torno de 1470 cm^{-1} (relativas à deformação angular simétrica no plano para $\text{CH}_2 - \delta_s(\text{CH}_2)$ – e à deformação angular assimétrica de $\text{CH}_3 - \delta_{as}(\text{CH}_3)$). Valores experimentais médios para as frequências dos modos de deformação angular de grupamentos metileno – $\delta_s(\text{CH}_2)$ (deformação angular “tesoura”) – são observados em regiões próximas a 1465 cm^{-1} . Para $\delta_{as}(\text{CH}_3)$ as bandas experimentais relativas a este modo são observadas em regiões próximas a 1450 cm^{-1} . Para os análogos insaturados, os modos de deformação angular relativos aos hidrogênios ligados à olefinas ($\text{C}=\text{C}-\text{H}$) foram calculados na região de $1200\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ sendo normalmente observados nas proximidades de 1416 cm^{-1} . As bandas relativas ao estiramento assimétrico tricentrado $\nu_{as}[\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{OCH}_2]$; apresentam-se entre 1210 cm^{-1} e 1259 cm^{-1} com intensidades relativas consideráveis. A localização desta banda em uma faixa restrita do espectro, aliada à intensidade satisfatória, contribui significativamente para a identificação desta classe de compostos, independente da presença de insaturações.

Abaixo de 1000 cm^{-1} , são observadas bandas próximas a 1000 cm^{-1} e 750 cm^{-1} para os três derivados insaturados. Estas são atribuídas às vibrações de deformação angular assimétrica – $\tau(\text{C}-\text{H}$ olefínico) e simétrica – $\omega(\text{C}-\text{H}$ olefínico) –, respectivamente, fora do plano para C-H olefínico. Este modo é característico de olefinas e normalmente observado entre $1000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$. A identificação das bandas relativas a tais modos serve, tão somente, como guia para a diferenciação de compostos saturados e insaturados, uma vez que atribuições mais completas nesta região espectral carecem de uma análise mais detalhada.

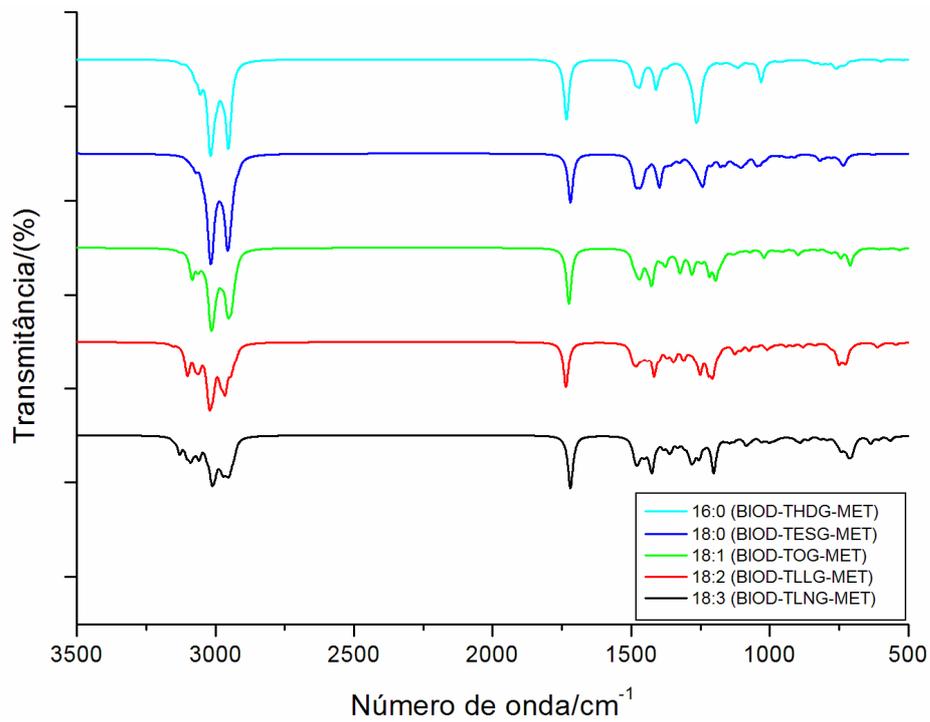
As frequências e atribuições das principais bandas de absorção reconhecidas na região entre $2000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ encontram-se na Tabela 19. A análise dos espectros infravermelho teóricos fornece uma distinção bem definida entre os TG saturados e insaturados, uma vez que aponta a existência de bandas de diferenciação específicas para cada uma dessas classes de compostos. Uma diferenciação entre as cinco espécies analisadas, entretanto, não se traduz em uma tarefa trivial, sendo pois, necessária uma análise via métodos multivariados de análise ou modelos baseados em redes neurais. A complexidade se deve à grande semelhança química entre as estruturas de TG trabalhadas e, conseqüentemente, ao perfil muito parecido dos espectros obtidos para as mesmas.

Tabela 19. Frequências vibracionais (em cm^{-1}) e atribuições de algumas bandas características no IV para os TG estudados.

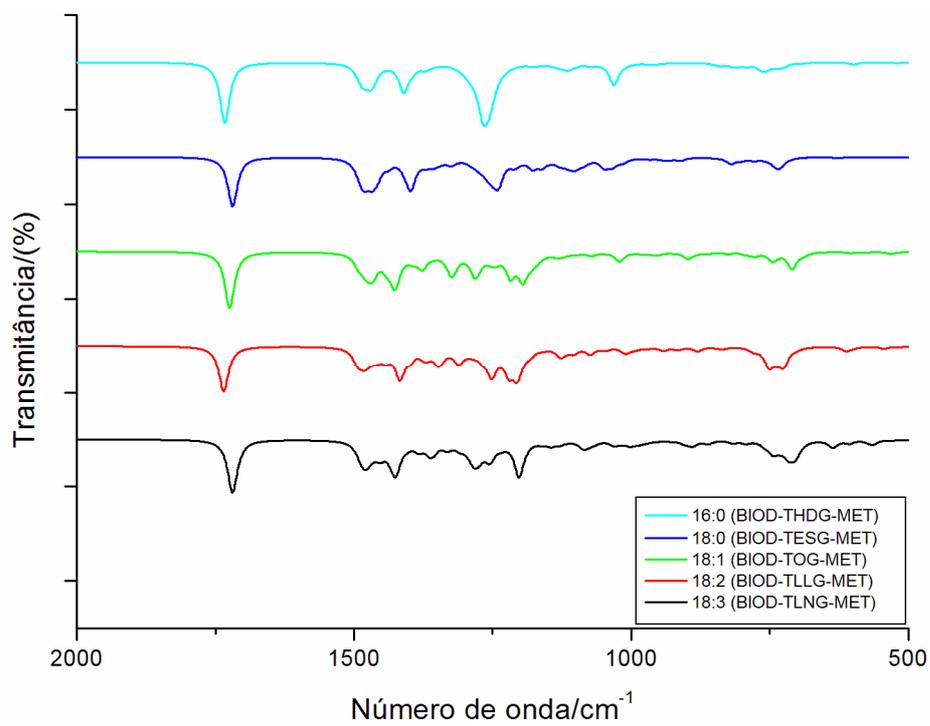
Atribuição	THDG (16:0)	TESG (18:0)	TOG (18:1)	TLLG (18:2)	TLNG (18:3)
$\nu(\text{C}=\text{O}$ éster)	1720	1740	1719/1743	1726/1743	1705/1732
$\nu(\text{C}=\text{C})$	-	-	1706-1726	1704-1722	1705-1730
$\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)/\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$	1478	1479	1477	1434-1476	1475
$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	1410	1397	1393-1427	1417	1424
$\delta_{\text{as}}(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	1407	1407	1408
$\delta_{\text{s}}(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	1256	1249	1275-1282
$\nu_{\text{as}}[\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{OCH}_2]$	1259	1249	1219	1227	1210
$\nu(\text{C-O}$ éster)	1038	1053	1076	1004-1044	1052
$\tau(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	978	1001	985-999
$\omega(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	700	710-719	710-723

Para os EAG investigados (Figura 38 e 39), as vibrações de estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ foram previstas em frequências contidas na região compreendida entre $1714\text{-}1735\text{ cm}^{-1}$, conforme esperado. Nos derivados insaturados, verifica-se uma sobreposição das bandas relativas a $\nu(\text{C}=\text{C})$ e $\nu(\text{C}=\text{O})$ que não ocorre para os triglicerídeos. Esta constatação converge para o argumento apresentado anteriormente de que o desdobramento verificado próximo a $1730\text{-}1740\text{ cm}^{-1}$ no espectro dos TG (Figura 37) se relaciona com a presença de três grupos carbonílicos com frequências vibracionais ligeiramente distintas. Isto, possivelmente, deve-se ao enovelamento gerado pela presença de insaturações nas cadeias dos TG que gera pequenas diferenças na localização das bandas associadas ao modo $\nu(\text{C}=\text{O})$.

Na região entre 1500 cm^{-1} e 1000 cm^{-1} , o perfil do espectro é relativamente sensível para os EMAG e EEAG considerados. Para todos os compostos trabalhados, duas bandas muito próximas e de média intensidade localizadas entre $1430\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ foram verificadas; as mesmas se relacionam aos modos de deformação angular simétrica no plano de CH_2 – $\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$ – e deformação assimétrica de CH_3 – $\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)$. Na região próxima a 1400 cm^{-1} verifica-se uma banda larga que conta com contribuições diversas e que é detectável para todos os compostos estudados. Em geral, esta banda apresenta contribuições das deformações simétrica de CH_3 – $\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$ – e assimétrica de C-H olefínico no plano – $\delta_{\text{as}}(\text{C-H}$ olefínico).

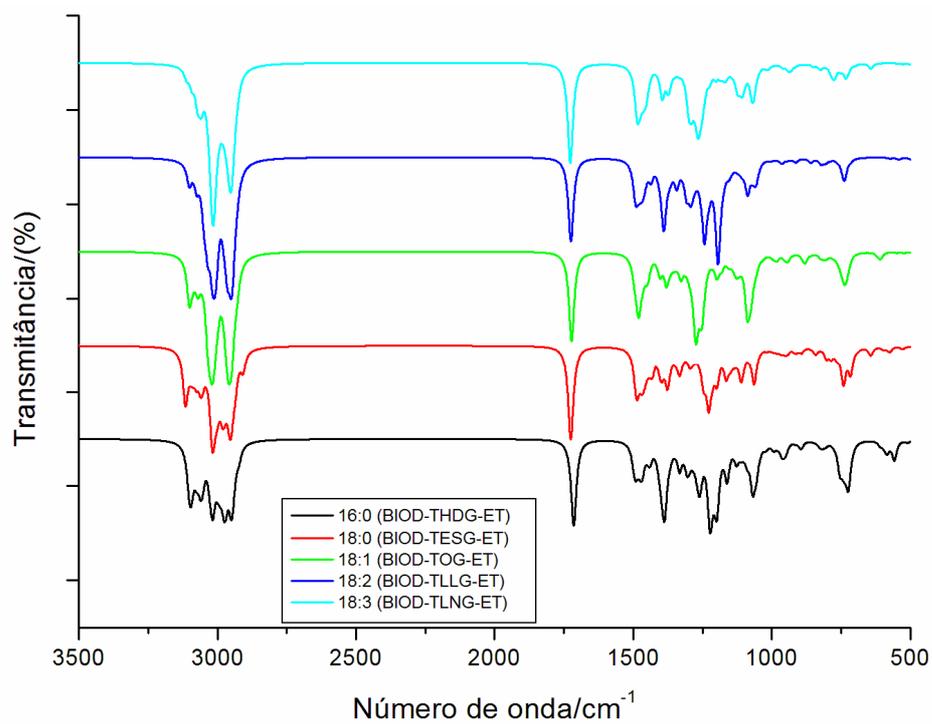


(a)

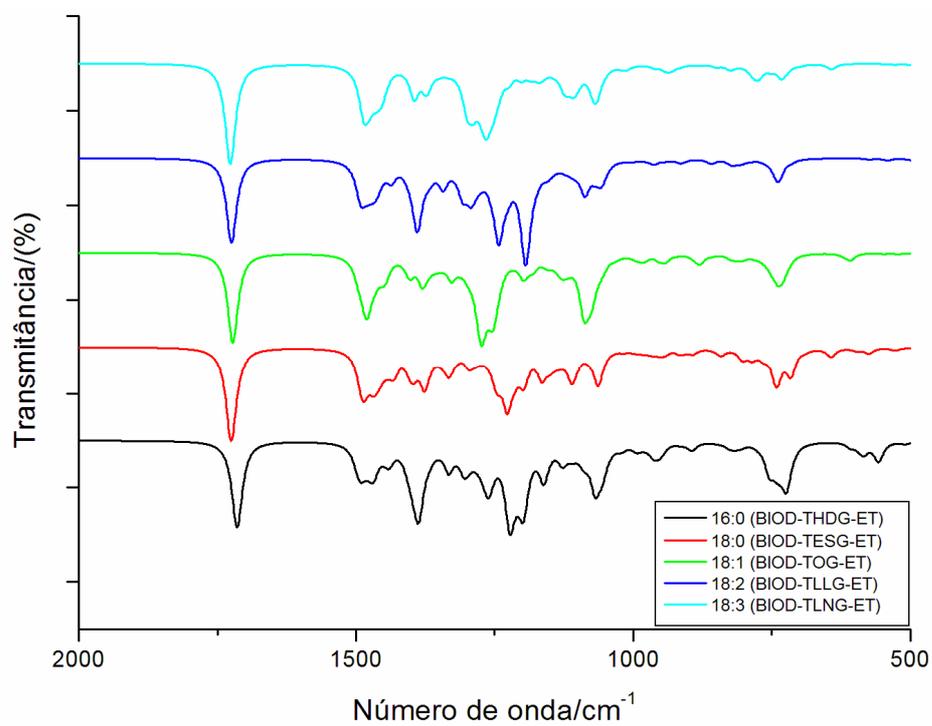


(b)

Figura 38. Espectro IV completo dos EMAG estudados (a) e respectiva expansão na região compreendida entre 2000 cm^{-1} e 500 cm^{-1} (b).



