



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE
MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA
QUANTIFICAÇÃO DE BIODIESEL EM
MISTURAS COM ÓLEO DE SOJA POR MEIO DE
ESPECTROFOTOMETRIA DE INFRAVERMELHO**

GRAZIELLA ANDRESSA ESTEVES DA COSTA

**BELO HORIZONTE – MG
2013**



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE
MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA
QUANTIFICAÇÃO DE BIODIESEL EM MISTURAS COM
ÓLEO DE SOJA POR MEIO DE ESPECTROFOTOMETRIA
DE INFRAVERMELHO**

GRAZIELLA ANDRESSA ESTEVES DA COSTA

MONOGRAFIA APRESENTADA AO CURSO DE
QUÍMICA TECNOLÓGICA DO CEFET-MG COMO
PARTE DAS EXIGÊNCIAS DA DISCIPLINA TRABALHO
DE CONCLUSÃO DE CURSO II (TCC II).

ORIENTADOR: PROF. DR. CLEVERSON FERNANDO
GARCIA

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cleverson Fernando Garcia (orientador)

Prof. Dr^a Maria Aparecida Vieira Teixeira

Prof. Dr. Claudinei Resende Calado

Monografia aprovada em 08 de abril de 2013.

**Belo Horizonte – MG
2013**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pois todos os recursos me foram dados para alcançar meus objetivos, com disciplina e responsabilidade.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Cleverson Garcia, pela paciência e boa vontade ao longo dessa trajetória. A ele devo este trabalho, para o qual não mediu esforços a fim de que se concretizasse. Obrigada por mais esse conhecimento construído.

Agradeço aos professores Claudinei Calado e Maria Aparecida Vieira Teixeira, por aceitarem compor a banca e integrar mais conhecimento e senso crítico ao trabalho desenvolvido.

Agradeço aos meus queridos pais e familiares pelo apoio incondicional, aos amigos pelo companheirismo e ao Vagner, pela dedicação.

LISTA DE ABREVIATURAS

Abiove _ Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais
ANP _ Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
ASTM _ American Society for Testing and Materials
B100 _ Biodiesel puro
CCD _ Cromatografia em Camada Delgada
CEM _ Cromatografia por exclusão molecular
CG _ Cromatografia Gasosa
CLAE _ Cromatografia de Alta Eficiência
cm. _ Centímetro
DEM _ Detector por Espectrometria de Massas
DEQUI _ Departamento de Química do CEFET
DIC _ Detector de Ionização de Chama
DUV _ Detector de Ultravioleta
EES _ Ésteres Etílicos de Soja
EN _ European Standard
FAEMG _ Federação da Agricultura e Pecuária do Estado de Minas Gerais
FT-IR _ Fourier Transform Infrared spectroscopy
ISO _ International Organization for Standardization
IV _ Espectroscopia de Infravermelho
IVD _ Espectroscopia de Infravermelho Distante
IVM _ Espectroscopia de Infravermelho Médio
IVP _ Espectroscopia de Infravermelho Próximo
mm _ Milímetro
RANP _ Resolução da ANP
RMN-¹H _ Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio 1
RMN-¹³C _ Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RTA – Reflectância Total Atenuada
THF _ Tetrahidrofurano

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura geral de um mono-álquil éster de ácidos graxos.....	03
Figura 2 – Estrutura geral de um triacilglicerol.....	03
Figura 3 - Processo de transesterificação de óleos vegetais para produção de biodiesel.....	04
Figura 4 – Processo de hidrólise dos álquil ésteres	04
Figura 5 – Representação das vibrações por (a) estiramento e por (b) deformação	12
Figura 6 – Representação dos modos de estiramento das ligações C-O em um éster	13
Figura 7 – Espectros de infravermelho das seis repetições da amostra de biodiesel em óleo de soja (50% m.m ⁻¹)	20
Figura 8 – Espectro de infravermelho do biodiesel puro (B100).....	20
Figura 9 – Espectro de infravermelho de óleo de soja comercial puro	21
Figura 10 – Comparação entre os espectros de óleo de soja (vermelho) e misturas de biodiesel em óleo de soja. Intervalo: 630 a 795 cm ⁻¹	21
Figura 11 – Comparação entre os espectros de óleo de soja (vermelho) e misturas de biodiesel em óleo de soja. Intervalo: 950 a 1550 cm ⁻¹	22
Figura 12 – Comparação entre os espectros de óleo de soja (vermelho) e misturas de biodiesel em óleo de soja. Intervalo: 1690 a 1785 cm ⁻¹	22
Figura 13 – Curva de calibração das amostras de biodiesel em óleo de soja	23
Figura 14 – Relação entre os valores dos resíduos padronizados e a ordem das observações	25

