

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

WERÔNICA DE LIMA FURTADO

**MONITORAMENTO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE
BODIESEL VIA TRANSESTERIFICAÇÃO UTILIZANDO
RESOLUÇÃO MULTIVARIADA DE CURVAS COM MÍNIMOS
QUADRADOS ALTERNADOS (MCR-ALS)**

Belo Horizonte

2017

UFMG/ ICEX/ DQ. 1234^a

D. 678^a

WERÔNICA DE LIMA FURTADO

**MONITORAMENTO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE
BODIESEL VIA TRANSESTERIFICAÇÃO UTILIZANDO
RESOLUÇÃO MULTIVARIADA DE CURVAS COM MÍNIMOS
QUADRADOS ALTERNADOS (MCR-ALS)**

Dissertação apresentada ao
Departamento de Química do Instituto de
Ciências Exatas da Universidade
Federal de Minas Gerais como requisito
parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Química – Química Analítica.

BELO HORIZONTE

2017

F992m Furtado, Werônica de Lima
2017 Monitoramento do processo de produção de biodiesel
D via transesterificação utilizando resolução
multivariada de curvas com mínimos quadrados
alternados (MCR-ALS) [manuscrito] / Werônica de Lima
Furtado. 2017.
80 f. : il.

Orientador: Marcelo Martins de Sena.
Coorientadora: Camila Nunes Costa Corgozinho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Minas Gerais - Departamento de Química.
Inclui bibliografia.

1. Química analítica - Teses 2. Biodiesel - Teses
3. Esterificação (Química) - Teses 4. Mínimos
quadrados - Teses 5. Cromatografia líquida de alta
eficiência - Teses 6. Controle de processos químicos -
Teses 7. calibração - Teses I. Sena, Marcelo Martins
de, Orientador II. Corgozinho, Camila Nunes Costa,
Coorientadora III. Título.

CDU 043

**"Monitoramento do Processo de Produção de Biodiesel Via Transesterificação
Utilizando Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados
Alternados (MCR-ALS)"**

Werônica de Lima Furtado

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:



Prof. Marcelo Martins de Sena - Orientador
UFMG



Profa. Camila Nunes Costa Corgozinho - Coorientadora
UFMG



Profa. Mariana Ramos de Almeida
UFMG



Dra. Fabiana Pereira de Sousa
UFMG

Belo Horizonte, 28 de julho de 2017.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a cada uma das pessoas que Deus colocou em minha vida e que contribuíram para minha formação pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me permitiu concluir mais esta etapa.

À minha família, em especial minha mãe e minha irmã, por sempre estarem ao meu lado.

Aos meus amigos e ao meu namorado que são minha segunda família, e que reanimam em momentos difíceis.

Aos colegas do GQQATE, do Laboratório 214 e do Laboratório de Ensaio de Combustíveis (LEC) pelo companheirismo, pela ajuda e pelos ensinamentos. Vocês tornaram esses dois anos mais leves e felizes.

À equipe do Laboratório de Ensaio de Combustíveis (LEC), em especial à Soninha, Rô, Nilva e Carol por todo o subsídio prestado durante a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, Marcelo, e à minha coorientadora Camila pelos ensinamentos, compreensão e dedicação demonstrados nesse período.

Ao CNPq pelo apoio financeiro recebido para o desenvolvimento deste projeto.

Agradeço também a todos os professores que contribuíram para o acesso ao conhecimento, e aos funcionários do Programa de Pós Graduação e do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais.

"Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana." (Carl Jung)

RESUMO

O monitoramento da produção de biodiesel ainda é realizado por técnicas que demandam elevado consumo de reagentes e longo tempo de resposta, dificultando que as correções de variáveis do processo sejam feitas de forma rápida e efetiva. Visando contornar este problema, o trabalho apresentado propôs modelos por Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternados (MCR-ALS) e FTIR-ATR que permitiram a determinação dos teores de ésteres metílicos, diglicerídeos, triglicerídeos, ácidos graxos e monoglicerídeos presentes no meio reacional. Os modelos foram construídos utilizando dados espectrais obtidos na região do infravermelho médio para reações realizadas em diferentes condições experimentais. A variação das condições experimentais seguiu um planejamento fatorial 2^2 com ponto central, cujas variáveis foram o lote do óleo de soja e a proporção molar álcool: óleo (entre 5:1 e 7:1). Os modelos de calibração multivariada então construídos aplicaram as restrições de não-negatividade e de correlação, inserindo os dados obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) como valores de referência. Após atingir o critério de convergência, os perfis espectrais recuperados para os ésteres metílicos e para os triglicerídeos apresentaram alta correlação quando comparados com os espectros de referência ($>0,985$). Além disso, os espectros calculados para os ácidos graxos, monoglicerídeos e diglicerídeos apresentaram bandas de absorção características de grupos funcionais presentes nessas moléculas, destacando as bandas de estiramento de hidroxila e de carbonila. Os erros quadráticos médios para os conjuntos de calibração e previsão, obtidos para os triglicerídeos e para os ésteres metílicos, apresentaram valores na faixa de 1,91 a 6,33 %. Desse modo, o monitoramento da produção de biodiesel, utilizando o método de resolução multivariada de curvas e a restrição de correlação, mostrou-se capaz de fornecer informações importantes sobre o processo, de forma mais rápida e com menor custo, se comparado às metodologias que são convencionalmente utilizadas.

Palavras-chave: MCR-ALS; restrição de correlação; FTIR-ATR; reação de transesterificação; calibração multivariada; monitoramento de processos.

ABSTRACT

Process monitoring of transesterification reactions for producing biodiesel by using multivariate curve resolution – alternating least squares (MCR-ALS)

The monitoring of biodiesel production is still performed by methods that require high reagent consumption and a long response time, making difficult to control, quickly and effectively, the process variables. To overcome this problem, this work proposed models using Multivariate Curve Resolution with Alternating Least Squares (MCR-ALS) and FTIR-ATR to determine methyl esters, diglycerides, triglycerides, fatty acids and monoglycerides concentrations along the transesterification reaction. The models were built using spectral data obtained by mid infrared spectroscopy for reactions in different experimental conditions. The variation of the experimental conditions followed a factorial design 2^2 with center point, whose variables were the batch of soybean oil and the alcohol: oil molar ratio (between 5:1 and 7: 1). The multivariate calibration models applied the non-negativity and correlation constraints, inserting the data obtained by high performance liquid chromatography (HPLC) as reference values. After meeting the convergence criterion the spectral profiles recovered for the methyl esters and for the triglycerides have shown high correlation when compared with the reference spectra (> 0.985). In addition, the spectra calculated for fatty acids, monoglycerides and diglycerides showed absorption bands characteristic of functional groups present in these molecules, mainly the hydroxyl and carbonyl stretch bands. The root mean square errors of calibration and prediction obtained for the triglycerides and for the methyl esters were within 1.91 to 6.33 %. Thus, the monitoring of biodiesel production, using the multivariate curve resolution method and the correlation constraint, provided important information about the process, faster and at a lower cost than the conventional methodologies.

Key-words: MCR-ALS; correlation constraint; FTIR-ATR; transesterification reaction; multivariate calibration; process monitoring.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Analisadores utilizados no monitoramento de processos: (a) <i>at-line</i> e <i>off-line</i> , (b) <i>on-line</i> , (c) <i>in-line</i> e (d) <i>non-invasive</i> [19].	18
Figura 2: Reação de transesterificação utilizada na produção de biodiesel. Adaptada de [17].	19
Figura 3: Resolução de uma matriz D contendo I amostras com F componentes medidos em J comprimentos de onda. Adaptado de [10].	26
Figura 4: Restrições de não negatividade, unimodalidade, fechamento e modelo pré definido, utilizadas em MCR-ALS. Adaptada de [50].	28
Figura 5: Número de artigos publicados e citados nos últimos 20 anos, envolvendo MCR-ALS [52].	30
Figura 6: Número de artigos publicados e citados nos últimos anos, relacionados à restrição de correlação (<i>correlation constraint</i>) [52].	30
Figura 7: Aplicação de restrição de correlação em uma matriz aumentada, em que as três primeiras matrizes correspondem ao conjunto de calibração e a última matriz representa o conjunto de validação. Adaptada de [54].	32
Figura 8: Representação do equipamento Biodiesel Rancimat da Metrohm, por meio do qual é determinado o tempo de indução de uma amostra, seguindo a EN 14112. Adaptada de [64].	35
Figura 9: Montagem utilizada para o processo de hidrólise das amostras de óleo conforme norma do Instituto Adolfo Lutz.	36
Figura 10: Cromatógrafo líquido modelo LC-20AT com detector UV-Vis SPD-M20A utilizado na obtenção dos valores de referência para as amostras.	39
Figura 11: Espectrômetro Frontier da PerkinElmer equipado com acessório de reflectância total atenuada.	41
Figura 12: Cromatogramas obtidos por HPLC-DAD para as amostras de: (A) óleo de soja do lote 020 e (B) biodiesel purificado produzido na reação 0207.	50
Figura 13: Perfis de concentração para os componentes monitorados ao longo das reações 0107 e 0205 via HPLC-DAD: ácidos graxos e monoglicerídeos (AG+MG), ésteres metílicos (EM), diglicerídeos (DG) e triglicerídeos (TG).	51
Figura 14: Escores em PC1 para as amostras das cinco reações realizadas – 0105 (vermelho), 0107 (verde), 0205 (azul escuro), 0207 (azul claro) e 100 (branco).	54
Figura 15: Pesos (<i>loadings</i>) em PC1 para cada uma das variáveis.	55
Figura 16: Escores em PC2 para as amostras das cinco reações realizadas: 0105 (vermelho), 0107 (verde), 0205 (azul escuro), 0207 (azul claro) e 100 (branco).	56
Figura 17: Dados espectrais originais (em preto) e pré-processados (em vermelho) obtidos por FTIR-ATR para a reação 0107.	58

Figura 18: Teores de ácidos graxos e monoglicerídeos (AG+MG), ésteres metílicos (EM), diglicerídeos (DG) e triglicerídeos (TG) obtidos via HPLC-DAD para as amostras coletadas ao longo da reação 0207: (A) antes e (B) após remoção de outliers.....	59
Figura 19: Espectros FTIR-ATR dos componentes da reação 0107: (A) triglicerídeos e (B) ésteres metílicos. Em preto são apresentados os espectros de referência e em vermelho os espectros estimados por MCR-ALS....	62
Figura 20: Espectros FTIR-ATR estimados por MCR-ALS para os componentes da reação 0107: ácidos graxos e monoglicerídeos (azul) e diglicerídeos (vermelho).....	63
Figura 21: Perfis de resíduos calculados para a matriz aumentada.	65
Figura 22: Valores de concentração de referência ($C_{\text{referência}}$) obtidos por HPLC-DAD e valores estimados pelo modelo (C_{ALS}) para (A) ésteres metílicos e (B) triglicerídeos.....	66
Figura 23: Erros relativos associados ao teor de ésteres metílicos presente em cada amostra da reação 100 prevista pelo modelo.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Condições experimentais de realização das reações de transesterificação.....	38
Tabela 2: Programação de eluição em gradiente usada na análise por cromatografia líquida de alta eficiência.....	40
Tabela 3: Parâmetros físico-químicos e químicos das amostras de óleo de soja de quatro lotes distintos (n=3).....	47
Tabela 4: Teores de AG+MG, EM, DG e TG obtidos via HPLC-DAD para as amostras de biodiesel purificado, obtidas em cada reação de transesterificação.....	52
Tabela 5: Parâmetros calculados para os modelos MCR-ALS construídos a partir dos dados das reações 0205, 0207, 0107 e 100.....	60
Tabela 6: Parâmetros calculados para o modelo MCR-ALS construído a partir dos dados da matriz aumentada.....	64
Tabela 7: Quantidades de cada um dos reagentes utilizados para cada reação.....	79
Tabela 8: Informações sobre as amostras de óleo de soja adquiridas no mercado local e utilizadas neste trabalho.....	80

LISTA DE ABREVIATURAS

AG – Ácidos Graxos Livres

ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

ATR – *Attenuated Total Reflectance*: Reflectância total atenuada

CG – Cromatografia Gasosa

DG – Diglicerídeos

EM – Ésteres Metílicos

FTIR-ATR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*: Espectroscopia na região do infravermelho médio utilizando reflectância total atenuada

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*: Cromatografia líquida de alta eficiência

HPLC-DAD – *High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection*: Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos

MCR-ALS – *Multivariate Curve Resolution with Alternating Least Squares*: Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternados

MG – Monoglicerídeos

MIRS – *Mid Infrared Spectroscopy*: Espectroscopia na região do infravermelho médio

MLR – *Multiple Linear Regression*: Regressão linear múltipla

NIRS – *Near Infrared Spectroscopy*: Espectroscopia na região do infravermelho próximo

PAT – *Process Analytical Technology*: Tecnologia analítica de processos

PC – *Principal Component*: Componente principal

PCA – *Principal Component Analysis*: Análise de Componentes Principais

PCR – *Principal Component Regression*: Regressão por componentes principais

PLS – *Partial Least Squares Regression*: Regressão por mínimos quadrados parciais

PLS-DA – *Partial Least Squares Discriminant Analysis*: Mínimos quadrados parciais com análise discriminante

PURE – Método de detecção da variável pura

RMN – Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

RMSEC – *Root Mean Square Error of Calibration*: Raiz quadrada do erro quadrático médio de calibração

RMSEP – *Root Mean Square Error of Prediction*: Raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão

RPM – Rotações por minuto

SIMCA – *Soft Independent Modeling of Class Analogy*: Modelagem independente e flexível por analogia de classes

TG – Triglicerídeos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	MONITORAMENTO DE PROCESSOS	16
2.2	PROCESSO DE PRODUÇÃO DO BIODIESEL	19
2.3	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	21
2.4	MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS	22
2.4.1	Análise de componentes principais.....	24
2.4.2	Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternados (MCR-ALS).....	25
2.4.3	Restrição de correlação	30
3	PARTE EXPERIMENTAL	33
3.1	AMOSTRAGEM	33
3.2	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE SOJA.....	33
3.2.1	Massa específica a 20 °C.....	34
3.2.2	Teor de água.....	34
3.2.3	Viscosidade cinemática.....	34
3.2.4	Estabilidade oxidativa	35
3.2.5	Índice de acidez	36
3.2.6	Índice de saponificação.....	36
3.3	REAÇÕES DE TRANSESTERIFICAÇÃO	37
3.4	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	39
3.5	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO	40
3.6	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS.....	41
3.7	OBTENÇÃO DOS MODELOS MCR-ALS	41
3.7.1	Organização dos dados	41
3.7.2	Pré-processamento.....	43
3.7.3	Construção dos modelos MCR-ALS	43
3.7.4	Verificação da qualidade do modelo	44

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE SOJA.....	46
4.2	REAÇÕES DE TRANSESTERIFICAÇÃO.....	48
4.3	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DOS DADOS OBTIDOS POR FTIR-ATR.....	53
4.4	MODELOS DE CALIBRAÇÃO OBTIDOS ATRAVÉS DO MÉTODO MCR-ALS.....	57
4.4.1	Modelos utilizando as matrizes individuais.....	57
4.4.2	Modelo utilizando a matriz aumentada.....	64
5	CONCLUSÕES	69
5.1	PERSPECTIVAS.....	70
	REFERÊNCIAS	71
	ANEXO A	79
	ANEXO B	80

1 INTRODUÇÃO

A tecnologia analítica de processos, também denominada PAT (*Process Analytical Technology*), pode ser definida como um sistema para concepção, análise e controle da produção, com o objetivo de garantir a qualidade final do produto [1]. O monitoramento de processos químicos em tempo real possibilita uma investigação aprofundada sobre o sistema em estudo, orientando a modificação de parâmetros de forma imediata e visando o controle de todas as suas etapas.

Entre as técnicas analíticas mais utilizadas para o acompanhamento simultâneo de processos estão a espectroscopia de absorção molecular nas regiões do infravermelho próximo (NIRS) e médio (MIRS), e a espectroscopia Raman [2–4]. Nos últimos anos vem crescendo o volume de trabalhos utilizando técnicas, até então, menos usuais em PAT, como espectroscopia vibracional de imagem [5] e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) [6].

A resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternados (MCR-ALS) é uma ferramenta quimiométrica muito útil para o monitoramento de misturas. O objetivo da MCR é decompor, matematicamente, uma resposta instrumental para uma mistura em contribuições puras de cada componente presente no sistema estudado [7–9]. Dessa forma, obtém-se informações sobre as concentrações de cada componente presente na mistura e seus respectivos perfis espectrais.

A principal vantagem da MCR-ALS em relação a outros métodos quimiométricos de calibração multivariada, como o PLS (*Partial Least Squares*), é a possibilidade de construir modelos de calibração utilizando um número de amostras relativamente pequeno, reduzindo assim, o tempo e o esforço gasto na geração de valores de referência. Cabe ressaltar ainda que a MCR-ALS permite a recuperação de espectros puros dos componentes do sistema, o que não é possível utilizando os métodos de calibração quimiométricos convencionais, tais como PLS, PCR e MLR [10].

Por esses motivos, a MCR-ALS tem sido aplicada no estudo de diversos processos, tais como reações de complexação, esterificação, fermentação alcoólica e

polimerização, além da quantificação de misturas de biodiesel e diesel [7,11–13]. A lei brasileira 13.263/2016 determina a mistura obrigatória de 8% de biodiesel ao diesel B. Este biocombustível é definido como uma mistura de alquilésteres de cadeia linear, obtida através da transesterificação de triglicerídeos de óleos e gorduras com álcoois de cadeia curta, sendo o glicerol o coproduto dessa reação [14].

Vários métodos analíticos foram desenvolvidos para analisar amostras obtidas de reações de transesterificação, utilizando diferentes catalisadores e parâmetros reacionais. Entre as técnicas analíticas mais empregadas podemos citar a cromatografia gasosa (CG), a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a espectroscopia ^1H RMN [15,16]. Embora essas metodologias forneçam informações relevantes sobre o processo de produção do biodiesel, elas são caras e dificultam o acompanhamento da reação de forma rápida. Nesse contexto, trabalhos utilizando espectroscopia na região do infravermelho e ferramentas quimiométricas vêm se popularizando, visando desenvolver metodologias que permitam acompanhar a reação de transesterificação, diminuindo o tempo de análise bem como o custo associado [17,18].

Desse modo, os objetivos deste trabalho foram: utilizar o monitoramento por MCR-ALS e espectroscopia na região do infravermelho médio para quantificar de forma mais simples, rápida, direta e com menor custo, os componentes da reação de transesterificação; e obter informações espectrais sobre os intermediários presentes no meio reacional sem a necessidade de isolá-los fisicamente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Monitoramento de processos

O monitoramento de processos industriais envolve o controle de variáveis (temperatura, vazão, acidez, concentração de reagentes, agitação, dentre outras) que estão diretamente relacionadas à qualidade do produto final. Inserida neste contexto, a tecnologia analítica de processos (*PAT – Process Analytical Technology*) é uma área de estudos ampla que abrange medições químicas e físicas, além dos eixos de instrumentação, amostragem, transporte de amostra, comunicação com controladores, administração de projetos, quimiometria e engenharia de fluxo [19].