(a)



(b)

Figura 39. Espectro IV completo dos EEAG estudados (a) e respectiva expansão na região compreendida entre 2000 cm^{-1} e 500 cm^{-1} (b).

As maiores intensidades verificadas para os derivados insaturados como um todo, devem-se às contribuições aditivas das $\delta_{as}(\text{C-H olefínico})$. As bandas que aparecem próximas a 1250 cm^{-1} apresentam-se associadas às deformações angulares assimétricas e simétricas fora do plano para $\text{CH}_2 - \tau(\text{CH}_2)$ e $\omega(\text{CH}_2)$, respectivamente –, com intensidades medianas, e ao estiramento assimétrico associado ao grupamento funcional de ésteres ($v_{as}[\text{CH}_2(\text{C=O})\text{OCH}_3]$), os quais apresentam intensidades moderadas. Este modo, em particular, apresenta um leve deslocamento para maiores números de onda no caso dos derivados etílicos, fato que promove um ponto de interesse na análise espectral visando a diferenciação dos derivados etílico e metílico. Para ésteres tal banda é esperada em regiões próximas a 1200 cm^{-1} . Outra banda que merece atenção é a localizada próxima a $1000\text{-}1090 \text{ cm}^{-1}$, relativa ao estiramento da ligação C-O de ésteres. Nota-se que, em geral, para os EEAG as intensidades destas bandas apresentam-se maiores frente àquelas registradas para os EMAG. Além disso, para os derivados etílicos, verifica-se uma pequena banda associada à deformação angular de $\text{CH}_2 - \tau(\text{CH}_2)$ – e $\text{CH}_3 - \delta_{as}(\text{CH}_3)$ – do grupamento etílico do éster próxima a $1100\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$.

Os espectros calculados para os derivados insaturados (18:1, 18:2 e 18:3) apresentam características singulares na região compreendida entre 1150 cm^{-1} e 1300 cm^{-1} , aproximadamente. Nesta faixa espectral, surgem bandas relacionadas aos modos de deformação angular simétrico no plano para $\text{C=C-H} - \delta_s(\text{C-H olefínico})$ – ($1246\text{-}1275 \text{ cm}^{-1}$). Esta região permite uma distinção mais evidente entre compostos saturados e insaturados a partir de espectros IV. Na região de baixa frequência, os modos mais importantes são atribuídos às deformações angulares fora do plano dos grupamentos $\text{C=C-H} - \tau(\text{C-H olefínico})$ e $\omega(\text{C-H olefínico})$. Estas frequências características calculadas para os derivados insaturados apresentam-se na região de $1000\text{-}700 \text{ cm}^{-1}$. Os comentários efetuados anteriormente apresentam-se de maneira organizada nas Tabelas 20 e 21 referentes aos ésteres de ácido graxo metílicos e etílicos.

As conclusões obtidas através da análise dos espectros dos TG, EMAG e EEAG isolados permitiram uma distinção entre o perfil espectral de compostos saturados e insaturados, em virtude da presença de bandas características de derivados com estas naturezas químicas. Além disso, algumas diferenças relativas ao perfil dos espectros de EMAG e EEAG foram notadas. Para evidenciar tais diferenças foram simulados alguns espectros teóricos de derivados saturados, insaturados, EMAG e EEAG, a partir dos principais constituintes do óleo de soja.

Tabela 20. Frequências vibracionais (em cm^{-1}) e atribuições de algumas bandas características no IV para os EMAG estudados.

Atribuição	BIOD- THDG-MET (16:0)	BIOD- TESG-MET (18:0)	BIOD- TOG-MET (18:1)	BIOD- TLLG-MET (18:2)	BIOD- TLNG-MET (18:3)
$\nu(\text{C}=\text{O}$ éster)	1733	1719	1724	1735	1719
$\nu(\text{C}=\text{C})$	-	-	1725	1716-1722	1704-1715
$\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)/\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$	1467-1494	1458-1491	1459-1492	1441-1495	1453-1489
$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	1410	1398	1427	1417	1426
$\delta_{\text{as}}(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	1410	1400	1402-1407
$\delta_{\text{s}}(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	1258-1275	1264-1273	1256
$\nu_{\text{as}}[\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{OCH}_2]$	1266	1240	1195	1207	1202
$\nu(\text{C-O}$ éster)	1031	1048	1020	1009	1002
$\tau(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	975-992	980-991	974-990
$\omega(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	709	724-751	704-716

Tabela 21. Frequências vibracionais (em cm^{-1}) e atribuições de algumas bandas características no IV para os EEAG estudados.

Atribuição	BIOD- THDG-ET (16:0)	BIOD- TESG-ET (18:0)	BIOD- TOG-ET (18:1)	BIOD- TLLG-ET (18:2)	BIOD- TLNG-ET (18:3)
$\nu(\text{C}=\text{O}$ éster)	1727	1725	1722	1725	1714
$\nu(\text{C}=\text{C})$	-	-	1714	1702-1713	1704-1715
$\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)/\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$	1447-1487	1458-1494	1446-1495	1431-1491	1439-1497
$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	1394	1397	1402	1397	1403
$\delta_{\text{as}}(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	1402	1397	1404-1407
$\delta_{\text{s}}(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	1264	1246	1253
$\nu_{\text{as}}[\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{OCH}_2]$	1265	1194	1255	1227	1198-1221
$\nu(\text{C-O}$ éster)	1068	1048	1088	1063	1067
$\tau(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	982	962-981	990-996
$\omega(\text{C-H}$ olefínico)	-	-	737	716	725

Os ajustes dos espectros simulados foram efetuados conforme a Equação 3.7; as transmitâncias (T_i) obtidas nos cálculos dos espectros IV teóricos de cada componente (i) do biodiesel, são multiplicadas por uma fração molar (χ_i) correspondente obtida da literatura (KNOTHE *et al.*, 2006). Tais transmitâncias ponderadas são então somadas, resultando na transmitância da mistura (T_t).

$$T_t = \sum_i^n \chi_i \cdot T_i \quad (3.7)$$

As regiões destacadas na Figura 40 ressaltam as diferenças mais evidentes encontradas entre espectros de misturas distintas contendo somente TG saturados (Mistura A) e insaturados (Mistura B). Na região próxima a 1700 cm^{-1} – $\nu(\text{C}=\text{O})$ –, podemos atribuir as diferenças entre os dois espectros ao desdobramento gerado pela presença dos três grupos $\text{C}=\text{O}$ nos TG insaturados, conforme justificado anteriormente. Analisando a faixa assinalada entre 1300 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} , percebe-se que a diferença quanto à intensidade dos dois picos assinalados possui relação com as deformações angulares simétricas no plano, inerentes ao $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ olefínico – $\delta_s(\text{C}-\text{H}$ olefínico). Tal fato também se verifica para a região compreendida entre 760 cm^{-1} e 700 cm^{-1} , na qual as deformações angulares simétricas do $\text{C}-\text{H}$ olefínico fora do plano – $\omega(\text{C}-\text{H}$ olefínico) – se mostram ligadas às diferenças percebidas no comparativo dos espectros.

Na Figura 41 encontram-se os espectros relativos às misturas de EMAG e EEAG derivados de óleo de soja contendo predominantemente derivados saturados e insaturados em cada caso. As regiões espectrais assinaladas em azul claro destacam as principais diferenças entre misturas de derivados metílicos saturados e insaturados. As regiões marcadas em lilás correspondem às diferenças entre os compostos etílicos saturados e insaturados. Nestas comparações tornam-se evidentes as diferenças entre quatro principais regiões do espectro. A primeira, próxima a 1400 cm^{-1} traduz a presença de insaturações nos derivados insaturados – $\delta_{as}(\text{C}-\text{H}$ olefínico) –, além de apresentar contribuições relativas à deformação angular simétrica de CH_3 – $\delta_s(\text{CH}_3)$ – e de CH_2 fora do plano – $\omega(\text{CH}_2)$ – para todas as misturas. A região destacada próxima a $1200\text{-}1300 \text{ cm}^{-1}$ aponta novamente diferenças relacionadas às insaturações presente nas misturas do tipo B relacionadas ao modo $\delta_s(\text{C}-\text{H}$ olefínico), responsáveis pelas maiores intensidades verificadas nesta região.

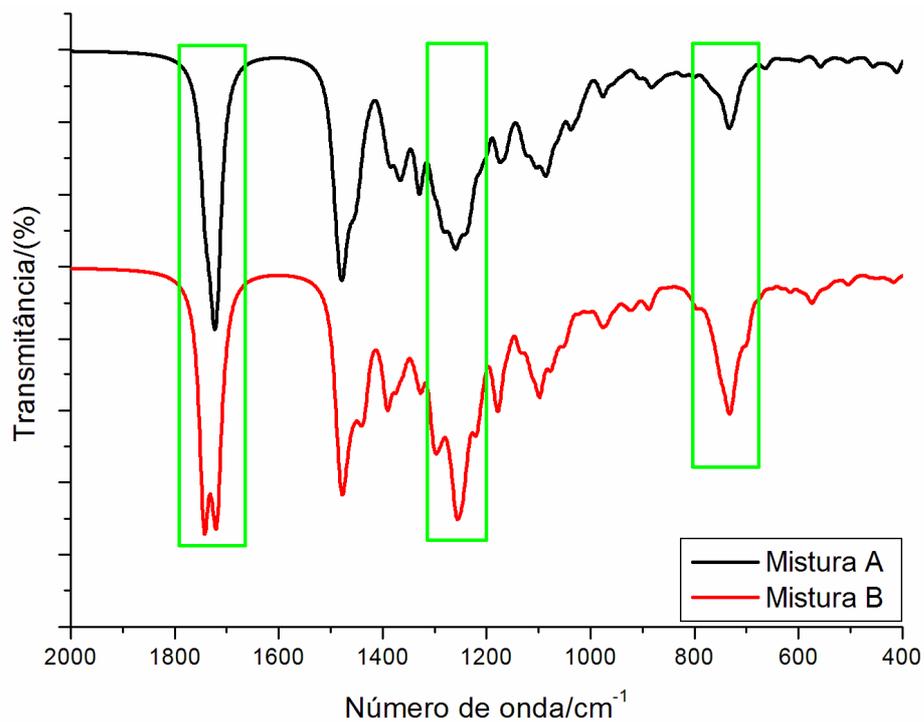


Figura 40. Espectros IV correspondentes a misturas de TG entre 2000-400 cm^{-1} nas proporções (A) 16:0 (60%), 18:0 (40%) e (B) 18:1 (72%), 18:2 (22%) e 18:3 (6%).

