

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ESTELA KAMILE GELINSKI

MONITORAMENTO DO PROCESSO DE SÍNTESE DE BIODIESEL POR
ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO

CURITIBA

2018

ESTELA KAMILE GELINSKI

MONITORAMENTO DO PROCESSO DE SÍNTESE DE BIODIESEL POR
ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química, no
Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Setor
de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Ferreira Santos
Coorientador: Prof. Dr. Marcos Lúcio Corazza

CURITIBA

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR
BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

G317m

Gelinski, Estela Kamile

Monitoramento do processo de síntese de biodiesel por espectroscopia de infravermelho próximo / Estela Kamile Gelinski. – Curitiba, 2018.

67 p. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2018.

Orientador: Alexandre Ferreira Santos.

Coorientador: Marcos Lúcio Corazza.

1. Biodiesel. 2. Transesterificação. 3. Infravermelho próximo. 4. Monitoramento online.
I. Universidade Federal do Paraná. II. Santos, Alexandre Ferreira. III. Corazza, Marcos Lúcio. IV. Título.

CDD: 665.3

Bibliotecária: Romilda Santos - CRB-9/1214



TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ESTELA KAMILE GELINSKI** intitulada: **MONITORAMENTO DO PROCESSO DE SÍNTESE DE BIODIESEL POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 02 de Março de 2018.

ALEXANDRE FERREIRA SANTOS

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

FERNANDO AUGUSTO PEDERSEN VOLL

Avaliador Interno (UFPR)

MARCOS LÚCIO CORAZZA

Avaliador Interno (UFPR)

DEBORA DE OLIVEIRA

Avaliador Externo (UFSC)

Aos meus pais Rosane Thalita e Levi.

Ao meu irmão Leonardo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais que sempre me incentivaram e ensinaram a importância dos estudos, me apoiaram e aconselharam nos momentos bons e ruins.

Ao meu irmão pela parceria de sempre e paciência quando eu queria conversar.

Aos professores Dr. Alexandre Ferreira Santos e Dr. Marcos Lúcio Corazza pela orientação, confiança, disponibilidade e conhecimento compartilhado.

Novamente ao professor Dr. Alexandre Ferreira Santos pela competência e dedicação na gestão da Pós-Graduação em Engenharia Química da UFPR.

À Secretária do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da UFPR, Cintya Kuznharski por toda a ajuda com as partes burocráticas.

Ao grupo de pesquisadores do LACTA e seus agregados pelo apoio técnico e pelas risadas que fizeram este período de mestrado ser mais agradável, em especial Alexis, Fabiane e Kanda.

Aos meus amigos de mestrado que me acompanharam em todas as etapas desta jornada, especialmente Natália, Kallynca, Guilherme, Geovana e Leandro.

À Universidade Federal do Paraná, que me acolheu novamente, pela estrutura e fonte de conhecimento.

Ao Laboratório de Espectroscopia Vibracional de Infravermelho e à química Grazielli da Rocha pela estrutura disponibilizada para as análises espectroscópicas.

À CAPES pelo suporte financeiro concedido.

A todos os amigos e pessoas que de alguma forma ajudaram na concretização deste trabalho.

“Somos todos exploradores. Seria capaz de passar a vida toda a olhar para uma porta e não a
abrir?”

Robert D. Ballard

RESUMO

Biodiesel é um combustível renovável considerado o principal substituto dos combustíveis fósseis e por apresentar propriedades similares ao diesel de petróleo, é possível utilizá-lo em motores movidos a diesel sem a necessidade de qualquer modificação. A produção industrial de biodiesel é feita principalmente pela reação de transesterificação do triacilglicerol encontrado em óleos vegetais e gorduras animais, com um álcool de cadeia curta na presença de catalisador, produzindo glicerol como coproduto. A reação de transesterificação ocorre em etapas produzindo intermediários que podem permanecer juntamente com reagentes não consumidos no produto final, contaminando o biodiesel.

Na maioria dos processos, informações sobre a produção do biodiesel é feita essencialmente por medidas off-line dos teores de éster de amostras retiradas do reator. No entanto, para a finalidade de controle, onde é necessário o monitoramento on-line da conversão do biodiesel, esta não é uma solução satisfatória. Uma técnica alternativa para superar as desvantagens dos métodos off-line usados na quantificação é a espectroscopia de infravermelho, que tem a grande vantagem de ser utilizada como uma técnica de monitoramento em tempo real.

Neste trabalho, modelos para monitoramento da reação usando espectroscopia de infravermelho próximo (*Near Infrared*, NIR) foram desenvolvidos baseados no teor de éster durante a reação de transesterificação entre óleo de soja e etanol. Cromatografia gasosa com detecção de ionização de chama foi empregada como método de referência para quantificação baseada na norma EN 14105. Os espectros NIR foram adquiridos com sonda por transflectância, com caminho óptico de 2,5 mm e 4 cm⁻¹ de resolução. Os modelos foram criados usando regressão por Mínimos Quadrados Parciais (*Partial Least Squares*, PLS) feita com amostras sintéticas simulando a composição da reação para diferentes razões molares etanol/óleo e conversões. Após isso os modelos foram usados para predizer uma reação de transesterificação catalisada por base, que mostrou a robustez dos modelos para predizer dados externos com erro médio de predição de 3,12% para o melhor modelo.

Palavras-chave: Biodiesel. Transesterificação. Infravermelho Próximo. Monitoramento *on-line*.

ABSTRACT

Biodiesel is a renewable fuel considered the main substitute for fossil fuels and due to its properties similar to petroleum diesel, it is possible to use it in diesel powered engines without the need of any modification. The industrial production of biodiesel is mainly made by the transesterification reaction of triacylglycerol found in vegetable oils and animal fats, with a short chain alcohol in the presence of a catalyst, producing glycerol as a co-product. The transesterification reaction occurs in stages producing intermediates that can remain together with not consumed reagents in the final product, contaminating the biodiesel.

In most processes, information on the production of biodiesel is essentially done by off-line measurements of the ester content of samples taken from the reactor. However, for the purpose of control, where online monitoring of biodiesel conversion is required, this is not a satisfactory approach. An alternative technique to overcome the disadvantages of the off-line methods used in quantification is infrared spectroscopy, which is fast, accurate and has the great advantage of being used as a real-time monitoring technique.

In this work models for reaction monitoring using Near Infrared (NIR) spectroscopy were developed based on the ester content during transesterification reaction between soybean oil and ethanol. Gas chromatography with flame ionization detection was employed as reference method for quantification based on EN 14105 standard. NIR spectra were acquired with transmittance probe, 2.5 mm of optical length and 4 cm^{-1} resolution. The models were created using Partial Least Squares (PLS) regression built with synthetic samples simulating reaction composition for different ethanol to oil molar ratios and conversions. Afterwards the models were used to predict a base catalyzed transesterification reaction, which showed the robustness of the models to predict external data with RMSEP of 3.21% for the best model.

Keywords: Biodiesel. Transesterification. Infrared spectroscopy. On-line monitoring.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO.....	19
FIGURA 2 - DIAGRAMAS ESQUEMÁTICOS DOS ESPECTROFOTÔMETROS DISPERSIVOS (a) E DE TRANSFORMADA DE FOURIER (b).....	25
FIGURA 3 - NOTAÇÃO MATRICIAL DA REGRESSÃO POR MÍNIMOS QUADRADOS.	28
FIGURA 4 - DECOMPOSIÇÃO RELACIONADA À MATRIZ X.	29
FIGURA 5 - DECOMPOSIÇÃO RELACIONADA À MATRIZ Y.	29
FIGURA 6 - ESPECTROFOTÔMETRO VERTEX 70 (BRUKER).....	46
FIGURA 7 - SONDA COM ACESSÓRIO PARA LÍQUIDOS.	46
FIGURA 8 - DETALHE DO ACESSÓRIO PARA LÍQUIDOS.....	46
FIGURA 9 - MONTAGEM DO EXPERIMENTO PARA MONITORAMENTO ON-LINE DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO.....	47
FIGURA 10 - TEOR DE ÉSTER ETÍLICO POR CG-FID VERSUS O CALCULADO PELA COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA SINTÉTICA.	50
FIGURA 11 - TEOR DE TRIACILGLICEROL POR CG-FID VERSUS O CALCULADO PELA COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA SINTÉTICA.	50
FIGURA 12 - TEOR DE ETANOL POR PERDA DE MASSA EM ESTUFA VERSUS O CALCULADO PELA COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA SINTÉTICA.....	51
FIGURA 13 - TEOR DE GLICEROL POR UV-VIS VERSUS O CALCULADO PELA COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA SINTÉTICA.	51
FIGURA 14 - ESPECTROS DAS AMOSTRAS SINTÉTICAS SEM PRÉ-TRATAMENTO.	52
FIGURA 15 - ESPECTROS NIR DO BIODIESEL E ÓLEO DE SOJA.	53
FIGURA 16 - RMSECV E PORCENTAGEM DA VARIÂNCIA EXPLICADA EM Y PARA O MODELO M1.	54
FIGURA 17 - TEOR DE ÉSTER PREDITO PARA DADOS DE CALIBRAÇÃO E VALIDAÇÃO.....	55
FIGURA 18 - TEOR DE ÉSTER ETÍLICO DURANTE AS REAÇÕES R6 E R9 DE ACORDO COM A REFERÊNCIA POR CG E PREDIÇÕES ON-LINE (M1).	60

FIGURA 19 - TEOR DE ÉSTER ETÍLICO DURANTE AS REAÇÕES R6 E R9 DE ACORDO COM A REFERÊNCIA POR CG E PREDIÇÕES ON-LINE (M2 e M5).....	60
FIGURA 20 - TEOR DE GLICEROL POR CALIBRAÇÃO PLS E ANÁLISE UV-VIS.....	61

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - BANDAS DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE ALGUNS COMPOSTOS ORGÂNICOS.	23
TABELA 2 - COMPARAÇÃO DOS ESTUDOS MAIS RECENTES SOBRE MONITORAMENTO DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO POR INFRAVERMELHO PRÓXIMO.	35
TABELA 3 - COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NO ÓLEO DE SOJA.	38
TABELA 4 - DENSIDADES DOS COMPONENTES DAS AMOSTRAS SINTÉTICAS A 20 °C.	44
TABELA 5 - COMPOSIÇÃO CALCULADA DAS AMOSTRAS SINTÉTICAS.	45
TABELA 6 - CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL PRODUZIDO.	49
TABELA 7 - RESULTADOS DO MODELO M1 SEM E COM PRÉ-TRATAMENTO DE DERIVADA DE SG PARA 25 PONTOS DE CALIBRAÇÃO E 9 PONTOS DE VALIDAÇÃO EXTERNA.	54
TABELA 8 - RESULTADOS PLS PARA CALIBRAÇÃO E PREDIÇÃO DA QUANTIDADE DE ÉSTER ETÍLICO.	58

ABREVIATURAS

ACS – American Chemical Society

AGL – Ácido Graxo Livre

ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

ASTM – *American Society for Testing and Materials*

CG – Cromatografia a Gás

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CPG – Cromatografia por Permeação em Gel

DAG – Diacilgliceróis

EN – *European Standard*

FT-IR – Infravermelho de Transformada de Fourier, do inglês *Fourier Transform Infrared*

IR – Infravermelho, do inglês *Infrared*

MAG – Monoacilgliceróis

MIR – Infravermelho Médio, do inglês *Medium Infrared*

MLR – Regressão Linear Múltipla, do inglês *Multiple Linear Regression*

MSTFA – N-metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida

NIPALS – Mínimos Quadrados Parciais Iterativo Não Linear, do inglês *Non Linear Iterative Partial Least Squares*

NIR – Infravermelho Próximo, do inglês *Near Infrared*

P.A. – Para Análise

PCA – Análise de Componentes Principais, do inglês *Principal Component Analysis*

PCR – Regressão por Componentes Principais, do inglês *Principal Components Regression*

PLS – Mínimos Quadrados Parciais, do inglês *Partial Least Squares*

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RMSE – Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático, do inglês *Root Mean Square Error*

RMSEC – Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Calibração, do inglês *Root Mean Square Error of Calibration*

RMSECV – Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Validação Cruzada, do inglês *Root Mean Square Error of Cross-Validation*

RMSEP – Raiz Quadrado do Erro Médio Quadrático de Predição, do inglês *Root Mean Square Error of Prediction*

SVR – Regressão por vetor de suporte, do inglês *Support Vector Regression*

TAG – Triacilgliceróis

UV-Vis – Ultravioleta visível

VL – Variáveis Latentes

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	MOTIVAÇÃO E RELEVÂNCIA.....	16
1.2	OBJETIVO GERAL.....	17
1.2.1	Objetivos Específicos	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	PRODUÇÃO DE BIODIESEL	18
2.1.1	Métodos Analíticos para Biodiesel.....	19
2.1.1.1	Métodos Cromatográficos	20
2.1.1.2	Métodos Espectroscópicos	20
2.1.2	Monitoramento da Síntese do Biodiesel.....	21
2.2	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO.....	21
2.2.1	Espectroscopia de Infravermelho Próximo	23
2.2.2	Instrumentos Espectroscópicos	24
2.3	MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS	26
2.3.1	Pré-Tratamento dos Dados	27
2.3.1.1	Centralização na Média	27
2.3.1.2	Derivadas.....	27
2.3.2	Calibração Multivariada por Mínimos Quadrados Parciais (PLS).....	27
2.3.2.1	Identificação de Outliers	33
2.4	ESTADO DA ARTE	34
3	MATERIAIS E MÉTODOS	38
3.1	PRODUÇÃO DE BIODIESEL	38
3.2	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ACIDEZ.....	39
3.3	QUANTIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA GASOSA	41
3.3.1	Curva de Calibração	42
3.3.2	Cálculo da Porcentagem dos Compostos na Amostra.....	43
3.4	DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE GLICEROL POR ESPECTROMETRIA DE UV-VIS.....	43
3.5	PREPARO DAS AMOSTRAS SINTÉTICAS	44
3.6	AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO	45
3.7	MONITORAMENTO ON-LINE DA REAÇÃO.....	47
3.8	ANÁLISE DE DADOS E CALIBRAÇÃO DO MODELO	47

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1	BIODIESEL PRODUZIDO	49
4.2	ANÁLISE DAS AMOSTRAS SINTÉTICAS	49
4.3	ESPECTROS NIR E CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA	52
4.3.1	Modelos de Predição do Teor de Éster.....	52
4.3.2	Modelo para Predição do Teor de Glicerol	61
5	CONCLUSÕES	63
	REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

1.1 MOTIVAÇÃO E RELEVÂNCIA

A produção industrial de biodiesel é feita principalmente via transesterificação, que consiste na reação entre óleos vegetais, gorduras animais ou óleos residuais e um álcool de cadeia curta, na presença de catalisador, formando também glicerol como subproduto. A reação ocorre em etapas, nas quais as moléculas de triacilgliceróis são convertidas a diacilgliceróis, e estas, por sua vez, em moléculas de monoacilgliceróis, e estes intermediários formados não são totalmente consumidos durante a reação. Para garantir o alto padrão do biodiesel comercializado, é necessário realizar o controle da qualidade de sua produção, de forma a manter baixos níveis de monoacilgliceróis, diacilgliceróis e resíduos resultantes de reações incompletas. O teor de ésteres está diretamente relacionado à conversão da reação de síntese de biodiesel e pode ser utilizado para monitorar o processo e determinar as propriedades do produto final.

Técnicas espectroscópicas e cromatográficas têm sido utilizadas no monitoramento das reações de transesterificação, permitindo a otimização das condições nas quais a reação ocorre, para que a especificação disposta em legislação seja atendida, além de tornar a produção de tal combustível mais eficiente. A capacidade de um método de monitoramento de fornecer respostas rápidas e ser facilmente adaptado ao uso *in/on-line* é altamente desejável, pois permite que possam ser feitas alterações no processo produtivo a tempo de otimizá-lo. As técnicas espectroscópicas apresentam larga aplicação em processos industriais, tanto em sistemas *on-line*, *in-line*, como em *non-invasive* (TREVISAN, 2009). A espectroscopia de infravermelho próximo (*Near Infrared*, NIR) é adequada ao monitoramento *on-line* de reações por permitir inferir dados físicos e químicos, utilizar fibras óticas convencionais, não necessitar de pré-tratamento da amostra, ser rápida, confiável e não destrutiva.

No entanto, processos ou amostras que contêm elevado número de espécies químicas geralmente apresentam uma alta sobreposição espectral na região do infravermelho próximo. Para a resolução destes sistemas, é necessária a utilização de métodos de separação matemática, como as técnicas de estatística multivariada, capazes de extrair informação química quantitativa do conjunto de dados espectrais (Quimiometria) (TREVISAN, 2009). Estas técnicas permitem correlacionar os dados dos espectros de infravermelho próximo, pré-processados ou não, com os obtidos por métodos de referência de análise do teor de ésteres, e

algumas delas são: mínimos quadrados parciais (*Partial Least Squares*, PLS) e análise de componente principal (*Principal Component Analysis*, PCA). Os procedimentos quimiométricos de tratamento de dados são utilizados para calibrar e treinar o modelo de monitoramento, para que seja o mais robusto possível.