Figura 15 - Histograma dos Resíduos Padronizados	26
Figura 16 - Teste de Normalidade Anderson-Darling.....	26
Figura 17 - Gráfico de Resíduos versus Valores Ajustados	28
Figura 18 – Relação entre os resíduos padronizados e a ordem de observação	30
Figura 19 - Histograma dos Resíduos Padronizados	30
Figura 20 - Teste de Normalidade Anderson-Darling para o modelo de regressão quadrática	31
Figura 21 – Relação entre os resíduos padronizados e os valores ajustados para o modelo de regressão quadrática	32
Figura 22 – Intervalos de confiança e de predição do modelo de regressão quadrática	32
Figura 23 – Espectros de IVM de uma amostra de biodiesel sintetizada	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Regiões espectrais do IV	10
Tabela 2 – Distribuição média de ácidos graxos em Óleo de Soja	14
Tabela 3 - Análise de Variância do Modelo de Regressão Linear	24
Tabela 4 - Análise de Variância do Modelo de Regressão Quadrática.....	28
Tabela 5 - Análise de Variância Sequencial.....	29
Tabela 6 – Teores de biodiesel das amostras geradas no CEFET-MG.....	34

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE BIODIESEL EM MISTURAS COM ÓLEO DE SOJA POR MEIO DE ESPECTROFOTOMETRIA DE INFRAVERMELHO

COSTA, G. A. E; GARCIA, C. F.

O biodiesel é uma mistura de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos derivados de óleos vegetais ou gordura animal e comumente produzido através do processo de transesterificação. É atualmente a principal alternativa energética ao diesel de petróleo, por ser um biocombustível renovável. Os padrões de qualidade do biodiesel foram estabelecidos segundo as normas americana e europeia ASTM D6751 e a EN 14214, respectivamente. No Brasil, as especificações do biodiesel seguem a RANP 07/08 da ANP. Vários métodos cromatográficos tem sido propostos para controle de qualidade do biodiesel, porém, apresentam limitações quanto ao monitoramento dessas reações. Nesse contexto, métodos espectroscópicos tem sido estudados para estabelecer modelos de calibração, devido às suas vantagens como serem não destrutivos, pouco laboriosos e aplicáveis a determinações *in situ*. Assim, o presente trabalho relata o uso da espectroscopia de IVM para determinação do teor de biodiesel em misturas com óleo de soja para monitoramento da reação de transesterificação. Foram realizados testes para determinação da região espectral onde houvesse diferenças significativas entre os espectros de biodiesel puro (B100) e o de óleo de soja, sendo selecionada a frequência de 1100 cm^{-1} . Posteriormente foram analisadas hexaplicatas das misturas de biodiesel em óleo de soja nas concentrações de 50%, 70%, 90% e 100% m m⁻¹. Foi observado um padrão de comportamento aparentemente linear que foi testado em modelos estatísticos para comprovação. Apesar do ajuste linear dos dados apresentar R² igual a 0,993, o modelo foi rejeitado, pois os resíduos não seguiram uma distribuição normal e nem apresentaram aleatoriedade, diferente do modelo quadrático, que também apresentou alta qualidade (R² = 0,999), além da aleatoriedade e distribuição normal. Ao final do trabalho, empregou-se o método para quantificar biodiesel em amostras reais, porém, devido à contaminação com glicerol, os teores foram subestimados. Assim, caso o glicerol seja um contaminante constante em biodiesel sintético, o método deve ser reelaborado. Porém, supondo um processo de purificação falho na obtenção das amostras, o método se mostra promissor, apto a ser validado posteriormente.