Os principais objetivos associados ao uso de PAT são: conseguir relacionar as variáveis medidas às especificações do produto final e antecipar problemas; monitorar as variáveis e eliminar de forma instantânea as anormalidades detectadas [1]. Essa abordagem permite minimizar os prejuízos associados a lotes de produtos finais fora de especificação e ainda reduzir os custos associados ao consumo exacerbado de tempo em etapas do processo de produção.

A aplicação da PAT começou a se popularizar a partir de 2004, quando a agência governamental americana FDA (*Food and Drug Administration*) publicou um guia para a indústria farmacêutica encorajando o desenvolvimento e a implementação de abordagens inovadoras na elaboração de fármacos, no processo de produção e no controle de qualidade [20].

Em função disso, cerca de 70% das aplicações de PAT ainda são voltadas para a indústria farmacêutica, principalmente no que diz respeito à identificação e quantificação de princípios ativos em fármacos ao longo da cadeia produtiva [3]. As informações obtidas utilizando PAT podem ser utilizadas não apenas no controle do processo produtivo, mas também para otimizar o consumo de energia elétrica, tempo e matéria-prima [19].

Para que isso seja possível, as principais técnicas analíticas adotadas são as espectroscopias nas regiões do infravermelho médio e próximo e a espectroscopia Raman. Como os espectros obtidos apresentam bandas sobrepostas, frequentemente, são utilizadas ferramentas quimiométricas que auxiliam no processamento dos dados obtidos. Dentre as ferramentas utilizadas, destacam-se as de calibração multivariada, como o PLS, análise exploratória, como a PCA, e classificação supervisionada, como SIMCA e PLS-DA [3,4]. O método de resolução multivariada de curvas (MCR) ainda é pouco utilizado em PAT, embora apresente a possibilidade de fornecer simultaneamente informações qualitativas e quantitativas sobre os constituintes da reação em tempo real. Além disso, ele também apresenta a vantagem de permitir reduzir o número de amostras utilizadas para a calibração e, conseqüentemente, o tempo associado a este processo [3].

Em processos industriais o tempo é, em geral, o parâmetro de maior importância, seguido pelo custo e pela exatidão. Desse modo, o sistema analisador utilizado em PAT deve ser capaz de fornecer respostas de modo rápido, permitindo que as intervenções retornem o processo às condições normais de operação. Esses analisadores utilizados podem ser classificados em *on-line*, *in-line*, *at-line*, *off-line* e *non-invasive* (Figura 1).

Analisadores *off-line* e *at-line* exigem que a amostragem seja realizada de forma manual, como indicado na Figura 1a. A principal diferença entre eles está no equipamento utilizado para análise. Analisadores do tipo *off-line* abrangem equipamentos que, geralmente, estão em laboratório e que demandam mão-de-obra qualificada para realização do ensaio. A principal desvantagem desse analisador é que, em função da amostra ser transportada até o laboratório, o tempo entre a amostragem e emissão do resultado é longo [1,3,19].

Já os analisadores *at-line* são instrumentos mais simples e práticos, que estão próximos ao local de amostragem. Isso agiliza o processo de obtenção do resultado além de dinamizar o acesso ao mesmo, uma vez que, por serem equipamentos mais simples, não é necessário um especialista para realizar a análise [19].

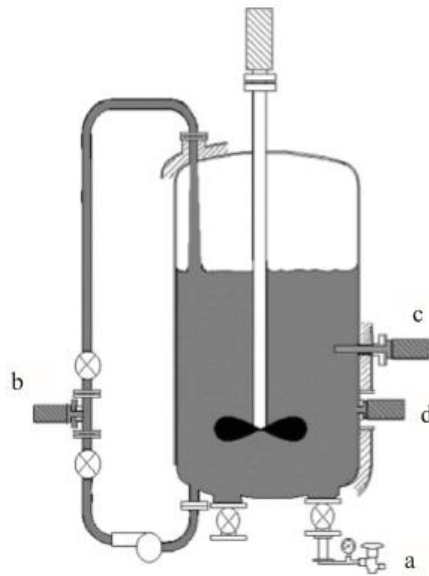


Figura 1: Analisadores utilizados no monitoramento de processos: (a) *at-line* e *off-line*, (b) *on-line*, (c) *in-line* e (d) *non-invasive* [19].

Existem analisadores, do tipo *on-line* (Figura 1b), que realizam a amostragem de forma automatizada e desviam uma porção do conteúdo do reator para um duto, acondicionam essa amostra e obtêm os resultados necessários. Já analisadores *in-line* (Fig. 1c) e *non-invasive* (Fig. 1d) realizam os ensaios sem a demanda de amostragem [19].

Os analisadores do tipo *in-line* (Figura 1c) estão em contato direto com o material a ser analisado. A vantagem destes analisadores é a obtenção de resultados de forma rápida e representativa. No entanto, o contato direto com a amostra causa desgaste dos sensores, que precisam ser resistentes a elevadas pressões e temperaturas [3,4,19,21].

Desejando a rapidez na obtenção de informações sobre o processo aliada à durabilidade dos sensores, surgiram os analisadores *non-invasive* (Figura 1d). Esses analisadores apresentam todas as vantagens daqueles *in-line*, mas não entram em contato direto com a amostra, não ocasionando mudanças em sua composição e nem contaminações [19].

2.2 Processo de produção do biodiesel

O biodiesel é um biocombustível obtido de óleos vegetais e/ou gorduras animais, através da reação de transesterificação (Figura 2). A reação de transesterificação converte os triglicerídeos presentes nessas matérias-primas em ésteres de cadeia aberta, utilizando álcoois e catalisadores básicos. A reação possui os intermediários diglicerídeos e monoglicerídeos, que são formados e consumidos ao longo do processo. Os álcoois mais frequentemente utilizados são os de cadeia curta, como o metanol e o etanol, enquanto os mecanismos de catálise podem ser homogêneos ou heterogêneos [22–24].

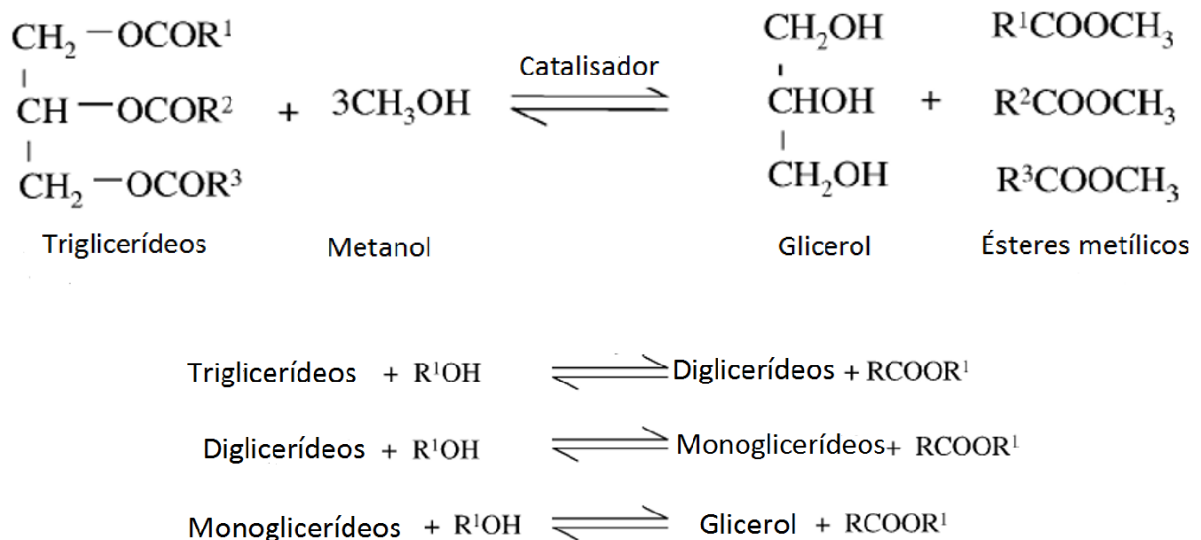


Figura 2: Reação de transesterificação utilizada na produção de biodiesel. Adaptada de [17].

A proporção estequiométrica entre os triglicerídeos e o álcool é de 1:3. No entanto, como a reação acontece em equilíbrio, é necessário excesso de álcool para que o processo seja deslocado no sentido de produção do biodiesel. Além disso, normalmente a reação é realizada aquecendo-se o sistema até a temperatura de refluxo do metanol (65 °C).

No Brasil, a lei 13.263/2016 determina a mistura obrigatória de 8% de biodiesel ao diesel B [25]. A Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) apresenta na Resolução nº 45 de 25/08/2014, as especificações em termos de composição e parâmetros físico-químicos que o biodiesel deve possuir para ser considerado adequado para uso. Diante dessas especificações faz-se necessário monitorar os processos de produção, armazenamento e transporte desse biocombustível, para evitar não conformidades [15].

O monitoramento do processo de produção do biodiesel pode ser realizado por cromatografia em camada delgada, cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta eficiência, espectroscopia por ressonância magnética nuclear de hidrogênio ou espectroscopia na região do infravermelho [17].

A Resolução nº 45 da ANP indica que a determinação do teor de ésteres metílicos seja realizada de acordo com a norma EN 14103, utilizando cromatografia gasosa [26]. Essa metodologia é recomendada apenas para o produto final, ou seja, para o biodiesel após o processo de purificação. A análise de amostras de processo que possuam baixo teor de ésteres metílicos e elevados teores de triglicerídeos ou impurezas pode causar danos ao equipamento, como entupimento dos sistemas de injeção e análise.

Desse modo, é necessário o desenvolvimento de metodologias alternativas para o acompanhamento da reação de transesterificação. Em muitos trabalhos da literatura são utilizadas a espectroscopia por ressonância magnética nuclear de hidrogênio, a cromatografia líquida de alta eficiência e a viscosimetria [6,16,27,28]. Embora essas técnicas forneçam informações relevantes sobre o processo, elas demandam equipamentos e reagentes caros, além de muito tempo de análise [17].

Assim, técnicas vibracionais como espectroscopia na região do infravermelho têm surgido como uma alternativa para fornecer informações sobre o processo de produção de biodiesel de forma mais rápida e com menor custo. Para tratamento e interpretação dos resultados são frequentemente utilizados métodos quimiométricos,

com destaque para a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e análise de componentes principais (PCA) [2,18,21,29].

2.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

A região do espectro eletromagnético denominada de infravermelho corresponde à faixa situada entre as regiões do visível e das micro-ondas e é subdividida em: infravermelho próximo (14290 a 4000 cm^{-1}), infravermelho médio (4000 a 400 cm^{-1}) e infravermelho distante (700 a 200 cm^{-1}) [30].

A espectroscopia na região do infravermelho é uma técnica vibracional, que se baseia na interação entre a matéria e a radiação compreendida entre 4000 e 400 cm^{-1} . A absorção da radiação nesta faixa depende das características dos grupos funcionais presentes em uma molécula, de modo que cada grupo funcional absorve frequências características. A região entre 1500 e 800 cm^{-1} é denominada *fingerprint* e inclui as contribuições de interações vibracionais complexas, assim, cada molécula apresenta uma informação espectral única nesta região [29].

As vibrações moleculares podem ser classificadas em deformações axiais ou deformações angulares. A deformação axial, ou estiramento, ocorre no eixo da própria ligação química, aumentando e diminuindo alternadamente a distância entre os átomos. Esse movimento pode ser simétrico ou assimétrico. Já as deformações angulares alteram os ângulos entre as ligações, podendo ocorrer dentro ou fora de um plano [30].

As técnicas espectroscópicas apresentam como principais vantagens: rapidez e baixo consumo de reagentes. O uso do acessório de ATR (Reflectância Total Atenuada) permite que a amostra líquida ou sólida seja colocada diretamente sobre a superfície superior de um cristal, reduzindo o esforço associado ao preparo de amostras. Os cristais mais comumente utilizados para esse fim são formados por seleneto de zinco, germânio, iodeto de tálio ou diamante [31].

O espectro é produzido quando um feixe de radiação infravermelha penetra o cristal sofrendo repetidas reflexões ao longo de sua superfície. A cada ponto de reflexão é gerada uma onda denominada evanescente que interage com a amostra e altera a intensidade do feixe de radiação que chega ao detector [31]. Embora esses métodos apresentem as vantagens já descritas, eles fornecem sinais analíticos com grande sobreposição espectral e frequentemente necessitam do uso de ferramentas quimiométricas para que o maior número possível de informações possa ser extraído [32].

2.4 Métodos Quimiométricos

De acordo com a definição proposta pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), quimiometria é a ciência que relaciona as medidas feitas em um sistema químico ou processo ao estado do sistema, aplicando métodos matemáticos ou estatísticos para esse fim [33].

A quimiometria pode ser utilizada para o planejamento de experimentos ou na interpretação de dados multivariados, visando extrair o máximo de informações relevantes. Os métodos quimiométricos utilizados na interpretação de dados multivariados podem ser classificados em: análise exploratória de dados, métodos supervisionados de reconhecimento de padrões, métodos de resolução de curvas e métodos de regressão (calibração multivariada) [34].

Os dados multivariados podem ser classificados em dados de primeira ordem, segunda ordem, ou de ordem superior. Dados de primeira ordem são aqueles para os quais a resposta de cada amostra é um vetor ou tensor de primeira ordem, como um espectro obtido na região do infravermelho. Por outro lado, dados de segunda ordem apresentam uma matriz de resposta para cada amostra, de forma que o conjunto desses dados (para todas as amostras) configura um arranjo tridimensional. Um exemplo de dados de segunda ordem são matrizes de emissão-excitação registradas por um espectrofluorímetro em diferentes comprimentos de onda [35]. Dados de

terceira ou quarta ordem são aqueles oriundos dos resultados de três ou mais técnicas analíticas hifenadas por amostra, resultando em um conjunto de dados de quatro ou cinco dimensões. Exemplos de arranjos de quatro dimensões são obtidos hifenando três instrumentos como cromatografia líquida bidimensional com a detecção por arranjo de diodos (LC-LC-DAD) [35]. Dados de ordem igual ou maior que dois são denominados dados de ordem superior.

A calibração de primeira ordem utiliza um vetor de respostas por amostra. Esses vetores são alinhados horizontalmente constituindo uma matriz de dados experimentais. Os principais métodos quimiométricos utilizados na calibração de primeira ordem são a regressão linear múltipla (MLR), regressão por componentes principais (PCR) e a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). Esses métodos possibilitam a quantificação do analito mesmo na presença de interferentes, desde que os interferentes tenham sido incorporados no conjunto de amostras de calibração usado para construir o modelo [36].

Por outro lado, a calibração de segunda ordem utiliza uma matriz de resposta por amostra e apresenta a vantagem de permitir, sob certas condições, quantificar o analito na presença de interferentes, mesmo que esses interferentes não tenham sido modelados no conjunto de calibração. Vários métodos quimiométricos são utilizados em análise de dados de ordem superior: Análise de fatores paralelos (PARAFAC), Análises de fatores paralelos com dependência linear (PARALIND), método generalizado de aniquilação de posto (GRAM), regressão por mínimos quadrados parciais N-dimensional (N-PLS), resolução multivariada de curvas (MCR), mínimos quadrados bilineares (BLLS), PLS desdobrado (U-PLS) e PCR desdobrado [36]. O método de resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternados (MCR-ALS), que também pode ser aplicado a dados de segunda ordem, tem sido utilizado na calibração de primeira ordem, principalmente em conjunto com a restrição de correlação [37].

2.4.1 Análise de componentes principais

A análise de componentes principais (PCA) é um método exploratório utilizado para projetar os dados multivariados em um espaço de dimensões menores reduzindo, assim, a dimensionalidade do espaço original do conjunto de dados, sem que as relações entre as amostras sejam afetadas [34].

Esse espaço de dimensões reduzidas é formado por novas variáveis denominadas componentes principais (PC), que foram obtidas através de combinações lineares das variáveis originais. A primeira delas, PC1, é definida na direção que descreve a maior variância dos dados originais. A segunda componente principal, PC2, tem a direção de máxima variância dos dados no subespaço ortogonal à PC1, e as componentes sucessivas são ortogonais às anteriores e orientadas sempre no sentido de maior variância [34].

Durante a análise das componentes principais, a matriz de dados originais (\mathbf{X}) é transformada no produto de duas matrizes: a matriz de escores (\mathbf{T}), que contém informações sobre as amostras e a matriz de pesos (\mathbf{L}), que indica a relação entre as variáveis (Equação 1) [34,38]. Os escores são as projeções das amostras no novo espaço das PCs e permitem observar a possível presença de agrupamentos naturais entre elas num espaço de menor dimensão. Os pesos (*loadings*) são os cossenos dos ângulos formados entre as variáveis originais e as novas PCs. Eles permitem identificar quais são as variáveis originais que mais contribuem para cada agrupamento ou classe de amostras.

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{L}^T \quad \text{Equação 1}$$

Antes que a análise dos componentes principais seja efetuada, o pré-processamento dos dados é realizado de acordo com a natureza dos mesmos, visando eliminar variações que não contribuem para o objetivo do modelo. Dados discretos são geralmente autoescalados (a média de cada coluna/variável é subtraída de cada elemento, que é em seguida dividido pelo desvio padrão da respectiva coluna), enquanto dados espectrais são centrados na média. A análise dos componentes

principais é comumente usada como ferramenta de análise exploratória e classificação não supervisionada. Na maioria das aplicações encontradas na literatura, a PCA é usada para investigar e interpretar a discriminação de classes ou grupos [38]. Mas, ela também tem sido usada como ferramenta auxiliar no monitoramento de processos e reações e na construção de cartas de controle [18,21].

2.4.2 Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternados (MCR-ALS)

Os métodos de resolução multivariada de curvas são métodos de processamento de sinais analíticos que visam resolver misturas de sinais. Esses métodos recuperam as concentrações relativas (**C**) e os espectros puros (**S**) de cada componente presente em uma mistura a partir da matriz de respostas instrumentais (**D**), conforme indicado na Equação 2 e representado na Figura 3 [8,10]. A matriz **E** contém a informação que não foi modelada e, por isso, é denominada matriz de resíduos.

$$\mathbf{D} = \mathbf{C} \cdot \mathbf{S}^T + \mathbf{E} \qquad \text{Equação 2}$$

O método de resolução de curvas foi inicialmente apresentado por Lawton e Sylvestre com a denominação análoga de *Self Modeling Curve Resolution* (SMCR) [39]. Esse método inicial foi aplicado para resolver misturas simples de apenas dois componentes, obtendo os perfis espectrais e de concentração na ausência de qualquer informação adicional. Foram considerados apenas o caráter de não negatividade para os perfis de concentração e para os perfis espectrais dos componentes puros [37].

Em 1993, Romà Tauler e colaboradores implementaram um método de resolução multivariada de curvas aplicando o algoritmo mínimos quadrados alternados (MCR-ALS) para otimizar os perfis de concentração e os perfis espectrais obtidos para componentes de um processo industrial, considerando algumas restrições [40].