Ainda são escassos os estudos de desenvolvimento de modelos de predição para monitoramento do processo de síntese de biodiesel e grande parte dos trabalhos fazem uso de amostras que dependem da realização da reação de transesterificação e englobam um grande número de amostras. Trabalhar com menos amostras gera menos gastos com análises e reagentes, e a obtenção de modelos baseados em poucos pontos de calibração, que gerem resultados tão bons quanto os já disponibilizados na literatura, ainda é um campo a ser explorado. A literatura também é carente de trabalhos que desenvolvam um modelo de calibração do teor de ésteres etílicos na produção de biodiesel, o que é de interesse em países como o Brasil onde o álcool etílico é mais barato que o álcool metílico, fazendo com que ésteres etílicos sejam utilizados na produção de combustível.

1.2 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho é desenvolver um modelo de calibração a ser utilizado no monitoramento de processos de síntese de biodiesel, com base em amostras que simulam a composição do meio reacional, medidas de referência de cromatografia gasosa combinadas com sensores *in-line* e métodos quimiométricos, para fins de avaliação do teor de ésteres e, conseqüentemente, da conversão da reação.

1.2.1 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste projeto são:

- Desenvolvimento de modelos de calibração multivariada para determinação do teor de éster durante a síntese de biodiesel;
- Avaliação de técnicas de tratamento espectral para derivação de modelos de calibração robustos;
- Validação da estratégia de monitoramento em condições reacionais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Sabe-se que óleos vegetais e gorduras animais foram investigados como combustíveis bem antes da crise energética dos anos 70 e no começo da década de 80 aumentou-se o interesse em combustíveis alternativos (KNOTHE; GERPEN; KRAHL, 2005).

A Resolução nº 45 da ANP, de 25 de agosto de 2014 define biodiesel como o composto de alquil ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia longa, produzido a partir da transesterificação e/ou esterificação de matérias graxas, de gorduras de origem vegetal ou animal.

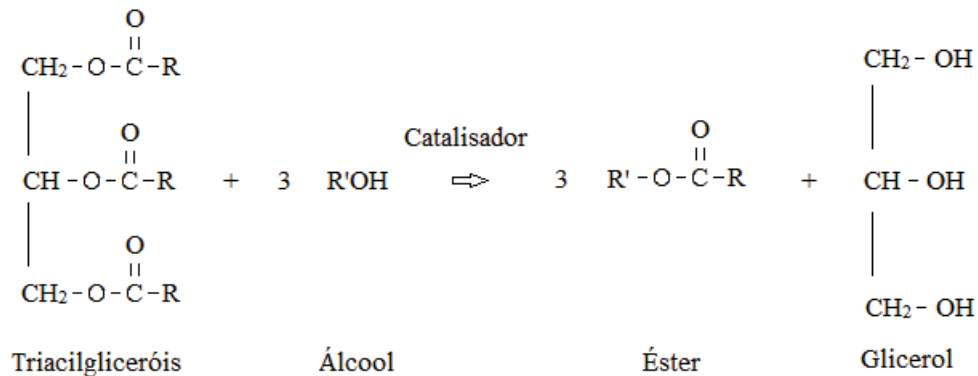
De acordo com Knothe et al. (2005), o biodiesel tem as seguintes vantagens em comparação com o diesel de petróleo:

- Derivado de uma fonte doméstica renovável, reduzindo a dependência do petróleo;
- Biodegradável;
- Reduz a maioria das emissões de exaustão;
- Tem maior ponto de flash, levando a um manuseio e armazenamento mais seguro;
- Excelente lubricidade;

No Brasil a produção de biodiesel tem sido incentivada desde o surgimento do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel em 2004, e até março de 2020 a quantidade obrigatória de biodiesel em volume, adicionado ao diesel final vendido ao consumidor, será de 10% de acordo com a Resolução nº11 de 14 de dezembro de 2016.

A principal rota de produção industrial de biodiesel ocorre pela reação de transesterificação, na qual moléculas de triacilgliceróis (TAG) reagem com um álcool de cadeia curta na presença de catalisador, produzindo ésteres (biodiesel) e glicerol (ALVES; POPPI, 2013; BALABIN; LOMAKINA; SAFIEVA, 2011; FELIZARDO et al., 2007a, 2007b; FONTALVO-GÓMEZ et al., 2013; IZIDA et al., 2015; LIMA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2014; RICHARD et al., 2011), como apresentado na FIGURA 1.

FIGURA 1 - REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO.



FONTE: Adaptado de (KNOTHE; GERPEN; KRAHL, 2005)

Várias fontes de triacilgliceróis podem ser utilizadas na produção de biodiesel, como óleos vegetais, gorduras animais e óleos utilizados em frituras, desde que adaptações sejam feitas no processo produtivo caso a matéria-prima oleosa apresente água e ácidos graxos livres. Os ésteres mais comumente produzidos são os ésteres metílicos, principalmente porque o metanol é o álcool mais barato, no entanto existem exceções em alguns países. No Brasil, por exemplo, onde o etanol é mais barato, ésteres etílicos são usados como combustível (KNOTHE; GERPEN; KRAHL, 2005).

Além da matéria-prima, diferentes fatores podem afetar a reação de transesterificação fornecendo diferentes conversões, tais como: o tipo de catalisador (básico, ácido, enzimático ou heterogêneo), a razão molar álcool/óleo, o tipo de álcool (metanol ou etanol), a temperatura e o tempo da reação, e a velocidade de agitação (MEHER et al, 2006).

Durante o processo de transesterificação são formados gliceróis intermediários, monoacilgliceróis (MAG) e diacilgliceróis (DAG), pequenas quantidades que podem permanecer no biodiesel final. Além destes gliceróis parciais, triacilgliceróis não reagidos, glicerol não separado, ácidos graxos livres, álcool residual e catalisador podem contaminar o produto final (KNOTHE, 2001).

2.1.1 Métodos Analíticos para Biodiesel

Para padronizar o biodiesel e ter um maior controle da qualidade, foram criadas normas como a EN 14214 na Europa, ASTM D6751 nos Estados Unidos e a Resolução nº 45 de 25 de agosto de 2014 no Brasil, estabelecendo valores mínimos e máximos admitidos para propriedades físicas e químicas do produto.

Muitos procedimentos analíticos são utilizados para determinar a composição do biodiesel sendo estes métodos baseados em técnicas cromatográficas ou espectroscópicas, tendo como objetivo na maioria das vezes a determinação dos teores de ácidos graxos livres, ésteres, MAG, DAG, TAG e glicerol.

2.1.1.1 Métodos Cromatográficos

As análises por Cromatografia Gasosa (CG), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Cromatografia de Permeação em Gel (CPG) têm sido utilizadas para biodiesel e produtos da transesterificação. A maioria das análises cromatográficas é feita para ésteres metílicos e a metodologia de análise pode ser alterada para quantificação de ésteres mais pesados (KNOTHE; GERPEN; KRAHL, 2005).

Estes métodos são muito precisos e fornecem excelentes resultados quantitativos, mas têm a desvantagem de serem de alto custo e consumirem muito tempo de análise, precisam de treinamento especial, coletas de amostras e preparo envolvendo o uso de solventes (BALABIN; LOMAKINA; SAFIEVA, 2011; BAPTISTA et al., 2008; CÂMARA et al., 2017; FELIZARDO et al., 2007b; MOREIRA et al., 2015; PINZI et al., 2012; RICHARD et al., 2013; ZHANG, 2012).

2.1.1.2 Métodos Espectroscópicos

Métodos espectroscópicos como Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Hidrogênio bem como de Carbono, Raman e Infravermelho Médio (*Medium Infrared*, MIR) ou Próximo (*Near Infrared*, NIR) têm sido utilizados na análise de biodiesel ou monitoramento da reação de transesterificação (FONTALVO-GÓMEZ et al., 2013; KILLNER, 2013; KILLNER; ROHWEDDER; PASQUINI, 2011; LIMA et al., 2014; NATALELLO; SASSO; SECUNDO, 2013; PINZI et al., 2012; RICHARD et al., 2011, 2013; SALES et al., 2016; SOUZA; SILVA, 2013).

Uma técnica alternativa para contornar as desvantagens dos métodos *off-line* utilizados na quantificação é a espectroscopia de infravermelho, que ainda fornece resultados precisos (CÂMARA et al., 2017; ZHANG, 2012), é não destrutiva (CUNHA et al., 2017; LIMA et al., 2014; VASCONCELOS et al., 2012; ZHANG, 2012), não precisa de pré-tratamento da amostra (BAIRD; OJA, 2016; VASCONCELOS et al., 2012; ZHANG, 2012) e tem a grande

vantagem de ser adaptável ao uso *in* ou *on-line* (BAIRD; OJA, 2016; LIMA et al., 2014) demonstrando sua habilidade como técnica de monitoramento em tempo real.

2.1.2 Monitoramento da Síntese do Biodiesel

A determinação da qualidade do biodiesel é uma questão de grande importância para a comercialização bem-sucedida deste tipo de combustível. A contínua alta qualidade do combustível, sem problemas operacionais é um pré-requisito para a aceitação do biodiesel no mercado (TREVISAN et al., 2008).

Desta forma, sistemas de monitoramento mais eficientes das reações químicas utilizadas na produção dos combustíveis, contribuem para elevar a eficiência energética destes processos, permitindo que a indústria possa atender, da melhor forma possível, o disposto na legislação (BONI, 2012). O monitoramento da transesterificação em tempo real também permite otimizar os parâmetros experimentais da reação, para alcançar melhores rendimento e minimizar custos (KILLNER, 2013).

Métodos espectroscópicos como infravermelho próximo, infravermelho médio, ressonância magnética nuclear e Raman já têm sido estudados para uso no monitoramento da reação de transesterificação (BALABIN; SAFIEVA; LOMAKINA, 2010) e dentre o grupo de técnicas de espectroscopia vibracional para aplicação *in situ*, a espectroscopia NIR merece atenção especial, devido ao seu baixo custo instrumental, simplicidade, e por ser uma técnica bem estabelecida usada em uma ampla gama de processos na indústria (LESTANDER et al., 2009).

2.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

A espectroscopia de infravermelho tem sido empregada com sucesso na análise e controle de qualidade do biodiesel, e este método refere-se à espectroscopia de radiação do espectro eletromagnético em números de onda que estão acima dos pertencentes à luz visível, mas abaixo das ondas de rádio (ZHANG et al., 2012).

A região espectral do infravermelho compreende a faixa de número de onda de 12.800 a 10 cm^{-1} , sendo dividida em radiação no infravermelho próximo, médio e distante. Para absorver radiação infravermelha uma molécula precisa sofrer uma variação no momento de dipolo como consequência de um movimento vibracional ou rotacional. Quando uma

frequência de radiação coincide com a frequência de vibração natural de uma molécula, ocorre uma transferência de energia efetiva resultando em uma variação da amplitude da vibração molecular, tendo como consequência a absorção de radiação (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2006).

As posições dos átomos nas moléculas não são fixas, pois dependem de inúmeros tipos de vibrações e rotações em torno das ligações da molécula e em torno dos vários centros de vibrações existentes. Estas vibrações podem ser denominadas de estiramento, quando envolve uma variação contínua na distância interatômica ao longo do eixo de ligação entre dois átomos, ou podem ser denominadas de deformações angulares quando ocorre variação do ângulo entre duas ligações que podem ser do tipo tesoura, balanço, sacudida e torção (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2006).

Se até mesmo moléculas simples terão diferentes vibrações, quando moléculas maiores são estudadas é comum imaginar o aumento da complexidade de um espectro IR devido ao acoplamento de vibrações que a molécula completa pode ter. A análise de um espectro IR pode tornar-se complicada devido a combinações de vibrações e sobretoms (STUART, 2004).

Bandas de sobretom são análogas e múltiplas da frequência fundamental de absorção. A energia requerida para o primeiro sobretom é igual ao dobro da fundamental, assumindo que os níveis de energia estão igualmente divididos em termos de distância. Como a energia é proporcional à frequência absorvida e proporcional ao número de onda, o primeiro sobretom irá aparecer no espectro no número de onda equivalente ao dobro do número de onda da frequência fundamental. Bandas de combinação surgem quando duas bandas fundamentais absorvendo em dois números de onda diferentes absorvem energia simultaneamente. A banda resultante irá aparecer no número de onda correspondente à soma dos números de onda fundamentais (STUART, 2004).

A quantidade de energia absorvida é específica da ligação química, mas também é afetada pela matriz química e fatores ambientais como tipo e grupo funcional, moléculas vizinhas e pontes de hidrogênio. A sobreposição e complexidade características dos espectros NIR dificultam a quantificação e interpretação dos dados dos espectros. Por outro lado, as bandas sobrepostas abrangentes podem reduzir a necessidade de utilizar um grande número de comprimento de ondas durante a análise. Recentemente, novos instrumentos e algoritmos de computador têm aproveitado esta complexidade e têm tornado a técnica muito mais poderosa e simples de usar (COZZOLINO, 2014).

Como os espectros IR revelam informações sobre as ligações moleculares e consequentemente, a estrutura molecular, a espectroscopia de infravermelho pode ser utilizada tanto em análises qualitativas quanto quantitativas de um produto ou processo (CHADWICK et al., 2014), sendo um método de análise não destrutivo e não invasivo que não necessita de preparo ou somente um preparo mínimo de amostra, e só precisa de poucos segundos para coletar o espectro (COZZOLINO, 2014).

2.2.1 Espectroscopia de Infravermelho Próximo

A espectroscopia NIR mede bandas amplas de sobretons e combinações de algumas das vibrações fundamentais (somente os modos de alta frequência) e é uma excelente técnica para quantificação rápida e precisa (LARKIN, 2011).

A região do espectro do infravermelho próximo compreende a faixa de comprimento de onda 770 nm até 2500 nm (número de onda: 13.000 a 4.000 cm^{-1}). As bandas de absorção nessa região são associadas principalmente a sobretons e combinações de vibrações fundamentais de ligações N-H, C-H e O-H (SKOOG et al., 2006). A TABELA 1 apresenta algumas das bandas características de compostos orgânicos.

TABELA 1 - BANDAS DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE ALGUNS COMPOSTOS ORGÂNICOS.

Número de Onda (cm^{-1})	Atribuição
4082 - 4545	Combinação de estiramento de C-H
4545 - 5000	Combinação de estiramento de N-H, combinação de estiramento de O-H
5556 - 6061	Primeiro sobreton de estiramento de C-H
6667 - 7143	Primeiro sobreton de estiramento de N-H, primeiro sobreton de estiramento O-H
7042 - 7692	Combinação de estiramento de C-H
8163 - 9091	Segundo sobreton de estiramento de C-H
9091 - 10526	Segundo sobreton de estiramento de N-H, segundo sobreton de estiramento de O-H
10526 - 11765	Terceiro sobreton de estiramento de C-H
11765 - 12903	Terceiro sobreton de estiramento N-H

FONTE: Adaptado de (STUART, 2004).

Um grande número de variáveis (comprimentos de onda) pode ser medido em uma única amostra utilizando espectroscopia no infravermelho. Além de fornecer muitas informações químicas, os espectros NIR também podem se correlacionar com as propriedades físicas das amostras (SIMÕES, 2008; BAPTISTA et al., 2008).

A maioria dos estudos sobre predição de propriedades de combustíveis opta pela utilização da espectroscopia de infravermelho (BAIRD; OJA, 2016). A base para a quantificação dos produtos da transesterificação é a diferença nos espectros NIR em 6005 cm^{-1} e $4425 - 4430\text{ cm}^{-1}$, onde os ésteres metílicos apresentam picos, enquanto que os triacilgliceróis exibem somente ombros. Os ésteres etílicos podem ser distinguidos de maneira similar (KNOTHE; GERPEN; KRAHL, 2005).