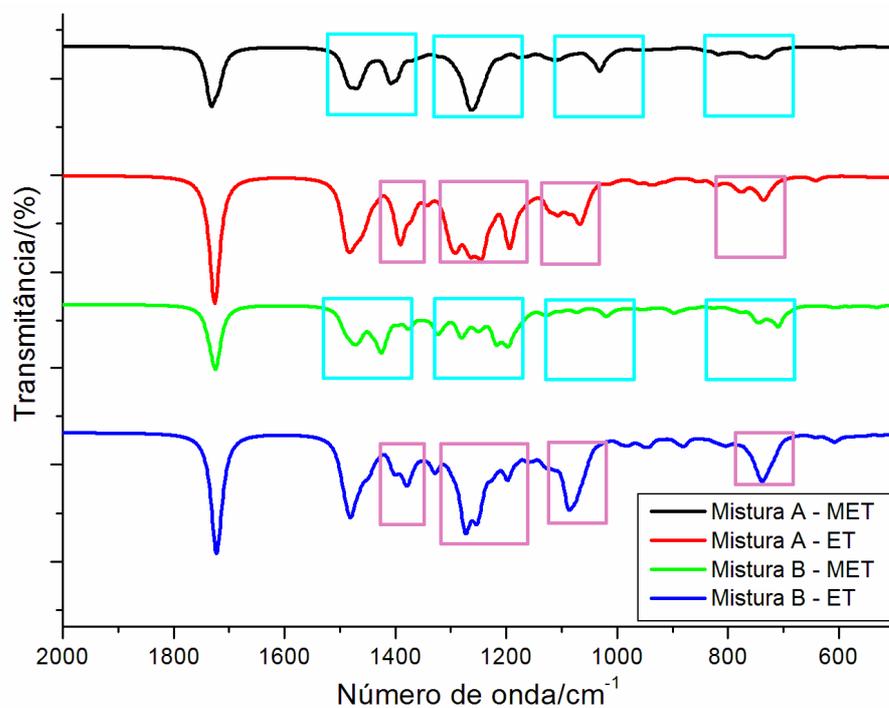
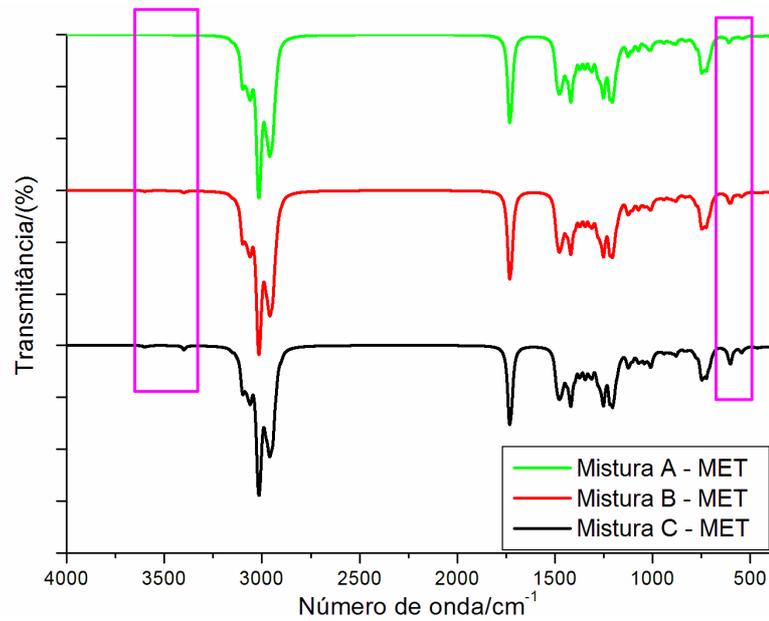


Figura 41. Espectros IV correspondentes à mistura de EMAG e EEAG nas proporções (A) 16:0 (60%), 18:0 (40%) e (B) 18:1 (72%), 18:2 (22%) e 18:3 (6%).

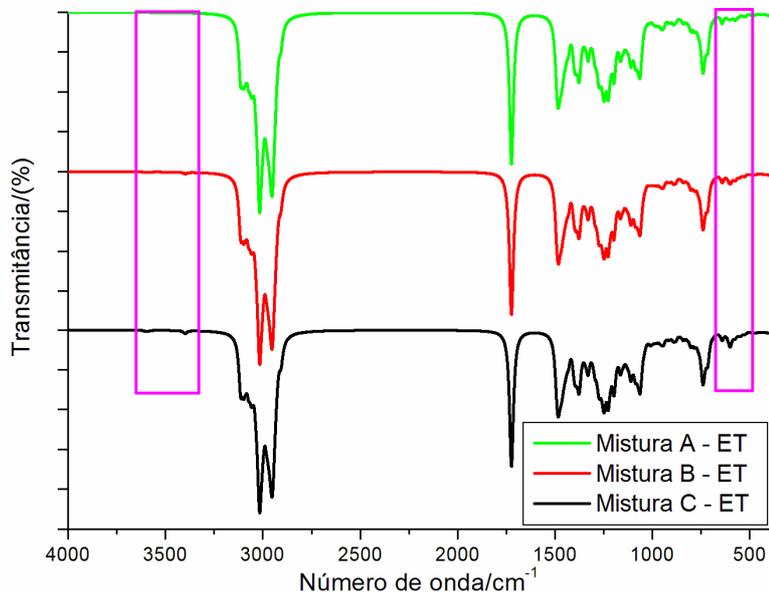
Para os derivados etílicos nota-se uma maior intensidade das bandas nesta região em relação aos derivados metílicos. O modo vibracional que mais contribui para a transmitância relativamente pequena verificada é aquele comum a todos os compostos trabalhados – $\nu_{\text{as}}[\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{OCH}_3]$. Entre $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ verifica-se uma banda associada ao estiramento C-O de ésteres – $\nu(\text{C-O éster})$ – e ao estiramento assimétrico alifático ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ – $\nu_{\text{as}}(\text{CCC})$), geralmente observado entre 800 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} . Esta última atribuição pode explicar as diferenças registradas nos perfis espectrais, uma vez que cadeias carbônicas insaturadas se apresentam como ambientes químicos diferentes para as deformações da estrutura, traduzindo-se em pequenas alterações na região de absorção da luz IV. A referida banda se verifica com uma intensidade acentuada nos EEAG frente aos EMAG. Por fim, entre 700 cm^{-1} e 800 cm^{-1} , verifica-se uma última região de diferenciação que se intensifica com o aumento do número de insaturações presentes nas misturas, em função do modo vibracional $\omega(\text{C-H olefínico})$.

Além do propósito da identificação dos componentes saturados e insaturados do biodiesel, o uso da teoria como técnica auxiliar pode ainda contribuir para a identificação de impurezas, tais como, óleo cru (TG) e glicerol (subproduto da reação de transesterificação – método mais utilizado para a produção de biodiesel (GERIS *et al.*, 2007; MA & HANNA, 1999; SCHUCHARDT *et al.*, 1998), ponto importante a ser analisado, já que as propriedades físicas de tais impurezas não são compatíveis com aquelas adequadas para motores do Ciclo Diesel (DEMIRBAS, 2002; GERIS *et al.*, 2007; SCHUCHARDT *et al.*, 1998; SUAREZ *et al.*, 2007). A Figura 42 apresenta seis espectros de uma mesma composição de EMAG e EEAG – baseada na composição de TG do óleo de soja –, sendo que quatro deles mimetizam a contaminação da mistura por triglicerídeos e glicerina. Na Figura 43, verificamos também o espectro calculado para o glicerol seguindo os mesmos protocolos utilizados para os TG e EAG. Como podemos perceber pelos espectros, diferenças não são percebidas com relação à contaminação do biodiesel por quantidades pequenas de óleo cru. Este resultado já era esperado, uma vez que os espectros de TG e EAG se assemelham muito, haja vista a grande semelhança química. O resultado que chama maior atenção é aquele derivado da adição de glicerol aos espectros simulados. Como se pode perceber pelas regiões assinaladas nos espectros, duas bandas de grande intensidade derivadas do glicerol possibilitam a avaliação quanto a uma possível contaminação do biodiesel; uma em 3400 cm^{-1} e outra em 601 cm^{-1} . A primeira, embora seja perceptível, não apresenta uma nitidez que possibilite uma análise quantitativa. Entretanto, a segunda banda relatada além de apresentar uma grande intensidade, localiza-se em uma região do espectro dos TG e EAG que não apresenta bandas

características destes. No caso dos derivados etílicos (EEAG) percebe-se que esta banda característica do glicerol apresenta uma intensidade relativa menor, todavia, esse não chega a ser um fator limitante para uma possível análise qualitativa dos espectros.



(a)



(b)

Figura 42. Espectros IV de misturas de EMAG (a) e EEAG (b) de acordo com as composições: (A) 16:0 (6%), 18:0 (4%), 18:1 (25%), 18:2 (50%) e 18:3 (5%); (B) 16:0 (6%), 18:0 (4%), 18:1 (25%), 18:2 (50%), 18:3 (5%), 1% de THDG, TESH, TOG, TLLG e TLNG e 5% de glicerol e (C) 16:0 (6%), 18:0 (4%), 18:1 (25%), 18:2 (50%), 18:3 (5%) e glicerol (10%).

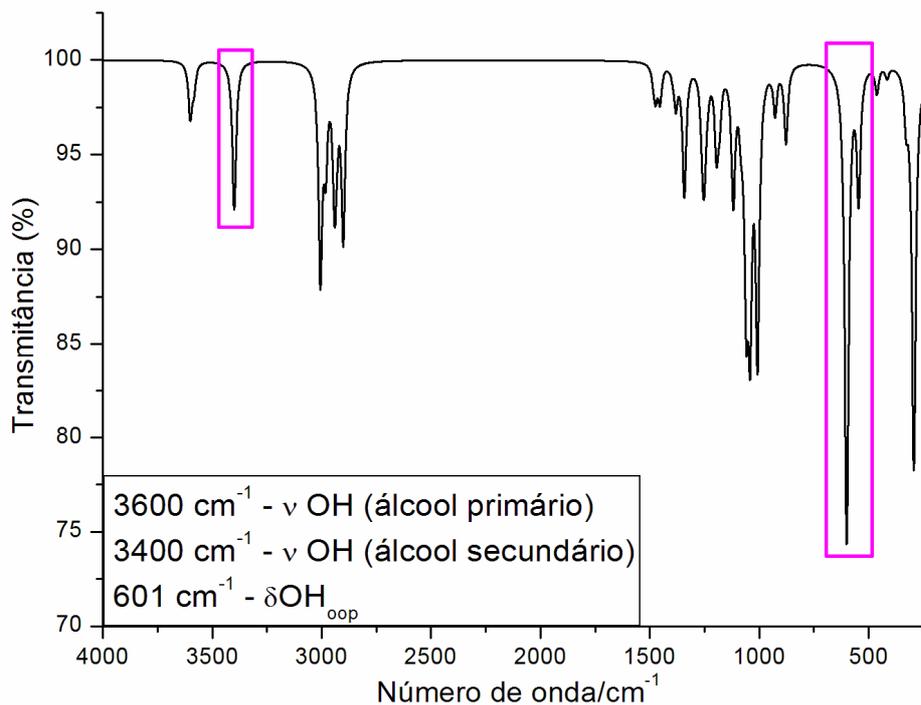


Figura 43. Espectro IV calculado para o glicerol evidenciando as principais bandas detectáveis em uma mistura com EAG.

O intento de comparação entre os espectros teóricos e experimentais visa uma possibilidade de análise de baixo custo com uma reprodutibilidade adequada partindo de um padrão confiável. No campo da metrologia voltada para biocombustíveis esse é um objetivo iminente. Dessa forma, faz-se necessário que o modelo teórico traduza bem a realidade verificada pelos espectros. Na Figura 44, podemos notar o quão fidedignos se apresenta um espectro obtido através de um modelo teórico frente ao experimental. Embora os perfis apresentem leves distorções é importante notar que as principais bandas apresentadas neste estudo são detectáveis. Os diferentes valores relativos das transmitâncias também notados se traduzem em um fator menor, uma vez que dependem muito do sistema experimental utilizado. Tais desvios devem ser interpretados à luz das considerações acerca dos possíveis efeitos de matriz inseridos nas medidas experimentais e, evidentemente, das aproximações do modelo teórico. As considerações relativas aos espectros teóricos se utilizando de um modelo bem definido servem de base para um melhor conhecimento e interpretação de espectros experimentais de difíceis atribuições. A partir de estudos exploratórios tal como o apresentado neste trabalho, pode-se vislumbrar a prospecção de um modelo útil de análise pautado em informações teóricas.