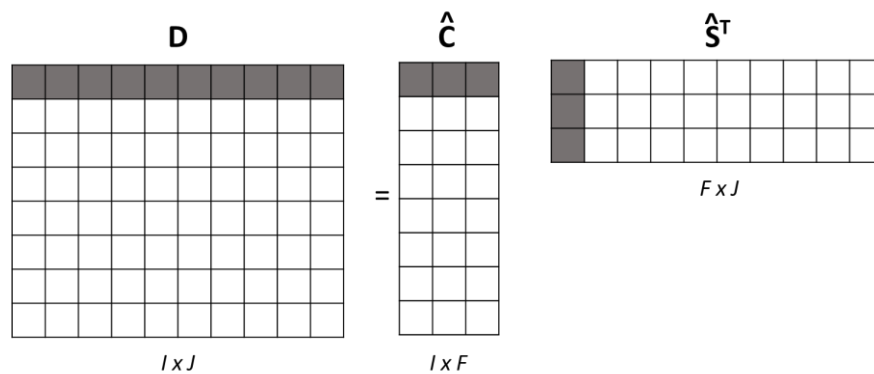


Figura 3: Resolução de uma matriz **D** contendo I amostras com F componentes medidos em J comprimentos de onda. Adaptado de [10].

De modo geral, para que uma matriz de dados instrumentais possa ser decomposta utilizando MCR-ALS, é necessário estimar o número de componentes presentes na mistura. Essa atribuição do número de componentes pode ser feita de forma manual, quando existe o conhecimento prévio sobre o sistema, ou pode ser estimada por decomposição de valores singulares (SVD – *Singular Value Decomposition*). Neste algoritmo, a matriz de dados instrumentais **D** é decomposta no produto de três matrizes, de acordo com a Equação 3 [10].

$$\mathbf{D} = \mathbf{U} \cdot \mathbf{S} \cdot \mathbf{V}^T \quad \text{Equação 3}$$

Na equação acima, **S** é uma matriz diagonal que contém os valores singulares em ordem decrescente. **U** e **V** são matrizes ortonormais, ou seja, compostas de vetores ortogonais (independentes) e normalizados. Considerando que a variância dos dados está associada de forma mais intensa aos componentes do sistema do que a outros fatores, podemos determinar o número de espécies presentes na mistura através da análise dos respectivos valores singulares [10].

Uma vez estimado o número de espécies presentes na mistura, deve ser fornecida uma estimativa inicial para a matriz de perfis espectrais (**S**) ou para a matriz de concentrações relativas (**C**). Essa estimativa pode ser feita de forma manual, quando estão disponíveis os espectros puros ou os valores de concentração para as

espécies. Ela também pode ser realizada através do método EFA (*Evolving Factor Analysis*) ou utilizando métodos de detecção da variável pura (PURE) [41].

O método EFA pode ser utilizado para estimar o perfil de concentração de dados de processos, e é um método de estimativa do posto local da matriz, que detecta o surgimento e o desaparecimento dos componentes e fornece perfis de concentração assumindo a ordem sequencial de aparecimento-desaparecimento para todos os componentes do sistema [42,43]. O posto de uma matriz corresponde ao seu número de vetores linearmente independentes, ou seja, o número de padrões de informação/componentes/fatores do sistema.

Os métodos de detecção da variável pura mais utilizados são o SIMPLISMA (*Simple-to-Use Self-Modeling Analysis*) [44], OPA (*Orthogonal Projection Approach*) [45] e KSFA (*Key Set Factor Analysis*) [46]. Esses métodos selecionam as linhas ou as colunas mais distintas na matriz do conjunto de dados, fornecendo uma estimativa para os perfis espectrais ou de concentrações, respectivamente. Os métodos de detecção da variável pura podem ser aplicados em conjuntos de dados bilineares ou multidimensionais. A única restrição para suas aplicações é que a maioria deles atua apenas em dados positivos [42].

A partir da estimativa inicial, obtida para a matriz de concentração ou para a matriz espectral, e da matriz de dados instrumentais (**D**) é realizada a primeira iteração. As iterações são consecutivamente realizadas até que o critério de convergência definido seja alcançado. Normalmente, o critério de convergência é definido em função de o ajuste atingir uma diferença mínima pré-estabelecida entre duas iterações consecutivas e/ou um número de iterações máximo. Essa etapa é denominada otimização e é realizada pelo algoritmo dos mínimos quadrados alternados (ALS – *Alternating Least Squares*) [8].

Se nessa etapa de otimização nenhuma restrição for aplicada, uma infinidade de matrizes **C** e **S** serão obtidas como possíveis soluções para a decomposição da matriz de dados **D**. Esse fenômeno é denominado ambiguidade rotacional e está associado aos métodos de resolução multivariada de curvas desde seu surgimento.

Além da ambiguidade rotacional, também podem surgir ambiguidades de intensidade e de permutação [37].

Em 2010, Joaquim Jaumot e Romà Tauler propuseram uma ferramenta, denominada MCR-BANDS, capaz de avaliar a ambiguidade rotacional associada a uma resolução [47]. O programa, que pode ser adquirido de forma gratuita, vem incorporado ao *software* MCR GUI 2.0 e pode ser utilizado em uma interface gráfica após o modelo convergir e as matrizes **C** e **S** serem calculadas. [41] Outros autores propuseram metodologias alternativas que também avaliam a ambiguidade rotacional associada a uma solução [48,49].

As principais restrições que podem ser aplicadas na etapa de otimização visando reduzir a ambiguidade rotacional são: não negatividade, unimodalidade, fechamento (*closure*), inclusão de modelos pré definidos (*hard-modeling*), igualdade e correlação [8,41,50,51]. Algumas dessas restrições são apresentadas na Figura 4. A restrição de não negatividade assume que os perfis de concentrações e/ou espectrais não podem possuir valores negativos.

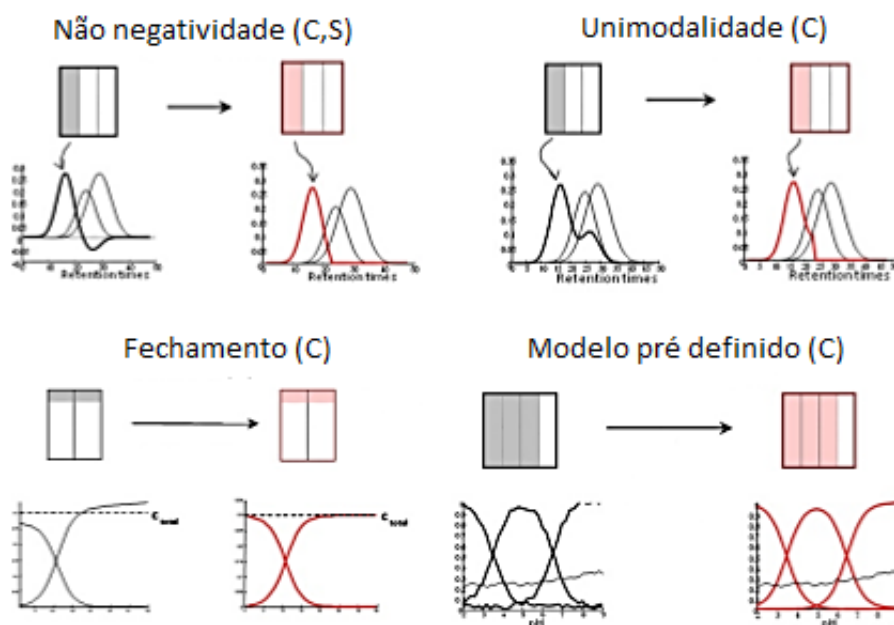


Figura 4: Restrições de não negatividade, unimodalidade, fechamento e modelo pré definido, utilizadas em MCR-ALS. Adaptada de [50].

Frequentemente utilizada em dados obtidos por cromatografia, a restrição de unimodalidade assume que as curvas modeladas/decompostas possuem perfis similares a uma distribuição gaussiana, apresentando apenas um valor de máximo, não podendo voltar a crescer após decrescer, ou vice-versa.

As restrições de fechamento, de igualdade e de modelos pré definidos são aplicadas essencialmente aos perfis de concentração. A restrição de fechamento é baseada em balanços de massa do sistema (a somatória dos componentes é igual a um valor constante), enquanto a restrição de igualdade consiste em fornecer valores de concentração conhecidos para uma ou mais espécies.

A inclusão de modelos pré-definidos na resolução está baseada no conhecimento cinético (ou de algum comportamento físico-químico) do sistema, fornecendo constantes de velocidade que auxiliam na obtenção de perfis de concentração coerentes. A restrição de correlação, que é utilizada neste trabalho, será discutida em mais detalhes no item 2.4.3.

O volume de trabalhos publicados e citados relacionados ao MCR-ALS cresceu nos últimos vinte anos, como pode ser visualizado na Figura 5. Em 2016, foram publicados cerca de 90 artigos envolvendo o tema MCR-ALS, enquanto o número de citações deste tópico neste mesmo ano foi superior a 1400 [52]. Dentre esses trabalhos alguns foram relacionados ao monitoramento de processos [7,11,53,54], à quantificação de componentes presentes em blendas [12], a transformações polimórficas em fármacos [5] e à quantificação de colesterol em misturas ternárias [55].

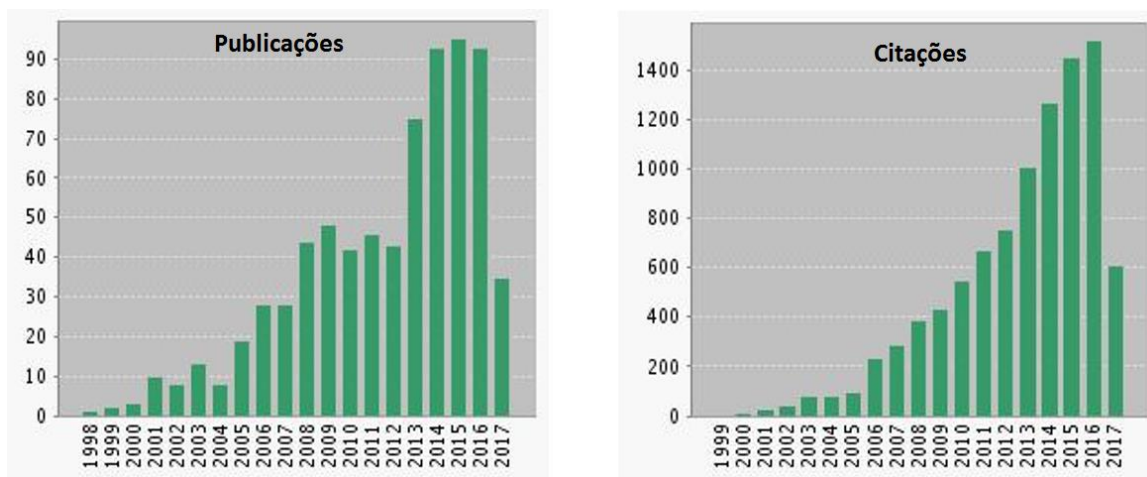


Figura 5: Número de artigos publicados e citados nos últimos 20 anos, envolvendo MCR-ALS [52].

2.4.3 Restrição de correlação

Em 2002, Antunes e colabores publicaram o primeiro artigo envolvendo a restrição de correlação, utilizando-a na análise voltamétrica quantitativa de misturas de metais [12,56]. A partir de 2012, o número de citações envolvendo o termo “*correlation constraint*” vem crescendo consideravelmente, enquanto o número de publicações ainda é relativamente baixo (Figura 6) [52].

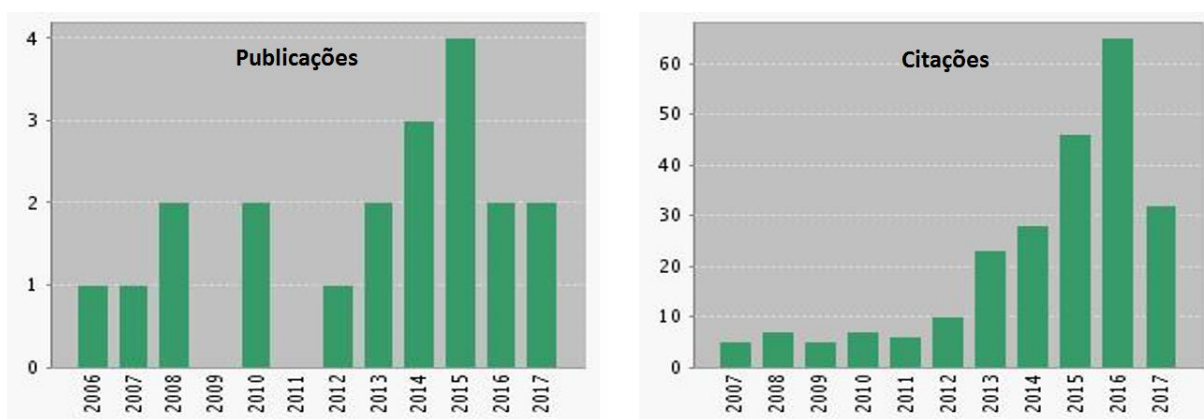


Figura 6: Número de artigos publicados e citados nos últimos anos, relacionados à restrição de correlação (*correlation constraint*) [52].

A restrição de correlação é um método recente e extremamente importante, pois permite processar dados de primeira ordem de forma quantitativa e reduzir drasticamente as ambiguidades presentes em métodos de resolução de curvas [57]. Até pouco tempo atrás, a grande maioria das aplicações de MCR-ALS era restrita a modelos qualitativos. Esta restrição tem o potencial de ampliar largamente o uso do MCR-ALS em modelos quantitativos.

A restrição de correlação atua construindo modelos internos de calibração univariada. Esses modelos internos relacionam os valores de concentração relativa calculados por MCR-ALS com as concentrações reais, para as amostras do conjunto de calibração. Desse modo, a partir desses modelos de calibração univariada, as concentrações para as amostras desconhecidas são estimadas (Figura 7). Esse processo é repetido de forma sucessiva até que o critério de convergência seja alcançado. O critério de convergência normalmente é baseado na diferença entre a porcentagem de falta de ajuste (% LOF) de duas iterações consecutivas [12,37,42].

A restrição de correlação é aplicada em apenas um perfil de concentração por vez, de tal forma que, um modelo de calibração univariada é obtido para cada componente do sistema. Assim, a restrição de correlação pode ser aplicada a quantos componentes se desejarem [37,41,54].

Em função dessas características, pode-se pontuar algumas das principais diferenças entre o MCR-ALS/restrição de correlação, e os métodos CLS e PLS. A calibração por mínimos quadrados clássicos (CLS – *Classical Least Squares*) constrói um único modelo de calibração multivariada relacionando as matrizes de dados instrumentais e de perfis de concentração, de modo que, todas as concentrações de todos os componentes (ou os perfis espectrais) precisam ser previamente conhecidas [54]. Na prática, isto é uma grande limitação para o uso deste método em calibração multivariada.

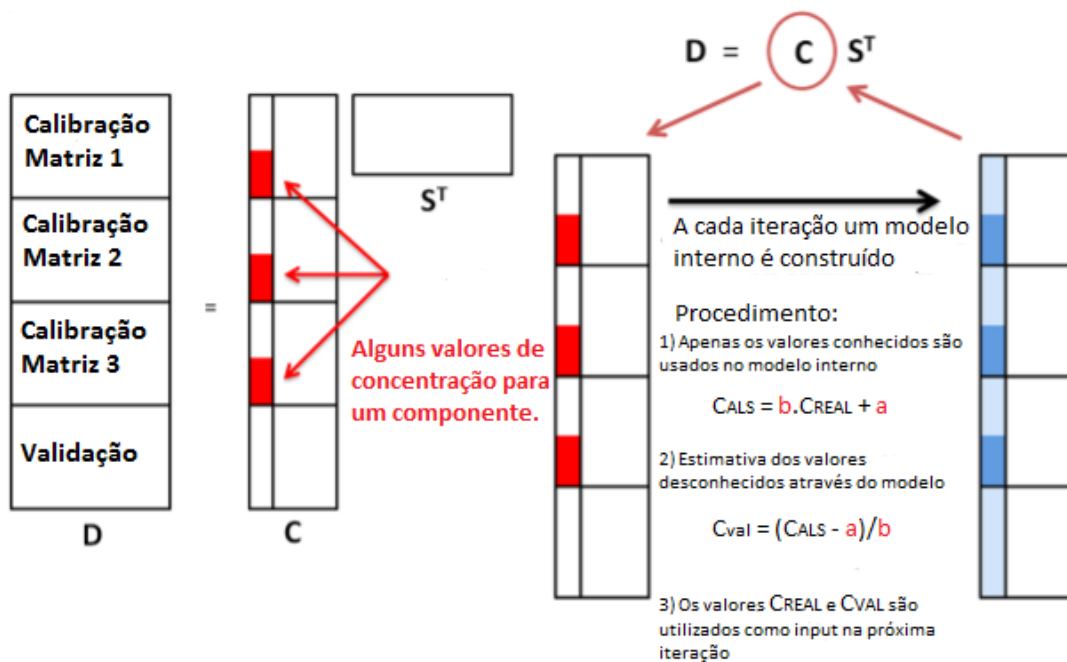


Figura 7: Aplicação de restrição de correlação em uma matriz aumentada, em que as três primeiras matrizes correspondem ao conjunto de calibração e a última matriz representa o conjunto de validação. Adaptada de [54].

Com relação à regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), a principal diferença está na interpretação fornecida, uma vez que o MCR-ALS permite a recuperação de espectros puros. Se compararmos PLS2 e MCR-ALS/restrrição de correlação para modelar simultaneamente todos os componentes de uma sistema, o MCR-ALS fornecerá modelos individuais para cada componente, enquanto o PLS2 construirá apenas um modelo global [54]. Outra vantagem é que o MCR-ALS demandará um número menor de amostras para a construção dos modelos.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Amostragem

Quatro lotes distintos de óleo de soja comercial de mesma marca foram adquiridos em duplicata no mercado local (Belo Horizonte), totalizando oito amostras de 900 mL cada (010A, 010B, 020A, 020B, 100A, 100B, 110A e 110B). As amostras de óleo de soja que pertenciam a um mesmo lote foram misturadas, homogeneizadas e caracterizadas como descrito a seguir.

3.2 Caracterização das amostras de óleo de soja

As amostras de óleo de soja foram caracterizadas com relação aos seguintes parâmetros:

- Massa específica a 20 °C
- Teor de água
- Viscosidade cinemática
- Estabilidade oxidativa
- Índice de acidez
- Índice de saponificação
- Teores de monoglicerídeos e ácidos graxos, diglicerídeos e triglicerídeos

Com exceção dos teores de monoglicerídeos e ácidos graxos, diglicerídeos e triglicerídeos, todas as demais análises foram feitas em triplicata, seguindo normas que são recomendadas pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e

Biocombustíveis (ANP) [58–63]. O último ensaio descrito na lista acima foi realizado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-DAD) e está descrito no item 3.3.

3.2.1 Massa específica a 20 °C

A massa específica pode ser definida como a razão entre a massa de uma substância e o volume ocupado por ela, em uma determinada temperatura. Os ensaios para determinação da massa específica a 20 °C foram feitos seguindo a norma ASTM D4052 [59], utilizando densímetro automático da marca Anton Paar, modelo DMA 4500 Density Meter. O resultado foi expresso em kg/m³.