Palavras-chave: biodiesel, infravermelho, ésteres metílicos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. Biodiesel	2
2.2. Métodos de quantificação de ésteres graxos	5
2.2.1. Técnicas cromatográficas	5
2.2.2. Espectroscopia de Infravermelho - IV para determinação de ésteres de ácidos graxos	9
2.3. Espectroscopia no infravermelho	10
2.3.1. Princípios da Técnica de IV	10
2.3.1.1. Transições rotacionais-vibracionais	11
2.3.1.2. Tipos de vibrações moleculares	11
2.3.2. Bandas características de ésteres metílicos no IVM	12
2.4. Avaliação Estatística	14
2.4.1. Regressão Linear	14
2.4.2. Coeficiente de Determinação (R^2)	15
2.4.3. Análise dos Resíduos.....	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	17
3.1. Materiais	17
3.2. Equipamentos	17
3.3. Parte Experimental	17
3.3.1. Espectrofotometria de IVM	17
3.3.2. Tratamento estatístico dos dados	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1. Linha de Base	18
4.2. Seleção da frequência de quantificação	19
4.3. Curva de calibração	22
4.3.1. Ajuste da curva de calibração analítica por um modelo de regressão linear simples.....	23
4.3.2. Análise dos Resíduos do Modelo de Regressão Linear	24
4.3.3. Diagnóstico de Homocedasticidade	27

4.3.4. Ajuste da curva de calibração analítica por um Modelo de Regressão Quadrática	28
4.3.5. Análise dos Resíduos do Modelo de Regressão Quadrática	29
4.3.6. Quantificação de amostras de biodiesel sintetizadas no CEFET-MG.....	33
5. CONCLUSÃO	36
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

O biodiesel é atualmente a principal alternativa ao óleo diesel, sendo um combustível renovável. Devido a sua importância econômica e ambiental, em 2010 o Governo brasileiro determinou que o diesel contivesse 5% em volume de biodiesel (B5).

O biodiesel é uma mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos derivados de óleos vegetais ou gordura animal, usualmente produzido através do processo de transesterificação, no qual óleos e gorduras reagem com um álcool de cadeia pequena na presença de um catalisador. A norma europeia EN 14214 estabelece os parâmetros de qualidade e métodos analíticos para certificação do biodiesel. No Brasil, a Lei 11097/05 determinou que a Agência Nacional do Petróleo (ANP) estabelecesse as normas do biodiesel puro (B100) através da Resolução nº 07 de 2008 (RANP 07/08).

Desde 1984 vários métodos cromatográficos e espectroscópicos foram propostos para análise de biodiesel, sendo a cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) as principais técnicas utilizadas para esses fins. Embora sejam técnicas bastante estabelecidas, capazes de fornecer resultados com alta precisão e exatidão satisfatória, não podem ser facilmente aplicadas em determinações *in situ* para monitoramento da reação de transesterificação. Métodos espectroscópicos vibracionais, muitas vezes aliados à análise multivariada, tem sido estudados com o objetivo de estabelecer modelos de calibração. Estes apresentam vantagens de serem rápidos, pouco laboriosos, não serem destrutivos, não necessitarem de reagentes e tratamento da amostra e de possuírem aceitável precisão e exatidão.

Assim, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver uma metodologia de quantificação de biodiesel em mistura com óleo de soja (matriz clássica de geração do biodiesel) empregando espectroscopia de infravermelho médio (IV-Médio) a fim de monitorar em tempo hábil a eficiência e rendimento dessa reação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Biodiesel

Grande parte da energia consumida no mundo é proveniente de combustíveis fósseis_ petróleo, carvão e gás natural. Essas fontes são limitadas e futuramente se esgotarão. Assim, é fundamental a busca por fontes alternativas de energia. Uma dessas fontes são os óleos vegetais, cotados como substitutos do óleo diesel em motores de compressão e que têm sido testados desde o fim do século XIX (FERRARI et al., 2005).