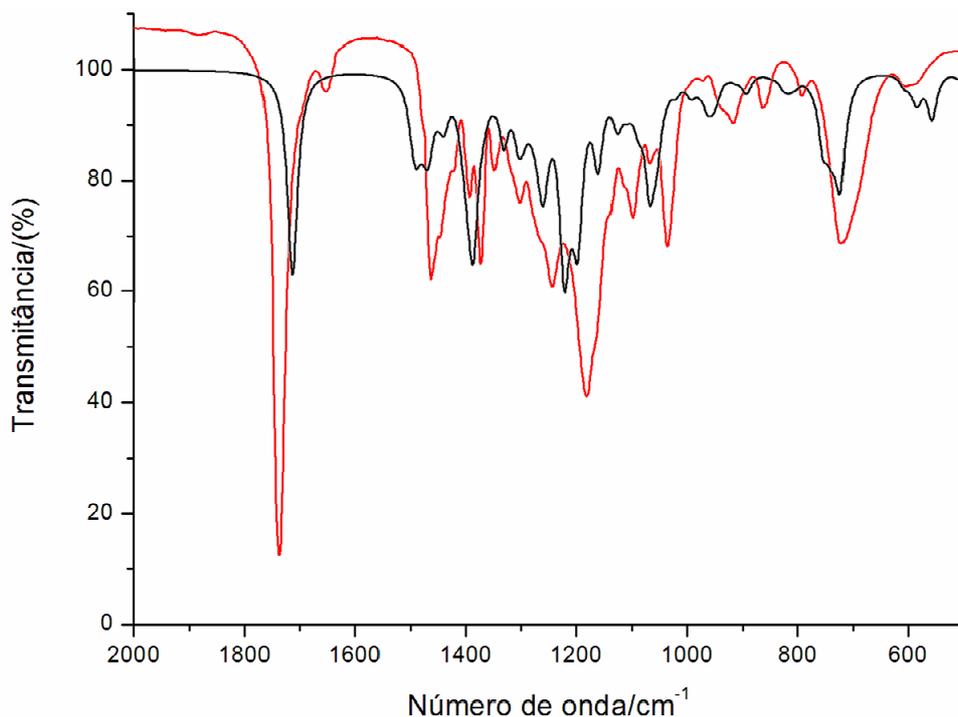


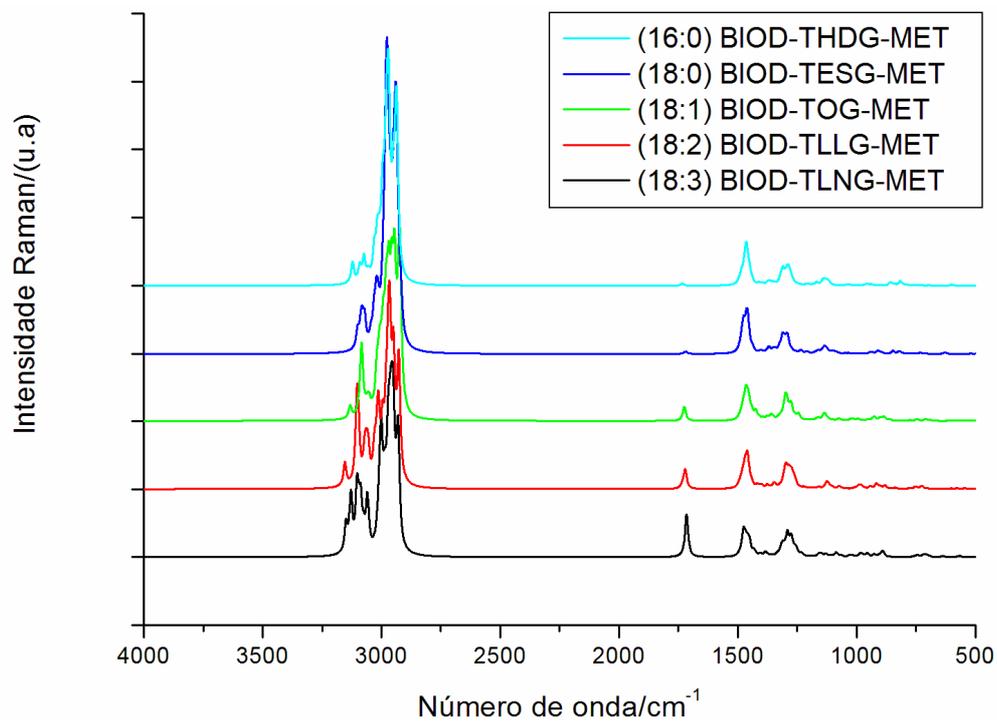
Figura 44. Comparação entre os espectros teórico (em preto) e experimental (em vermelho) para o linolenato de etila (18:3).

3.4.3. Análise espectroscópica Raman

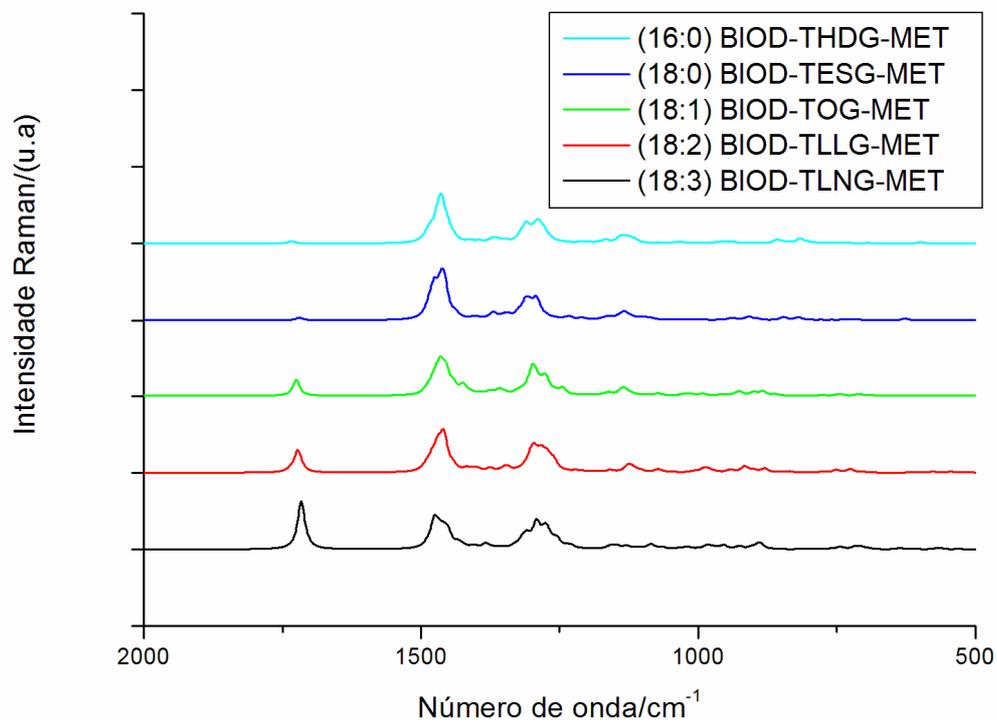
O foco das análises vibracionais apresentado anteriormente serve de motivação tanto para a análise dos espectros IV teóricos, quanto para a análise dos espectros Raman. Ambas as técnicas atuam de maneira complementar na busca por evidências que permitam uma identificação dos compostos a que se propõem. No caso da análise aplicada a biocombustíveis, o intento inicial considerando a espectroscopia IV se deve ao baixo custo da mesma aliada à possibilidade de utilização de aparelhos portáteis para a verificação da qualidade de combustíveis nos postos, oferecendo um resultado instantâneo. Todavia, a espectroscopia Raman apresenta-se como uma alternativa interessante para a análise de misturas combustíveis como o biodiesel, uma vez que fornece um espectro mais limpo e propício às análises de constituintes que apresentam grande semelhança química. Este fato se reflete em uma possibilidade de análise quantitativa para a determinação dos percentuais destes compostos, utilizando para isso, ferramentas de análise multivariada adequadas.

A análise inicial dos espectros Raman obtidos para os EMAG aponta um resultado já verificado via espectroscopia IV; a diferenciação entre derivados saturados e insaturados. Na Figura 45 notam-se três regiões de clara evidência deste fato que coincidem com as regiões de lacuna apresentadas na Tabela 22 para os derivados saturados. Na região compreendida entre 3200-3000 cm^{-1} , verificam-se bandas associadas ao estiramento da ligação C-H em olefinas – $\nu(\text{C-H olefínico})$ – e ao estiramento simétrico da ligação C-H no grupo metílico – $\nu_s(\text{C-H metílico})$. Notadamente, as bandas intensas relativas ao grupo olefínico assumem um importante papel na identificação dos derivados insaturados frente aos saturados. Na região espectral em torno de 1700 cm^{-1} , surge uma banda de especial comportamento. À medida que se aumenta o número de insaturações no EMAG analisado, nota-se um claro aumento da intensidade da banda respectiva. A contribuição dos modos de estiramento das ligações C=C – $\nu(\text{C=C})$ – e C=O – $\nu(\text{C=O éster})$ – se verifica, sendo que o primeiro apresenta uma intensidade consideravelmente maior que o segundo, o que explica as pequenas bandas na referida região para os compostos saturados. Esta banda por possibilitar uma correlação entre a quantidade de insaturações e a intensidade verificada, pode ser utilizada de forma a fornecer informações consistentes a respeito da constituição dos diferentes constituintes insaturados em uma mistura desconhecida. Por fim, nota-se uma banda também sensível à presença de insaturações, próxima a 1250 cm^{-1} . O fato de a mesma contar com contribuições de modos vibracionais relativos a ligações duplas entre carbonos faz com que o perfil e a intensidade da mesma apresentem-se de maneira distinta para os derivados saturados e insaturados. A deformação angular simétrica no plano para C=C-H – $\delta_s(\text{C-H olefínico})$ – contribui para um ligeiro aumento na intensidade desta banda nos derivados insaturados. Além disso, o modo relativo à deformação angular assimétrica fora do plano para CH_2 – $\tau(\text{CH}_2)$ – apresenta contribuição de média intensidade para todos os EMAG analisados.

Os espectros Raman calculados para os derivados etílicos apresentaram um perfil muito semelhante àquele observado para os derivados metílicos (Figura 46). Os comentários relativos às regiões de diferenciação efetuados anteriormente servem da mesma forma para os EEAG. Comparando-se as Tabelas 22 e 23, notam-se as semelhanças nas localizações das principais bandas aferidas. Pequenas diferenças na região próxima a 1250-1300 cm^{-1} são notadas e se referem a modos de baixa intensidade no Raman, relativos ao grupamento éster e também à deformação angular simétrica de CH_3 – $\delta_s(\text{CH}_3)$. No entanto, de modo geral, não existem evidências teóricas de que a técnica de espectroscopia Raman apresente grande aplicabilidade na distinção de misturas envolvendo EMAG e EEAG, uma vez que os espectros obtidos não permitem uma boa distinção entre estas classes de compostos.



(a)



(b)

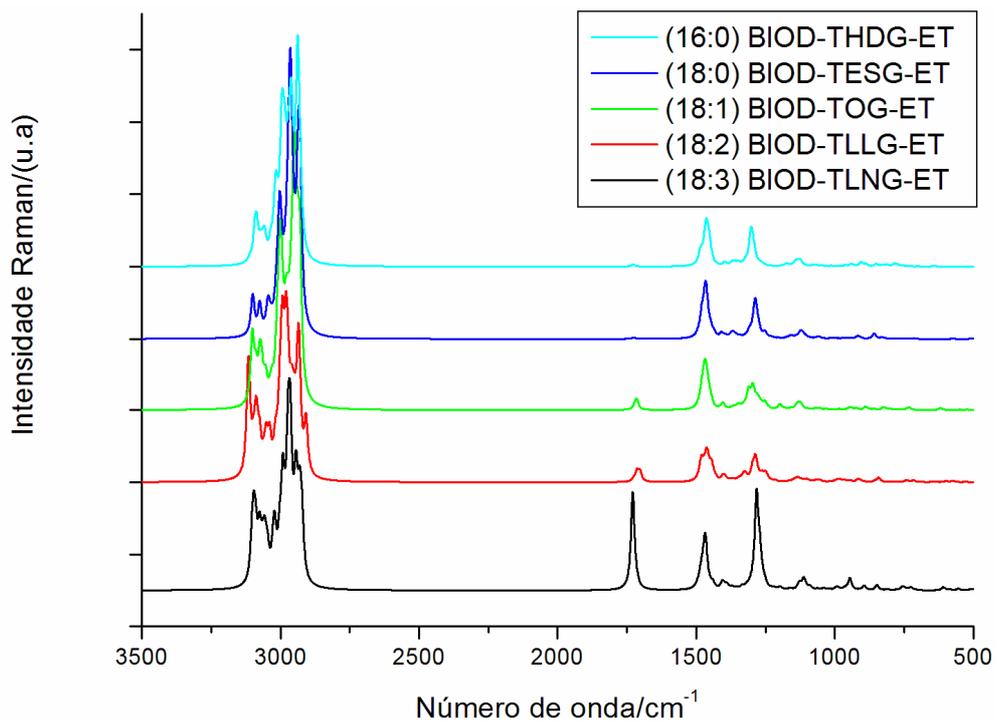
Figura 45. Espectro Raman completo dos EMAG estudados (a) e respectiva expansão na região compreendida entre 2000 cm^{-1} e 500 cm^{-1} (b).

Tabela 22. Frequências vibracionais (em cm^{-1}) e atribuições de algumas bandas características no Raman para os EMAG estudados.