3.2.2 Teor de água

O teor de umidade (mg/kg) das amostras de óleo foi determinado por titulação coulométrica Karl Fischer, de acordo com a norma ASTM D6304 [61]. Para isso, as análises foram feitas utilizando o titulador Coulômetro 831 KF da Metrohm.

3.2.3 Viscosidade cinemática

A determinação da viscosidade cinemática (mm².s⁻¹) foi feita de acordo com a norma ASTM D445 [60] utilizando banho termostático a 40 °C da Phoenix modelo Thermo Haake e viscosímetro tipo Ostwald. A Equação 4, utilizada para o cálculo da viscosidade (ν), relaciona o tempo de deslocamento (em segundos) da amostra entre os dois meniscos do capilar do viscosímetro (t) e a constante de calibração do capilar (c), em mm².s⁻².

$$\nu \text{ (mm}^2\text{/s)} = c \cdot t \quad \text{Equação 4}$$

3.2.4 Estabilidade oxidativa

O ensaio foi realizado de acordo com a norma EN 14112 [62], utilizando equipamento Biodiesel Rancimat da Metrohm. O processo de envelhecimento da amostra, relacionado à sua oxidação, foi acelerado pela sua exposição ao calor e à passagem de corrente de ar. De acordo com a representação do equipamento na Figura 8, os produtos voláteis da oxidação foram transportados do vaso de reação até o vaso de medida, onde a condutividade foi continuamente monitorada. Um aumento súbito na condutividade marcou o tempo de indução em horas, que decorreu até a oxidação do óleo [64].

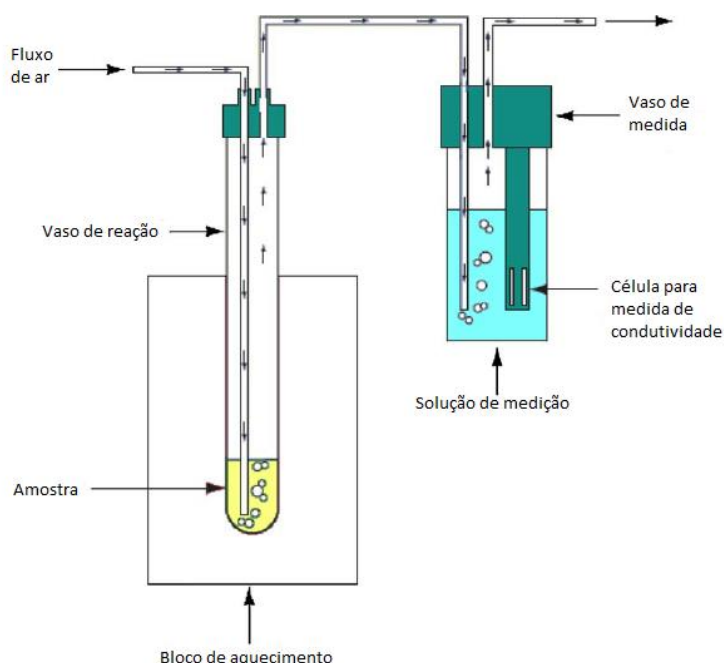


Figura 8: Representação do equipamento Biodiesel Rancimat da Metrohm, por meio do qual é determinado o tempo de indução de uma amostra, seguindo a EN 14112.

Adaptada de [64].

3.2.5 Índice de acidez

A determinação do índice de acidez foi feita conforme descrito na norma ASTM D664 [58], empregando o titulador automático Metrohm 808 com eletrodo combinado de vidro. O resultado foi expresso como a massa de KOH, em mg, necessária para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em 1 grama de amostra de óleo.

3.2.6 Índice de saponificação

O índice de saponificação é definido como a massa de KOH, em mg, necessária para neutralizar os ácidos graxos resultantes da hidrólise de um grama de amostra de óleo. O ensaio foi realizado conforme a norma do Instituto Adolfo Lutz [63], efetuando a hidrólise da amostra (Figura 9) e, em seguida, a titulação ácido-base.

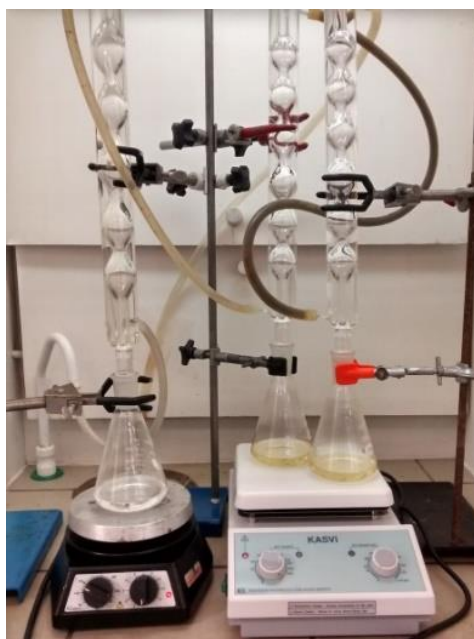


Figura 9: Montagem utilizada para o processo de hidrólise das amostras de óleo conforme norma do Instituto Adolfo Lutz.

O óleo de soja é constituído, principalmente, por triglicerídeos. Durante a reação de saponificação, os triglicerídeos reagiram com o hidróxido de potássio numa proporção estequiométrica 1:3, formando os sabões e o glicerol [65]. Dessa forma, a partir do índice de saponificação (IS) foi possível calcular a massa molar média (MM) dos triglicerídeos que constituíam os óleos através da Equação 5.

$$MM(g/mol) = \frac{(3 \times 56,1056 \times 1000)}{IS} \quad \text{Equação 5}$$

O valor de massa molar média obtido para cada lote de óleo de soja foi utilizado nos cálculos estequiométricos envolvidos nas reações de transesterificação realizadas.

3.3 Reações de transesterificação

Cinco reações de transesterificação foram realizadas, variando a razão molar dos reagentes e o lote do óleo de soja. Tal variação foi feita seguindo um planejamento fatorial 2^2 com ponto central, apresentado na Tabela 1. O óleo pertencente ao lote 100 foi escolhido como ponto central em razão de suas propriedades físico-químicas e sua composição química apresentarem valores intermediários, quando comparado aos lotes 010 e 020.

A temperatura foi mantida a 20 °C para todos os experimentos com o objetivo de diminuir a velocidade da reação e facilitar o monitoramento do processo. O catalisador utilizado foi o hidróxido de sódio PA na proporção de 1% m/m em relação à massa de óleo. No anexo A são apresentadas as quantidades utilizadas de cada um dos reagentes para cada reação descrita na Tabela 1.

Antes de iniciar-se a reação, o hidróxido de sódio foi deixado sob agitação com o metanol PA para que houvesse a formação do metóxido de sódio. O óleo de soja foi mantido sob agitação a 1000 rpm até que toda a solução de metóxido de sódio fosse

vertida. A partir desse momento, a agitação foi alterada para 1200 rpm e iniciou-se o monitoramento da reação.

O acompanhamento do processo foi feito durante 120 minutos, sendo a amostragem dividida em duas etapas. Nos primeiros 10 minutos de reação, 500 µL da mistura reacional foram transferidos, a cada 1 minuto, para tubos eppendorf contendo 50 µL de ácido acético glacial PA. A função do ácido acético glacial é neutralizar o catalisador básico e interromper a reação. A partir de 10 minutos, a amostragem foi feita nas mesmas condições descritas, mas aumentando o intervalo de amostragem para 5 minutos até o tempo final da reação.

Tabela 1: Condições experimentais de realização das reações de transesterificação.

Código da reação	Coordenada dos pontos do planejamento	Razão molar (metanol:óleo)	Lote do óleo de soja
0207	+1 +1	7:1	020
0107	+1 -1	7:1	010
0205	-1 +1	5:1	020
0105	-1 -1	5:1	010
100	PC	6:1	100

As 33 amostras coletadas em cada reação foram centrifugadas por 30 minutos a 7000 rpm, para que houvesse a separação de duas fases. A fase superior foi analisada por espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho médio e por cromatografia líquida de alta eficiência.

A glicerina e o biodiesel presentes na mistura reacional final foram separados em funil de decantação. A glicerina foi descartada e o biodiesel foi submetido aos processos de lavagem com água morna e secagem com sulfato de sódio anidro,

sendo em seguida, analisado como as demais amostras. Todas as amostras foram armazenadas em geladeira.

3.4 Cromatografia líquida de alta eficiência

Para construir um modelo de calibração multivariada é necessário um método de referência que forneça informações quantitativas confiáveis sobre os componentes presentes nas amostras.

Os valores de referência utilizados neste trabalho foram obtidos por meio da cromatografia líquida de alta eficiência. Os teores de monoglicerídeos e ácido graxos, ésteres metílicos, diglicerídeos e triglicerídeos foram obtidos em um cromatógrafo líquido modelo LC-20AT (Figura 10) com amostrador automático SIL-20HT e com detector UV-Vis SPD-M20A, utilizando coluna Shimadzu CLC-ODS® (M) (250 mm x 4.6 mm x 5 μ m). O método utilizado foi uma adaptação da referência [27] e as condições de análise adotadas foram: comprimento de onda, 205 nm; temperatura do forno, 40 °C; volume de injeção, 6 μ L; fluxo de fase móvel, 1 mL/min; eluição em gradiente, metanol (fase móvel A) e solução de isopropanol: hexano 5:4 v/v (fase móvel B), conforme apresentado na Tabela 2; e tempo de análise: 36 minutos.



Figura 10: Cromatógrafo líquido modelo LC-20AT com detector UV-Vis SPD-M20A utilizado na obtenção dos valores de referência para as amostras.

Tabela 2: Programação de eluição em gradiente usada na análise por cromatografia líquida de alta eficiência.

Tempo (min)	Fase móvel A (%)	Fase móvel B (%)
0,01	100	0
15,0	50	50
20,0	0	100
23,0	0	100
26,0	100	0
36,0	100	0

O preparo da amostra consistiu em sua diluição na proporção 1:20 na fase móvel B, que foi, em seguida, filtrada utilizando filtro hidrofóbico PTFE com diâmetro de 13 mm e diâmetro de poro de 0,22 μm acoplado ao bico de uma seringa *luer lock* com capacidade de 3,0 mL.

3.5 Espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho médio

Os dados espectrais foram obtidos em um espectrômetro modelo Frontier da PerkinElmer (Figura 11) equipado com acessório de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de diamante. A análise foi feita usando 20 μL de amostra, sendo adotado o espectro médio de 16 leituras obtido na faixa de 650 a 4000 cm^{-1} com resolução espectral de 4 cm^{-1} .



Figura 11: Espectrômetro Frontier da PerkinElmer equipado com acessório de reflectância total atenuada.

3.6 Análise de componentes principais

Os dados espectrais obtidos para as cinco reações (Tabela 1) foram organizados em uma matriz de 165 linhas e 3351 colunas, cada linha correspondendo a uma amostra e cada coluna correspondendo à absorbância em um determinado número de onda. A análise dos componentes principais foi feita em ambiente MATLAB (The MathWorks, Natick, MA, EUA) utilizando o pacote PLS Toolbox (Eigenvector Research, Manson, WA, EUA). Antes de iniciar a análise, os dados foram pré-processados por MSC (*Multiplicative Scatter Correction*) e centragem na média.

3.7 Obtenção dos modelos MCR-ALS

3.7.1 Organização dos dados

3.6.1.1 Matrizes individuais

As 33 amostras obtidas para cada reação (Tabela 1) foram subdivididas em conjunto de calibração e conjunto de validação. Considerando que as amostras foram coletadas ao longo do tempo de reação, essa divisão foi realizada da seguinte forma: a cada três amostras sequenciais, duas eram destinadas ao conjunto de calibração e uma ao conjunto de validação. As 22 amostras designadas para o conjunto de calibração foram utilizadas na construção do modelo, enquanto que as 11 amostras de validação foram empregadas para verificar a capacidade de previsão do mesmo de forma independente.

A aplicação da restrição de correlação requer uma organização específica dos dados utilizados. Dessa forma, os dados espectrais das amostras foram dispostos em uma matriz de modo que as primeiras linhas correspondiam às amostras do conjunto de calibração e as últimas linhas às amostras de validação. A organização da matriz de dados de referência, obtidos via HPLC-DAD, foi feita de forma análoga à descrita: cada linha referente a uma amostra e cada coluna correspondendo a um dos componentes monitorados. Para as amostras do conjunto de validação os valores de referência foram substituídos pelo símbolo NaN (*not a number*), que indica ausência de valor numérico definido.

3.6.1.2 Matriz aumentada

A matriz aumentada no sentido das colunas foi construída alinhando verticalmente os dados das reações 0105, 0107, 0205, 0207 e 100, nessa ordem. Como apresentado na Tabela 1, essas bateladas foram realizadas nas mesmas condições de temperatura, catalisador e agitação, variando o lote do óleo de soja e a razão molar álcool: óleo utilizados. Os dados das quatro primeiras reações (0105, 0107, 0205 e 0207) compuseram o conjunto de calibração, enquanto os dados da reação 100 foram utilizados para testar a habilidade de previsão do modelo. A organização dos dados para a aplicação da restrição de correlação foi realizada da mesma forma descrita para as matrizes individuais no item 3.6.1.1.

3.7.2 Pré-processamento

Em todos os casos descritos, o conjunto de dados espectrais foi pré-processado aplicando MSC (*Multiplicative Scatter Correction*) para corrigir eventuais desvios de linha de base. O espectro utilizado como referência para efetuar a correção foi o espectro médio do conjunto de calibração. O MSC é um método de pré-processamento de dados que visa eliminar desvios de linha-base não lineares, os quais são causados pelo espalhamento de luz, devido a variações físicas não relacionadas à composição química das amostras [66].

3.7.3 Construção dos modelos MCR-ALS

A construção dos modelos e todos os cálculos necessários foram desenvolvidos em ambiente MATLAB (The MathWorks, Natick, MA, EUA) utilizando o *software* gratuito MCR-ALS GUI 2.0 disponibilizado no endereço eletrônico <http://www.mcrals.info> [41].

Para aplicação do MCR-ALS foi necessário definir o número de componentes presentes na amostra, apresentar uma estimativa inicial para os espectros ou para o perfil de concentração, e, em seguida, aplicar restrições adequadas que reduzissem as ambiguidades associadas à resolução da matriz **D**.

Baseando-se no conhecimento prévio sobre o sistema analisado, o número de componentes utilizados foi igual a quatro e a estimativa inicial dos espectros foi feita utilizando o método de detecção da variável pura (PURE). As restrições utilizadas foram a de não negatividade (perfis espectrais e de concentração) e a de correlação (perfil de concentração). Para aplicação da restrição de correlação, foram utilizados os valores de referência obtidos por HPLC-DAD para as amostras do conjunto de calibração. Assim, a cada etapa de otimização utilizando o algoritmo ALS, os valores de referência para o conjunto de calibração (c_{ref}^{cal}) foram correlacionados com os

valores de concentração relativa calculados pelo modelo ($c^{\text{cal}}_{\text{ALS}}$) através de uma regressão linear (Equação 6) [12].

Os parâmetros b e b_0 foram usados para calcular o vetor de concentração para as amostras do conjunto de validação (\hat{c}_{val}) a partir dos valores de concentração relativa fornecidos pelo modelo ($c^{\text{val}}_{\text{ALS}}$), como indicado na Equação 7.

$$c^{\text{cal}}_{\text{ALS}} = b \cdot c^{\text{cal}}_{\text{ref}} + b_0 \quad \text{Equação 6}$$

$$\hat{c}_{\text{val}} = (c^{\text{val}}_{\text{ALS}} - b_0) / b \quad \text{Equação 7}$$

Dessa forma, os valores de referência para as amostras de calibração ($c^{\text{cal}}_{\text{ref}}$) e os valores calculados para as amostras de validação (\hat{c}_{val}) foram utilizados para construir o vetor de entrada (*input*) da próxima iteração. O processo prosseguiu dessa maneira até que o critério de convergência fosse atingido. O critério de convergência adotado foi a diferença entre a porcentagem de falta de ajuste (%LOF, *lack of fit*) de duas iterações consecutivas ser menor que 0,1.

3.7.4 Verificação da qualidade do modelo

Como parâmetros para avaliar a qualidade dos modelos obtidos foram calculados a porcentagem de variância explicada ou coeficiente de determinação (R^2), e a porcentagem de falta de ajuste (%LOF), representados pelas Equações 8 e 9, respectivamente.

$$R^2 = 100 \times \sqrt{\frac{\sum dij^2 - \sum eij^2}{\sum dij^2}} \quad \text{Equação 8}$$

$$\% \text{ LOF} = 100 \times \sqrt{\frac{\sum eij^2}{\sum dij^2}} \quad \text{Equação 9}$$

Nessas equações d_{ij} é um elemento da matriz de dados instrumentais \mathbf{D} e e_{ij} é o valor residual relacionado, obtido da diferença entre os dados experimentais (\mathbf{D}) e os dados obtidos por MCR-ALS ($\mathbf{C}\cdot\mathbf{S}^T$) [41].

Os parâmetros RMSEC (*Root Mean Square Error of Calibration*) e RMSEP (*Root Mean Square Error of Prediction*), relacionados, respectivamente, aos erros quadráticos médios de calibração e previsão, também foram calculados para cada um dos componentes do processo de acordo com a Equação 10 [53]. Nessa equação \mathbf{y}_p é o vetor contendo os valores calculados pelo modelo, \mathbf{y}_r é o vetor com os valores de referência obtidos por HPLC-DAD e m é o número de amostras pertencentes ao conjunto de calibração ou validação.

$$RMSEC/P = \sqrt{\frac{\sum(y_p - y_r)^2}{m}}$$

Equação 10

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das amostras de óleo de soja

As amostras de óleo de soja utilizadas neste trabalho foram caracterizadas em relação a algumas propriedades físico-químicas. A Tabela 3 reúne os resultados obtidos para os parâmetros avaliados, sendo apresentados os valores médios acompanhados dos respectivos desvios padrão. Cabe ressaltar que as análises realizadas por HPLC não foram feitas em triplicata devido aos elevados custo e consumo de reagentes associados.

Os valores encontrados para o parâmetro índice de saponificação, bem como para a massa molar média, foram muito semelhantes dentre os diferentes lotes. Alguns trabalhos pareados com amostras de óleo de soja apresentaram valores de índice de saponificação iguais a 193,2 mg KOH/g [38] e a 188,6 mg KOH/g [67], e massa molar média igual a 896,88 g/mol [67]. Dessa forma, os valores encontrados para os diferentes lotes avaliados estão dentro da faixa de valores comumente apresentados na literatura.

Os parâmetros viscosidade cinemática e massa específica também apresentaram pouca variabilidade entre os lotes. A massa específica de um óleo está relacionada à sua composição química. O óleo de soja apresenta valor de massa específica próximo a 0,91 g/cm³ em função das suas cadeias carbônicas serem derivadas dos ácidos palmítico (C16:0), oleico (C18:1) e linoleico (18:2) [22].

Pode-se perceber que o óleo de soja pertencente ao lote 020, o mais novo dentre os analisados, apresentou o valor mais alto de estabilidade oxidativa. Esse resultado indica que essa amostra demorará mais tempo que as demais para iniciar o seu processo de oxidação. No anexo B são apresentadas as datas de fabricação e de validade para cada amostra de óleo adquirida no mercado local e utilizada neste trabalho.