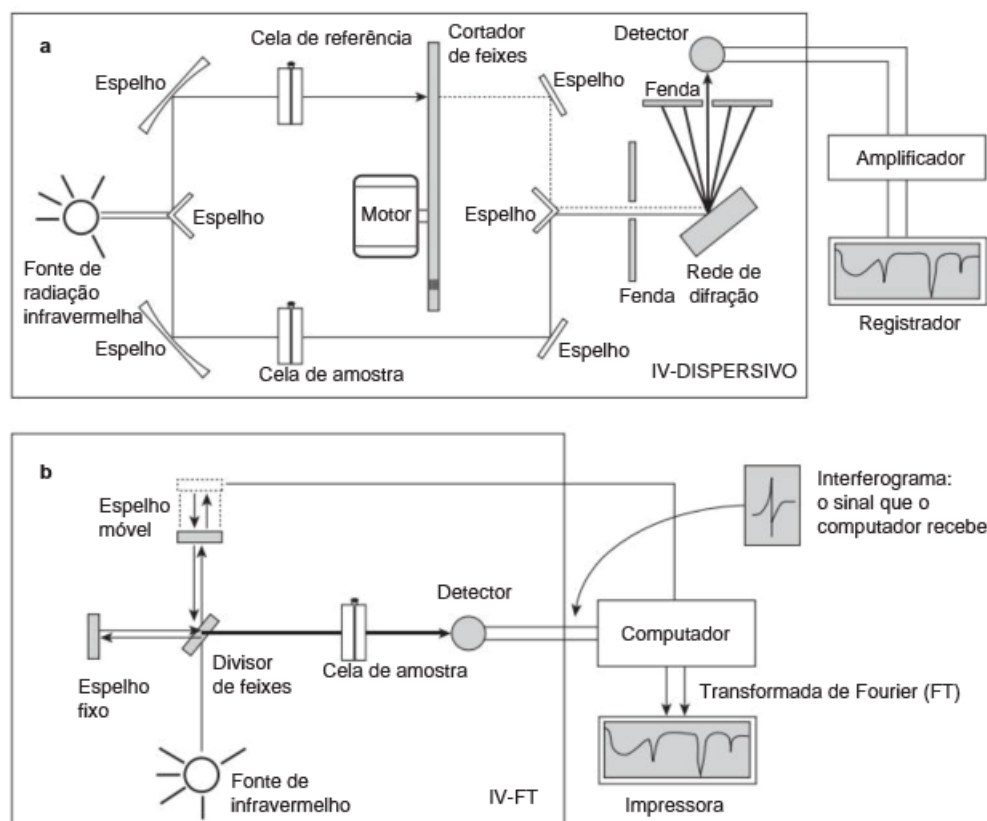
2.2.2 Instrumentos Espectroscópicos

Os espectrofotômetros comuns contêm os seguintes componentes: fonte estável de energia radiante, recipiente para amostra, dispositivo que isola uma região restrita do espectro para a medida, detector de radiação com conversor de sinal, processador e dispositivo de saída. Os instrumentos para infravermelho próximo utilizam lâmpadas de tungstênio/halogênio com janela de quartzo como fontes de radiação e os detectores geralmente são fotocondutores de sulfeto de chumbo (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2006).

Basicamente as medições de absorção na região de infravermelho podem ser feitas por espectrofotômetros dispersivos de rede e multiplexados empregando transformada de Fourier.

Em um espectrofotômetro dispersivo (FIGURA 2a) o feixe da fonte de radiação é dividido em 2 feixes paralelos de igual intensidade de radiação, sendo um feixe utilizado para a amostra e outro como referência. Os feixes atingem o cortador de feixes, sendo que cada feixe passa pelo cortador de maneira alternada, seguindo para a rede de difração que varia a frequência ou comprimento de onda da radiação que atinge o detector. O detector sente a razão entre as intensidades dos feixes de referência e de amostra, determinando quais frequências foram absorvidas ou não. O espectro é registrado à medida que a frequência da radiação no infravermelho é alterada pela rede de difração, obtendo um espectro no domínio da frequência (PAVLA et al., 2016).

FIGURA 2 - DIAGRAMAS ESQUEMÁTICOS DOS ESPECTROFOTÔMETROS DISPERSIVOS (a) E DE TRANSFORMADA DE FOURIER (b).



FONTE: (PAVLA et al., 2016)

Os avanços mais significativos na espectroscopia de infravermelho ocorreram com a introdução de espectrômetros de transformada de Fourier, que aumentaram drasticamente a qualidade dos espectros e reduziram o tempo de aquisição (STUART, 2004).

O interferômetro de Michelson é empregado na maioria dos espectrômetros FT-IR (FIGURA 2b) e utiliza um divisor de feixe para dividir o feixe de radiação IR em uma parte que é refletida em um espelho fixo e outra parte que é transmitida para um espelho móvel. Quando os feixes são refletidos novamente para o divisor de feixe, padrões de interferência construtivo/destrutivo devido à diferença de distâncias que os feixes percorreram, e parte do feixe recombina-se e atinge o detector. Após a energia IR ter sido seletivamente absorvida por uma amostra localizada entre o divisor de feixe e o detector, flutuações na intensidade da energia que atinge o detector são digitalizadas em tempo real, gerando um interferograma contendo toda a informação necessária para produzir o espectro IR da amostra, mas esta informação está no domínio do tempo. Para obter um espectro IR convencional, o interferograma é convertido para o domínio da frequência usando a transformação de Fourier,

um algoritmo matemático utilizado para decodificar o interferograma e obter informação interpretável sobre as frequências individuais (REES, 2010).

Dentre as vantagens dos instrumentos FT-IR podem ser citadas as razões sinal/ruído muito melhores, alto poder de resolução e reprodutibilidade do comprimento de onda e todos os elementos da fonte de radiação atingem o detector simultaneamente, permitindo obter os dados de um espectro inteiro em um segundo ou menos (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2006).

2.3 MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS

Processos ou amostras com mais de uma espécie química apresentam uma alta sobreposição espectral, principalmente aquelas que utilizam a região do infravermelho. Para a resolução destes sistemas, é necessária a utilização de métodos de separação matemática, como a quimiometria (TREVISAN, 2009), para realizar o tratamento, a interpretação e previsão de dados químicos (MALINOWSKI, 1991).

A análise de dados por quimiometria tem a vantagem de ser capaz de trabalhar eficientemente com dados multivariados do mundo real, incluindo dados espectrais altamente colineares (REES, 2010).

Existem diversas ferramentas quimiométricas utilizadas para a construção de modelos de calibração multivariada, dentre essas as mais empregadas são a Regressão Linear Múltipla (MLR), a Regressão em Componentes Principais (PCR) e a Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) (VASCONCELOS, 2008).

Dentre os métodos de regressão mais comumente empregados nos trabalhos que utilizam quimiometria para predição de propriedades de combustíveis, o PLS é utilizado com mais frequência do que os outros métodos, mas o desenvolvimento de métodos que são capazes de modelar a não linearidade, como versões não lineares de PLS, redes neurais e regressão por vetor suporte (Support Vector Regression, SVR) faz com que estas novas técnicas estejam ganhando força (BAIRD; OJA, 2016).

2.3.1 Pré-Tratamento dos Dados

Objetivo do pré-tratamento é reduzir as variações indesejáveis que não foram removidas durante a aquisição dos dados e que não serão eliminadas naturalmente durante a análise, mas que podem influenciar os resultados finais (FERREIRA, 2015).

Existem várias técnicas disponíveis para manipulação dos espectros como correção da linha de base, suavização, diferença espectral, derivadas, deconvolução e ajuste de curva. Uma das técnicas mais utilizadas e abordadas é o tratamento do espectro por derivadas.

2.3.1.1 Centralização na Média

Para eliminar um *offset* constante os dados devem ser transladados ao longo da coordenada de origem. Calcula-se o valor médio de cada coluna da matriz e este valor é subtraído de cada um dos valores da respectiva coluna, resultando na translação de eixos para o valor médio de cada um deles, mantendo preservada a estrutura dos dados (FERREIRA, 2015)

2.3.1.2 Derivadas

Problemas decorrentes do instrumento de medição ou da própria amostragem podem deslocar o espectro em um valor constante em relação ao zero de absorbância e este deslocamento pode ser corrigido tomando-se a primeira derivada do espectro. Este pré-tratamento é comum para medidas feitas por reflectância difusa, pois é usual haver deslocamento e inclinação da linha de base. A segunda derivada tem utilidade ao fornecer informações sobre curvatura e concavidade de uma curva (FERREIRA, 2015).

O método mais popular para cálculo das derivadas é o de Savitzky-Golay, que baseia-se em um filtro de média móvel em que se faz um ajuste por mínimos quadrados, de um polinômio de grau n aos pontos da janela móvel (FERREIRA, 2015).

2.3.2 Calibração Multivariada por Mínimos Quadrados Parciais (PLS)

Calibração multivariada é uma das ferramentas quimiométricas mais úteis e mais frequentemente utilizadas para análise de gorduras e óleos, pois facilita a determinação rápida

e simultânea de cada componente nas misturas complexas sem consumir tempo e com mínimo de preparo de amostra (REES, 2010).

Os métodos de calibração multivariada mais utilizados são mínimos quadrados parciais (PLS) e regressão por componentes principais (PCR), que são baseados na redução dos dados espectrais e calibração inversa. Estes métodos permitem fazer uma calibração para o componente desejado enquanto modela completamente as outras fontes de variações (REES, 2010).

A regressão PLS faz parte dos métodos de regressões lineares múltiplas e tem sido amplamente utilizada na análise multivariada de dados espectrais. O principal objetivo de utilizar o PLS é construir um modelo de calibração a partir do qual novos dados podem ser preditos (BALABIN; SAFIEVA; LOMAKINA, 2010).

Os modelos PLS permitem identificar variáveis latentes, ou combinações lineares das variáveis independentes que melhor predizem a variável dependente. Também permite manipular conjuntos de dados com variáveis que são altamente correlacionadas e apresentam ruído aleatório considerável (CUNHA et al., 2017). A notação em forma de matrizes do método de mínimos quadrados é apresentada na FIGURA 3.

FIGURA 3 - NOTAÇÃO MATRICIAL DA REGRESSÃO POR MÍNIMOS QUADRADOS.

$$\begin{array}{c} \text{m} \\ \boxed{\text{Y}} \\ \text{n} \end{array} = \begin{array}{c} \text{p} \\ \boxed{\text{X}} \\ \text{n} \end{array} \begin{array}{c} \text{m} \\ \boxed{\text{B}} \\ \text{p} \end{array} + \text{Resíduos}$$

FONTE: Adaptado de OTTO (2007).

A matriz B é a matriz de parâmetros de regressão e os resíduos são as diferenças entre os dados medidos e preditos. A aplicação mais comum em calibração multivariada é a construção de um modelo para predição das concentrações de m componentes em n amostras (Y) a partir de n espectros adquiridos em p números de onda (X).

Regressões por mínimos quadrados ordinários e de componentes principais para estimar os coeficientes de regressão e prever as variáveis dependentes Y a partir das variáveis independentes X, decompõem a matriz X independentemente da matriz Y. Já o método PLS também utiliza a informação contida na matriz Y. Cada direção de variável latente do PLS da matriz X é modificada de forma que a covariância entre ela e o vetor Y é maximizada (OTTO,

2007). Ambas as matrizes X e Y são decompostas em matrizes menores de acordo com as representações da FIGURA 4 e FIGURA 5.

FIGURA 4 - DECOMPOSIÇÃO RELACIONADA À MATRIZ X.

$$\begin{array}{c} \text{p} \\ \square \\ \text{X} \\ \text{n} \end{array} = \begin{array}{c} \text{d} \\ \square \\ \text{T} \\ \text{n} \end{array} \begin{array}{c} \text{p} \\ \square \\ \text{P}^T \\ \text{d} \end{array} + \begin{array}{c} \text{p} \\ \square \\ \text{E} \\ \text{n} \end{array}$$

FONTE: Adaptado de OTTO (2007).

FIGURA 5 - DECOMPOSIÇÃO RELACIONADA À MATRIZ Y.

$$\begin{array}{c} \text{m} \\ \square \\ \text{Y} \\ \text{n} \end{array} = \begin{array}{c} \text{d} \\ \square \\ \text{T} \\ \text{n} \end{array} \begin{array}{c} \text{m} \\ \square \\ \text{Q}^T \\ \text{d} \end{array} + \begin{array}{c} \text{m} \\ \square \\ \text{F} \\ \text{n} \end{array}$$

FONTE: Adaptado de OTTO (2007)

As matrizes T e U são as matrizes de *scores* contendo linhas ortogonais, P é a matriz de *loadings* de X e Q é a matriz de *loadings* de Y, E e F são matrizes de erro (resíduos) de X e Y, respectivamente.

O algoritmo de cálculo da regressão PLS segue os seguintes passos,

A primeira dimensão d (índice 1) é calculada a partir dos vetores de colunas médios das matrizes X e Y,

l = 0:

$$X = X_{\text{original}} - \bar{x} \quad (01)$$

$$Y = Y_{\text{original}} - \bar{y} \quad (02)$$

As próximas dimensões de l = 1 até l = d são calculadas com base em um critério de parada, normalmente o erro de predição por validação cruzada.

Loop para número de dimensões: l = l + 1.

Os componentes principais são estimados iterativamente utilizando, por exemplo, o algoritmo de NIPALS e a iteração para quando a precisão do computador é atingida.

Loop de iteração do algoritmo de NIPALS:

- 1) A primeira coluna da matriz Y é utilizada como ponto de partida para o vetor u de *score* de y:

$$u = y_1$$

- 2) Os pesos de X são calculados:

$$w^T = \frac{u^T X}{u^T u} \quad (03)$$

- 3) Os pesos são normalizados a um vetor de comprimento unitário:

$$w^T = \frac{w^T}{(w^T w)^{1/2}} \quad (04)$$

- 4) *Scores* da matriz X são estimados:

$$t = Xw^T \quad (05)$$

- 5) Os *loadings* da matriz Y são calculados:

$$q^T = \frac{t^T Y}{t^T t} \quad (06)$$

- 6) O vetor u de *scores* de y é gerado:

$$u = \frac{Yq}{q^T q} \quad (07)$$

O vetor u anterior e o vetor u atual são comparados e de acordo com o critério de parada, atinge-se a convergência, caso contrário a iteração continua no primeiro passo.

- 7) A relação interna do modelo é calculada na forma de um escalar b:

$$b = \frac{u^T t}{t^T t} \quad (08)$$

- 8) Os *loadings* da matriz X são calculados:

$$p^T = \frac{t^T X}{t^T t} \quad (08)$$

- 9) Os novos resíduos são calculados para as matrizes X e Y

$$E = X - btp \quad (09)$$

$$F = Y - btq \quad (10)$$

Os coeficientes da matriz B do modelo geral de predição são finalmente calculados por,

$$B = W(P^T W)^{-1} Q^T \quad (11)$$

Com os coeficientes da matriz B, pode-se calcular os valores de y preditos pelo modelo,

$$Y^{\text{predito}} = BX \quad (12)$$

Um ponto crítico da regressão por PLS é a determinação do número de variáveis latentes do modelo, pois quando o número é baixo, o erro de previsão é alto e o modelo está subajustado porque informações importantes não foram consideradas ao construí-lo. A adição de variáveis latentes incorpora informações relevantes ao modelo, aumentando a variância explicada em X, reduzindo o erro de previsão. Se o modelo tem mais variáveis latentes que o número ótimo, o erro de previsão volta a crescer, indicando que o modelo está mais complexo do que o desejado, ocorrendo o sobreajuste (FERREIRA, 2015).

Geralmente o processo de calibração de um modelo de predição passa pelas etapas de validação interna e validação externa. A validação cruzada total é uma forma de validação interna que subdivide o conjunto de calibração no mesmo número de amostras, permitindo que todas as amostras sejam deixadas de fora da calibração ao menos uma vez, e testadas como dados externos ao modelo. Assim todos os dados são usados no conjunto de calibração e validação, cada observação é utilizada externamente em somente uma validação (CUNHA et al., 2017). O valor da raiz quadrada do erro médio quadrático de validação cruzada (*Root Mean Square Error of Cross-Validation*, RMSECV) é utilizado na determinação do número ótimo de variáveis latentes do modelo e é calculado por,

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^n (y_{ij}^{\text{predito}} - y_{ij}^{\text{medido}})^2}{n}} \quad (13)$$

São criados modelos com diferentes números de variáveis latentes e o que apresentar menor valor de RMSECV é o que possui o número ótimo de fatores. Uma sugestão para

modelos simples de calibração é que existam 2LV+2 amostras, alguns autores sugerem 3LV, 5LV ou 10LV. O modelo será mais preciso na região em que há um número maior de amostras e não se deve extrapolar um modelo para regiões não modeladas (FERREIRA, 2015).

Alguns dos parâmetros comumente utilizados para avaliar a capacidade de predição dos modelos são as raízes dos erros médios quadráticos de calibração e de predição. O valor da raiz quadrada do erro médio quadrático de calibração (*Root Mean Square Error of Calibration*, RMSEC) é uma medida da diferença média entre os valores predito e medido por um método de referência, fornecendo uma visão geral da habilidade do modelo (CUNHA et al., 2017).

$$\text{RMSEC} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i^{\text{predito}} - y_i^{\text{medido}})^2}{N}} \quad (14)$$

onde N é o número de amostras utilizado para calibração.