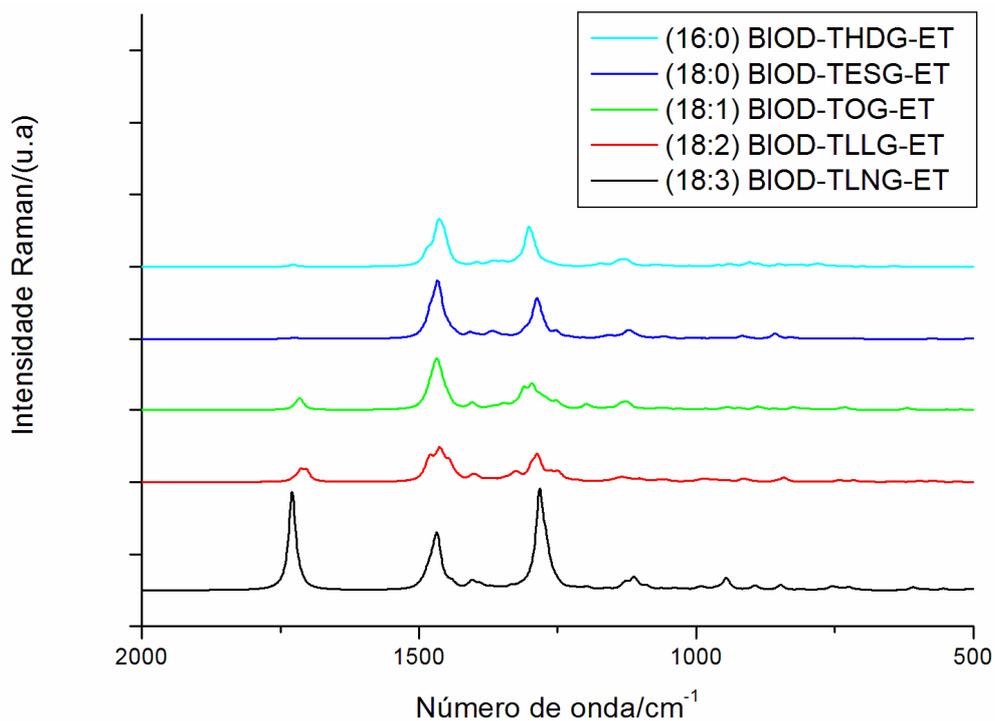
Atribuição	BIOD- THDG-MET (16:0)	BIOD- TESG-MET (18:0)	BIOD- TOG-MET (18:1)	BIOD- TLLG-MET (18:2)	BIOD- TLNG-MET (18:3)
$\nu(\text{C-H olefínico})$	-	-	3086	3101	3103-3128
$\nu_s(\text{C-H metílico})$	2994	2977	2992	3014	3000
$\nu_{as}(\text{H-C-H})$	2977-2989	2982-2994	2981-2991	2995-3014	2986-3000
$\nu(\text{C=O éster})$	1733	1718	1724	1735	1719
$\nu(\text{C=C})$	-	-	1724	1716-1722	1715
$\delta_{as}(\text{CH}_3)/\delta_s(\text{CH}_2)$	1452-1486	1437-1491	1441-1488	1441-1489	1432-1487
$\tau(\text{CH}_2)$	1277-1287	1282-1291	1275-1291	1273-1295	1258-1274
$\delta_s(\text{C-H olefínico})$	-	-	1258-1275	1273-1280	1253-1274
$\nu(\text{C-O éster})$	1031	1048	1020	1009	1002

Tabela 23. Frequências vibracionais (em cm^{-1}) e atribuições de algumas bandas características no Raman para os EEAG estudados.

Atribuição	BIOD- THDG-ET (16:0)	BIOD- TESG-ET (18:0)	BIOD- TOG-ET (18:1)	BIOD- TLLG-ET (18:2)	BIOD- TLNG-ET (18:3)
$\nu(\text{C-H olefínico})$	-	-	3101	3113-3116	3095-3102
$\nu_s(\text{C-H metílico})$	2995	3003	2995	2994	2994
$\nu_{as}(\text{H-C-H})$	3014-3020	2983-2992	2964-2993	2979-2991	2979-2897
$\nu(\text{C=O éster})$	1726	1724	1722	1725	1714
$\nu(\text{C=C})$	-	-	1714	1702-1713	1718-1728
$\delta_{as}(\text{CH}_3)/\delta_s(\text{CH}_2)$	1446-1486	1435-1479	1446-1480	1445-1486	1439-1487
$\tau(\text{CH}_2)$	1294-1302	1281-1291	1282-1299	1286-1297	1283-1296
$\delta_s(\text{C-H olefínico})$	-	-	1264	1261-1268	1271-1289
$\nu(\text{C-O éster})$	1065	1054	1074	1063	1055



(a)



(b)

Figura 46. Espectro Raman completo dos EMAG estudados (a) e respectiva expansão na região compreendida entre 2000 cm^{-1} e 500 cm^{-1} (b).

O propósito de distinção entre derivados saturados e insaturados se ratifica através do comparativo de espectros simulados envolvendo misturas contendo EAG saturados e insaturados, conforme efetuado para os espectros IV. Percebe-se que a verificação do nível de insaturações da mistura se torna claro a partir da análise de uma única banda – $\nu(\text{C}=\text{C})$. A Figura 47 também evidencia a inviabilidade de distinção entre EMAG e EEAG por meio da espectroscopia Raman.

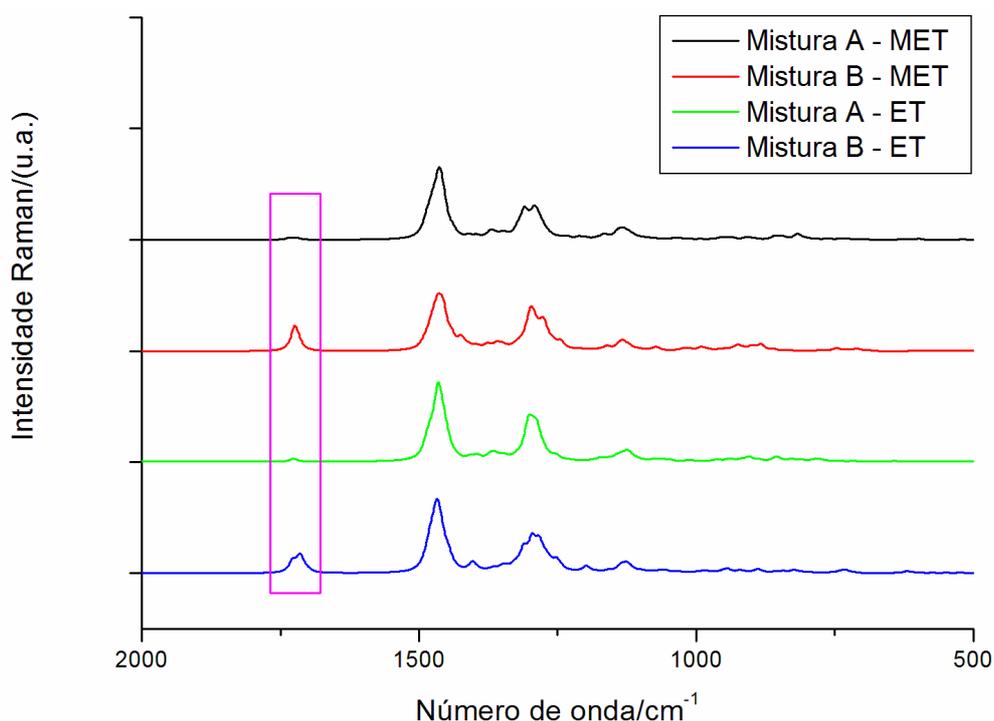


Figura 47. Espectros Raman correspondentes à mistura de EMAG e EEAG nas proporções (A) 16:0 (60%), 18:0 (40%) e (B) 18:1 (72%), 18:2 (22%) e 18:3 (6%).

Outro propósito das análises envolvendo biodiesel concentra-se na busca por métodos capazes de identificar vestígios de óleo vegetal cru (TG) no biodiesel comercial. Tal propósito, porém, não se verifica por meio da espectroscopia Raman, uma vez que os espectros dos TG possuem grande semelhança com os de EAG. Na Figura 48, verifica-se que a principal diferença nítida se concentra na intensidade das bandas que apresentam as mesmas atribuições para os modos normais de vibração. Algumas pequenas perturbações são notadas para o derivado metílico nas regiões das bandas próximas a 1250 cm^{-1} e 1450 cm^{-1} . Estas,

relativas a modos de deformação angular de cadeias alifáticas, entretanto, não podem ser utilizadas para distinção entre os compostos, uma vez que as referidas regiões espectrais apresentam-se muito confusas.

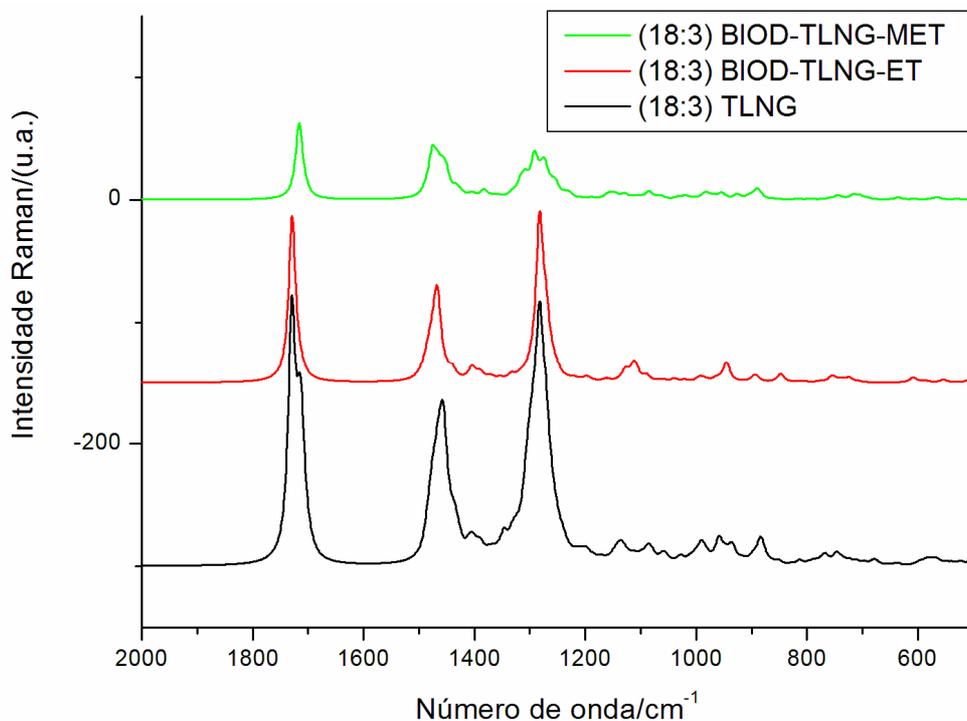


Figura 48. Comparação entre os espectros Raman de um derivado insaturado (18:3) de TG, EMAG e EEAG.

A interpretação dos espectros Raman teóricos confere informações auxiliares importantes para a caracterização de TG e EAG. A distinção entre compostos saturados e insaturados mostrou-se bastante clara e de grande aplicabilidade para a investigação de sistemas reais complexos que necessitam de um parâmetro confiável para o desenvolvimento de técnicas de análise.

4. CONCLUSÕES

4.1. Considerações finais e perspectivas

No presente trabalho foram apresentadas algumas questões relevantes para o ramo de biocombustíveis sob a óptica dos métodos computacionais. Inicialmente foram apresentados estudos primários de DM visando o entendimento de um sistema carente de informações: o complexo de inclusão formado entre triglicerídeos e ciclodextrina. A referida etapa de trabalho procurou determinar alguns parâmetros de DM adequados para tal sistema de forma a propiciar a continuidade das etapas de trabalho propostas. Como resultado, foram obtidos dados relativos às principais variáveis envolvidas na simulação de DM, propiciando a determinação de um protocolo de aquecimento adequado para o tratamento de sistemas do tipo TG@n.α-CD.

Os estudos consecutivos levaram em consideração modelos de inclusão envolvendo TG com cadeias contendo três, seis, nove e doze carbonos, inicialmente. Em seguida, modelos de inclusão considerando TG com cadeias longas foram considerados. As análises de DM permitiram concluir que o aumento no tamanho das cadeias, bem como do grau de insaturação das mesmas, apresentam grande contribuição para a estabilidade dos complexos de inclusão formados com α-CD.

As propostas de interação de TG e CD anteriormente citadas, na realidade, visavam embasar a etapa envolvendo a possibilidade de ação catalítica de CD para a produção de biodiesel. Sendo assim, considerando TG de cadeia longa, um mecanismo foi proposto vislumbrando o comportamento da CD no processo reacional de transesterificação. Os parâmetros termodinâmicos obtidos através de cálculos de frequências harmônicas vibracionais, de acordo com a metodologia DFT, para as estruturas propostas apontaram a viabilidade termodinâmica para a aplicação das CD, sendo necessária uma análise cinética complementar visando uma definição a respeito do poder catalítico para a referida reação.