O índice de acidez e o teor de água obtidos para o lote 020 foram baixos, corroborando o fato desse óleo ser o de melhor qualidade para a produção de biodiesel, dentre os observados. A presença de água e a elevada acidez podem levar à formação de sabão durante o processo de transesterificação, diminuindo o rendimento da reação de produção de biodiesel.

Tabela 3: Parâmetros físico-químicos e químicos das amostras de óleo de soja de quatro lotes distintos (n=3).

Parâmetros	Lote do óleo de soja			
	020	010	100	110
Índice de saponificação (mg KOH/g amostra)	188 ± 3	188,3 ± 0,7	188 ± 1	192,0 ± 0,9
Massa molar média (g/mol)	895 ± 14	894 ± 3	897 ± 6	877 ± 4
Teor de água (mg/kg)	666 ± 20	695 ± 29	689 ± 34	651 ± 53
Massa específica a 20° C (kg/m ³)	0,9189	0,9199	0,9199	0,9199
Viscosidade cinemática (mm ² /s)	32,00 ± 0,01	32,18 ± 0,01	31,82 ± 0,01	31,89 ± 0,02
Estabilidade oxidativa (h)	8,8 ± 0,1	6,57 ± 0,01	6,9 ± 0,2	6,2 ± 0,1
Índice de acidez (mg KOH/g amostra)	0,13 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,39 ± 0,01
*Teor de ácidos graxos e monoglicerídeos (%)	0,04	0,46	0,27	0,42
*Teor de diglicerídeos (%)	6,72	14,60	12,16	13,49
*Teor de triglicerídeos (%)	93,24	84,93	87,57	86,09

* Essas análises foram feitas apenas uma vez..

As amostras referentes aos lotes 010 e 110 apresentaram valores mais altos para o índice de acidez e para o teor de água. Durante os processos de armazenamento e transporte, o óleo de soja pode entrar em contato com a umidade do ambiente elevando o teor de água presente na amostra. A água leva à hidrólise dos triglicerídeos, produzindo os ácidos graxos livres, e conseqüentemente, aumentando o índice de acidez do respectivo óleo vegetal. Por fim, verifica-se que o óleo de soja do lote 100 apresentou, no geral, valores que são medianos e intermediários entre os outros lotes, e que por este motivo foi escolhido como ponto central do planejamento fatorial.

4.2 Reações de transesterificação

A escolha do conjunto de reações, que compuseram o planejamento fatorial 2^2 com ponto central, foi feita buscando incorporar ao modelo quimiométrico as possíveis flutuações que podem ocorrer durante o processo industrial de produção de biodiesel.

As reações foram realizadas utilizando os óleos pertencentes aos lotes 020, 010 e 100, e proporções molares metanol:óleo que variaram de 5:1 a 7:1. O lote 110 não foi utilizado em função do planejamento fatorial demandar apenas três amostras distintas de óleo de soja. Além disso, conforme apresentado na Tabela 3, o lote 100 apresentou valores para os parâmetros que foram intermediários quando comparado aos lotes 010 e 020, sendo o mais adequado para configurar o ponto central.

A quantidade de álcool utilizada é um dos principais fatores que afeta o rendimento de biodiesel. Embora a proporção molar teórica metanol:óleo seja 1:3 (Figura 2), utiliza-se excesso de álcool para garantir a conversão completa de triglicerídeos a ésteres metílicos. A razão molar álcool: óleo está relacionado ao tipo de catalisador que será utilizado e a mais utilizada na literatura e na indústria é 6:1, com o uso de catalisador homogêneo básico [68]. Durante o processo de produção do biodiesel, algumas variações podem ocorrer em função de perdas do álcool por evaporação ou medição equivocada do volume por operadores. Além disso, a

qualidade do óleo de soja, que é utilizado como matéria prima, está sujeita a variações devido às condições climáticas e de manuseio e transporte. Dessa forma, foram escolhidas proporções molares que circundam a mais utilizada (6:1) e óleos que apresentaram diferentes valores de parâmetros físico-químicos e químicos (Tabela 3).

Para cada reação foram coletadas 33 alíquotas que foram posteriormente centrifugadas. As primeiras amostras foram obtidas em intervalos de tempo iguais a 1 minuto nos primeiros 10 minutos. Após esse período, o intervalo de amostragem foi alterado para 5 minutos até findar as 2 horas de monitoramento. Em cada alíquota foi adicionado ácido acético glacial para neutralizar o excesso de catalisador básico e interromper a reação.

Todas as amostras coletadas ao longo das reações foram analisadas por HPLC-DAD e FTIR-ATR. A Figura 12 apresenta dois cromatogramas obtidos, respectivamente, para o óleo do lote 020 e para o biodiesel purificado obtido na reação 0207. Estes dois cromatogramas apresentam modificações que foram similares às observadas para as demais reações.

As principais mudanças observadas do primeiro para o segundo cromatograma foram a presença de picos intensos na faixa de 16,0 – 24,0 minutos referentes aos triglicerídeos (Figura 12A), que foram convertidos ao longo da reação de transesterificação em ésteres metílicos, gerando o aparecimento de picos na região de 4,6 – 7,0 minutos (Figura 12B).

Essa reação possui como intermediários os monoglicerídeos e os diglicerídeos. Desse modo, os demais picos presentes, em ambos os cromatogramas, nas faixas de 3,0 – 4,5 e 7,1-15,9 minutos estão relacionados aos ácidos graxos e monoglicerídeos e aos diglicerídeos, respectivamente. A metodologia utilizada não promove a separação entre ácidos graxos e monoglicerídeos. Por este motivo, os picos correspondentes a essas duas classes encontram-se na mesma região do cromatograma (3,0 – 4,5 min) e são determinados conjuntamente.

Todos os valores de concentração obtidos por HPLC-DAD foram organizados em matrizes e utilizados como referência para a construção dos modelos de calibração

multivariada aplicando a restrição de correlação. Nessas matrizes cada linha correspondeu a uma amostra (organizadas na mesma sequência que a utilizada na respectiva matriz de dados espectrais) e cada coluna foi relacionada a um dos componentes monitorados.

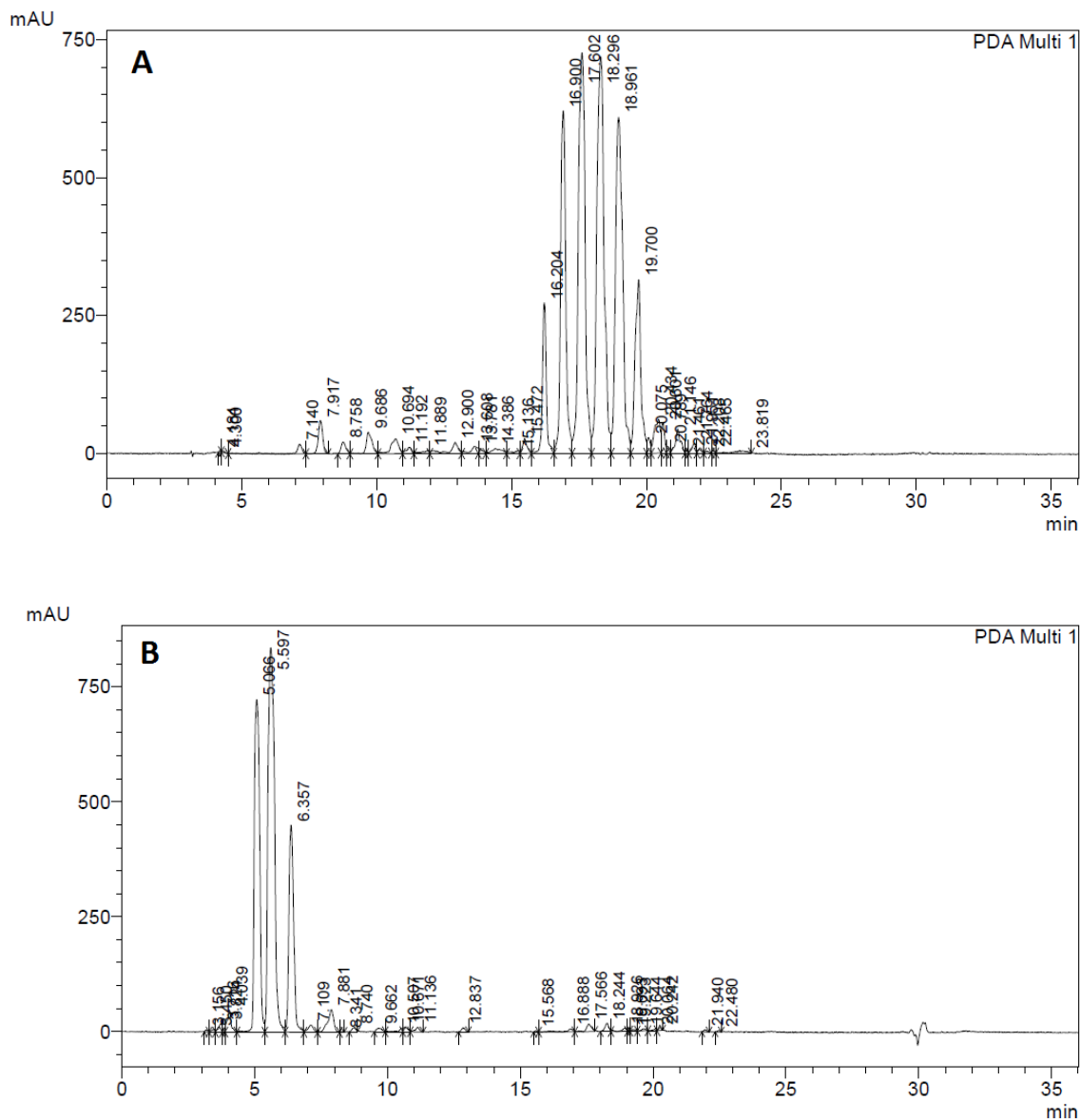


Figura 12: Cromatogramas obtidos por HPLC-DAD para as amostras de: (A) óleo de soja do lote 020 e (B) biodiesel purificado produzido na reação 0207.

Embora cada reação tenha sido realizada considerando lotes de óleo e proporções molares entre os reagentes distintos, a variação para cada um dos

componentes ao longo do tempo foi muito semelhante para todas as reações. A seguir, são apresentados dois gráficos (Figura 13) construídos com valores obtidos via HPLC-DAD para as reações 0107 e 0205, ambas utilizando lotes de óleo e proporções molares metanol:óleo diferentes.

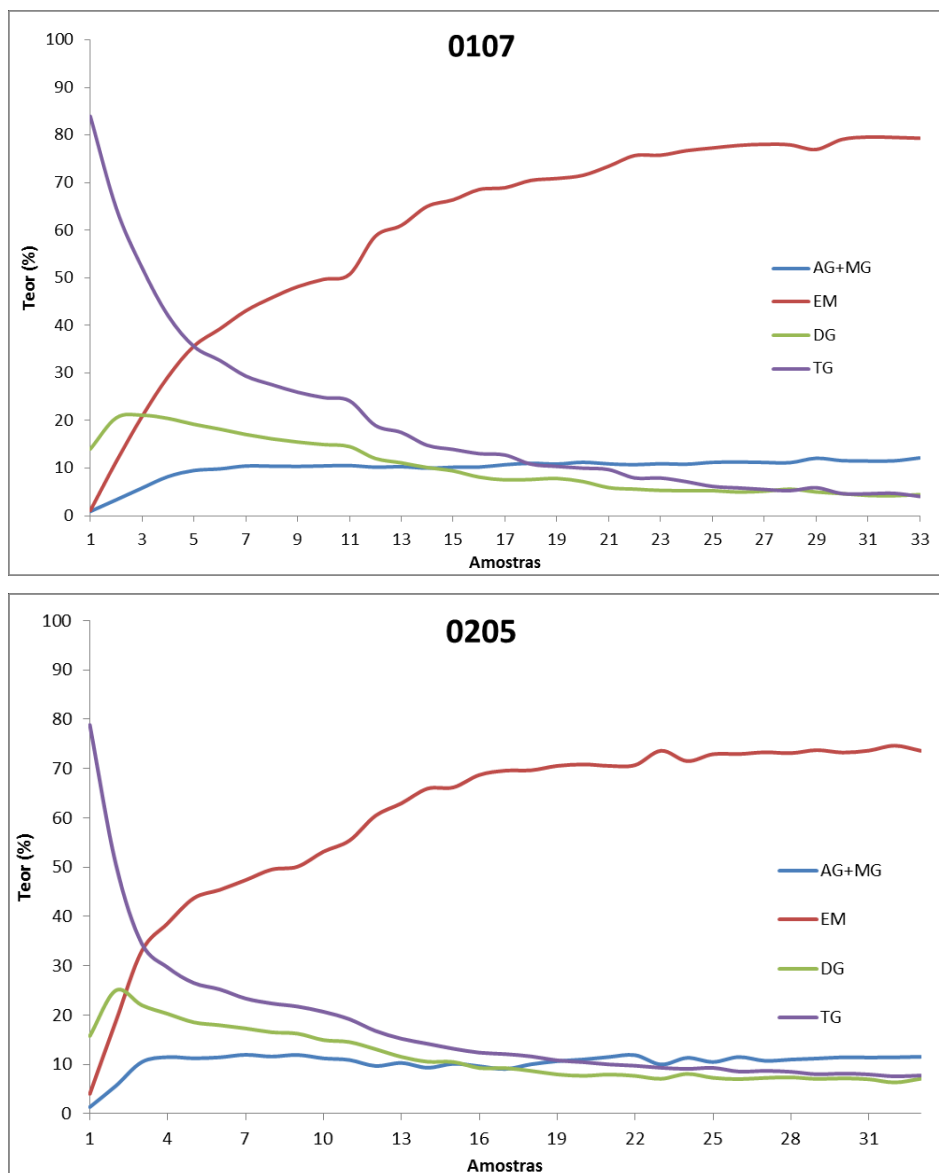


Figura 13: Perfis de concentração para os componentes monitorados ao longo das reações 0107 e 0205 via HPLC-DAD: ácidos graxos e monoglicerídeos (AG+MG), ésteres metílicos (EM), diglicerídeos (DG) e triglicerídeos (TG).

O biodiesel obtido ao final de cada reação, foi purificado e analisado por cromatografia líquida de alta eficiência. A purificação consistiu em separar no funil de decantação o biodiesel da glicerina e, em seguida, lavar esse biodiesel com água morna até que a água de lavagem apresentasse pH próximo a 7. Posteriormente, o biodiesel foi seco com sulfato de sódio anidro e armazenado em frasco fechado na geladeira.

A Tabela 4 apresenta os teores de ácido graxos e monoglicerídeos, ésteres metílicos, diglicerídeos e triglicerídeos obtidos para cada amostra de biodiesel purificado produzido por reação. O maior teor de ésteres metílicos foi obtido para o biodiesel produzido através do óleo de lote 020 e da proporção molar metanol: óleo igual a 7:1. Esse resultado possivelmente é atribuído ao fato do óleo usado ser o de melhor qualidade dentre os demais e ao maior excesso de metanol que desloca a reação de transesterificação para o sentido de produção de ésteres metílicos.

Tabela 4: Teores de AG+MG, EM, DG e TG obtidos via HPLC-DAD para as amostras de biodiesel purificado, obtidas em cada reação de transesterificação.

Código da reação	% AG + MG	% EM	% DG	% TG
0105	7,10	80,43	4,71	7,76
0107	7,51	82,10	6,00	4,40
0205	5,07	80,99	6,89	7,05
0207	2,54	90,00	4,96	2,49
100	9,05	79,94	4,55	6,46

As demais reações apresentaram amostras de biodiesel com rendimentos em ésteres metílicos próximos a 80%. Esse valor mais baixo pode estar relacionado à temperatura utilizada para a realização das reações, que diminui a cinética da reação.

Em 2011, Hui Sun e colaboradores avaliaram a conversão de triglicerídeos a ésteres metílicos à temperatura de 25 °C. Para isso utilizaram óleo de soja, razão molar metanol: óleo igual a 13:1 e 5% m/m de NaOH. Nessas condições, o rendimento de ésteres metílicos próximos a 100% só foi alcançado após 20 horas de reação, confirmando como baixas temperaturas diminuem a cinética do processo [69].

4.3 Análise de componentes principais dos dados obtidos por FTIR-ATR

Os espectros FTIR-ATR obtidos para cada uma das amostras, provenientes de reações realizadas em diferentes condições experimentais (Tabela 1), foram analisados por PCA. A análise de componentes principais, embora seja um método quimiométrico exploratório, pode fornecer informações importantes sobre o conjunto de dados estudado, constituindo uma importante ferramenta no monitoramento de processos. Todos dados espectrais adquiridos foram organizados em uma matriz e o modelo construído com cinco componentes principais explicou 97,19% da variância total dos dados.

A primeira componente principal (PC1), que explicou 61,18% da variância dos dados, está relacionada ao avanço da reação. Como pode ser visto na Figura 14, à medida que a reação se desenvolve, os escores das amostras em PC1 vão deixando de apresentar valores positivos e assumindo valores negativos. Esse comportamento esteve presente nas cinco reações analisadas, indicando que a maior fonte de variância dos dados está no processo de produção de biodiesel, ou seja, na reação de transesterificação.

É importante destacar que o fato de a variação relacionada ao avanço ocorrer no sentido de valores positivos para negativos nesta PC é arbitrário e só tem sentido em comparação com os respectivos pesos, cujos valores positivos ou negativos estarão associados às variáveis que estiverem diminuindo ou aumentando com o decorrer da reação.

Um perfil similar ao apresentado neste trabalho foi obtido por de Lima e colaboradores ao realizarem o monitoramento da reação de transesterificação utilizando espectroscopia NIR (*Near Infrared Spectroscopy*) e PCA [2]. A análise dos componentes principais também foi utilizada por Fontalvo Gómez e colaboradores, em 2013, para o monitoramento da produção de biodiesel utilizando uma sonda Raman acoplada ao vaso reacional [21].

A análise do gráfico de pesos das variáveis permitiu identificar que a variação observada em PC1 ocorre em função de mudanças na região espectral de 650 a 1850 cm^{-1} , como mostrado na Figura 15. Os principais pesos negativos estão relacionados às variáveis em 1741 cm^{-1} , 1436 cm^{-1} e 1197 cm^{-1} . As regiões espectrais de 1425-1447 cm^{-1} e 1188-1200 cm^{-1} apresentam pequenas diferenças entre os espectros do óleo de soja e do seu respectivo biodiesel [29]. A banda de absorção forte observada nos espectros de infravermelho na região em torno de 1750-1730 cm^{-1} é característica do estiramento do grupo carbonila de ésteres [70].