Com um modelo de calibração estabelecido, testa-se quão bem o modelo trabalha com amostras externas ao conjunto usado para sua criação. Para o passo de validação externa, um conjunto de variáveis independentes é fornecido ao modelo e o poder de predição é avaliado pelo valor da raiz quadrada do erro médio quadrático de predição (*Root Mean Square Error of Prediction*, RMSEP),

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^P (y_i^{\text{predito}} - y_i^{\text{medido}})^2}{P}} \quad (15)$$

onde P é o número de amostras utilizado na validação externa.

Valores de RMSEP iguais ou menores que o erro obtido pelo método de medição de referência indicam que o modelo pode ser utilizado com a mesma precisão que o método de referência na quantificação do componente desejado. Normalmente admite-se que modelos com erros inferiores a 5% são adequados.

2.3.2.1 Identificação de Outliers

O estudo dos resíduos é muito importante na estatística diagnóstica (OTTO, 2007). Utilizando o modelo geral de regressão, uma única variável y pode ser escrita como,

$$y = Xb + e \quad (16)$$

onde e é o vetor de resíduos dos valores de y ,

$$e_j = y_j - \hat{y}_j \quad (17)$$

A relação entre os valores predito e medido de y pode ser descrita por uma matriz fundamental, a matriz de projeção, H . Ao fazer o modelo de calibração ordinário, os parâmetros de regressão são estimados da seguinte forma,

$$b = (X^T X)^{-1} X^T y \quad (18)$$

O modelo ajustado tem o seguinte formato,

$$\hat{y} = X \hat{b} \quad (19)$$

Substituindo a equação 18 em 19,

$$\hat{y} = X(X^T X)^{-1} X^T y = Hy \quad (20)$$

A matriz de projeção transforma o vetor de valores medidos de y no vetor de valores preditos de y . Os elementos da matriz H são calculados por,

$$h_{ij} = x_i^T (X^T X)^{-1} x_j \quad (21)$$

Os valores de h_{ij} chamados de alavancagem podem ser utilizados na detecção de *outliers*, alguns trabalhos consideram que um *outlier* possui o valor de alavancagem maior que o dobro da alavancagem média (BAPTISTA et al., 2008; FELIZARDO et al., 2007a, 2007b).

Para testar a significância de um *outlier* um teste t de Student pode ser aplicado. A hipótese nula considera que \hat{y}_k não é um *outlier*, então os modelos de predição construídos com ou sem o valor de y não irão apresentar diferenças significativas. Já se \hat{y}_k é um *outlier*, então o valor t irá exceder o valor crítico em certo nível de confiança. O valor de t pode ser aproximado a partir do valor de alavancagem pela fórmula,

$$t_k = \frac{e_k}{s_k \sqrt{1 - h_{kk}}} \quad (22)$$

O valor de s_k é calculado por,

$$s_k^2 = \frac{\sum_{i=1, i \neq k}^n e_i^2}{n - VL - 1} \quad (23)$$

O valor do resíduo Studentizado externamente não depende da escala e valores acima de 2 são considerados *outliers* (OTTO, 2007).

2.4 ESTADO DA ARTE

O uso da ferramenta de espectroscopia por NIR juntamente com métodos de calibração multivariada tem sido reportado em vários trabalhos sobre predição de propriedades do biodiesel. Foram desenvolvidos modelos para predição dos teores de metanol e água no biodiesel (BALABIN; SMIRNOV, 2011; FELIZARDO et al., 2007a, 2007b) e predição dos teores de metanol e glicerol, usando espectro visível e NIR (DORADO et al., 2011).

O uso de MIR e NIR com calibração multivariada (PLS e MLR) no monitoramento da degradação de biodiesel certificado de diferentes origens, mostrou que esta é uma técnica válida para checar a estabilidade de biodiesel durante seu armazenamento (LIRA et al., 2010).

Modelos para determinar a quantidade de ésteres no biodiesel com ênfase em ésteres metílicos de ácido linolênico apresentaram erros de predição menores que 1% (BAPTISTA et al., 2008). O uso da espectroscopia NIR e calibração multivariada para distinguir misturas de biodiesel/diesel de petróleo, usando biodiesel de soja, teve boa distinção e quantificação para o biodiesel nas misturas (ALVES; POPPI, 2016).

Provou-se também a aplicação industrial dos modelos de predição desenvolvidos com espectroscopia NIR ao utilizarem também amostras industriais de biodiesel, além de amostras laboratoriais, e por testar a adaptação de um modelo de calibração feito com espectrofotômetro de bancada para um aparelho portátil (BAPTISTA et al., 2008; FELIZARDO et al., 2007a; SILVA et al., 2017).

A TABELA 2 apresenta os trabalhos recentes mais relevantes sobre o monitoramento da síntese de biodiesel via transesterificação, utilizando espectroscopia no infravermelho próximo na determinação do teor de éster.

Quanto às matérias-primas, pode-se observar que a maioria dos trabalhos realizados na área é feita com base nos óleos comerciais de sementes oleaginosas, como óleos de soja e girassol. Porém, a produção de biodiesel também pode partir de gorduras animais e gorduras residuais, como óleo utilizado na fritura de alimentos, mostrando-se um campo ainda a ser explorado. Além disso, o uso do etanol ainda não é muito abordado, e a presença do mesmo como reagente torna o biodiesel um produto mais “verde”.

Todos os trabalhos apresentados na TABELA 2 coletaram os dados para calibração a partir da realização da reação de transesterificação, realizando neutralização das amostras do meio reacional para posterior análise. Trabalhos que envolvem modelos para predição de diferentes razões molares e concentrações de catalisador precisam realizar a reação pelo menos uma vez nas diferentes condições desejadas.

Normalmente os trabalhos desenvolvidos na área não fazem a calibração do modelo de predição do teor de éster utilizando biodiesel produzido por indústrias, que fazem uso de reatores contínuos e tem fontes variadas de matérias-primas. Um dos poucos trabalhos que exploram o monitoramento da síntese de biodiesel produzido de forma contínua foi desenvolvido por Richard et al. (2013).

TABELA 2 - COMPARAÇÃO DOS ESTUDOS MAIS RECENTES SOBRE MONITORAMENTO DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO POR INFRAVERMELHO PRÓXIMO.

Referência	Matéria-Prima	Regime do Reator	Método de Referência	Sistema de Medição	Técnica de Calibração Multivariada	RMSEP (%)
KILLNER; ROHWEDDER; PASQUINI, 2011	Óleos de soja, canola, amendoim e girassol Metanol NaOH	Batelada	RMN 1H	<i>On-line</i>	Pré-processamento dos espectros PLS	0,7
RICHARD et al., 2011	Óleo de girassol Etanol NaOH	Batelada	CG	<i>On-line</i>	Pré-processamento dos espectros PCA/ PLS	1,7

Referência	Matéria-Prima	Regime do Reator	Método de Referência	Sistema de Medição	Técnica de Calibração Multivariada	RMSEP (%)
PINZI et al., 2012	Óleos de girassol, milho e bagaço de azeitona Metanol KOH	Batelada	CG	<i>Off-line</i>	Pré-processamento dos espectros PCA/ PLS	2,5
FONTALVO-GÓMEZ et al., 2013	Óleo de canola Metanol KOH	Batelada	RMN 1H	<i>In-line</i>	Pré-processamento dos espectros PCA/ PLS	2,6
RICHARD et al., 2013	Óleo de girassol Etanol NaOH	Contínuo	CG	<i>On-line</i>	Pré-processamento dos espectros PLS	4,1
LIMA et al., 2014	Óleo de soja Metanol NaOH e KOH	Batelada	CG	<i>In-line</i>	Pré-processamento dos espectros PCA/ PLS	2,2

FONTE: A autora (2016).

Durante a reação, as matérias-primas se transformarão nos intermediários da reação e no produto desejado, transição esta que afeta os espectros do infravermelho que alimentam o modelo de predição, o qual é construído com base nos valores analíticos das quantidades de ésteres. A análise qualitativa do teor de ésteres durante a reação é feita por um método de referência *off-line*, e a maioria dos trabalhos apresentados na Tabela 2 utiliza a cromatografia gasosa como método analítico, pois é mais precisa que a ressonância magnética de hidrogênio, que apresenta sobreposição de sinal de ésteres etílicos e diacilgliceróis, no caso das reações feitas com etanol.

Assim como o método analítico de referência, o sistema de medição dos espectros infravermelho pode ser feito de forma *off-line*, o que requer a retirada de amostras simultâneas para análise quantitativa e qualitativa. Estudos com sistema de medição dos espectros *in-line*, no qual o sensor analítico está em contato direto com a amostra, o que evita as etapas de amostragem e seus possíveis erros associados, facilitando a tomada de decisão e a controlabilidade do processo, foram realizados e apresentaram erros abaixo do esperado para técnicas de referência (FONTALVO-GÓMEZ et al., 2013; LIMA et al., 2014). O monitoramento *in-line* do processo de síntese de biodiesel com base na espectroscopia NIR ainda é incipiente. Faltam estudos sistemáticos sobre a aplicação desta técnica como ferramenta de monitoramento de processos de produção de biodiesel.

A correlação entre os dados analíticos obtidos pelo método de referência e os espectros medidos é feita por um modelo de calibração, desenvolvido e testado para fornecer os menores erros possíveis de predição. A calibração do modelo pode envolver métodos de

pré-processamento e quimiométricos, e pela Tabela 2 nota-se que todos os autores dos trabalhos utilizam o pré-processamento dos espectros juntamente com a análise de componentes principais e mínimos quadrados parciais.

O modelo de calibração desenvolvido é testado, e é feita a análise do erro de predição, sendo que valores abaixo de 1,5% são considerados ideais por serem menores que o erro máximo aceito por normas internacionais, como a EN 14214, para determinar analiticamente o teor de ésteres. A grande maioria dos autores citados na Tabela 2 obteve erros de predição maiores que 1,5%, mas isto pode ser justificado se o modelo de predição é flexível o suficiente para prever alterações no teor de ésteres que estejam fora das condições que foram usadas na calibração.

O uso de espectroscopia na região do infravermelho próximo mostra-se realmente aplicável ao monitoramento da reação de transesterificação para produção de biodiesel, tanto de maneira off-line quanto on-line com resultados tão satisfatórios quanto os fornecidos por métodos analíticos tradicionais. Como os trabalhos da literatura envolvem a realização da reação para coleta dos pontos de calibração, desenvolver misturas que simulam o meio reacional para serem utilizadas na calibração, reduzem parte do tempo gasto em laboratório e também os gastos de reagentes, e esta lacuna será abordada neste trabalho.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 PRODUÇÃO DE BIODIESEL

A fase inicial do trabalho teve como objetivo produzir biodiesel etílico, que seria utilizado nas amostras que simularam diferentes conversões da reação de transesterificação básica. As reações de transesterificação em batelada foram feitas utilizando um balão de três bocas com capacidade de 250 mL inserido em um banho de glicerol aquecido por uma chapa com agitação por barra magnética. O balão era acoplado a um condensador, sendo que em uma das bocas do balão foi inserido um termopar e outra boca era utilizada para alimentar os reagentes, sendo em seguida sempre vedada com uma rolha para não haver perda do álcool.

A reação foi feita em duas etapas (MENDOW et al., 2011) utilizando hidróxido de sódio como catalisador, seguindo razão molar entre álcool e óleo de 6:1, sendo que a massa molar do óleo de soja foi calculada a partir de dados de composição de ácidos graxos deste óleo, apresentada na TABELA 3, tendo como valor médio 872,92 g/mol. A quantidade de catalisador era igual a 0,6% (BAPTISTA et al., 2008; FREEDMAN; PRYDE; MOUNTS, 1984; LIMA et al., 2014) em relação à massa de óleo e a pressão atmosférica foi mantida durante todo o tempo de reação.

TABELA 3 - COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NO ÓLEO DE SOJA.

Ácido graxo	% massa
Palmítico	10,1
Esteárico	4,3
Oleico	22,3
Linoleico	53,7
Linolênico	8,1

FONTE: (ISSARIYAKUL; DALAI, 2014)

Na primeira etapa, com o meio reacional em aquecimento, era feita a mistura entre álcool etílico absoluto (P.A. 99,8%, Neon) e hidróxido de sódio em micropérolas (P.A. ACS mín. 97%, Êxodo), mantendo-se agitação constante para completa solubilização do hidróxido de sódio, adicionando-se em seguida a massa total de óleo de soja refinado da marca Leve.

Acompanhou-se a temperatura do meio reacional e o tempo de reação passou a ser contado quando se atingia o valor de 55 °C, mantida em 55 °C regulando-se a temperatura da chapa de aquecimento. Após 45 minutos de reação o volume total do balão era transferido para um funil de decantação, no qual ocorria a separação por gravidade entre as fases rica em ésteres e a fase rica em glicerol.

Após 1 hora de separação no funil, a fase mais densa rica em glicerol era retirada e descartada. A fase restante passou por uma lavagem ácida com uma solução a 60 °C e 5% em massa de ácido clorídrico (P.A., Vetec), tendo volume total igual a aproximadamente 25% do volume total obtido com a reação. Aguardou-se novamente a separação das fases após a lavagem, sendo que após 30 minutos a fase mais densa foi removida e descartada. Foram feitas 2 lavagens adicionais com mesmo volume utilizado na lavagem ácida, mas somente com água destilada a 60 °C, novamente aguardando 30 minutos de separação e descartando-se a fase mais densa.

A fase rica em ésteres, obtida após as lavagens, foi rotaevaporada à vácuo durante 40 minutos a 60 °C para remover o etanol e parte da água. Este procedimento encerra a primeira etapa da reação.

Para a segunda etapa foi pesada a massa total rica em ésteres produzida ao final da etapa 1 e considerou-se somente 10% desta massa como reagente oleoso. Com base na mesma proporção molar de álcool e quantidade de catalisador da etapa 1, foram calculadas as massas de álcool etílico e hidróxido de sódio da segunda etapa.

O procedimento de realização da segunda etapa é idêntico ao feito na primeira, desde a mistura do álcool etílico e hidróxido de sódio no meio reacional em aquecimento, até a passagem da fase rica em ésteres pelo rotaevaporador. O produto final foi mantido em uma estufa a 60 °C durante 16 horas para remover possíveis compostos voláteis que possam estar presentes no produto, e em seguida foi filtrado passando por sulfato de sódio anidro (P.A. mín. 99%, Vetec). O biodiesel produzido foi analisado por cromatografia gasosa, armazenado em frascos de vidro de cor âmbar e mantido sob refrigeração.

3.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ACIDEZ

O teor de acidez do óleo de soja foi determinado por titulação com solução de NaOH e fenolftaleína, utilizando uma bureta digital eletrônica modelo Class A Precision da marca Brand, com capacidade para 50 mL.

A solução de hidróxido de sódio 0,1 M foi preparada pesando-se 2 g de NaOH em micropérolas (P.A. ACS mín. 97%, Êxodo), em um béquer de 25 mL. Adicionou-se água destilada para solubilização das micropérolas e o volume total foi transferido para um balão de 500 mL, completando-se o volume com água destilada.

A molaridade aparente da solução de NaOH é calculada pela equação 24,

$$M^{ap} = \frac{m_{NaOH}}{0,0399971 \cdot V_{sol}} \quad (24)$$

onde M^{ap} é a molaridade aparente da solução (mol/L), m_{NaOH} é a massa de NaOH utilizada para preparo da solução (g) e V_{sol} é o volume total final da solução (mL).

Como a solução de hidróxido de sódio pode ser armazenada para utilização quando necessário, é importante fazer a correção da molaridade da solução em cada dia que for feita a titulação. A padronização da solução é feita pesando-se 0,2 g de biftalato de potássio (P.A., Vetec) seco previamente em estufa a 105 °C durante 1 hora e resfriado em dessecador. A massa de biftalato de potássio é solubilizada em 75 mL de água isenta de gás carbônico e adicionam-se 2 gotas da solução de fenolftaleína. Esta solução de biftalato é titulada com a solução de hidróxido de sódio até que a cor rosácea se mantenha por aproximadamente 30 s, e este procedimento foi realizado em triplicata.

O fator de correção da molaridade é calculado pela equação 25,

$$f = \frac{m_{bif}}{0,2042212 \cdot V \cdot M^{ap}} \quad (25)$$

onde f é o fator de correção da molaridade, m_{bif} é a massa de biftalato de potássio usado na padronização (g), V é o volume de solução de NaOH gasto na titulação (mL).

A molaridade real da solução de NaOH é então calculada por,

$$M = f \cdot M^{ap} \quad (26)$$

onde M é a molaridade real da solução de hidróxido de sódio (mol/L).

Para a titulação pesou-se aproximadamente 0,5 g de amostra em um erlenmeyer, adicionando-se em seguida 25 mL de álcool etílico absoluto (P.A. 99,8%, Neon) e duas gotas de solução de fenolftaleína 1%.

O volume de solução de hidróxido de sódio utilizado para neutralização da amostra é indicado pela persistência de um tom rosáceo na solução por pelo menos 30 s.