A parte final do trabalho se dedicou a elucidação de espectros infravermelho e Raman teóricos. A finalidade de tal etapa reside na dificuldade de atribuição experimental de algumas bandas associadas a TG e EAG. Com a construção de um modelo teórico adequado, torna-se possível o esclarecimento acerca das atribuições de algumas bandas. Além disso, a distinção de diferentes composições envolvendo misturas de TG, EAG e impurezas associadas se

tornam possíveis. Neste trabalho, a aplicação da DFT mostrou-se adequada para a reprodução de espectros teóricos bem próximos aos experimentais. Com isto a distinção de bandas de caracterização tornou-se clara e bem útil para o prosseguimento dos trabalhos visando a caracterização de misturas envolvendo TG e EAG.

4.2. Produções científicas resultantes

- “Dinâmica Molecular de complexos de inclusão entre triglicerídeos e alfa-ciclodextrina”. XXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química de Minas Gerais (SBQ-MG). Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG);
- “Estudo teórico de espectros infravermelho de triglicerídeos e biodiesel derivados de óleo de soja”. 6º Congresso Brasileiro plantas oleaginosas, óleos, gorduras e biodiesel. (UFLA) Montes Claros-MG;
- “Análise Estrutural e de estabilidade de complexos de inclusão envolvendo α ciclodextrinas e triglicerídeos: Um estudo de dinâmica molecular”. Simpósio Brasileiro de Química Teórica (SBQT). Poços de Caldas-MG
- “Estudo teórico de complexos de inclusão envolvendo triglicerídeos e α -ciclodextrinas”. XXIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química de Minas Gerais (SBQ-MG). (UFJF) Juiz de Fora-MG;
- “A Box-Behnken design for studying inclusion complexes of triglycerides and alpha-cyclodextrin”. Eduardo Walneide C. Almeida, Willian T. G. Novato, Cleber P. A. Anconi, Marcione A. L. De Oliveira, Wagner B. De Almeida e Hélio F. Dos Santos. ARTIGO SUBMETIDO (THEOCHEM);
- Projeto de Pesquisa – Edital MCT/CNPq N.º14/2008 - Universal “Avaliação do potencial catalítico de ciclodextrinas em processos importantes na produção de biodiesel”. (CNPq 479682/2008-9).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, Frederique R.; LIMA, Daniela G.; HAMÚ, Elias G.; EINLOFT, Sandra; RUBIM, Joel C.; SUAREZ, Paulo A. Z. New Metal Catalysts for Soybean Oil Transesterification. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Heidelberg, Jun 2003, v. 80, n. 6, p. 601-604.

_____; LIMA, Daniela G.; HAMÚ, Elias G.; WOLF, Carlos; SUAREZ, Paulo A. Z. Utilization of metal complexes as catalysts in the transesterification of Brazilian vegetable oils with different alcohols. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, Maryland Heights, Fev 2004, v. 209, n. 1-2, p. 29-33.

_____; ALVES, Melquizedeque B.; MACÊDO, Caio C. S.; ZARA, Luiz F.; SUAREZ, Paulo A. Z. New multi-phase catalytic systems based on tin compounds active for vegetable oil transesterification reaction. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, Maryland Heights, Mar 2005, v. 227, n. 1-2, p. 263-267.

ALDER, B. J.; WAINWRIGHT, T. E. Phase transition for a hard sphere system. **Journal of Chemical Physics**, Maryland, Ago 1957, v. 27, n. 5, p. 1208-1209.

_____. Studies in Molecular Dynamics I – General Method. **Journal of Chemical Physics**, Maryland, Ago 1959, v. 31, n. 2, p. 459-466.

ALLEN, C. A. W.; WATTS, K. C.; ACKMAN, R. G.; PEGG, M. J. Predicting the viscosity of biodiesel fuels from their fatty acid ester composition. **Fuel**, Maryland Heights, Set 1999, v. 78, n. 11, p. 1319-1326.

_____; TILDESLEY, D. J. **Computes Simulation of Liquids**. Oxford: Clarendon Press, 1987

ALTIN, Recep; ÇETINKAYA, Selim; YÜCESU, Hüseyin Serdar. The potential of using vegetable oil fuels as fuel for diesel engines. **Energy Conversion & Management**, Maryland Heights, Mar 2001, v. 42, n. 5, p. 529-538.

AL-ZUHAIR, Sulaiman; LING, Fan Wei; JUN, Lim Song. Proposed kinetic mechanism of the production of biodiesel from palm oil using lipase. **Process Biochemistry**, Maryland Heights, Jun 2007, v. 42, n. 6, p. 951-960.

ANCONI, Cleber Paulo A.; NASCIMENTO JR., Clebio S.; DE ALMEIDA, Wagner B.; DOS SANTOS, Hélio F. The role played by head–tail configuration on the molecular weight distribution of α -cyclodextrin tubes. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, Heidelberg, Fev 2008, v. 60, n. 1-2, p. 25-33.

_____. Theoretical Study of α -CD Based [3]Pseudorotaxanes: the Role Played by Threadlike Polymer on the Stability of Cyclodextrin Dimers. **Journal of the Brazilian Chemistry Society**, São Paulo, Jun 2008, v. 19, n. 5, p. 1033-1040.

ANTCZAK, Mirosława Szczesna; KUBIAK, Aneta; ANTCZAK, Tadeusz; BIELECKI, Stanislaw. Enzymatic biodiesel synthesis – Key factors affecting efficiency of the process. **Renewable Energy**, Maryland Heights, May 2009, v. 34, n. 5, p. 1185-1194.

ASAKUMA, Yusuke; MAEDA, Kouji; KURAMOCHI, Hidetoshi; FUKUI, Keisuke. Theoretical study of the transesterification of triglycerides to biodiesel fuel. **Fuel**, Maryland Heights, Mai 2009, v. 88, n. 5, p. 786-791.

BAN-WEISS, George A.; CHEN, J. Y.; BUCHHOLZ, Bruce A.; DIBBLE, Robert W. A numerical investigation into the anomalous slight NO_x increase when burning biodiesel; A new (old) theory. **Fuel Processing Technology**, Maryland Heights, Jul 2007, v. 88, n. 7, p. 659-667.

BIODIESELBR. **Próalcool**: Programa Brasileiro de Álcool. Curitiba: BiodieselBR, c2008. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/proalcool/proalcool.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2008.

_____. **Produção de biodiesel cresce 36% na UE**. Curitiba: BiodieselBR, c2009. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/noticias/em-foco/producao-biodiesel-cresce-36-ue-16-07-09.htm>>. Acesso em: 24 dez. 2009.

_____. **País terá folga para fabricar biodiesel mesmo com B5**. Curitiba: BiodieselBE, c2009. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/noticias/em-foco/pais-folga-fabricar-biodiesel-b5-03-09-09.htm>>. Acesso em: 26 dez. 2009.

BLENKE, Christian; DA SILVA, Valdilei J.; JUNQUEIRA, Georgia M. A.; DE ALMEIDA, Wagner B.; DOS SANTOS, Hélio F. Theoretical study of structure and properties of a molecular reactor based on the urea-linked b-cyclodextrin dimer. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, Maryland Heights, May 2007, v. 809, n. 1-3, p. 95-102.

BOEY, Peng-Lim; MANIAM, Gaanty Pragas; HAMID, Shafida Abd. Biodiesel production via transesterification of palm olein using waste mud crab (*Scylla serrata*) shell as a heterogeneous catalyst. **Bioresouce Technology**, Maryland Heights, Dez 2009, v. 100, n. 24, p. 6362-6368.

BONNET, Pascal; JAIME, Carlos; MORIN-ALLORY, Luc. α -, β -, and γ -Cyclodextrin Dimers. Molecular Modeling Studies by Molecular Mechanics and Molecular Dynamics Simulations. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, Fev 2001, v. 66, n. 3, p. 689-692.

BOZBAS, Kahraman. Biodiesel as an alternative motor fuel: Production and policies in the European Union. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, Maryland Heights, Fev 2008, v. 12, n. 2, p. 542-552.

BRASIL. Ministério das Minas e Energia. **Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel**. Brasília: 2004. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/programa.html>>. Acesso em: 21 ago. 2008.

_____. Ministério das Minas e Energia. **Instrução Normativa Nº 01, de 05 de Julho de 2005**. Brasília: 2005. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/Minuta1.pdf>>. Acesso em: 25 dez. 2009.

_____. Ministério de Minas e Energia. **Balanco Energético Brasileiro: Ano Base 2007**. Brasília: 2008. Disponível em: <http://www.mme.gov.br/mme/galerias/arquivos/publicacoes/ben/arquivos/ben_2008/BEN_Portugues_2008.pdf>. Acesso em: 24 dez. 2009

_____. Ministério das Minas e Energia. ANP. **Produção de biodiesel**. Brasília: 2009. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br/?id=472>>. Acesso em: 24 dez. 2009.

_____. Ministério de Minas e Energia. Gabinete do Ministro. Conselho Nacional de Política Energética. **Resolução N° 2, de 27 de Abril de 2009**. Brasília: 2009. Disponível em: <http://www.mme.gov.br/mme/galerias/arquivos/conselhos_comite/CNPE/resolucao_2009/RESOLUCAO_2_CNPE.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2009.

_____. Ministério das Minas e Energia. **Portaria N° 413, de 27 de outubro de 2009**. Brasília: 2009. Disponível em: <http://www.mme.gov.br/mme/galerias/arquivos/legislacao/portaria/2009/Portaria_n_413-2009.pdf>. Acesso em: 26 dez. 2009.

BRERETON, Richard G. **Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant**. West Sussex: Wiley, 2003.

BRESLOW, Ronald; OVERMAN, Larry E. An “Artificial Enzyme” Combining a Metal Catalytic Group and a Hydrophobic Binding Cavity. **Journal of the American Chemistry Society**, Washington, Fev 1970, v. 92, n. 4, p. 1075-1077.

_____; ZHANG, Xiaojun; XU, Ruo; MALETIC, Milana; MERGER, Roland. Selective Catalytic Oxidation of Substrates That Bind to Metalloporphyrin Enzyme Mimics Carrying Two or Four Cyclodextrin Groups and Related Metallosalens. **Journal of the American Chemistry Society**, Washington, Nov 1996, v. 118, n. 46, p. 11678-11679.

_____; DONG, Steven D. Biomimetic Reactions Catalyzed by Cyclodextrins and Their Derivatives. **Chemical Reviews**, Washington, Jun 1998, v. 98, n. 5, p. 1997-2011.

BRUNS, Roy Edward; FAIGLE, José Fernando Gregório. Quimiometria. **Química Nova**, São Paulo, Abr 1985, v. 8, n. 2, p. 84-99.

CHARLES, Michael, B.; RYAN, Rachel; RYAN, Neal; OLORUNTOBA, Richard. Public policy and biofuels: The way forward?. **Energy Policy**, Maryland Heights, Nov 2007, v. 35, n. 11, p. 5737-5746.

CHAVANNE, C. G. **Procédé de Transformation d'Huiles Végétales en Vue de Leur Utilisation comme Carburants**. BE 422,877. 1937. Chemical Abstract, 1938, v. 32, p.4313.

CHENG, Ailan; BEST, Scott A.; MERZ JR., Kenneth M.; REYNOLDS, Charles H. GB/SA water model for the Merck molecular force field (MMFF). **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, New York, Jun 2000, v. 18, n. 3, p. 273-282.

CLEVELAND, Thomas; LANDIS, Clark R. Valence bond concepts applied to the molecular mechanics description of molecular shapes 2 – Applications to hypervalent molecules of the P-block. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, Jun 1996, v. 118, n. 25, p. 6020-6030.

CONNORS, Kenneth A. The stability of cyclodextrin complexes in solution. **Chemical Reviews**, Washington, Ago 1997, v. 97, n. 5, p. 1325-1358.

CORNELL, Wendy D.; CIEPLAK, Piotr; BAYLY, Christopher I.; GOULD, Ian R.; MERZ JR., Kenneth M.; FERGUSON, David M.; SPELLMEYER, David C.; FOX, Thomas; CALDWELL, James W.; KOLLMAN, Peter A. A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, Mai 1995, v. 117, n. 19, p. 5179-5197.

CRAMER, Christopher J.; TRUHLAR, Donald G. Implicit Solvation Models: Equilibria, Structure, Spectra, and Dynamics. **Chemical Reviews**, Washington, Ago 1999, v. 99, n. 8, p. 2161-2200.