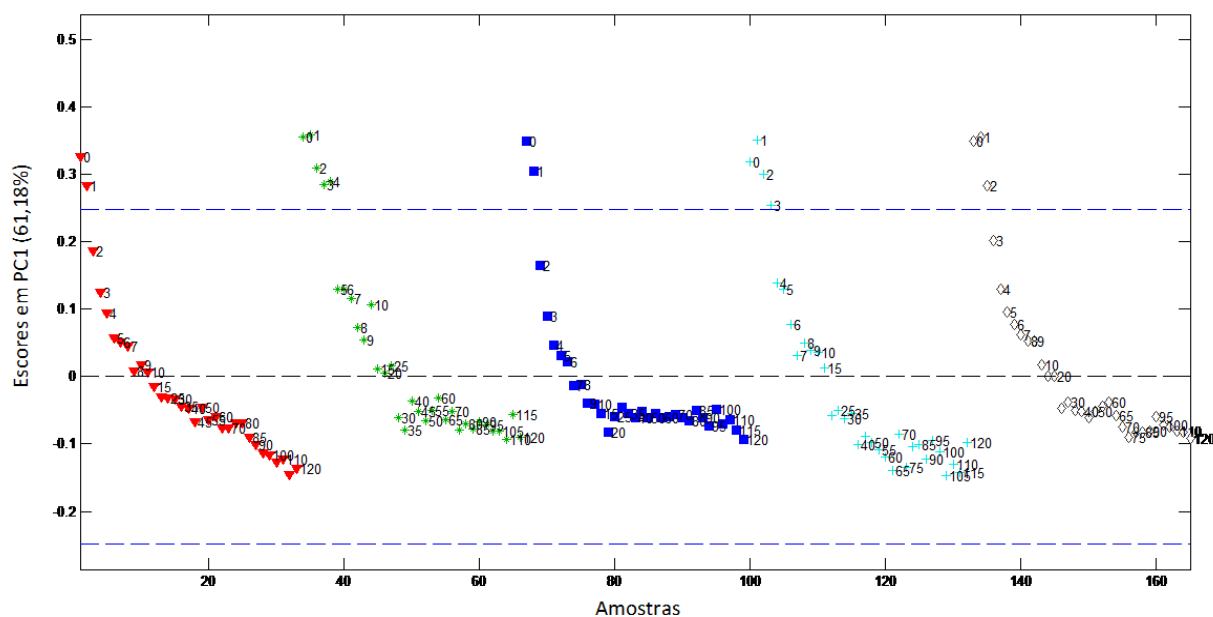


Figura 14: Escores em PC1 para as amostras das cinco reações realizadas – 0105 (vermelho), 0107 (verde), 0205 (azul escuro), 0207 (azul claro) e 100 (branco).

Com relação aos pesos positivos, destacam-se aqueles em 1030 cm^{-1} , 1098 cm^{-1} e 1143 cm^{-1} . Ao longo da reação de biodiesel, percebe-se o desaparecimento de bandas em 1026 cm^{-1} e 1095 cm^{-1} presentes no espectro do óleo de soja puro e o aparecimento de novas bandas em 1435 cm^{-1} e 1195 cm^{-1} indicando a conversão do óleo em biodiesel [70]. Desse modo, os valores de pesos mais significativos estão relacionados a mudanças espectrais que acontecem ao longo do tempo de reação relacionadas ao processo de conversão dos triglicerídeos a ésteres metílicos.

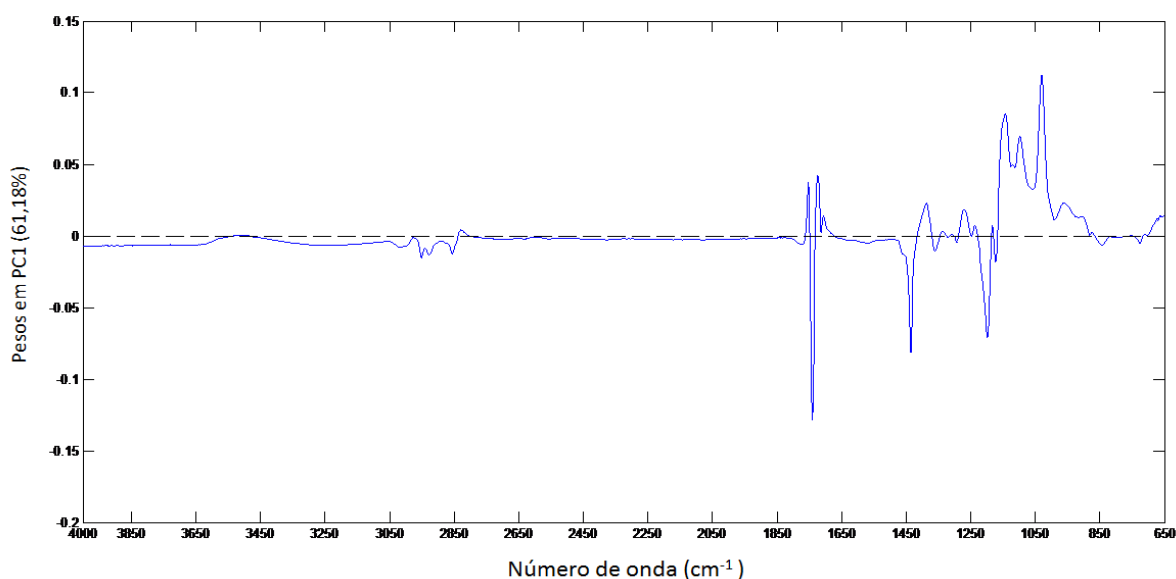


Figura 15: Pesos (*loadings*) em PC1 para cada uma das variáveis.

A segunda componente principal explicou 24,92% da variância dos dados. Embora a maioria das amostras esteja distribuída ao longo da origem do eixo de PC2, as amostras correspondentes ao instante inicial de reação ($t=0$) apresentaram escores mais negativos que as demais (Figura 16). Esse comportamento distinto pode estar associado à natureza dos reagentes. O óleo de soja e o metanol são parcialmente miscíveis e é necessário um tempo de agitação para que ocorra difusão de uma fase na outra e a reação de transesterificação inicie-se de forma efetiva. Desse modo, as amostras iniciais apresentaram composição diferente das demais e foram separadas em PC2.

A terceira componente principal (5,88%) explicou o comportamento particular de algumas amostras que se diferenciaram das demais, como é o caso da última amostra coletada na reação 0105. Comparando as cinco bateladas, essa reação foi a que apresentou menor teor de ésteres metílicos no ponto final de reação ($t=120\text{min}$): 79,36% (0107); 69,57% (0105); 73,60% (0205) e 84,62% (0207). A reação 100, correspondente ao ponto central do planejamento fatorial, apresentou rendimento de ésteres metílicos igual a 74,67%.

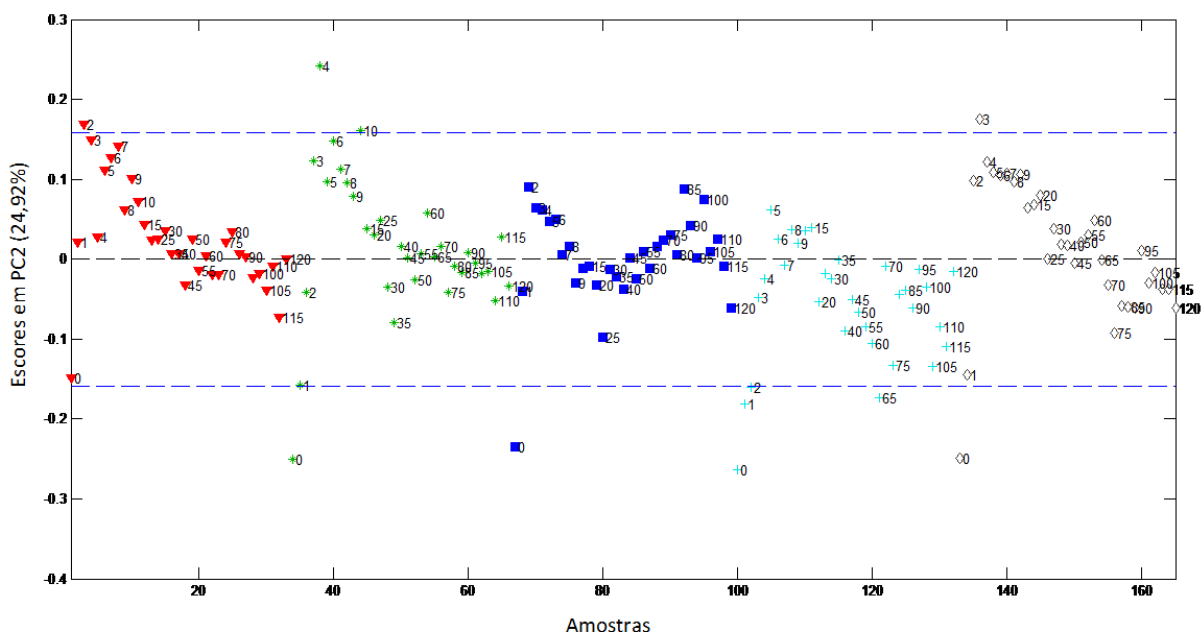


Figura 16: Escores em PC2 para as amostras das cinco reações realizadas: 0105 (vermelho), 0107 (verde), 0205 (azul escuro), 0207 (azul claro) e 100 (branco).

As demais componentes principais estão relacionadas a variâncias menores (inferiores a 4%) e vinculadas a amostras que apresentaram comportamento anômalo, como é o caso da última amostra coletada na reação 0105 e da amostra coletada no tempo igual a quatro minutos para a reação 0107. PC4 e PC5 explicaram, respectivamente, 3,74% e 1,47% da variância dos dados.

4.4 Modelos de calibração obtidos através do método MCR-ALS

Os modelos foram construídos a fim de determinar por FTIR-ATR as concentrações e os perfis espectrais dos componentes presentes nas alíquotas das reações: ácidos graxos, monoglicerídeos, ésteres metílicos, diglicerídeos e triglicerídeos. A seguir são apresentados cinco diferentes modelos MCR-ALS obtidos utilizando as matrizes individuais adquiridas em cada reação (0105, 0107, 0205, 0207 e 100) e também usando a matriz aumentada.

4.4.1 Modelos utilizando as matrizes individuais

De modo geral, os conjuntos de dados espectrais das amostras apresentaram pequenos desvios de linha base. O pré-processamento MSC foi aplicado com o objetivo de corrigir desvios de linha base ocasionados, principalmente, pelo espalhamento de luz. Na Figura 17 são apresentados os dados espectrais da reação 0107, antes e após o pré-processamento. Semelhantes perfis espectrais foram observados para as outras reações; desse modo, a reação 0107 foi escolhida apenas para exemplificação.

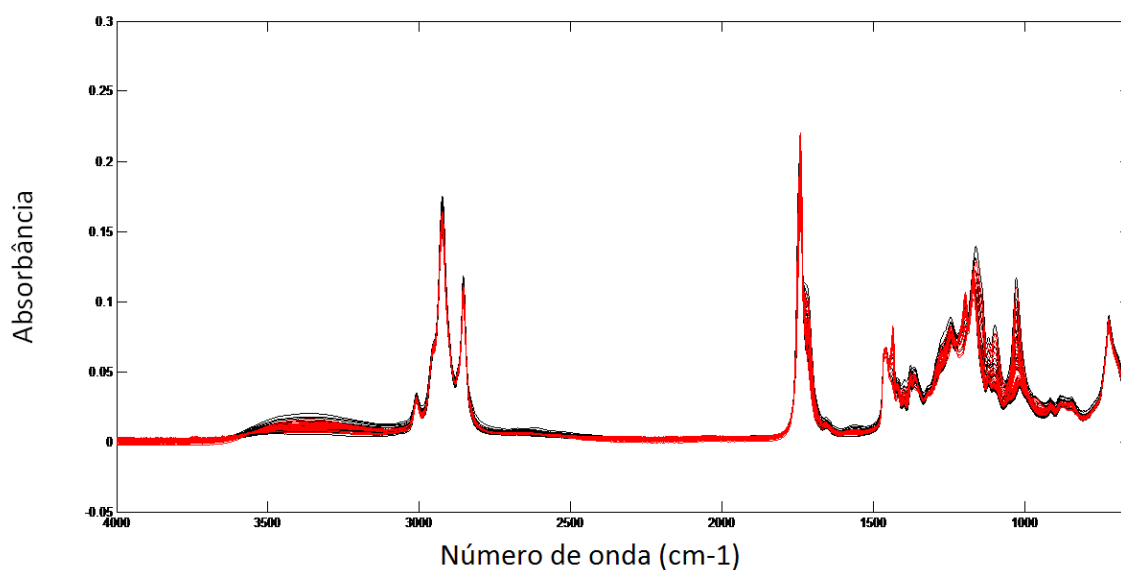


Figura 17: Dados espectrais originais (em preto) e pré-processados (em vermelho) obtidos por FTIR-ATR para a reação 0107.

Após realizar o pré-processamento do conjunto de dados espectrais, um modelo de calibração multivariada foi construído para cada reação. Todas as reações possuíam 33 amostras, sendo 22 amostras destinadas ao conjunto de calibração e 11 amostras utilizadas para a previsão, exceto para a reação 0207. Essa reação apresentou três amostras cujos resultados obtidos por HPLC classificaram-nas como *outliers* (Figura 18). As amostras retiradas do conjunto de dados foram aquelas obtidas em tempos iguais a quatro, nove e dez minutos. Desse modo, a reação 0207 possuiu 30 amostras, sendo 20 utilizadas para o conjunto de calibração e 10 amostras destinadas à previsão.

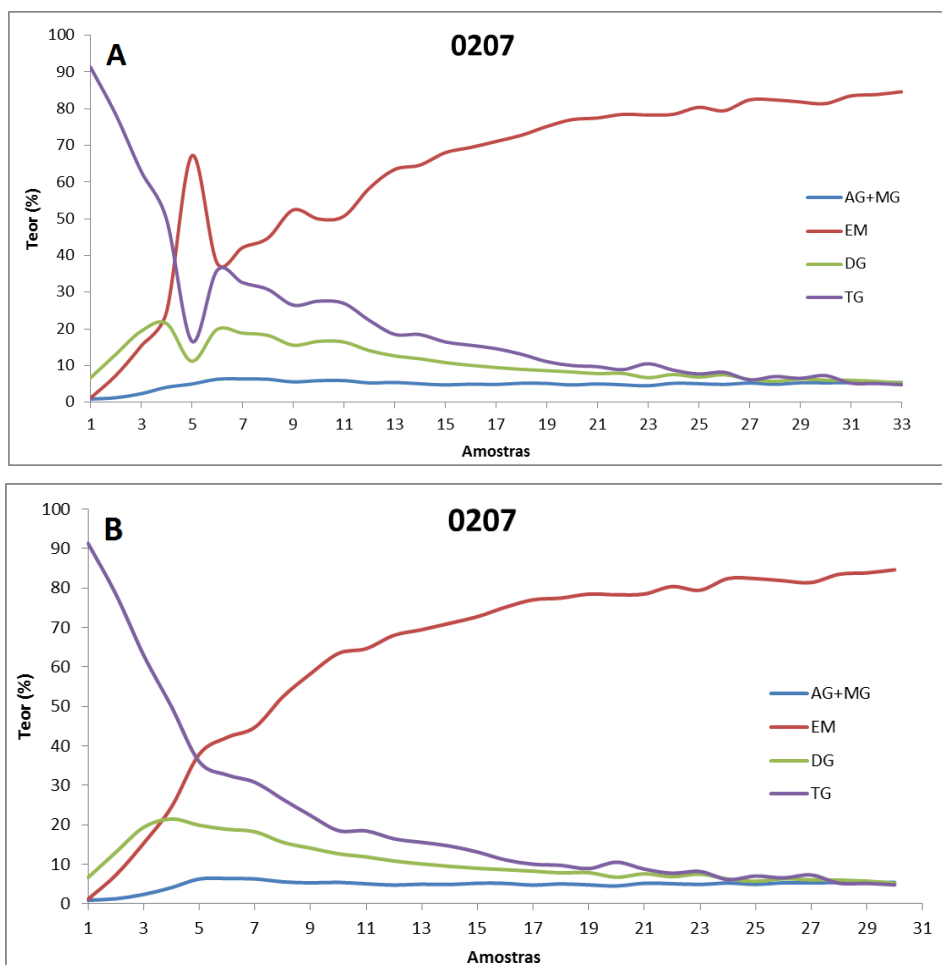


Figura 18: Teores de ácidos graxos e monoglicerídeos (AG+MG), ésteres metílicos (EM), diglicerídeos (DG) e triglicerídeos (TG) obtidos via HPLC-DAD para as amostras coletadas ao longo da reação 0207: (A) antes e (B) após remoção de outliers.

Os modelos foram construídos aplicando as restrições de não negatividade e de correlação para os quatro componentes. Todos os modelos atingiram o critério de convergência, exceto para a reação 0105 (Tabela 5). A resolução para os dados dessa reação foi considerada divergente por realizar 20 iterações consecutivas e não apresentar diminuição progressiva na porcentagem de falta de ajuste (% LOF). Por este motivo, os dados dessa reação foram utilizados apenas na construção da matriz aumentada. Os modelos atingiram o critério de convergência com menos de 40 iterações em todos os casos, apresentando alta porcentagem de variância explicada

e baixa porcentagem de falta de ajuste. Esses resultados indicam que os dados experimentais foram bem resolvidos pelo método MCR-ALS.

Tabela 5: Parâmetros calculados para os modelos MCR-ALS construídos a partir dos dados das reações 0205, 0207, 0107 e 100.

Parâmetros		Reações			
		0205	0207	0107	100
Número de iterações		39	12	6	15
% Variância explicada		99.8984	99.9281	99.9125	99.9473
% LOF		3.1882	2.6811	2.9577	2.2959
Desvio padrão dos resíduos		0.001065	0.000916	0.001000	0.000790
AG+MG	RMSEC	1.73	0.76	0.83	2.07
	R	0.8054	0.8686	0.9529	0.8445
	RMSEP	2.15	1.03	0.68	2.08
EM	RMSEC	5.41	4.74	4.10	3.02
	R	0.9605	0.9826	0.9835	0.9886
	RMSEP	6.33	4.41	4.95	4.09
DG	RMSEC	11.15	6.09	2.12	1.61
	R	0.4221	0.6203	0.9336	0.9622
	RMSEP	11.41	4.99	2.22	1.25
TG	RMSEC	4.57	1.96	3.38	1.95
	R	0.9633	0.9966	0.9862	0.9939
	RMSEP	5.21	3.74	3.59	1.91
R _{real-calculado} EM		0.9910	0.9947	0.9857	0.9854
R _{real-calculado} TG		0.9859	0.9893	0.9973	0.9877

Os ésteres metílicos (EM) e os triglicerídeos (TG) apresentaram valores de RMSEC e RMSEP considerados bons para todas as reações investigadas. Os coeficientes de correlação (R), entre os valores de concentração de referência e aqueles calculados pelos modelos, foram sempre maiores que 0,96 para os TG e EM. O elevado valor de coeficiente de correlação indica que os valores de concentração calculados pelos modelos foram muito próximos a aqueles obtidos por HPLC-DAD.

Como espectros de referência para esses dois componentes foram utilizados os espectros do biodiesel purificado e do óleo de soja. Os coeficientes de correlação ($R_{\text{real-calculado}}$) entre os espectros de referência e os calculados pelo método MCR-ALS foram maiores que 0,985; mostrando que os espectros recuperados são altamente semelhantes aos espectros reais.