O cálculo da acidez em porcentagem mássica é indicado pela equação 27,

$$AGL = \frac{V \cdot M \cdot MM_{agl}}{m_{amostra} \cdot 10} \quad (27)$$

onde AGL é a acidez da amostra (% massa), MM_{agl} é a massa molar do ácido graxo livre analisado (g/mol) e $m_{amostra}$ é a massa de amostra analisada (g).

3.3 QUANTIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA GASOSA

O método de quantificação utilizado no trabalho para a determinação dos teores de glicerol, ésteres etílicos, ácidos graxos, MAG, DAG e TAG foi baseado na norma europeia EN 14105.

As amostras passaram pelo processo de derivatização antes de serem injetadas no cromatógrafo, para transformar o glicerol, ácidos graxos livres, MAG e DAG em compostos mais voláteis. A identificação de cada composto presente na amostra foi realizada com base nos tempos de retenção de padrões pertencentes às várias classes dos diferentes compostos de interesse. A quantificação foi realizada após a calibração do instrumento, feita com substâncias de referência e padrões internos.

Todos os reagentes utilizados para a quantificação por CG têm pureza mínima de 99% e são da marca Sigma-Aldrich. Os padrões de referência utilizados para a construção da curva de calibração estão listados a seguir:

- Glicerol (Glicerol (0,5 mg.L⁻¹ a 1800 mg.L⁻¹);
- Ácido oleico (0,5 mg.L⁻¹ a 8000 mg.L⁻¹);
- Etillinoleato (0,5 mg.L⁻¹ a 8000 mg.L⁻¹);
- Monooleína (monoacilgliceróis) (0,5 mg.L⁻¹ a 8000 mg.L⁻¹);
- Dioleína (diacilgliceróis) (0,5 mg.L⁻¹ a 8000 mg.L⁻¹);
- Trioleína (triacilgliceróis) (0,5 mg.L⁻¹ a 8500 mg.L⁻¹).

Os padrões internos utilizados foram diluídos em piridina e estão listados a seguir:

- Butanotriol (0,05 mg.mL⁻¹) – para a determinação de glicerol;
- Ácido láurico (0,150 mg.mL⁻¹) – para a determinação de ácidos graxos livres;
- Metil palmitato (0,150 mg.mL⁻¹) – para a determinação de ésteres etílicos;
- Tricaprina (0,150 mg.mL⁻¹) – para a determinação de MAG, DAG e TAG.

Os gases utilizados no equipamento de cromatografia são: Hélio, Hidrogênio, Nitrogênio e Ar sintético, todos de grau analítico 5.0 fornecidos pela White Martins.

Para a primeira etapa do processo pesou-se 1 mL da amostra à qual foram adicionados 9 mL de heptano, criando assim a solução mãe com volume total de 10 mL. Em um vial com capacidade de 2 mL são inseridos 150 µL da solução mãe, 150 µL de piridina e

100 μL de N-metil-N-trimetilsiltrifluoracetamida (MSTFA). Agitou-se mistura e aguardaram-se 25 min para que a reação de derivatização ocorresse, agitando o vial a cada 5 minutos. Após o tempo de derivatização, foram adicionados ao vial 1100 μL de heptano e a amostra estava pronta para injeção no cromatógrafo, com uma concentração de aproximadamente 1 mg/mL. Todos os volumes necessários ao processo de derivatização foram obtidos utilizando micropipetas automáticas.

Foi utilizado um cromatógrafo GC-2010 Plus da Shimadzu, com injetor Split/Spliteless para 1 μL , razão do split igual a 10 e temperatura de injeção de 380 $^{\circ}\text{C}$. A temperatura do detector de ionização de chama é de 400 $^{\circ}\text{C}$. A coluna utilizada foi a Select biodiesel da Agilent, com dimensões de 15 m x 0,32 mm x 0,10 μm .

A análise era iniciada com a coluna em 50 $^{\circ}\text{C}$ e a temperatura era elevada em rampa até 180 $^{\circ}\text{C}$, com taxa de 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Atingido o primeiro patamar de temperatura, a taxa de elevação foi alterada para 7 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até a temperatura atingir 230 $^{\circ}\text{C}$. A última rampa de aquecimento tinha taxa de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e elevou a temperatura até 380 $^{\circ}\text{C}$, mantendo este valor por 6 min. O tempo total do procedimento de aquecimento foi de 36,81 min e o gás Hélio foi utilizado para arraste.

3.3.1 Curva de Calibração

Foi feita a regressão linear dos dados experimentais entre as concentrações e áreas de picos dos padrões de referência e padrões internos. A equação 28 é um exemplo para as relações entre as variáveis da monooleína,

$$\frac{C_{MAG}}{C_{PI(tricaprina)}} = \left(a_{MAG} \cdot \frac{A_{MAG}}{A_{PI(tricaprina)}} + b_{MAG} \right) \quad (28)$$

onde C_{MAG} é a concentração de monooleína (mg/mL), $C_{PI(tricaprina)}$ é a concentração do padrão interno tricaprina (mg/mL), A_{MAG} é a área do pico de monooleína, $A_{PI(tricaprina)}$ é a áreas do pico do padrão interno tricaprina, a_{MAG} e b_{MAG} são os coeficientes obtidos pela regressão linear dos dados.

3.3.2 Cálculo da Porcentagem dos Compostos na Amostra

A equação 29 apresenta um exemplo de como foram calculadas as porcentagens dos compostos presentes nas amostras analisadas.

$$MAG = 100. \left(a_{MAG} \cdot \frac{A_{MAG}}{A_{PI(tricaprina)}} + b_{MAG} \right) \left(\frac{C_{PI(tricaprina)}}{C_{am}} \right) \quad (29)$$

onde MAG é o percentual mássico de MAG, a_{MAG} e b_{MAG} são os coeficientes obtidos pela regressão linear dos dados de calibração, A_{MAG} é a soma das áreas dos picos de MAG, $A_{PI(tricaprina)}$ é a área do pico do padrão interno tricaprina, $C_{PI(tricaprina)}$ é a concentração do padrão interno tricaprina (mg/mL) e C_{am} é a concentração da amostra na solução analisada (mg/mL).

3.4 DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE GLICEROL POR ESPECTROMETRIA DE UV-VIS

A determinação do teor de glicerol foi feita com base no trabalho de Bondioli et al. (2005), utilizando espectrofotometria na região do Ultravioleta Visível (UV-Vis).

O procedimento necessitou a preparação de soluções de ácido acético (99,8%, Neon) a 1,6 mol/L, acetato de amônio (P.A., Vetec) a 4,0 mol/L, acetilcetona (P.A., Neon) a 0,2 mol/L, periodato de sódio (Meta P.A. ACS, Vetec) a 10 mmol/L e uma solução extratora composta pela mistura de volumes iguais de água destilada e etanol 95% (Neon).

O volume de 150 μ L de amostra foi pesado e adicionou-se o volume de 4 mL de hexano (P.A., Neon) para dissolução. Com a amostra dissolvida eram adicionados 4 mL da solução extratora, mantendo agitação vigorosa por 5 minutos, em seguida a amostra foi centrifugada a 2000 rpm durante 10 minutos para separação das duas fases.

A fase superior foi descartada e 0,6 mL da fase inferior foi transferido para um frasco de vidro com tampa, ao qual também foram adicionados 1,9 mL da solução extratora e 1,5 mL da solução de periodato de sódio, sendo a mistura agitada durante 30 segundos. O preparo da amostra encerra-se com a adição de 1,5 mL da solução de acetilcetona, o frasco é agitado para homogeneização e mantido em um banho com água a 70 °C por 2 minutos. Após o tempo de reação as amostras foram resfriadas em banho de gelo durante 10 minutos e em seguida foi

feita a leitura da absorvância das soluções a 410 nm em um espectrofotômetro de UV-Vis modelo UV-1100 marca Pró-Análise.

Os resultados de absorvância são comparados com a curva de calibração construída com amostras contendo diferentes concentrações de glicerol, fornecendo então a concentração da solução analisada.

3.5 PREPARO DAS AMOSTRAS SINTÉTICAS

Um total de 29 amostras sintéticas contendo óleo de soja, etanol, éster etílico produzido de acordo com o procedimento em 3.1 e glicerol em diferentes proporções foram preparadas baseadas em diferentes razões molares etanol/óleo e conversões, simulando a composição do meio reacional de uma transesterificação entre óleo de soja e etanol, sem levar em consideração qualquer tipo de catalisador. A razão molar de 3:1 respeita a estequiometria da reação de transesterificação, as razões de 6 e 9 são de interesse industrial pois a utilização de excesso de um reagente desloca o equilíbrio da reação para a produção dos produtos e a razão de 12 foi escolhida como uma extrapolação deste excesso de reagente.

A razão molar de 6:1 foi escolhida para simular incrementos de conversão de 10%, gerando 11 amostras variando de 0 para 100% de conversão. As razões molares de 3:1, 9:1 e 12:1 tem incrementos de conversão de 20%, gerando cada uma, 6 amostras de 0 a 100% de conversão. As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa e armazenadas em frascos com capacidade de 40 mL, fechados mantidos sob refrigeração.

Foram utilizados os valores de densidade a 20 °C dos componentes das amostras apresentados na TABELA 4, realizada em um densímetro digital (Anton Paar).

TABELA 4- DENSIDADES DOS COMPONENTES DAS AMOSTRAS SINTÉTICAS A 20 °C.

Componente	Densidade a 20 °C
Óleo de soja	0,9196
Etanol	0,7907
Biodiesel	0,8762
Glicerol	1,2600

Cada amostra foi identificada como ZMBXXX, onde Z é a razão molar etanol/óleo e XXX corresponde à conversão que varia de 0 a 100%. A TABELA 5 contém a composição calculada das amostras sintéticas que foram criadas.

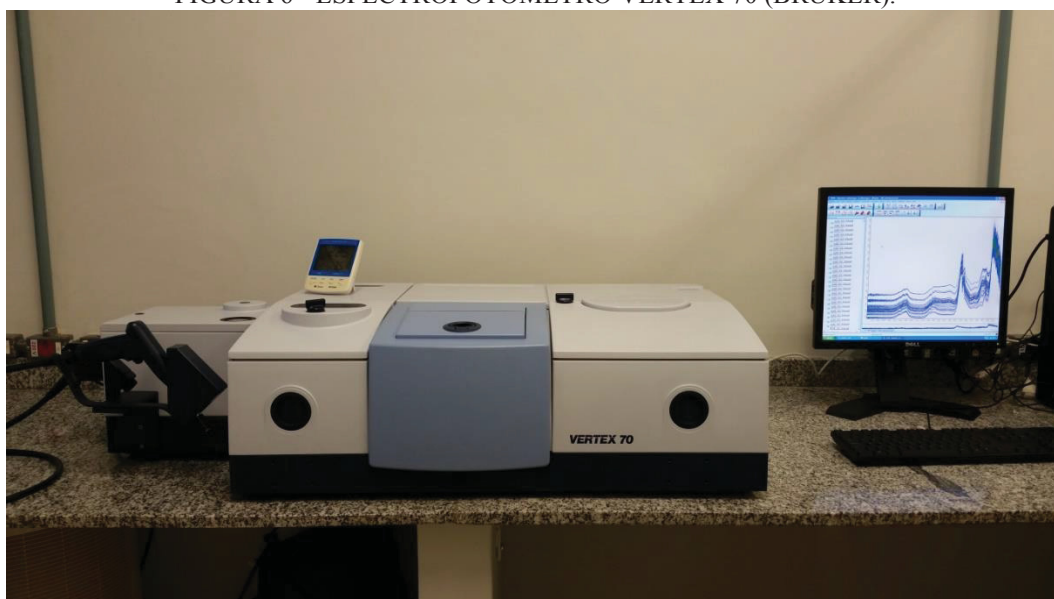
TABELA 5- COMPOSIÇÃO CALCULADA DAS AMOSTRAS SINTÉTICAS.

Fração mássica				
Amostra	Óleo	Etanol	Biodiesel	Glicerol
6MB000	0,7596	0,2404	0,0000	0,0000
6MB010	0,6832	0,2282	0,0802	0,0083
6MB020	0,6077	0,2164	0,1599	0,0160
6MB030	0,5317	0,2042	0,2401	0,0240
6MB040	0,4555	0,1921	0,3198	0,0326
6MB050	0,3795	0,1802	0,4000	0,0404
6MB060	0,3038	0,1682	0,4799	0,0482
6MB070	0,2279	0,1561	0,5600	0,0560
6MB080	0,1519	0,1441	0,6398	0,0642
6MB090	0,0760	0,1321	0,7198	0,0720
6MB100	0,0000	0,1200	0,7993	0,0807
3MB000	0,8638	0,1362	0,0000	0,0000
3MB020	0,6908	0,1086	0,1822	0,0185
3MB040	0,5182	0,0812	0,3637	0,0369
3MB060	0,3455	0,0540	0,5458	0,0546
3MB080	0,1728	0,0264	0,7275	0,0733
3MB100	0,0000	0,0000	0,9089	0,0911
9MB000	0,6787	0,3213	0,0000	0,0000
9MB020	0,5431	0,2994	0,1432	0,0143
9MB040	0,4071	0,2779	0,2864	0,0286
9MB060	0,2717	0,2563	0,4291	0,0429
9MB080	0,1357	0,2347	0,5718	0,0578
9MB100	0,0000	0,2134	0,7149	0,0717
12MB000	0,6121	0,3879	0,0000	0,0000
12MB020	0,4899	0,3683	0,1288	0,0130
12MB040	0,3670	0,3489	0,2580	0,0261
12MB060	0,2449	0,3295	0,3869	0,0387
12MB080	0,1223	0,3100	0,5158	0,0519
12MB100	0,0000	0,2911	0,6445	0,0644

3.6 AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO

A aquisição dos espectros de infravermelho próximo foi feita em um espectrômetro Vertex 70 (Bruker) (FIGURA 6), disponibilizado pelo Laboratório de Espectroscopia Vibracional de Infravermelho, do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná.

FIGURA 6 - ESPECTROFOTÔMETRO VERTEX 70 (BRUKER).



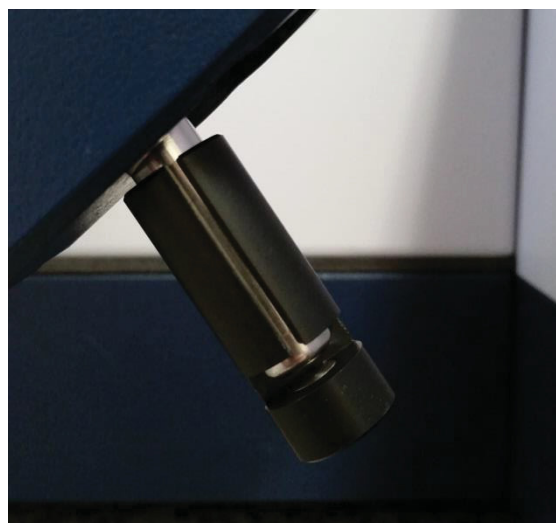
FONTE: A autora (2017)

Os espectros foram adquiridos usando sonda de imersão (FIGURA 7 e FIGURA 8) por transfectância com transformada de Fourier, na faixa de número de onda de 4000 cm^{-1} a 10000 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans. O caminho óptico do acessório é igual a 2,5 mm, com medições feitas a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para amostras sintéticas e à temperatura de reação quando a transesterificação foi monitorada, ambas com agitação pois a formação de duas fases é muito rápida. O espectro branco foi adquirido com a sonda vazia e os dados NIR foram obtidos usando o software OPUS 4.0 fornecido com o instrumento FT-NIR.

FIGURA 7 - SONDA COM ACESSÓRIO PARA LÍQUIDOS.



FIGURA 8- DETALHE DO ACESSÓRIO PARA LÍQUIDOS.



FONTE: A autora (2017)

3.7 MONITORAMENTO ON-LINE DA REAÇÃO

Para o monitoramento *on-line* da reação, éster etílico foi produzido de acordo com o procedimento descrito em 3.1 seguindo somente o primeiro passo da reação com razão molar etanol/óleo igual a 6:1 (R6) e a cada 2 min, começando de 6 min de tempo de reação, o espectro NIR foi adquirido ao mesmo tempo que uma alíquota do meio reacional foi coletada e neutralizada com ácido acético glacial (99,8%, Neon). Um total de 9 alíquotas foram coletadas e analisadas por CG-FID.

Também foi realizado o monitoramento de uma reação de transesterificação básica com razão molar etanol/óleo igual a 9:1 (R9), coletando espectros NIR e alíquotas do meio reacional a cada 2 min, a partir dos 2 min de reação. Um total de 14 amostras foi coletado e neutralizado da mesma forma que realizado para a reação com razão molar 6:1.

FIGURA 9 - MONTAGEM DO EXPERIMENTO PARA MONITORAMENTO ON-LINE DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO.