CUI, Weili; LI, Fanbing; ALLINGER, Norman L. Simulation of conformational dynamics with the MM3 force field: The pseudorotation of cyclopentane. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, Abr 1993, v. 115, n. 7, p. 2943-2951.

DE BARROS NETO, Benício; SCARMINIO, Ieda Spacino; BRUNS, Roy Edward. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, Nov-Dez 2006, v. 29, n. 6, p. 1401-1406.

_____. **Como fazer experimentos**. Campinas: Unicamp, 2007.

DEMIRBAS, Ayhan. Biodiesel from vegetable oils via transesterification in supercritical methanol. **Energy Conversion and Management**, Maryland Heights, Nov 2002, v. 43, n. 17, p. 2349-2356.

_____. Biodiesel fuels from vegetable oils via catalytic and non-catalytic supercritical alcohol transesterifications and other methods: a survey. **Energy Conversion and Management**, Maryland Heights, Ago 2003, v. 44, n.13, p. 2093-2109.

_____. Progress and recent trends in biofuels. **Progress in Energy and Combustion Science**, Maryland Heights, Fev 2007, v. 33, n. 1, p. 1-18.

_____. Importance of biodiesel as transportation fuel. **Energy Policy**, Maryland Heights, Set 2007, v. 35, n. 9, p. 4661-4670.

_____. Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections. **Energy Conversion and Management**, Maryland Heights, Ago 2008, v. 49, n. 8, p. 2106-2116.

_____. Comparison of transesterification methods for production of biodiesel from vegetable oils and fats. **Energy Conversion and Management**, Maryland Heights, Jan 2008, v. 49, n. 1, p. 125-130.

_____. Political, economic and environmental impacts of biodiesel: A review. **Applied Energy**, Maryland Heights, Nov 2009, v. 86, sup. 1, p. S108-S117.

_____. Biofuels securing the planet's future energy needs. **Energy Conversion and Management**, Maryland Heights, Set 2009, v. 50, n. 9, p. 2239-2249.

_____. Progress and recent trends in biodiesel fuels. **Energy Conversion and Management**, Maryland Heights, Jan 2009, v. 50, n. 1, p. 14-34.

DI SERIO, M.; COZZOLINO, M.; GIORDANO, M.; TESSER, R.; PATRONO, P.; SANTACESARIA, E. From homogeneous to heterogeneous catalysts in biodiesel production. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, Washington, Ago 2007, v. 46, n. 20, p. 6379-6384.

DIZGE, Nadir; KESKINLER, Bülent. Enzymatic production of biodiesel from canola oil using immobilized lipase. **Biomass and Bioenergy**, Maryland Heights, Dez 2008, v. 32, n. 12, p. 1274-1278.

DODZIUK, H. Rigidity versus flexibility. A review of experimental and theoretical studies pertaining to the cyclodextrin nonrigidity. **Journal of Molecular Structure**, Maryland Heights, Set 2002, v. 614, n. 1-3, p. 33-45.

DOS SANTOS, Hélio F.; DE ALMEIDA, Wagner B.; DO VAL, Amélia M. G.; GUIMARÃES, Afonso C. Espectro infravermelho e análise conformacional do composto 3-fenil-2-oxo-1,2,3-oxatiazolidina. **Química Nova**, São Paulo, Dez 1999, v. 22, n. 5, p. 732-736.

EASTON, C. J.; LINCOLN, S. F. **Modified Cyclodextrins – Scaffolds and Templates for Supramolecular Chemistry**. London: Imperial College Press, 1999.

FERREIRA, Beatriz A.; DOS SANTOS, Hélio F.; BERNARDES, Américo T.; SILVA, Glauro G.; DE ALMEIDA, Wagner B. Theoretical study of solvent and temperature effects on the behaviour of poly(ethylene oxide) (PEO). **Chemical Physics Letters**, Maryland Heights, Jun 1999, v. 307, n. 1-2, p. 95-101.

FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, G. C.; DA SILVA, E. G. P.; PORTUGAL, L. A.; DOS REIS, P. S.; SOUZA, A. S.; DOS SANTOS, W. N. L. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, Maryland Heights, Ago 2007, v. 597, n. 2, p. 179-186.

_____; BRUNS, Roy E.; DA SILVA, Erik G. P.; DOS SANTOS, Walter N. L.; QUINTELLA, Cristina M.; DAVID, Jorge M.; DE ANDRADE, Jailson B.; BREITKREITZ, Maria C.; JARDIM, Isabel C. S. F.; DE BARROS NETO, Benício. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. **Journal of Chromatography A**, Maryland Heights, Jul 2007, v. 1158, n. 1-2, p. 2-14.

FJERBAEK, Lene; CHRISTENSEN, Knud V.; NORDDAHL, Birgir. A Review of the Current State of Biodiesel Production Using Enzymatic Transesterification. **Biotechnology and Bioengineering**, Malden, Abr 2009, v.102, n. 5, p. 1298-1315.

FREEDMAN, Bernard; BUTTERFIELD, Royden O.; PRYDE, Everett H. Transesterification kinetics of soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Heidelberg, Out 1986, v. 63, n. 10, p. 1375-1380.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; MONTGOMERY, JR., J. A.; VREVEN, T.; KUDIN, K. N.; BURANT, J. C.; MILLAM, J. M.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; COSSI, M.; SCALMANI, G.; REGA, N.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; KLENE, M.; LI, X.; KNOX, J. E.; HRATCHIAN, H. P.; CROSS, J. B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERTS, R.; STRATMANN, R. E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A. J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J. W.; AYALA, P. Y.; MOROKUMA, K.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; ZAKRZEWSKI, V. G.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A. D.; STRAIN, M. C.; FARKAS, O.; MALICK, D. K.; RABUCK, A. D.; RAGHAVACHARI, K.; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CUI, Q.; BABOUL, A. G.; CLIFFORD, S.; CIOSLOWSKI, J.; STEFANOV, B. B.; LIU, G.; LIASHENKO, A.; PISKORZ, P.; KOMAROMI, I.; MARTIN, R. L.; FOX, D. J.; KEITH, T.; AL-LAHAM, M. A.; PENG, C. Y.; NANAYAKKARA, A.; CHALLACOMBE, M.; GILL, P. M. W.; JOHNSON, B.; CHEN, W.; WONG, M. W.; GONZALEZ, C.; POPLE, J. A. Gaussian 03, Revision D. 02. Wallingford CT, 2004.

FUKUDA, Hideki; KONDO, Akihiko; NODA, Hideo. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, Sep 2001, v. 92, p. 405-416.

GARCEZ, Catherine, A. G.; VIANNA, João N. S. Brazilian Biodiesel Policy: Social and environmental considerations of sustainability. **Energy**, Maryland Heights, Mai 2009, v. 34, n. 5, p. 645-654.

GERIS, Regina; DOS SANTOS, Nádia Alessandra Carmo; AMARAL, Bruno Andrade; MAIA, Isabelle de Souza; CASTRO, Vinicius Dourado; CARVALHO, José Roque Mota. Biodiesel de soja – reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. **Química Nova**, São Paulo, Set/Out 2007, v. 30, n. 5, p. 1369-1373.

GUTIÉRREZ, Luis F.; SÁNCHEZ, Óscar J.; CARDONA, Carlos A. Process integration possibilities for biodiesel production from palm oil using ethanol obtained from lignocellulosic residues of oil palm industry. **Bioresource Technology**, Maryland Heights, Fev 2009, v. 100, n. 3, p. 1227-1237.

HAILE, J. M. **Molecular Dynamics Simulation**. Nova York: Wiley, 1997.

HELWANI, Z.; OTHMAN, M. R.; AZIZ, N.; FERNANDO, W. J. N.; KIM, J. Technologies for production of biodiesel focusing on green catalytic techniques: A review. **Fuel Processing Technology**, Maryland Heights, Dez 2009, v. 90, n. 12, p. 1502-1514.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. **Physical Review B**, Maryland, Nov 1964, v. 136, n. 3B, p. B864-B871.

ISO, Mamoru; CHEN, Baoxue; EGUCHI, Masashi; KUDO, Takashi; SHRESTHA, Surekha. Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Maryland Heights, Nov 2001, v. 16, n. 1, p. 53-58.

JANAUN, Jidon; ELLIS, Naoko. Perspectives on biodiesel as a sustainable fuel. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, Maryland Heights, Dez 2009, *no prelo*. Disponível em: <
http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6VMY-4XYH2RH-1&_user=686369&_coverDate=12%2F18%2F2009&_alid=1147485326&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_cdi=6163&_sort=r&_docanchor=&view=c&_ct=59&_acct=C000037520&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686369&md5=ae2768b227700cd2e8a98f4038a3e276>. Acesso em: 26 dez. 2009.

JORGENSEN, William L.; MAXWELL, David S.; TIRADO-RIVES, Julian. Development and Testing of the OPLS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, Nov 1996, v. 118, n. 45, p. 11225-11236.

JOTHIRAMALINGAM, Rajabathar; WANG, Ming Kuang. Review of Recent Developments in Solid Acid, Base, and Enzyme Catalysts (Heterogeneous) for Biodiesel Production via Transesterification. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, Washington, Jun 2009, v. 48, n. 13, p. 6162-6172.

KAIEDA, Masaru; SAMUKAWA, Taichi; KONDO, Akihiko; FUKUDA, Hideki. Effect of Methanol and water contents on production of biodiesel fuel from plant oil catalyzed by various lipases in a solvent-free system. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, Jun 2001, v. 91, n. 1, p. 12-15.

KHAN, Abdul Rauf; FORGO, Peter; STINE, Keith J.; D'SOUZA, Valerian T. Methods for Selective Modifications of Cyclodextrins. **Chemical Reviews**, Washington, Jun 1998, v. 98, n. 5, p. 1977-1996.

KNOTHE, Gerhard; GERPEN, Jon Van; KRAHL, Jürgel; RAMOS, Luiz Pereira. **Manual de Biodiesel**. Tradução: Luiz Pereira Ramos. São Paulo: Edgard Blücher, 2006.

KOWALSKI, B. R. Chemometrics: views and propositions. **Journal of Chemical Information and Computer Science**, Washington, Abr 1985, v. 15, n. 4, p. 201-203.

LEVINE, Ira N. **Química Cuántica**. Tradução: Alberto Requena Rodríguez, Adolfo Bastida Pascual e José Zúñiga Román. 5. ed .Madrid: Pearson Education, 2001.

LEUNG, Dennis Y. C.; WU, Xuan; LEUNG, M. K. H. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. **Applied Energy**, Maryland Heights, Dez 2009, *no prelo*. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V1T-4XMTFP82&_user=686369&_coverDate=11%2F07%2F2009&_alid=1147481237&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_cdi=5683&_sort=r&_docanchor=&view=c&_ct=9&_acct=C000037520&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686369&md5=3665b0342d08ce6ac011daad00432037>. Acesso em: 26 dez. 2009.

LIPKOWITZ, Kenny B. Applications of computational chemistry to the study of cyclodextrins. **Chemical Reviews**, Washington, Jun 1998, v. 98, n. 5, p. 1829-1873.

LOTERO, Edgar; LIU, Yujin; LOPEZ, Dora E.; SUWANNAKARN, Kaewta; BRUCE, David A.; GOODWIN JR., James G. Synthesis of Biodiesel via Acid Catalysis. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, Washington, Jan 2005, v. 44, n. 14, p. 5353-5363.

LOU, Wen-Yong; ZONG, Min-Hua; DUAN, Zhang-Qun. Efficient production of biodiesel from high free fatty acid-containing waste oils using various carbohydrate-derived solid acid catalysts. **Bioresource Technology**, Maryland Heights, Dez 2008, v. 99, n. 18, p. 8752-8758.

MA, Fangrui; HANNA, Milford A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, Maryland Heights, Out 1999, v. 70, n. 1, p. 1-15.

MAC KERELL JR., Alexander D.; WIÓRKIEWICZ-KUCZERA, Joanna; KARPLUS, Martin. An All-Atom Empirical Energy Function for the Simulation of Nucleic Acids. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, Dez 1995, v. 117, n. 48, p. 11946-11975.

MACROMODEL. Schrödinger Press. **MacroModel 9.5 - User Manual**. New York: 2007.

Disponível em:

<<http://www.chem.arizona.edu/courseweb/074/CHEM5181/maestro/Macromodel9.5UserManual.pdf>>. Acesso: 22 abr. 2009.

MARCHETTI, J. M.; MIGUEL, V. U.; ERRAZU, A. F. Possible methods for biodiesel production. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, Maryland Heights, Ago 2007, v. 11, n. 6, p.1300-1311.

MATSUMOTO, Kazuko; NOGUCHI, Yuki; YOSHIDA, Noboru. Synthesis and antitumor activity of platinum (II) complexes of amino-cyclodextrin. **Inorganica Chimica Acta**. Maryland Heights, Mai 1998, v. 272, n. 1-2, p. 162-167.