Os ácidos graxos (AG), monoglicerídeos (MG) e diglicerídeos (DG) são componentes cujas concentrações variaram pouco quando comparados aos triglicerídeos e ésteres metílicos, conforme pode-se perceber nas Figuras 13 e 18. Aliado a esse fator, a espectroscopia na região no infravermelho é uma técnica que apresenta baixa sensibilidade dificultando identificar pequenas variações de concentrações como as que ocorrem com essas espécies. Desse modo, as pequenas variações de concentração relativa para esses componentes não foram bem identificadas pelo modelo com bases nos espectros FTIR-ATR.

Embora os intermediários – diglicerídeos (DG) e monoglicerídeos (MG) - não tenham apresentado valores satisfatórios de RMSEC e RMSEP para alguns modelos, esses componentes não são frequentemente monitorados durante a reação de transesterificação. O interesse industrial consiste em avaliar a conversão dos triglicerídeos em ésteres metílicos, que após purificação, originam o biodiesel. Sendo assim, os intermediários foram avaliados neste trabalho apenas com o objetivo de adquirir informações adicionais sobre a reação, como por exemplo, os espectros FTIR-ATR estimados para esses intermediários.

Nas Figuras 19 e 20 são apresentados os espectros calculados e os espectros de referência para os componentes da reação 0107. Os perfis espectrais obtidos para esses componentes foram muito similares em todas as demais reações analisadas. As divergências observadas entre os espectros estimado e de referência, principalmente para os ésteres metílicos (Figura 19B), ressaltam a ambiguidade rotacional presente de forma inerente nos métodos de resolução multivariada de curvas.

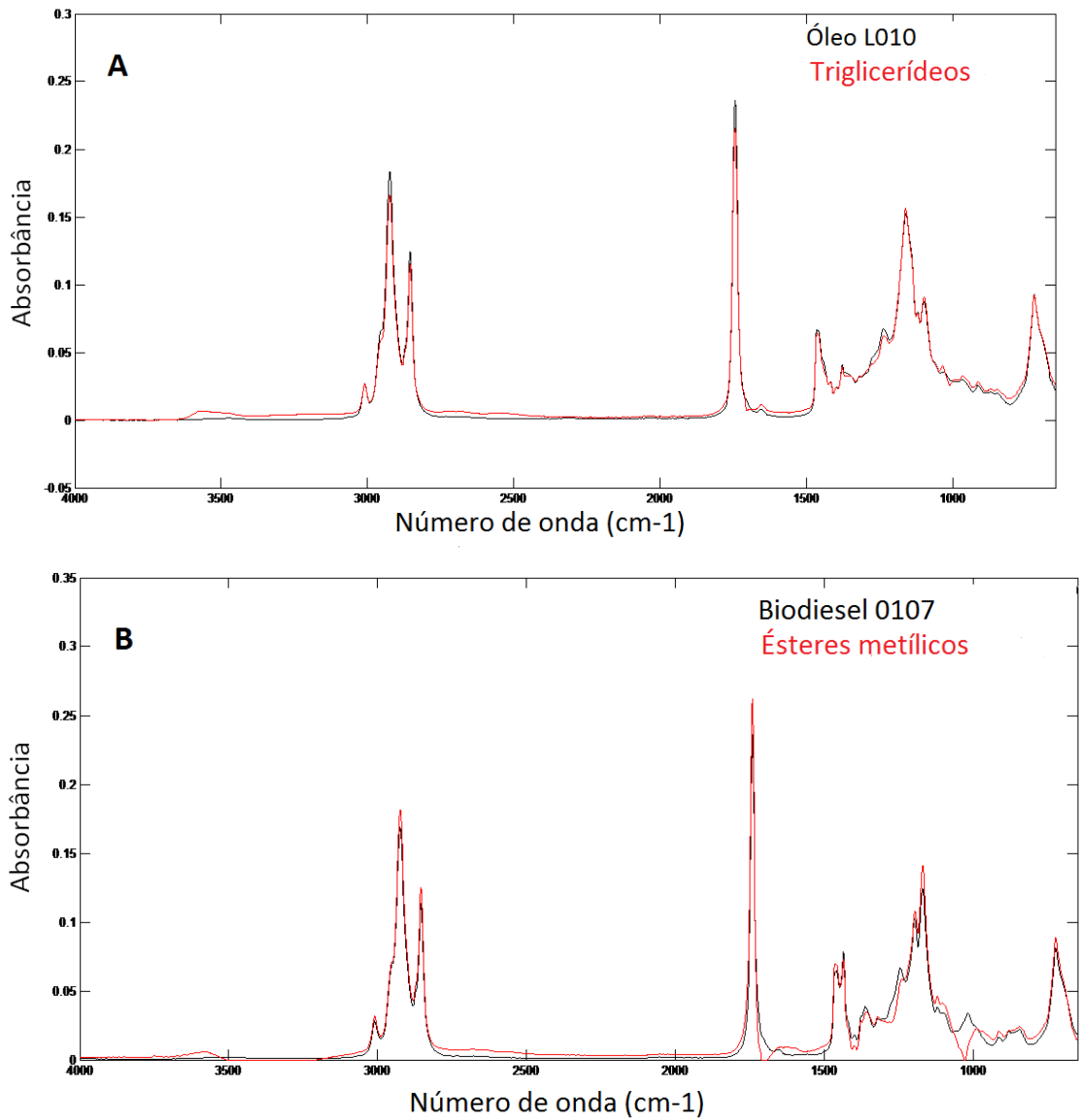


Figura 19: Espectros FTIR-ATR dos componentes da reação 0107: (A) triglicerídeos e (B) ésteres metílicos. Em preto são apresentados os espectros de referência e em vermelho os espectros estimados por MCR-ALS.

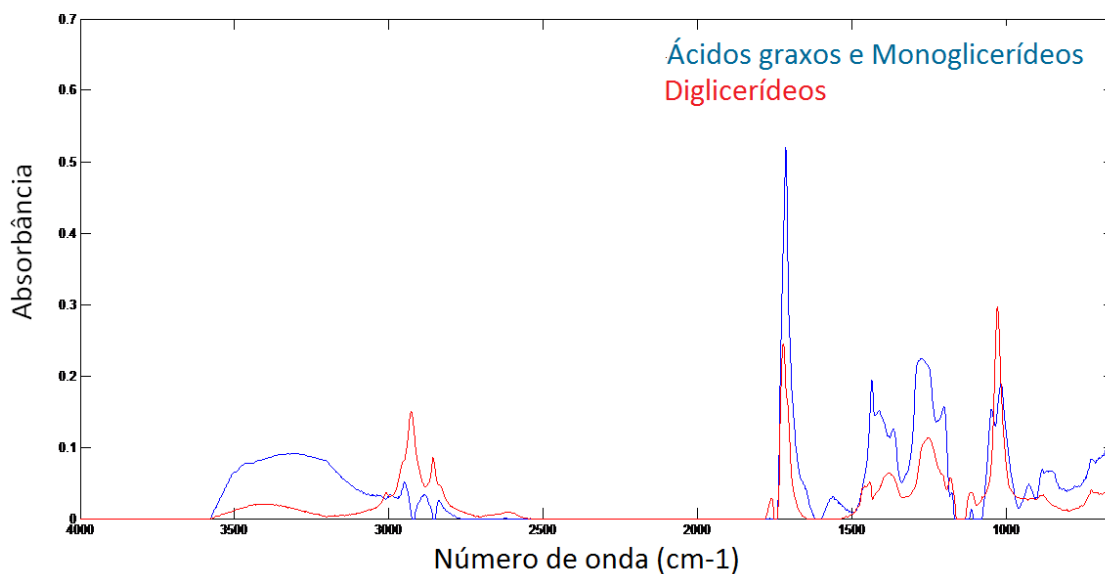


Figura 20: Espectros FTIR-ATR estimados por MCR-ALS para os componentes da reação 0107: ácidos graxos e monoglicerídeos (azul) e diglicerídeos (vermelho).

Fica evidente nos espectros a presença da banda de absorção forte e característica do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) de ésteres em torno de $1750-1730\text{ cm}^{-1}$. As vibrações de estiramento de CH_3 , CH_2 e CH aparecem, respectivamente, em $2980-2950$, $2950-2850$ e $3050-3000\text{ cm}^{-1}$ enquanto as vibrações angulares desses grupos aparecem em $1475-1350$, $1350-1150$ e 722 cm^{-1} [70].

A presença de bandas em torno de 3500 cm^{-1} nos espectros estimados pelo modelo (Figura 20) pode ser relacionada à frequência de estiramento dos grupos OH presentes nos ácidos graxos, nos monoglicerídeos e nos diglicerídeos. Os triglicerídeos e os ésteres metílicos não possuem grupo funcional OH em sua estrutura, e por isso, essa banda não aparece nos espectros FTIR-ATR de referência para o óleo e para o biodiesel (Figura 19).

4.4.2 Modelo utilizando a matriz aumentada

A matriz aumentada foi construída alinhando, no sentido das colunas, os dados espectrais das reações 0105, 0107, 0205, 0207 e 100, retirando três amostras da reação 0207 que foram previamente consideradas outliers. Desse modo, a matriz aumentada foi formada por 162 linhas (amostras) e 3351 colunas (números de onda).

O modelo construído com a matriz aumentada aplicando a restrição de correlação para os quatro componentes não atingiu o critério de convergência. Sendo assim, foi construído um segundo modelo considerando a restrição de correlação apenas para os ésteres metílicos e para os triglicerídeos (Tabela 6), que atingiu o critério de convergência após 21 iterações.

Esse modelo explicou 99,78% da variância dos dados com porcentagem de falta de ajuste igual a 4,64%. Os perfis apresentados na Figura 21 indicam que os resíduos calculados para todas as amostras foram distribuídos aleatoriamente em torno de zero, não apresentando comportamento enviesado.

Tabela 6: Parâmetros calculados para o modelo MCR-ALS construído a partir dos dados da matriz aumentada.

Parâmetros		
	Número de iterações	21
	% Variância explicada	99.7842
	% LOF	4.6451
	Desvio padrão dos resíduos	0.001577
EM	RMSEC	5.50
	R	0.9620
	RMSEP	4.06
TG	RMSEC	3.58
	R	0.9780
	RMSEP	2.81
	R _{real-calculado} EM	0.9905
	R _{real-calculado} TG	0.9862

Os parâmetros calculados indicaram que esse modelo tem uma boa capacidade de previsão, podendo ser utilizado para o acompanhamento da conversão dos triglicerídeos em ésteres metílicos. Os valores de RMSEP e RMSEC foram baixos e similares aos encontrados para os modelos construídos utilizando as reações individuais.

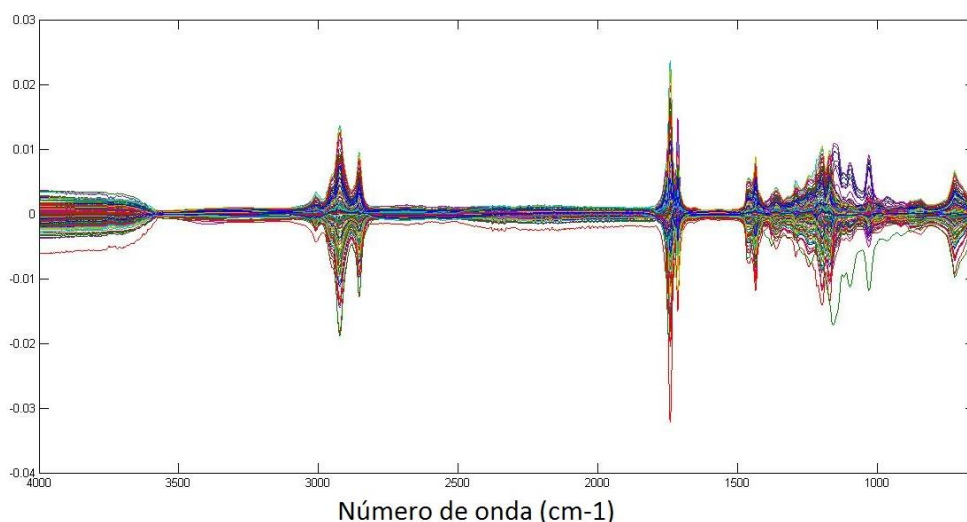


Figura 21: Perfis de resíduos calculados para a matriz aumentada.

Os valores de referência obtidos via HPLC-DAD apresentaram alta correlação com aqueles calculados por MCR-ALS tanto para os ésteres metílicos ($R= 0,962$) quanto para os triglicerídeos ($R= 0,978$) (Figura 22). Os altos valores obtidos para os coeficientes de correlação associados aos espectros ($R_{\text{real-calculado}}$) e aos perfis de concentração (R) indicam que o modelo recuperou espectros e valores de concentração para os componentes triglicerídeos e ésteres metílicos que foram muito semelhantes àqueles adotados como referência.

A principal vantagem deste modelo, construído com a matriz aumentada, é que através dos espectros FTIR-ATR da batelada 100 foi possível estimar os teores de triglicerídeos e de ésteres metílicos utilizando apenas o modelo de calibração. Não foi fornecido ao modelo nenhuma informação sobre a concentração das amostras da reação 100, e ainda assim, os valores estimados foram muito próximos aos valores de referência (Figura 22). A obtenção dos teores de triglicerídeos e ésteres metílicos

utilizando apenas o modelo representa uma economia de tempo, de reagentes e de redução de preparo de amostras em comparação à análise convencional feita por HPLC-DAD.

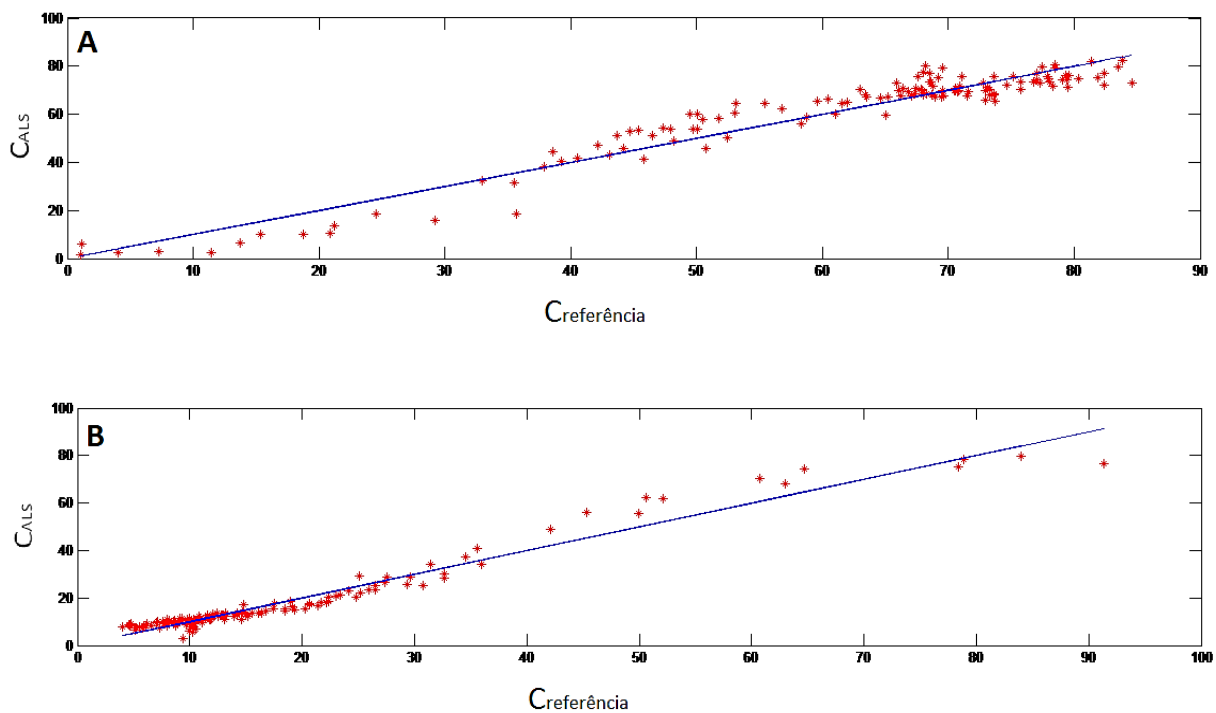


Figura 22: Valores de concentração de referência ($C_{\text{referência}}$) obtidos por HPLC-DAD e valores estimados pelo modelo (C_{ALS}) para (A) ésteres metílicos e (B) triglicerídeos.

Os erros relativos para cada amostra prevista por esse modelo foram calculados de acordo com a Equação 11, em que os valores previstos foram aqueles estimados por MCR-ALS e os valores “verdadeiros” aqueles obtidos por HPLC-DAD.

$$Er = \frac{(\text{valor previsto} - \text{valor verdadeiro})}{\text{valor verdadeiro}} * 100\% \quad \text{Equação 11}$$

A Figura 23 apresenta os erros relativos obtidos para os ésteres metílicos ao longo de toda a reação 100, que foi integralmente prevista pelo modelo. Para instantes de amostragem inferiores a 5 minutos, correspondentes ao início da reação de transesterificação, os erros relativos foram altos. No entanto, a partir de cinco minutos

de reação os erros se reduzem drasticamente, apresentando valores dentro da faixa de $\pm 10\%$ para todas as demais amostras.

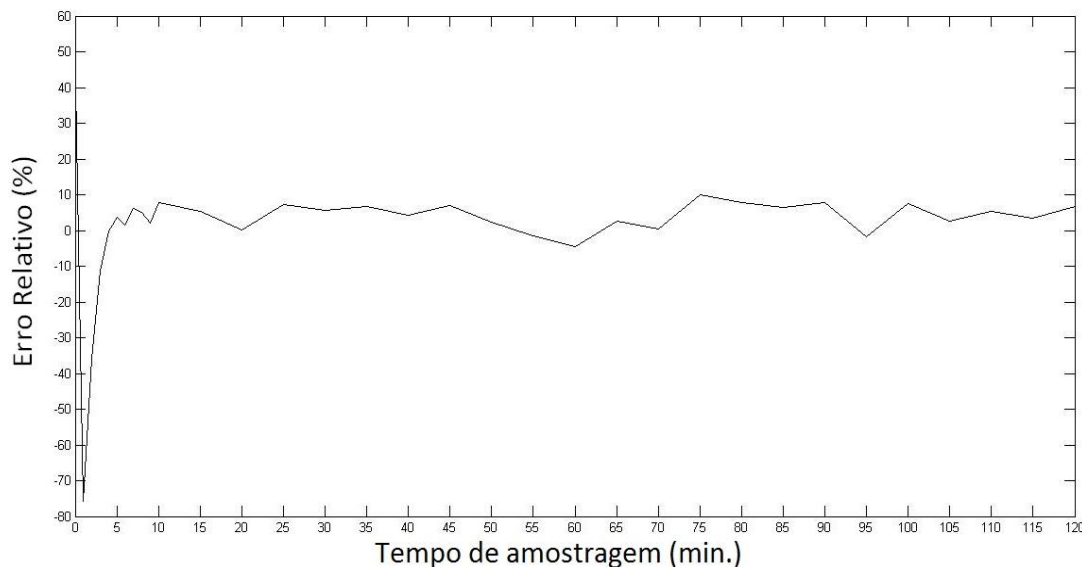


Figura 23: Erros relativos associados ao teor de ésteres metílicos presente em cada amostra da reação 100 prevista pelo modelo.