FONTE: A autora (2017)

3.8 ANÁLISE DE DADOS E CALIBRAÇÃO DO MODELO

O software MATLAB R2016a foi utilizado para realizar a análise dos dados, pré-processamento dos espectros, calibrar e validar o modelo de regressão. A detecção de *outlier* foi feita baseada nos valores de alavancagem e resíduos de y studentizados, um *outlier* era detectado se seu valor de alavancagem era maior que 2,5 vezes o valor médio de alavancagem ou se seu valor de resíduo de y studentizado fosse maior que 2,5.

Todos os espectros foram centralizados na média antes dos procedimentos de modelagem. A região com maior diferenciação espectral foi identificada e utilizada para desenvolver um modelo de calibração multivariada baseado na regressão por mínimos quadrados parciais. Derivadas de Savitzky-Golay de primeira e segunda ordem com diferentes pontos de janela foram testadas como técnicas de pré-processamento dos espectros. Com o intuito de monitorar uma reação de transesterificação, seis modelos diferentes (M) baseados na predição da quantidade de éster etílico foram desenvolvidos usando dados de amostras sintéticas de acordo com as seguintes razões molares etanol/óleo,

- M1: 3, 6, 9 e 12;
- M2: 3, 6 e 9;
- M3: 6, 9 e 12;
- M4: 6 e 9;
- M5: 6;
- M6: 9.

O melhor número de variáveis latentes (VL) foi detectado pela raiz quadrada do erro médio quadrático de validação cruzada (RMSECV), usando o método de validação cruzada completa, permitindo assim que todas as amostras fossem testadas pelo menos uma vez como dado externo. A validação do modelo foi feita pela raiz quadrada do erro médio quadrático de predição (RMSEP) usando dados de duas reações de transesterificação catalisada por base e monitoradas *on-line* (R6 e R9), que não foram utilizadas durante o passo de calibração.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 BIODIESEL PRODUZIDO

O biodiesel produzido para ser utilizado nas misturas sintéticas simulando a composição do meio reacional foi analisado por CG e o resultado da caracterização é apresentado na TABELA 6.

TABELA 6- CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL PRODUZIDO.

Característica	Análise por CG-FID	Legislação ¹
Teor de Éster (% massa)	98,5	96,5 (mín.)
Índice de acidez (mg KOH/g)	0,3	0,5 (máx.)
Monoacilglicerol (% massa)	0,8	0,7 (máx.)
Diacilglicerol (% massa)	0,3	0,2 (máx.)
Triacilglicerol (% massa)	0,2	0,2 (máx.)
Glicerol livre (% massa)	0,01	0,02 (máx.)

¹ BRASIL. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Resolução nº 45, de 2014** (BRASIL, 2014).

Somente os teores de MAG e DAG ficaram acima dos limites estabelecidos em legislação, mas como o modelo foi construído para fazer a predição do teor de éster e o valor obtido está acima do limite mínimo, o biodiesel produzido foi utilizado nas amostras sintéticas.

4.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS SINTÉTICAS

Durante o preparo da amostra para a análise por CG-FID o etanol era removido em estufa aquecida e o glicerol não era detectado por possível decantação no preparo da amostra, por este motivo a análise de glicerol foi feita por espectrofotometria de UV-vis e o etanol foi quantificado pela perda de massa em estufa.

Foi possível fazer a comparação dos resultados do CG-FID com os esperados para o teor de éster, que é o composto de interesse para a construção dos modelos de calibração para acompanhamento da transesterificação. Os resultados para teor de triacilglicerol, etanol e glicerol também são mostrados a seguir.

A FIGURA 10 apresenta a comparação do resultado de teor de éster e a FIGURA 11 apresenta a comparação dos resultados de teor de TAG com os resultados esperados pelas

massas de cada composto utilizadas no preparo das amostras sintéticas, sendo ambas as análises feitas por CG-FID.

FIGURA 10 - TEOR DE ÉSTER ETÍLICO POR CG-FID VERSUS O CALCULADO PELA COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA SINTÉTICA.

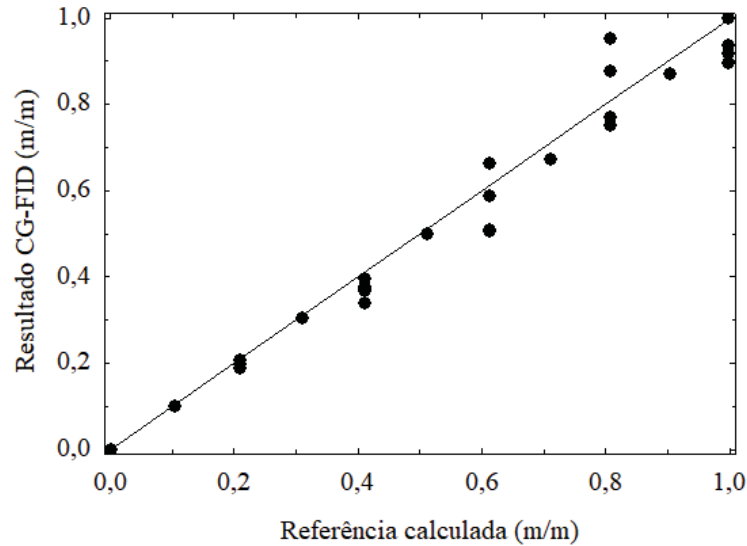
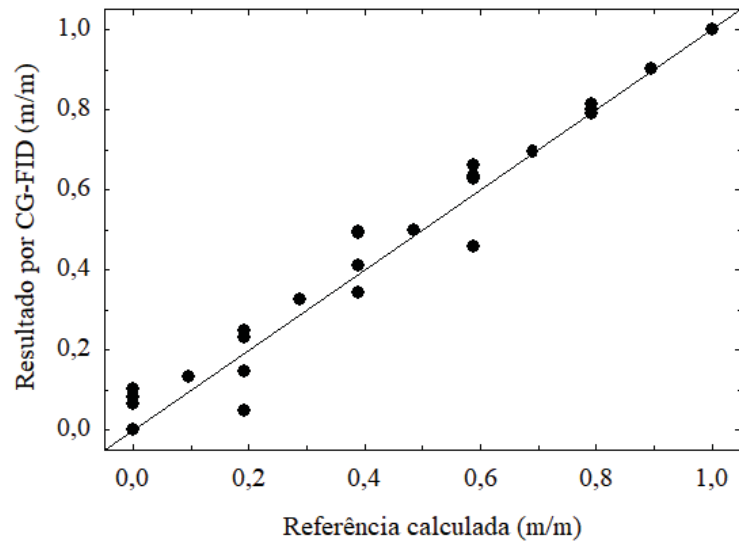


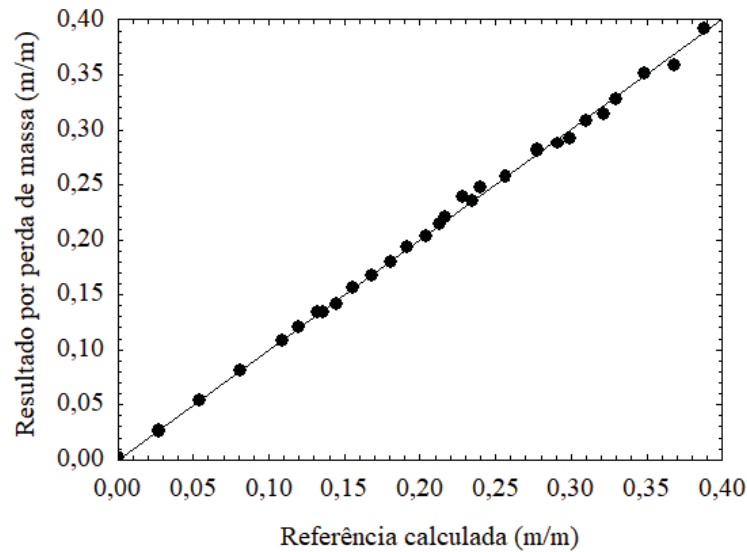
FIGURA 11 - TEOR DE TRIACILGLICEROL POR CG-FID VERSUS O CALCULADO PELA COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA SINTÉTICA.



Alguns dados apresentam desvios quanto ao valor esperado e durante a etapa de calibração do modelo de regressão por PLS foram feitos testes para identificação dos *outliers*.

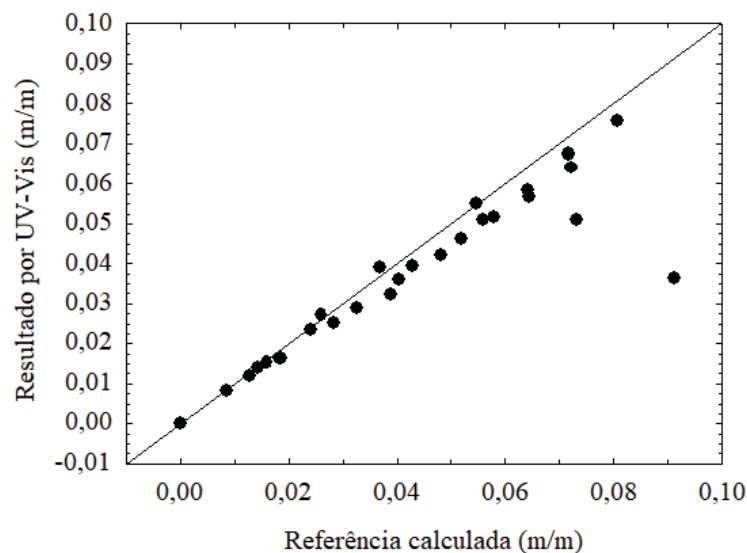
A FIGURA 12 apresenta os resultados para a quantificação do etanol por perda de massa em estufa aquecida, mostrando que os resultados estão dentro do esperado.

FIGURA 12 - TEOR DE ETANOL POR PERDA DE MASSA EM ESTUFA VERSUS O CALCULADO PELA COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA SINTÉTICA.



A FIGURA 13 apresenta os resultados da quantificação de glicerol por UV-Vis e nota-se que a maioria dos resultados ficou abaixo do teor esperado.

FIGURA 13 - TEOR DE GLICEROL POR UV-VIS VERSUS O CALCULADO PELA COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA SINTÉTICA.

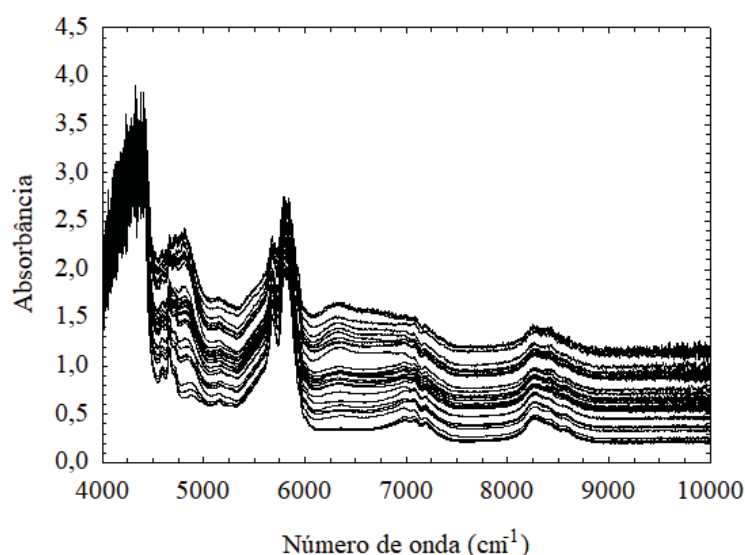


A discrepância dos resultados da quantificação de glicerol deve-se à alta densidade e viscosidade do composto, que faz com que o glicerol decante rapidamente e fique preso nas paredes de frascos e ponteiros de pipetas.

4.3 ESPECTROS NIR E CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

A FIGURA 14 mostra os espectros NIR das amostras sintéticas que foram utilizados para construir o modelo de calibração da quantidade de éster etílico. As duas regiões extremas de número de onda na faixa de $10000 - 9000 \text{ cm}^{-1}$ e $4450 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ apresentaram sinal ruidoso e não foram utilizadas no modelo de regressão PLS. Todos os modelos de calibração desenvolvidos utilizaram espectros centralizados na média e validação cruzada total, na qual o número de subconjuntos de validação era sempre igual ao número de pontos utilizados para calibração N.

FIGURA 14 - ESPECTROS DAS AMOSTRAS SINTÉTICAS SEM PRÉ-TRATAMENTO.



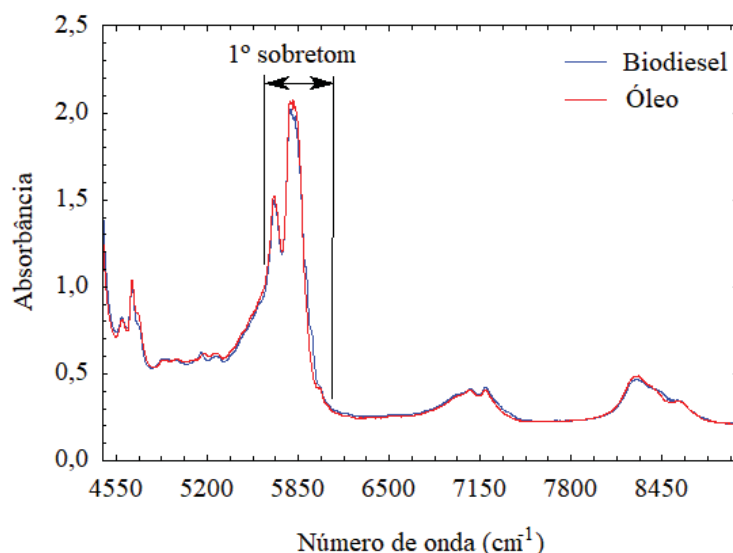
4.3.1 Modelos de Predição do Teor de Éster

O primeiro modelo M1 foi desenvolvido usando a faixa de número de onda de $9000 - 4450 \text{ cm}^{-1}$ e de acordo com as contribuições das variáveis a região inicial foi reduzida, removendo números de onda com baixa contribuição até que não houvesse mais melhoria no modelo. De todas as amostras sintéticas quatro pontos de dados foram detectados como *outliers* seguindo o procedimento em 2.3.2.1 e removidos dos modelos de calibração, portanto o modelo foi construído com 25 amostras para calibração e 25 subconjuntos para validação cruzada.

A FIGURA 15 mostra os espectros NIR do biodiesel de soja e óleo de soja utilizados para checar as regiões de número de onda testadas durante a regressão PLS para

desenvolvimento do modelo de calibração. A região de número de onda $6150 - 5941 \text{ cm}^{-1}$ mostrou a maior diferenciação espectral para construir os modelos de calibração. Como mostrado na FIGURA 15, a região de número de onda utilizada para calibração está relacionada às variáveis correspondentes ao primeiro sobretom de alongamento das ligações C-H.

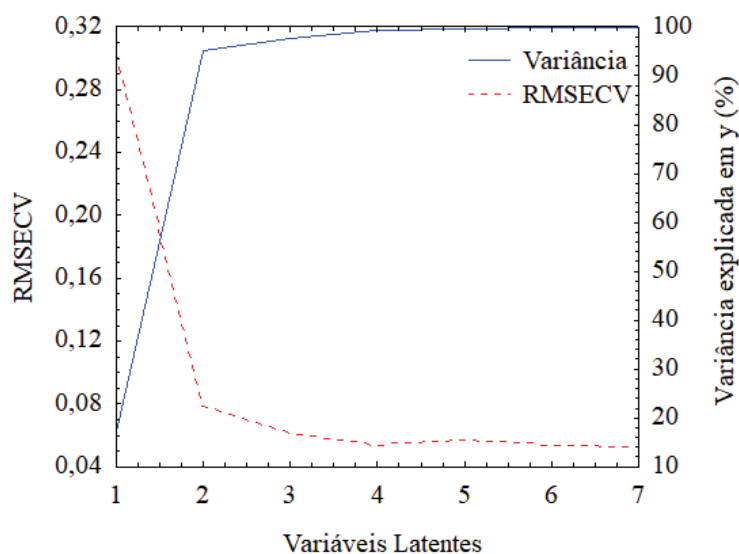
FIGURA 15 - ESPECTROS NIR DO BIODIESEL E ÓLEO DE SOJA.



De acordo com nosso conhecimento a região de número de onda utilizada neste trabalho ainda não foi testada no monitoramento da reação de transesterificação e é mais estreita que algumas regiões testadas (KILLNER; ROHWEDDER; PASQUINI, 2011; LIMA et al., 2014; RICHARD et al., 2011, 2013).

A escolha do número de variáveis latentes do modelo foi feita com base nos valores de variância explicada em y e RMSECV estimado em função do número de variáveis latentes que o modelo poderia ter, sendo estipulado que 7 variáveis latentes seria o número máximo de um modelo. Pela FIGURA 16 nota-se que para o modelo M1, 4 variáveis latentes são suficientes para explicar mais que 98% da variância dos dados em y com RMSECV relativamente baixo. Apesar de um modelo com 6 variáveis latentes ter maior percentual de variância em y explicado e um valor de RMSECV próximo ao de um modelo com 4 variáveis latentes, este ganho não é tão significativo e tornaria o modelo sobreajustado, o que não é tão desejável, pois pode prejudicar a capacidade de predição de novos dados.