MAYO, Stephen L.; OLAFSON, Barry D.; GODDARD III, William A. DREIDING: A generic force field for molecular simulations. **Journal of Physical Chemistry**, Washington, Dez 1990, v. 94, n. 26, p. 8897-8909.

MOHAMADI, Fariborz; RICHARDS, Nigel G. J.; GUIDA, Wayne C.; LISKAMP, Rob; LIPTON, Mark; CAUFIELD, Craig; CHANG, George; HENDRICKSON, Thomas; STILL, W. Clark. Macromodel - an integrated software system for modeling organic and bioorganic molecules using molecular mechanics. **Journal of Computational Chemistry**, Malden, Mai 1990, v. 11, n. 4, p. 440-467.

MORGON, Nelson H.; COUTINHO, Kaline (Eds). **Métodos Teóricos em Química Computacional e Modelagem Molecular**. Campinas: Unicamp, 2006.

NAIDOO, Kevin J.; CHEN, Jeff Yu-Jen; JANSSON, Jennie L. M.; WIDMALM, Göran; MALINIAK, Arnold. Molecular Properties Related to the Anomalous Solubility of β -

Cyclodextrin. **Journal of Physical Chemistry B**, Washington, Abr 2004, v. 108, n. 14, p. 4236-4238.

NASCIMENTO JR., Clébio Soares. **Estudo teórico de processos de formação de complexos de inclusão de tetraciclinas com ciclodextrinas**. 2003. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2003.

NEVINS, Neysa; LII, Jenn-Huei; ALLINGER, Norman L. Molecular Mechanics (MM4) calculations on conjugated hydrocarbons. **Journal of Computational Chemistry**, Malden, Abr 1996, v. 17, n. 5-6, p. 695-729.

NIELSEN, Per Munk; BRASK, Jesper; FJERBAEK, Lene. Enzymatic biodiesel production: Technical and economical considerations. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Malden, Ago 2008, v. 110, n. 8, p. 692-700.

NUNES, Anne A.; FRANCA, Adriana S.; OLIVEIRA, Leandro S. Activated carbons from waste biomass: An alternative use for biodiesel production solid residues. **Bioresource Technology**, Maryland Heights, Mar 2009, v. 100, n. 5, p. 1786-1792.

OCHTERSKI, Joseph W. **Vibrational analysis in Gaussian**. Wallingford: Gaussian, 1999. Disponível em: <http://www.gaussian.com/g_whitepap/vib.htm>. Acesso em: 11 jan. 2010.

OCHTERSKI, Joseph W. **Termochemistry in Gaussian**. Wallingford: Gaussian, 2000. Disponível em: <http://www.gaussian.com/g_whitepap/thermo.htm>. Acesso em: 11 jan. 2010.

OKAMURA, Mai; TAKAGAKI, Atsushi; TODA, Masakazu; KONDO, Junko N.; DOMEN, Kazunari; TATSUMI, Takashi; HARA, Michikazu; HAYASHI, Shigenobu. Acid-Catalyzed Reactions on Flexible Polycyclic Aromatic Carbon in Amorphous Carbon. **Chemistry of Materials**, Washington, Jun 2006, v. 18, n. 13, p. 3039-3045.

PDB. **RCSB Protein Data Bank**. Disponível em: <<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=3TGL>>. Acesso em: 11 Out. 2007.

PENG, Zhengwei; EWIG, Carl S.; HWANG, Ming-Jing; WALDMAN, Marvin; HAGLER, Arnold T. Derivation of Class II Force Fields. 4. van der Waals Parameters of Alkali Metal

Cations and Halide Anions. **Journal of Physical Chemistry A**, Washington, Set 1997, v. 101, n. 39, p. 7243-7252.

PERKIN ELMER. **Portaria ANP N° 255/2003**. Brasília: 2003. Disponível em: <www.perkinelmer.com/downloads/biodiesel/ANP%20Portaria%20255_2003.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2009.

PERSSON, Per; ANDERSSON, Jessica; GORTON, Lo; LARSSON, Simona; NILVEBRANT, Nils-Olof; JÖNSSON, Leif J. Effect of Different Forms of Alkali Treatment on Specific Fermentation Inhibitors and on the Fermentability of Lignocellulose Hydrolysates for Production of Fuel Ethanol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, Ago 2002, v. 50, n.19, p. 5318-5325.

PIMENTEL, Maria Fernanda; DE BARROS NETO, Benício. Calibração: uma revisão para químicos analíticos. **Química Nova**, São Paulo, Mai/Jun 1996, v. 19, n. 3, p. 268-277.

PINTO, Ângelo C.; GUARIEIRO, Lilian L. N.; REZENDE, Michelle J. C.; RIBEIRO, Núbia M.; TORRES, Ednildo A.; LOPES, Wilson A.; PEREIRA, Pedro A. de P.; DE ANDRADE, Jaílson B. Biodiesel: An Overview, **Journal of the Brazilian chemical Society**, São Paulo, Nov/Dez 2005, v. 16, n. 6B, p. 1313-1330.

PISHTIYSKI, Ivan; ZHEKOVA, Boriana. Effect of different substrates and their preliminary treatment on cyclodextrin production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, Fev 2006, v. 22, n. 2, p. 109-114.

PLIEGO JR., Josefredo R. Modelos contínuos do solvente: fundamentos. **Química Nova**, São Paulo, Mai/Jun 2006, v. 29, n. 3, p. 535-542.

POREZAG, Dirk; PEDERSON, Mark R. Infrared intensities and Raman-scattering activities within density-functional theory. **Physical Review B**, Ridge, Set 1996, v. 54, n.11, p. 7830-7836.

POUSA, G. P. A. G.; SANTOS, A. L. F.; SUAREZ, P. A. Z. History and policy of biodiesel in Brazil. **Energy Policy**, Maryland Heights, Nov 2007, v. 35, n. 11, p. 5393-5398.

QIU, Di; SHENKIN, Peter S.; HOLLINGER, Frank P.; STILL, W. Clark. The GB/SA Continuum Model for Solvation. A Fast Analytical Method for the Calculation of

Approximate Born Radii. **Journal of Physical Chemistry A**, Washington, Abr 1997, v. 101, n. 16, p. 3005-3014.

RANGANATHAN, Srivathsan Vembanur; NARASIMHAN, Srinivasan Lakshmi; MUTHUKUMAR, Karuppan. An overview of enzymatic production of biodiesel. **Bioresource Technology**, Maryland Heights, Jul 2008, v. 99, n. 10, p. 3975-3981.

RAPPÉ, A. K.; CASEWIT, C. J.; COLWELL, K. S.; GODDARD III, W. A.; SKIFF, W. M. UFF, a Full Periodic Table Force Field for Molecular Mechanics and Molecular Dynamics Simulations. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, Dez 1992, v. 114, n. 25, p. 10024-10035.

ROZAKIS, S.; SOURIE, J.-C. Micro-economic modelling of biofuel system in France to determine tax exemption policy under uncertainty. **Energy Policy**, Maryland Heights, Jan 2005, v. 33, n. 2, p. 171-182.

SAKA, S.; KUSDIANA, D. Biodiesel fuel from rapeseed oil as prepared in supercritical methanol. **Fuel**, Maryland Heights, Jan 2001, v. 80, n. 2, p. 225-231.

SCHUCHARDT, Ulf.; SERCHELI, Ricardo; VARGAS, Rogério Matheus. Transesterification of Vegetable Oils: a Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, Mai 1998, v. 9, n. 3, p. 199-210.

SHARMA, Y. C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S. N. Advancements in development and characterization of biodiesel: A review. **Fuel**, Maryland Heights, Set 2008, v. 87, n. 12, p. 2355-2373.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1979.

SHAY, E. Griffin. Diesel fuel from vegetable oils: Status and opportunities. **Biomass and Bioenergy**, Maryland Heights, Ago 1993, v. 4, n. 4, p. 227-242.

SIMS, Ralph, E. H.; MABEE, Warren; SADDLER, Jack, N.; TAYLOR, Michael. An overview of second generation biofuel Technologies. **Bioresource Technology**, Maryland Heights, Mar 2010, v.101, n. 6, p. 1570-1580.

SRIVASTAVA, Anjana; PRASAD, Ram. Triglycerides-based diesel fuels. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, Maryland Heights, Jun 2000, v. 4, n. 2, p. 111-133.

STILL, W. Clark; TEMPCZYK, Anna; HAWLEY, Ronald C.; HENDRICKSON, Thomas. Semianalytical Treatment of Solvation for Molecular Mechanics and Dynamics. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, Ago 1990, v. 112, n. 16, p. 6127-6129.

SUAREZ, Paulo A. Z.; MENEGHETTI, Simoni M. Plentz.; MENEGHETTI, Mário R.; WOLF, Carlos R. Transformação de triglicérides em combustíveis, materiais poliméricos e insumos Químicos: algumas aplicações da catálise na oleoquímica. **Química Nova**, São Paulo, Mai/Jun 2007, v. 30, n. 3, p. 667-676.

SUTTMAN, Godehard. Classical Molecular Dynamics. In: QUANTUM SIMULATIONS OF COMPLEX MANY-BODY SYSTEMS FROM THEORY TO ALGORITHMS, 2002, Jülich. **NIC Series**. Disponível em: <<http://www.fz-juelich.de/nic-series/volume10/suttmann.pdf>>. Acesso em: 07 jan 2010.

SZEJTLI, Jozséf. **Cyclodextrin Technology**. Dordrecht: Kluwer, 1988.

_____. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. **Chemical Reviews**, Washington, Jun 1998, v. 98, n. 5, p. 1743-1754.

SZYBIST, James P.; BOEHMAN, André L.; TAYLOR, Joshua D.; MC CORMICK, Robert L. Evaluation of formulation strategies to eliminate the biodiesel NO_x effect. **Fuel Processing Technology**, Maryland Heights, Jun 2005, v. 86, n. 10, p. 1109-1126.

TAKAGAKI, Atsushi; TODA, Masakazu; OKAMURA, Mai; KONDO, Junko N.; HAYASHI, Shigenobu; DOMEN, Kazunari; HARA, Michikazu. Esterification of higher fatty acids by a novel strong solid acid. **Catalysis Today**, Maryland Heights, Ago 2006, v. 116, n. 2, p. 157-161.

TODA, Masakazu; TAKAGAKI, Atsushi; OKAMURA, Mai; KONDO, Junko N.; HAYASHI, Shigenobu; DOMEN, Kazunari; HARA, Michikazu. Biodiesel made with sugar catalyst. **Nature**, London, Nov 2005, v. 438, p.178.

TZAGOURNIS, Manuel. Triglycerides in clinical medicine: a review. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Houston, Ago 1978, v. 31, p. 1437-1452.

UNICA. **Produção de Etanol do Brasil**. União da Indústria de Cana-de-açúcar, São Paulo: c2008-2009. Disponível em:

<<http://www.unica.com.br/downloads/estatisticas/PRODUÇÃO%20DE%20ETANOL.xls>>.

Acesso em: 24 dez. 2009.

VENTURINI, Cristina de Garcia; NICOLINI, Jaqueline; MACHADO, Clodoaldo; MACHADO, Vanderlei Gageiro. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. **Química Nova**, São Paulo, Mar 2007, v. 31, n. 2, p. 360-368.

VILLALONGA, Reynaldo; CAO, Roberto; FRAGOSO, Alex. Supramolecular Chemistry of Cyclodextrins in Enzyme Technology. **Journal of the American Chemistry Society**, Washington, Jun 2007, v. 107, n. 7, p. 3088-3116.

WEI, Ziku; XU, Chunli; LI, Baoxin. Application of waste eggshell as low-cost solid catalyst for biodiesel production. **Bioresource Technology**, Maryland Heights, Jun 2009, v. 100, n. 11, p. 2883-2885.

WEINER, Scott J.; KOLLMAN, Peter A.; CASE, David A.; SINGH, U. Chandra; GHIO, Caterina; ALAGONA, Giuliano; PROFETA JR., Salvatore; WEINER, Paul. A New Force Field for Molecular Mechanical Simulation of Nucleic Acids and Proteins. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, Fev 1984, v. 106, n. 3, p. 765-784.

WHEALS, Alan E.; BASSO, Luiz C.; ALVES, Denise M. G.; AMORIM, Henrique V. Fuel ethanol after 25 years. **Trends in Biotechnology**, Maryland Heights, Dez 1999, v. 17, n. 12, p. 482-487.

YANG, Linguo; ZHANG, Aiqing; ZHENG, Xinsheng. Shrimp Shell Catalyst for Biodiesel Production. **Energy and Fuels**, Washington, Jul 2009, v. 23, n. 8, p. 3859-3865.