Na literatura vários outros trabalhos propuseram-se a monitorar a reação de transesterificação utilizando espectroscopia na região do infravermelho associada à análises dos componentes principais e à regressão por mínimos quadrados parciais [2,18,21,29,70].

Em 2017, Rafaella Sales e colaboradores utilizaram o MCR-ALS aplicando a restrição de correlação para estudo cinético da reação de transesterificação. Experimentos realizados em diversas condições experimentais foram monitorados por espectroscopia na região do infravermelho próximo, e a partir dos perfis de concentração recuperados pelo MCR-ALS, a energia de ativação para a reação foi calculada. A faixa de concentração para os ésteres metílicos considerada neste estudo foi de aproximadamente 40 a 90 %. Os componentes considerados para a resolução dos modelos foram os triglicerídeos, os ésteres metílicos, o glicerol e o metanol [53].

No entanto, o estudo apresentado nesta dissertação é, provavelmente, o único até o presente momento a utilizar o MCR-ALS para estudo da reação de transesterificação, considerando os intermediários da reação como componentes do sistema. Além disso, a faixa de valores de concentração considerada para os ésteres metílicos e para os triglicerídeos foi muito ampla, como pode ser visualizado na Figura 22. Isso possibilita que os modelos construídos, tanto para as matrizes individuais quanto para a matriz aumentada, possam ser aplicados durante o monitoramento de todo o processo de produção de biodiesel.

Visto que a metodologia apresenta baixos erros relativos, rapidez na obtenção do resultado e ainda custos inferiores às metodologias tradicionais, os modelos construídos utilizando MCR-ALS e a restrição de correlação mostram-se promissores para o desenvolvimento futuro de analisadores *at-line*, utilizando equipamento portáteis, e até mesmo analisadores *in-line* utilizando sondas de imersão.

5 CONCLUSÕES

Nesse trabalho foi desenvolvido um método alternativo para o monitoramento da reação de transesterificação, utilizando a técnica FTIR-ATR e o método de resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternados. Para isso, a estimativa inicial espectral foi feita através do método de detecção da variável pura e as restrições de não negatividade e de correlação foram adotadas. Os modelos de calibração multivariada foram construídos para cada reação de um planejamento fatorial 2^2 com ponto central e para uma matriz aumentada no sentido das colunas, formada pelos dados de todas as reações alinhados verticalmente.

Os valores de RMSEC e RMSEP calculados confirmaram a capacidade de determinar os teores de monoglicerídeos e ácidos graxos, ésteres metílicos, diglicerídeos e triglicerídeos de forma satisfatória. Os perfis espectrais recuperados para os ésteres metílicos e para os triglicerídeos apresentaram alta correlação com os espectros de referência ($>0,985$). Os espectros calculados para os ácidos graxos, monoglicerídeos e diglicerídeos apresentaram bandas de absorção características de grupos funcionais presentes nessas moléculas.

O modelo construído com a matriz aumentada apresentou uma boa capacidade de previsão para os ésteres metílicos e triglicerídeos. A principal vantagem deste modelo é que foram necessários apenas os espectros FTIR-ATR de amostras de uma reação, para que os teores de triglicerídeos e de ésteres metílicos pudessem ser estimados pelo modelo. Isso representa uma economia de tempo, de reagentes e redução de preparo de amostras em comparação às análises convencionais, realizadas por cromatografia ou ressonância magnética nuclear.

5.1 Perspectivas

Para que os modelos fossem construídos o monitoramento do processo foi realizado de forma *off-line*, coletando as amostras ao longo de uma reação e só posteriormente analisando-as via HPLC-DAD e FTIR-ATR. No entanto, o uso da espectroscopia na região do infravermelho, através de equipamentos portáteis ou sondas de imersão, possibilita um controle de processos de forma mais imediata.

Desse modo, o presente estudo pode servir de suporte para o desenvolvimento de modelos que permitam o monitoramento do processo de transesterificação em tempo real. O monitoramento em tempo real traz enormes vantagens dentro de um contexto industrial, pois permite que interferências em parâmetros do processo (temperatura, agitação, concentração) sejam realizadas de forma quase instantânea, garantindo a especificação do produto final.

REFERÊNCIAS

- [1] W. Chew, P. Sharratt, Trends in process analytical technology, *Anal. Methods*. 2 (2010) 1412–1438.
- [2] S.M. de Lima, B.F.A. Silva, D.V. Pontes, C.F. Pereira, L. Stragevitch, M.F. Pimentel, In-line monitoring of the transesterification reactions for biodiesel production using NIR spectroscopy, *Fuel*. 115 (2014) 46–53.
- [3] A.L. Pomerantsev, Y.O. Rodionova, Process analytical technology: a critical view of the chemometricians, *J. Chemom.* 26 (2012) 299–310.
- [4] Z. Wu, Y. Peng, W. Chen, B. Xu, Q. Ma, X. Shi, Y. Qiao, NIR spectroscopy as a process analytical technology (PAT) tool for monitoring and understanding of a hydrolysis process, *Bioresour. Technol.* 137 (2013) 394–399.
- [5] S. Piqueras, L. Duponchel, R. Tauler, A. de Juan, Monitoring polymorphic transformations by using in situ Raman hyperspectral imaging and image multiset analysis., *Anal. Chim. Acta.* 819 (2014) 15–25.
- [6] M.H.M. Killner, Y. Garro Linck, E. Danieli, J.J.R. Rohwedder, B. Blümich, Compact NMR spectroscopy for real-time monitoring of a biodiesel production, *Fuel*. 139 (2015) 240–247.
- [7] M. Garrido, F.X. Rius, M.S. Larrechi, Multivariate curve resolution-alternating least squares (MCR-ALS) applied to spectroscopic data from monitoring chemical reactions processes, *Anal. Bioanal. Chem.* 390 (2008) 2059–2066.
- [8] P.H. Março, P. Valderrama, G.L. Alexandrino, R.J. Poppi, R. Tauler, Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: descrição, funcionamento e aplicações, *Quim. Nova.* 37 (2014) 1525–1532.
- [9] C. Ruckebusch, L. Blanchet, Multivariate curve resolution: a review of advanced and tailored applications and challenges, *Anal Chim Acta.* 765 (2013) 28–36.

- [10] R.C.D. Muniz Filho, Aplicação de métodos de resolução de curvas multivariada a dados experimentais gerados por diferentes técnicas analíticas: uma visão exploratória da biossíntese da violaceína., Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, 2011.
- [11] M. Blanco, M. Castillo, A. Peinado, R. Beneyto, Application of multivariate curve resolution to chemical process control of an esterification reaction monitored by near-infrared spectroscopy., *Appl. Spectrosc.* 60 (2006) 641–647.
- [12] R.R. de Oliveira, K.M.G. de Lima, R. Tauler, A. de Juan, 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.* 125 (2014) 233–41.
- [13] N.G.S. Mogollon, F.A.D.L. Ribeiro, M.M. Lopez, L.W. Hantao, R.J. Poppi, F. Augusto, Quantitative analysis of biodiesel in blends of biodiesel and conventional diesel by comprehensive two-dimensional gas chromatography and multivariate curve resolution, *Anal. Chim. Acta.* 796 (2013) 130–136.
- [14] Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Usos de biodiesel no Brasil e no mundo, Brasília, 2015. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/biodiesel pt web2.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/biodiesel_pt_web2.pdf).
- [15] I. Lôbo, S. Ferreira, R. Cruz, Biodiesel: quality parameters and analytical methods, *Quim. Nova.* 32 (2009) 1596–1608.
- [16] F. Jin, K. Kawasaki, H. Kishida, K. Tohji, T. Moriya, H. Enomoto, NMR spectroscopic study on methanolysis reaction of vegetable oil, *Fuel.* 86 (2007) 1201–1207.
- [17] L.C. Meher, D. Vidya Sagar, S.N. Naik, Technical aspects of biodiesel production by transesterification - A review, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 10 (2006) 248–268.
- [18] S. Pinzi, F. Alonso, J. García Olmo, M.P. Dorado, Near infrared reflectance

- spectroscopy and multivariate analysis to monitor reaction products during biodiesel production, *Fuel*. 92 (2012) 354–359.
- [19] M.G. Trevisan, R.J. Poppi, *Química Analítica de Processos*, *Quim. Nova*. 29 (2006) 1065–1071.
- [20] Food and Drug Administration, *Guidance for industry PAT - A framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing and quality assurance.*, EUA, (2004).
- [21] M. Fontalvo-Gómez, J.A. Colucci, N. Velez, R.J. Romanach, In-line near-infrared (NIR) and Raman spectroscopy coupled with principal component analysis (PCA) for in situ evaluation of the transesterification reaction, *Appl. Spectrosc.* 67 (2013) 1142–1149.
- [22] A.F. Lee, J.A. Bennett, J.C. Manayil, K. Wilson, A.F. Lee, Heterogeneous catalysis for sustainable biodiesel production via esterification and transesterification, *Chem. Soc. Rev.* 43 (2014) 7887–7916.
- [23] A. Murugesan, C. Umarani, T.R. Chinnusamy, M. Krishnan, R. Subramanian, N. Neduzchezain, Production and analysis of bio-diesel from non-edible oils — A review, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 13 (2009) 825–834.
- [24] X. Liu, H. He, Y. Wang, S. Zhu, X. Piao, Transesterification of soybean oil to biodiesel using CaO as a solid base catalyst, *Fuel*. 87 (2008) 216–221.
- [25] Lei brasileira 13.263 que dispõe sobre os percentuais de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional, (2016). Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2016/lei/L13263.htm
- [26] European Committee for Standardization, EN-14103: Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents, (2003).
- [27] M. Holcapek Jandera, P., Fischer, J., Prokes, B., Analytical Monitoring of the Production of Biodiesel by High Performance Liquid Chromatography with

- Various Detection Methods , J. Chromatogr. A. 858 (1999) 13–31.
- [28] F.P. Sousa, M.A. Luciano, V.M. Pasa, Thermogravimetry and Viscometry for Assessing the Ester Content (FAME and FAEE), Fuel Process. Technol. 109 (2013) 133–140.
- [29] W.B. Zhang, Review on analysis of biodiesel with infrared spectroscopy, Renew. Sustain. Energy Rev. 16 (2012) 6048–6058.
- [30] R.M. Silverstein, G.C. Bassler, T.C. Morrill, R.B. Alencastro, Espectrometria no infravermelho, em: Identificação Espectrométrica Compost. Orgânicos, 5^a ed., Guanabara Koogan, p. 69.
- [31] B.G. Botelho, Desenvolvimento e validação de métodos para análise direta de alimentos usando ferramentas quimiométricas, espectroscopia no infravermelho e imagens digitais, Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.
- [32] M.G. Trevisan, Monitoramento de reações químicas empregando espectroscopia no infravermelho, Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, 2009.
- [33] D.B. Hibbert, P. Minkinen, N.M. Faber, B.M. Wise, IUPAC project: A glossary of concepts and terms in chemometrics, Anal. Chim. Acta. 642 (2009) 3–5.
- [34] M.M.C. Ferreira, Quimiometria: Conceitos, métodos e aplicações, Editora da Unicamp, Campinas, 2015.
- [35] G.M. Escandar, H.C. Goicoechea, A. Muñoz de la Peña, A.C. Olivieri, Second- and higher-order data generation and calibration: A tutorial, Anal. Chim. Acta. 806 (2014) 8–26.
- [36] P. Valderrama, J.W.B. Braga, Estado da Arte de Figuras de Mérito de Calibração Multivariada, Quim. Nova. 32 (2009) 1278–1287.
- [37] G. Ahmadi, R. Tauler, H. Abdollahi, Multivariate calibration of first-order data with

- the correlation constrained MCR-ALS method, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 142 (2015) 143–150.
- [38] G. Zhang, Y. Ni, J. Churchill, S. Kokot, Authentication of vegetable oils on the basis of their physico-chemical properties with the aid of chemometrics, *Talanta*. 70 (2006) 293–300.
- [39] W.H. Lawton, E.A. Sylvestre, Self modeling curve resolution, *Technometrics*. 13 (1971) 617–633.
- [40] R. Tauler, B. Kowalski, S. Fleming, Multivariate curve resolution applied to spectral data from multiple runs of an industrial process, *Anal. Chem.* 65 (1993) 2040–2047.
- [41] J. Jaumot, A. de Juan, R. Tauler, MCR-ALS GUI 2.0: New features and applications, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 140 (2015) 1–12.
- [42] A. de Juan, J. Jaumot, R. Tauler, Multivariate Curve Resolution (MCR). Solving the mixture analysis problem, *Anal. Methods*. 6 (2014) 4964–4976.
- [43] M. Maeder, Evolving factor analysis for the resolution of overlapping chromatographic peaks, *Anal. Chem.* 59 (1987) 527–530.
- [44] W. Windig, D.A. Stephenson, Self-Modelling Mixture Analysis of Second-Derivative Near-Infrared Spectral Data Using the Simplisma Approach, *Anal. Chem.* 64 (1992) 2735–2742.
- [45] F.C. Sanchez, J. Toft, B. van den Bogaert, D.L. Massart, Orthogonal projection approach applied to peak purity assessment, *Anal. Chem.* 68 (1996) 79–85.
- [46] K.J. Schostack, E.R. Malinowski, Preferred set selection by iterative key set factor-analysis, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 6 (1989) 21–29.
- [47] J. Jaumot, R. Tauler, MCR-BANDS: A user friendly MATLAB program for the evaluation of rotation ambiguities in Multivariate Curve Resolution, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 103 (2010) 96–107.

- [48] A. Golshan, M. Maeder, H. Abdollahi, Determination and visualization of rotational ambiguity in four-component systems, *Anal. Chim. Acta.* 796 (2013) 20–26.
- [49] A. Golshan, H. Abdollahi, M. Maeder, Resolution of rotational ambiguity for three-component systems, *Anal. Chem.* 83 (2011) 836–841.
- [50] F. Marini, *Multivariate Curve Resolution Methods for Food Chemistry*, em: *Chemometrics in Food Chemistry*, Roma, Itália, 2013: p. 235–263.
- [51] J. Jaumot, R. Gargallo, A. de Juan, R. Tauler, A graphical user-friendly interface for MCR-ALS: A new tool for multivariate curve resolution in MATLAB, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 76 (2005) 101–110.
- [52] Web of Science - Relatório de citações. Disponível em: http://apps-webofknowledge.ez27.periodicos.capes.gov.br/CitationReport.do?product=WOS&search_mode=CitationReport&SID=4CN2L1Mol4USbuyALRx&page=1&cr_ppid=1&viewType=summary&colName=WOS
- [53] R.F. Sales, S.M. de Lima, L. Stragevitch, M.F. Pimentel, A. de Juan, NIR Monitoring and Modelling of Soybean Oil Methanolysis with Multivariate Curve Resolution-Alternating Least Squares with Correlation Constraint, *J.Braz.Chem.Soc.* 28 (2017) 695–706.
- [54] J. Jaumot, B. Igne, C.A. Anderson, J.K. Drennen, A. de Juan, Blending process modeling and control by multivariate curve resolution, *Talanta.* 117 (2013) 492–504.
- [55] A.C. de O. Neves, R. Tauler, K.M.G. de Lima, Area correlation constraint for the MCR-ALS quantification of cholesterol using EEM fluorescence data: A new approach, *Anal. Chim. Acta.* 937 (2016) 21–28.
- [56] M.C. Antunes, J.E.J. Simão, A.C. Duarte, R. Tauler, Multivariate curve resolution of overlapping voltametric peaks: quantitative analysis of binary and quaternary metal mixtures, *Analyst.* 127 (2002) 809–817.

- [57] H.C. Goicoechea, A.C. Olivieri, R. Tauler, Application of the correlation constrained multivariate curve resolution alternating least-squares method for analyte quantitation in the presence of unexpected interferences using first-order instrumental data, *Analyst*. 135 (2010) 636–642.
- [58] American Society for Testing and Materials, ASTM D664: Standard Test Method for Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration., (2011).
- [59] American Society for Testing and Materials, ASTM D4052: Standard Test Method for Density, Relative Density, and API Gravity of Liquids by Digital Density Meter., (2016).
- [60] American Society for Testing and Materials, ASTM D455: Standard Test Method for Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and Calculation of Dynamic Viscosity)., (2017).
- [61] American Society for Testing and Materials, ASTM D6304: Standard Test Method for Determination of Water in Petroleum Products, Lubricating Oils, and Additives by Coulometric Karl Fisher Titration., (2016).
- [62] European Committee for Standardization, EN 14112: Fat and oil derivatives. Fatty acid methyl esters (FAME).Determination of oxidation stability., (2003).
- [63] IMESP, Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos., 3ª ed., São Paulo, 1985.
- [64] Metrohm, Manual de uso do equipamento 8.873.8001EN, – Ion analysis. 873 Biodiesel Rancimat.
- [65] Jhon Jairo Melchor Moncada, Pirólise dos sabões derivados dos óleos da polpa da macaúba e de crambe para a obtenção de bio-óleo, Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.
- [66] Å. Rinnan, F. van den Berg, S.B. Engelsen, Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra, *Trends Anal. Chem.* 28 (2009)

1201–1222.

- [67] Y. Li, F. Qiu, D. Yang, X. Li, P. Sun, Preparation, characterization and application of heterogeneous solid base catalyst for biodiesel production from soybean oil, *Biomass Bioenergy*. 5 (2011) 1–9.
- [68] D.Y.C. Leung, X. Wu, M.K.H. Leung, A review on biodiesel production using catalyzed transesterification, *Appl. Energy*. 87 (2010) 1083–1095.
- [69] H. Sun, J. Duan, P. Chen, H. Lou, X. Zheng, Room temperature transesterification of soybean oil to biodiesel catalyzed by rod-like $\text{Ca xSiO}_x + 2$ solid base, *Catal. Commun.* 12 (2011) 1005–1008.
- [70] M. Tariq, S. Ali, F. Ahmad, M. Ahmad, M. Zafar, N. Khalid, M.A. Khan, Identification, FT-IR, NMR (^1H and ^{13}C) and GC/MS studies of fatty acid methyl esters in biodiesel from rocket seed oil, *Fuel Process. Technol.* 92 (2011) 336–341.

ANEXO A

Tabela 7: Quantidades de cada um dos reagentes utilizados para cada reação.

Código da reação	Lote de óleo de soja	Razão molar álcool: óleo	Massa de óleo de soja (g)	Volume de metanol PA (mL)	Massa de hidróxido de sódio PA (g)
0207	020	7:1	150,04	48,0	1,5600
0107	010	7:1	150,04	48,0	1,5674
0205	020	5:1	150,09	35,0	1,5144
0105	010	5:1	150,31	35,0	1,5115
100	100	6:1	150,00	41,0	1,5119

ANEXO B

Tabela 8: Informações sobre as amostras de óleo de soja adquiridas no mercado local e utilizadas neste trabalho.

Lote de óleo de soja	Número de amostras	Data de fabricação	Data de validade
100	2	26/10/2015	23/04/2016
010	2	11/01/2016	09/07/2016
020	2	19/02/2016	17/08/2016
110	2	09/11/2015	07/05/2016