FIGURA 16 - RMSECV E PORCENTAGEM DA VARIÂNCIA EXPLICADA EM Y PARA O MODELO M1.



O modelo M1 para predição do teor de éster teve como resultados RMSEC de 2,83%, RMSECV de 5,39% e R^2 igual a 0,9916 para N igual 25 e 4 variáveis latentes. O modelo foi validado com dados da reação monitorada *on-line* feita com razão molar 6:1 (R6), que são externos ao conjunto de calibração e apresentou RMSEP de 4,59%.

Derivadas de Savitzky-Golay de primeira e segunda ordens com diferentes tamanhos de segmentos e ordens de polinômio de ajustes de 2 e 3 foram testadas para checar a melhoria do modelo, mas os resultados foram piores do que aqueles utilizando os espectros brutos e em alguns casos este pré-tratamento gerou modelos com valores de RMSEP acima de 10% como mostrado na TABELA 7. O uso dos espectros somente centralizados na média não é usual, pois grande parte dos trabalhos que usam NIR para desenvolver modelos para monitoramento da transesterificação utilizaram pelo menos também um pré-processamento por derivada (KILLNER; ROHWEDDER; PASQUINI, 2011; LIMA et al., 2014; PINZI et al., 2012; RICHARD et al., 2011, 2013).

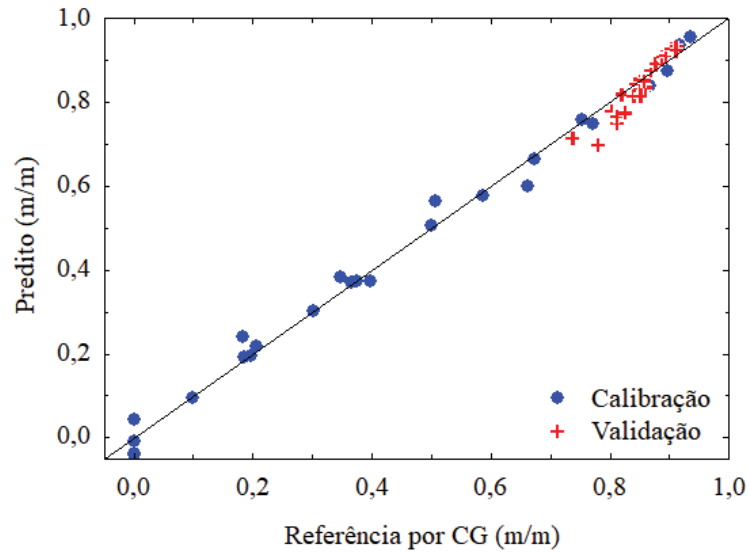
TABELA 7 - RESULTADOS DO MODELO M1 SEM E COM PRÉ-TRATAMENTO DE DERIVADA DE SG PARA 25 PONTOS DE CALIBRAÇÃO E 9 PONTOS DE VALIDAÇÃO EXTERNA.

Ordem da derivada	-	1		2			
Ordem do polinômio	-	2	3	2 ou 3	2 ou 3		
Tamanho do segmento	-	11	21	11	21	11	21
VL	4	6	3	6	3	6	4
RMSEC (%)	2,83	1,97	3,58	2,42	3,46	3,02	3,45
RMSECV (%)	5,39	4,88	4,57	5,14	5,75	7,91	6,41
RMSEP (%)	4,59	5,80	6,76	9,99	7,95	12,89	11,03

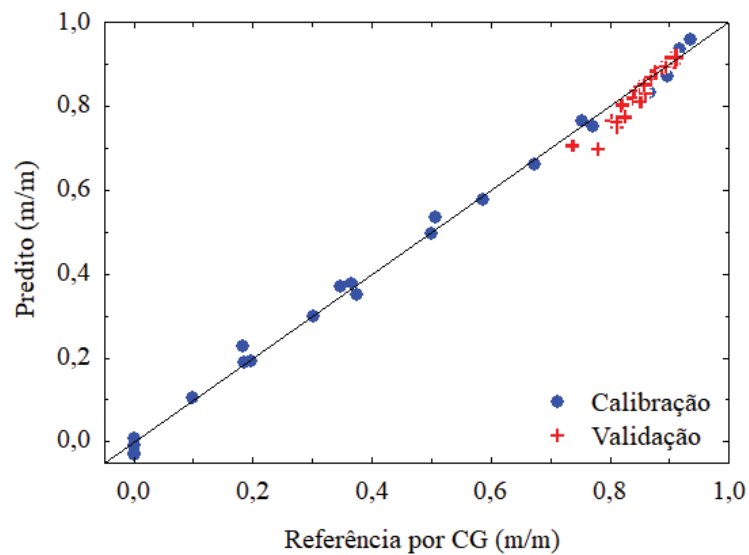
O mesmo procedimento utilizado para criar o modelo M1 foi feito para os outros modelos sempre utilizando a região de número de onda de $6150 - 5941 \text{ cm}^{-1}$ para a calibração e usando os dados das reações monitoradas *on-line* para validação do modelo na FIGURA 17.

FIGURA 17 - TEOR DE ÉSTER PREDITO PARA DADOS DE CALIBRAÇÃO E VALIDAÇÃO.

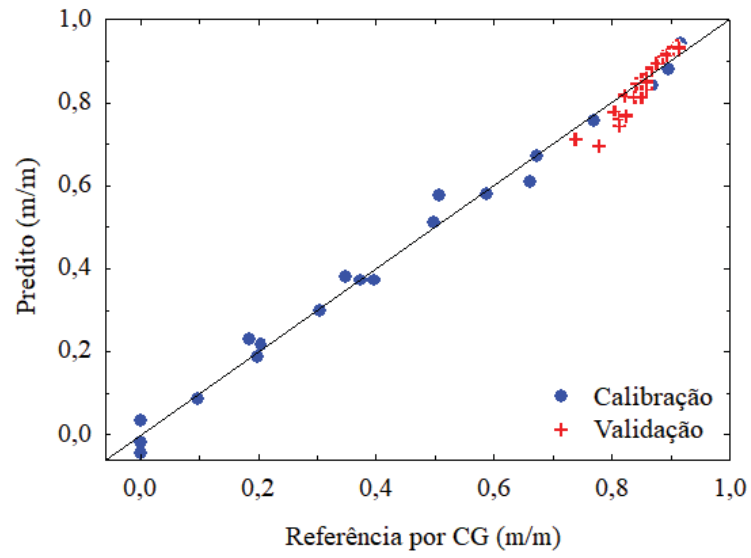
a)



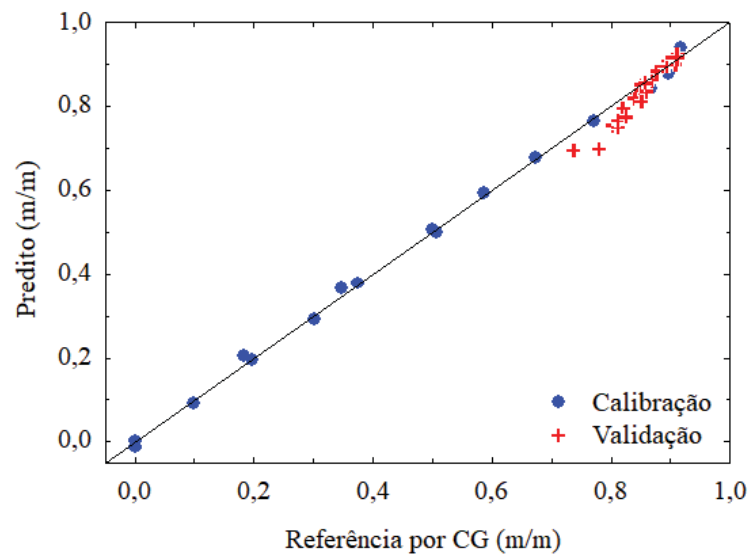
b)



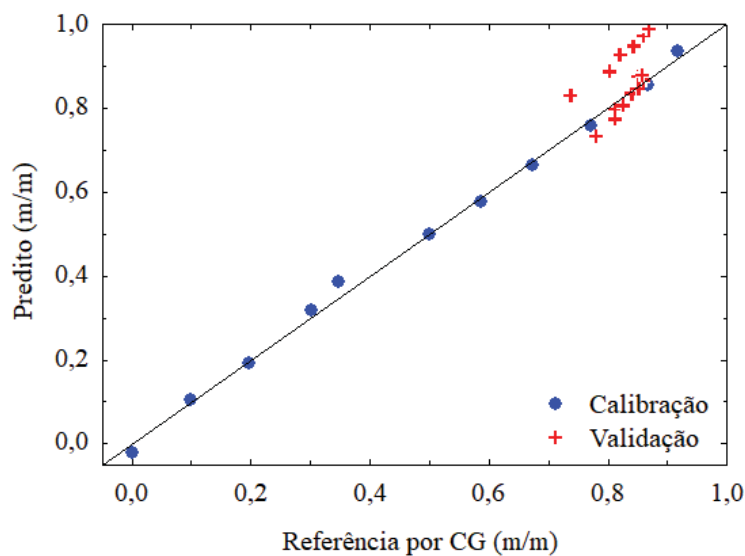
c)



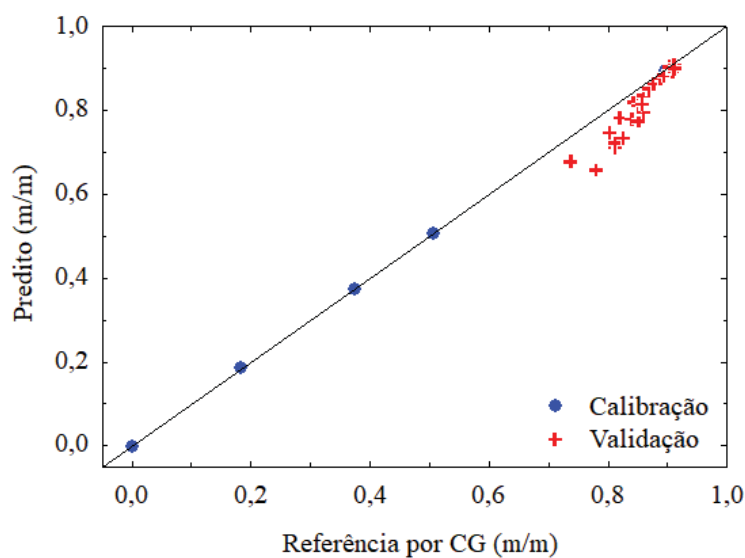
d)



e)



f)



LEGENDA: a) Modelo M1 – Razões molares de 3, 6, 9 e 12.

b) Modelo M2 – Razões molares de 3, 6 e 9.

c) Modelo M3 – Razões molares de 6, 9 e 12.

d) Modelo M4 – Razões molares de 6 e 9.

e) Modelo M5 – Razão molar 6.

f) Modelo M6 – Razão molar 9.

A TABELA 8 resume os resultados dos modelos de regressão PLS desenvolvidos com a região de número de onda de $6150 - 5941 \text{ cm}^{-1}$ e diferentes números de pontos de calibração para quantidade de éster etílico. Todos estes modelos foram validados utilizando dados de duas transesterificações catalisadas por base descritas em 3.7.

TABELA 8 - RESULTADOS PLS PARA CALIBRAÇÃO E PREDIÇÃO DA QUANTIDADE DE ÉSTER ETÍLICO.

Modelo	M1	M2	M3	M4	M5	M6
N	25	21	20	16	11	5
VL	4	4	4	5	2	3
RMSEC (%)	2,83	2,01	2,94	1,30	1,60	2,05
RMSECV (%)	5,39	4,04	6,10	4,47	2,21	-
R²	0,9916	0,9959	0,9952	0,9966	0,9931	0,9971
RMSEP (%) R6	4,59	4,63	4,82	4,44	2,41	8,13
RMSEP (%) R9	1,55	1,53	1,90	2,04	11,59	2,86
RMSEP (%) R6+R9	3,12	3,13	3,36	3,21	9,16	5,55

Os modelos M1, M2, M3 e M4 para predição do teor de éster nas condições reacionais não apresentaram desvios significativos entre os dados de calibração e predição, e um teste-F com nível de confiança de 95% demonstrou que os dois resultados são estatisticamente iguais, então qualquer um deles pode ser utilizado no monitoramento *on-line* da reação de transesterificação feita com razões molares de 6 e 9, com erros de predição menores que 5% e próximos ao desvio de 2,78% obtido nas análises por CG. Levando em consideração o valor de RMSEP para R6 + R9, a melhor predição para o monitoramento *on-line* das reações de transesterificação será garantida utilizando o modelo M1. Entretanto, o modelo M4 pode ser utilizado quando é necessária uma predição melhor para a reação R6 com resultados relativamente bons para a reação R9, com a vantagem de que o modelo utilizou menos produtos químicos e tempo de análise devido ao número mais baixo de amostras necessárias ao desenvolvimento do modelo.

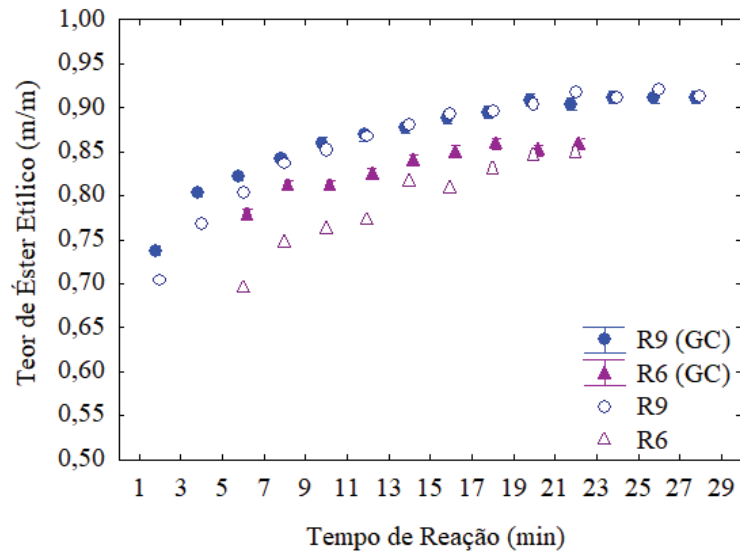
Os modelos M5 e M6 também não apresentaram desvios significativos entre os dados de calibração, mas os resultados para os dados das duas reações monitoradas *on-line* apresentaram desvios que fazem com que tais modelos não sejam robustos para predição de das condições reacionais, quando se deseja que o modelo seja flexível o bastante para prever tanto a reação feita com razão molar de 6 quanto a de razão molar igual a 9. Como esperado, os modelos M5 e M6 só são precisos para as razões molares nas quais foram calibrados. Apesar da sensibilidade dos dados espectrais à quantidade de ésteres, é difícil que um modelo seja capaz de prever o teor de éster na mistura em condições que não são as mesmas adotadas no passo de calibração, e normalmente os modelos serão válidos na faixa de dados da variável de resposta. Infelizmente o conjunto de dados das amostras sintéticas simulando uma reação com razão molar igual a 9 possui somente 5 pontos válidos, levando a um modelo que não é o melhor para esta razão molar, ao contrário do modelo desenvolvido com amostras sintéticas simulando uma reação com razão molar igual 6, que gerou o melhor modelo para predição da reação realizada com esta razão molar.

Richard et al. (2013) desenvolveram um modelo para predição da quantidade de éster etílico a partir da etanolise de óleo de girassol e os melhores resultados para predição de éster etílico usando medição NIR por reflectância foram $RMSEC = 4,08\%$ e $RMSEP = 4,10\%$, para 5 variáveis latentes, 44 amostras para calibração e um conjunto de razões molares de 6, 9, 16,2, 22,7 e 45,4, para reação feita a 65 °C. No presente trabalho, o modelo M1 apresentou valores de RMSEP menores para a predição de éster etílico em reações com razões molares de 6 e 9, com somente 4 variáveis latentes e menos amostras de calibração.

Trabalhos desenvolvidos para predição da quantidade de ésteres metílico ou etílico durante a reação de transesterificação, calibrados e validados com somente uma razão molar álcool/óleo foram desenvolvidos por: Lima et al. (2014) obtendo $RMSEP = 1,51\%$ com 6 variáveis latentes e 50 amostras de calibração; Pinzi et al. (2012) obtiveram $RMSEP = 2,55\%$ com 3 variáveis latentes e 79 amostras de calibração; e Richard et al. (2013) obtiveram $RMSEP = 3,52\%$ para 9 variáveis latentes e 40 amostras. O presente trabalho possui 2 modelos que foram desenvolvidos com base em dados de somente uma razão molar, que são os modelos M5 e M6 que geraram $RMSEP = 2,41\%$ para a razão molar de 6 e $RMSEP = 2,86\%$ para a razão molar de 9. Estes resultados são tão bons quanto os apresentados por Pinzi et al. (2012), mas foi utilizado um número menor de amostras de calibração.

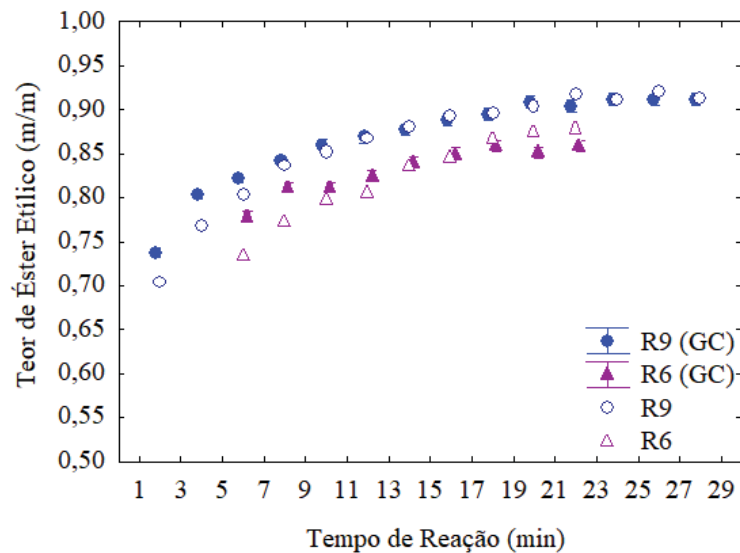
Com dados do monitoramento *on-line* foi possível checar o quão rápido ocorre a reação de transesterificação, como mostrado na FIGURA 18, que contém os teores de éster etílico medidos pela análise por CG e preditos pelo modelo M1. O comportamento é similar ao apresentado Richard et al. (2013) e em poucos minutos de reação o equilíbrio é alcançado justificando o uso de uma técnica tão rápida quanto o NIR associado a um modelo de regressão PLS para monitoramento *on-line*.

FIGURA 18 - TEOR DE ÉSTER ETÍLICO DURANTE AS REAÇÕES R6 E R9 DE ACORDO COM A REFERÊNCIA POR CG E PREDIÇÕES ON-LINE (M1).



Utilizando os modelos que forneceram os melhores resultados de predição para a reação R6 (M5) e o modelo com melhor predição para a reação R9 (M2), o teor de éster etílico durante o progresso do tempo de reação é apresentado na FIGURA 19.

FIGURA 19 - TEOR DE ÉSTER ETÍLICO DURANTE AS REAÇÕES R6 E R9 DE ACORDO COM A REFERÊNCIA POR CG E PREDIÇÕES ON-LINE (M2 e M5).



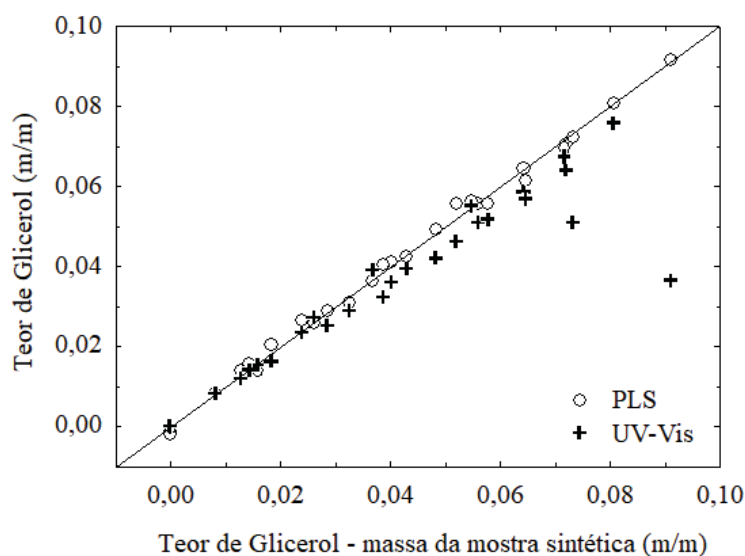
Nota-se o melhor ajuste quanto à predição das reações R6 e R9 usando os modelos que melhor predizem cada uma, mas um modelo único que é flexível o suficiente para prever ambas as reações, também pode atender às finalidades do monitoramento de maneira adequada.

4.3.2 Modelo para Predição do Teor de Glicerol

Durante as análises das amostras sintéticas, notou-se um grande desvio entre os resultados de glicerol das análises por UV-Vis e os resultados esperados pela massa calculada de cada componente adicionado na amostra sintética. Como os espectros das amostras sintéticas também podem ser utilizados para desenvolver um modelo de calibração para o teor de glicerol na amostra, foi desenvolvido um modelo, alimentando os valores esperados de fração de glicerol.

Na FIGURA 20 pode-se notar que a maioria dos resultados dos teores de glicerol da análise por UV-Vis ficaram abaixo dos valores esperados (Bissetriz), como já apresentado na seção 4.2. O modelo de predição construído por regressão PLS utilizou a faixa de número de onda de $5930 - 6181 \text{ cm}^{-1}$, 4 variáveis latentes, RMSEC de 0,15%, RMSECV de 0,15% e RMSEP de 0,20% em relação à percentagem mássica de glicerol na amostra.

FIGURA 20 - TEOR DE GLICEROL POR CALIBRAÇÃO PLS E ANÁLISE UV-VIS.



Os trabalhos de Pinzi et al. (2012), focado na utilização de NIR no monitoramento da produção de biodiesel e o de Dorado et al. (2011), focado na utilização de NIR para atestar a qualidade do biodiesel, também apresentam modelos para predição do teor de glicerol. O modelo de Pinzi et. al (2012) apresentou RMSECV de 0,56% em relação à percentagem mássica de glicerol presente na amostra, com 4 variáveis latentes e RMSEP igual a 0,73% para validação do modelo que abrange teores de glicerol de 0,32 a 3,38 em percentagem mássica. Dorado et al. (2011) utilizaram uma faixa de teor de glicerol para calibração

variando de 0,005 a 0,050 em porcentagem mássica e o modelo associando UV-Vis e NIR apresentou RMSECV de 0,083%.

O modelo de predição apresentado neste trabalho abrange uma faixa maior de teor de glicerol e gerou resultados com erros menores que o trabalho de Pinzi et. al (2012), demonstrando ser uma técnica válida e precisa para a quantificação do teor de glicerol.

5 CONCLUSÕES

Diferentes modelos para acompanhamento *on-line* da transesterificação entre óleo de soja e etanol na presença de hidróxido de sódio nas razões molares etanol/óleo iguais a 6 e 9, na temperatura de 55 °C foram desenvolvidos a partir de amostras sintéticas que simulavam a composição do meio reacional para razões molares de 3, 6, 9 e 12.

Os modelos para predição de éster feitos a partir de regressão PLS, espectroscopia de infravermelho próximo e dados de calibração das razões molares 3, 6, 9 e 12, razões molares 3, 6 e 9, razões molares 6, 9 e 12 e razões molares 6 e 9 apresentaram erros médios próximos ao desvio de 2,78% do método de análise de referência por CG-FID.

Os resultados são satisfatórios considerando que:

- 1) os modelos de calibração foram desenvolvidos a partir de amostras sintéticas, não dependendo de realização da reação em diferentes condições, coletar amostras e neutralizá-las enquanto os espectros NIR são adquiridos,
- 2) modelos construídos com espectros adquiridos a 20 °C foram capazes de prever dados de uma reação a 55 °C com RMSEP máximo de 3,36% para modelos capazes de prever a reação realizada com duas razões molares diferentes e,
- 3) 29 amostras foram necessárias, representando economia de custos de laboratório.

Os resultados demonstraram que com um conjunto relativamente pequeno de dados, modelos de calibração podem ser criados utilizando medidas *off-line*, mostrando que NIR é uma técnica rápida e precisa de quantificação, permitindo controle efetivo da reação, reduzindo tempo e custos de processo.

Os desvios obtidos nos resultados esperados de teor de glicerol das amostras sintéticas também geraram a demanda da criação de um modelo para quantificação deste componente. O modelo desenvolvido mostrou-se promissor para ser utilizado nas análises quantitativas de glicerol no meio reacional, com resultados até melhores que o método de referência utilizado.

REFERÊNCIAS

- ALVES, J. C. L.; POPPI, R. J. Biodiesel content determination in diesel fuel blends using near infrared (NIR) spectroscopy and support vector machines (SVM). **Talanta**, v. 104, p. 155–161, 2013.
- ALVES, J. C. L.; POPPI, R. J. Quantification of conventional and advanced biofuels contents in diesel fuel blends using near-infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Fuel**, v. 165, p. 379–388, 2016.
- BAIRD, Z. S.; OJA, V. Predicting fuel properties using chemometrics: a review and an extension to temperature dependent physical properties by using infrared spectroscopy to predict density. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 158, p. 41–47, 2016.
- BALABIN, R. M.; LOMAKINA, E. I.; SAFIEVA, R. Z. Neural network (ANN) approach to biodiesel analysis: Analysis of biodiesel density, kinematic viscosity, methanol and water contents using near infrared (NIR) spectroscopy. **Fuel**, v. 90, n. 5, p. 2007–2015, 2011.
- BALABIN, R. M.; SAFIEVA, R. Z.; LOMAKINA, E. I. Analytica Chimica Acta Gasoline classification using near infrared (NIR) spectroscopy data : Comparison of multivariate techniques. **Analytica Chimica Acta**, v. 671, n. 1–2, p. 27–35, 2010.
- BALABIN, R. M.; SMIRNOV, S. V. Variable selection in near-infrared spectroscopy: Benchmarking of feature selection methods on biodiesel data. **Analytica Chimica Acta**, v. 692, n. 1–2, p. 63–72, 2011.
- BAPTISTA, P. et al. Multivariate near infrared spectroscopy models for predicting the methyl esters content in biodiesel. **Analytica Chimica Acta**, v. 607, n. 2, p. 153–159, 2008.
- BONDIOLI, P.; DELLA BELLA, L. An alternative spectrophotometric method for the determination of free glycerol in biodiesel. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 107, n. 3, p. 153–157, 2005.
- BONI, L. A. B. DE. **Monitoramento da reação de transesterificação através da integração de múltiplos sensores**. [s.l.: s.n.].
- BRAZIL. **Resolução ANP nº45 de 25 de agosto de 2014** Brazil Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, , 2014.
- CÂMARA, A. B. F. et al. MCR-ALS and PLS coupled to NIR/MIR spectroscopies for quantification and identification of adulterant in biodiesel-diesel blends. **Fuel**, v. 210, n. July, p. 497–506, 2017.
- CHADWICK, D. T. et al. Evaluation of infrared techniques for the assessment of biomass and biofuel quality parameters and conversion technology processes : A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 30, p. 672–681, 2014.
- COZZOLINO, D. **Infrared Spectroscopy: Theory, Developments and Applications**. New York: Nova Publishers, 2014.
- CUNHA, C. L. et al. Predicting the properties of biodiesel and its blends using mid-FT-IR

spectroscopy and first-order multivariate calibration. **Fuel**, v. 204, p. 185–194, 2017.

DORADO, M. P. et al. Visible and NIR Spectroscopy to assess biodiesel quality: Determination of alcohol and glycerol traces. **Fuel**, v. 90, n. 6, p. 2321–2325, 2011.

FELIZARDO, P. et al. Monitoring biodiesel fuel quality by near infrared spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 15, n. 2, p. 97–105, 2007a.

FELIZARDO, P. et al. Multivariate near infrared spectroscopy models for predicting methanol and water content in biodiesel. **Analytica Chimica Acta**, v. 595, p. 107–113, 2007b.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria - Conceitos, Métodos e Aplicações**. [s.l.] UNICAMP, 2015.

FONTALVO-GÓMEZ, M. et al. In-line near-infrared (NIR) and raman spectroscopy coupled with principal component analysis (PCA) for in situ evaluation of the transesterification reaction. **Applied Spectroscopy**, v. 67, n. 10, p. 1142–1149, 2013.

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

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

IZIDA, T. et al. On-line in situ monitoring of the soybean oil and ethanol transesterification reaction by fluorescence spectroscopy. **Fuel**, v. 145, p. 109–115, 2015.

KILLNER, M. H. M. **Emprego da Espectroscopia NIR e de RMN 1H de Baixo Campo no Monitoramento da Reação de Transesterificação para a Produção de Biodiesel. Determinação de Parâmetros de Qualidade de Diesel por RMN 1H de Baixo Campo**. [s.l.: s.n.].

KILLNER, M. H. M.; ROHWEDDER, J. J. R.; PASQUINI, C. A PLS regression model using NIR spectroscopy for on-line monitoring of the biodiesel production reaction. **Fuel**, v. 90, n. 11, p. 3268–3273, 2011.

KNOTHE, G. Analytical Methods Used in the Production and Fuel Quality Assessment of Biodiesel. **American Society of Agricultural Engineers N. University St**, v. 193, n. 442, p. 193–200, 2001.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. VAN; KRAHL, J. **The Biodiesel Handbook**. [s.l.: s.n.].

LARKIN, P. J. **Infrared and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation**. [s.l.] Elsevier, 2011.

LIMA, S. M. DE et al. In-line monitoring of the transesterification reactions for biodiesel production using NIR spectroscopy. **Fuel**, v. 115, p. 46–53, 2014.

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

2010.

MENDOW, G. et al. Biodiesel production by two-stage transesterification with ethanol. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 22, p. 10407–10413, 2011.

MOREIRA, S. A. et al. Optimization of NIR spectroscopy based PLSR models for critical properties of vegetable oils used in biodiesel production. **Fuel**, v. 150, p. 697–704, 2015.

NATALELLO, A.; SASSO, F.; SECUNDO, F. Enzymatic transesterification monitored by an easy-to-use Fourier transform infrared spectroscopy method. **Biotechnology Journal**, v. 8, n. 1, p. 133–138, 2013.

OLIVEIRA, R. R. DE et al. Application of correlation constrained multivariate curve resolution alternating least-squares methods for determination of compounds of interest in biodiesel blends using NIR and UV-visible spectroscopic data. **Talanta**, v. 125, p. 233–241, 2014.

OTTO, M. **Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry**. [s.l.] Wiley-VCH, 2007.

PAVLA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. 2^a ed. São Paulo: Cengage Learning, 2016.

PINZI, S. et al. Near infrared reflectance spectroscopy and multivariate analysis to monitor reaction products during biodiesel production. **Fuel**, v. 92, n. 1, p. 354–359, 2012.

REES, O. J. **Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Developments, Techniques and Applications**. New York: [s.n.].

RICHARD, R. et al. On-line monitoring of the transesterification reaction between triglycerides and ethanol using near infrared spectroscopy combined with gas chromatography. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 12, p. 6702–6709, 2011.

RICHARD, R. et al. On-line monitoring of the transesterification reaction carried out in microreactors using near infrared spectroscopy. **Fuel**, v. 104, p. 318–325, 2013.

SALES, R. F. et al. Multivariate statistical process control charts for batch monitoring of transesterification reactions for biodiesel production based on near-infrared spectroscopy. **Computers and Chemical Engineering**, v. 94, p. 343–353, 2016.

SILVA, N. C. DA et al. Standardization from a benchtop to a handheld NIR spectrometer using mathematically mixed NIR spectra to determine fuel quality parameters. **Analytica Chimica Acta**, v. 954, p. 32–42, 2017.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2006.

SOUZA, A. V. A. DE; SILVA, J. F. C. DA. Biodiesel Synthesis Evaluated by Using Real-Time ATR-FTIR. **Organic Process Research and Development**, v. 17, p. 127–132, 2013.

STUART, B. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2004.

TREVISAN, M. G. et al. Evolving factor analysis-based method for correcting monitoring delay in different batch runs for use with PLS: On-line monitoring of a transesterification reaction by ATR-FTIR. **Talanta**, v. 74, n. 4, p. 971–976, 2008.

TREVISAN, M. G. **Monitoramento de reações químicas empregando espectroscopia no infravermelho**. [s.l.] UNICAMP, 2009.

VASCONCELOS, F. V. C. DE. **Desenvolvimento de Metodologias Analíticas Baseadas na Espectroscopia no Infravermelho e Calibração Multivariada para Avaliação da Qualidade das Misturas Biodiesel/Petrodiesel**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2008.

VASCONCELOS, F. V. C. DE et al. Using near-infrared overtone regions to determine biodiesel content and adulteration of diesel/biodiesel blends with vegetable oils. **Analytica Chimica Acta**, v. 716, p. 101–107, 2012.

ZHANG, W. et al. Predicting the dynamic and kinematic viscosities of biodiesel-diesel blends using mid- and near-infrared spectroscopy. **Applied Energy**, v. 98, p. 122–127, 2012.

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