No Brasil, os óleos vegetais com maior disponibilidade são os de soja, milho, amendoim, algodão, babaçu e palma. A soja contribui com cerca de 90% da produção total de óleo no país segundo dados da Abiove (Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais). A produção de óleo de soja no ano de 2010 foi de 6,6 milhões de toneladas, contra 6 milhões em 2009 (FAEMG, 2010). Em 2011 o consumo interno de óleo de soja, que vinha aquecido devido ao uso na produção de biodiesel, teve queda. De fevereiro a julho, o consumo foi de 2,1 milhões de toneladas, 22% menos do que em igual período anterior. Apesar da queda, a Abiove prevê consumo total de 5,45 milhões de toneladas (FAEMG, 2011).

O uso dos óleos vegetais nos motores tem aplicação limitada devido a propriedades como alta viscosidade, baixa volatilidade e caráter poliinsaturado, o que gera alguns problemas, como por exemplo, combustão incompleta. Para reverter a situação, diferentes alternativas têm sido consideradas, tais como diluição, microemulsão com metanol ou etanol, craqueamento catalítico e reação de transesterificação com etanol ou metanol. Dentre essas, a transesterificação tem se mostrado como a mais promissora, uma vez que o processo é relativamente simples e o produto possui propriedades semelhantes ao óleo diesel (FERRARI, 2005).

Estudos sobre o potencial de óleos vegetais como combustíveis têm sido feitos e inclui pesquisas sobre o óleo de palma, óleo de soja, óleo de coco, óleo de canola e óleo de tungue. As gorduras animais, embora frequentemente mencionadas, não foram tão exploradas como os óleos vegetais, já que a maioria dos métodos aplicáveis a estes não são aplicáveis às gorduras animais em decorrência de diferenças em suas propriedades

químicas (MA & HANNA, 1999). Entretanto, aproximadamente 20% do biodiesel produzido no Brasil são derivados de gordura animal (SILVA, 2010).

O biodiesel é um combustível alternativo, definido como um mono-álquil éster de ácidos graxos (Figura 1), derivado de fontes renováveis como óleos vegetais e gorduras animais (FERRARI *et al.*, 2005). É biodegradável e não tóxico, devido à baixa emissão de poluentes para o meio ambiente (MA & HANNA, 1999). Além desses fatores, o biodiesel possui outras vantagens sobre os combustíveis derivados do petróleo, como virtualmente livre de enxofre e de compostos aromáticos, alto número de cetano, teor médio de oxigênio, maior ponto de fulgor, menor emissão de partículas, HC, CO e CO₂.

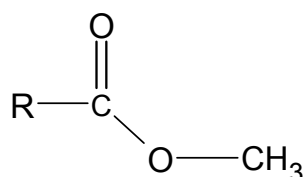


Figura 1 – Estrutura geral de um mono-álquil éster de ácidos graxos
Fonte: Adaptado de GERPEN (2005).

Os triacilgliceróis (Figura 2) são os componentes dos óleos vegetais e gorduras animais empregados na síntese do biodiesel. Possuem cadeias longas de ácidos graxos não-ramificadas, semelhantes às cadeias dos n-alcenos presentes no diesel de petróleo.

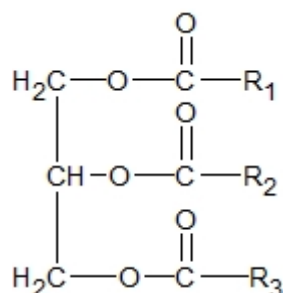


Figura 2 – Estrutura geral de um triacilglicerol
Fonte: Adaptado de GERPEN (2005).

O biodiesel é obtido através de um processo de transesterificação (Figura 3, p.4), no qual ocorre a transformação de triglicerídeos em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos.

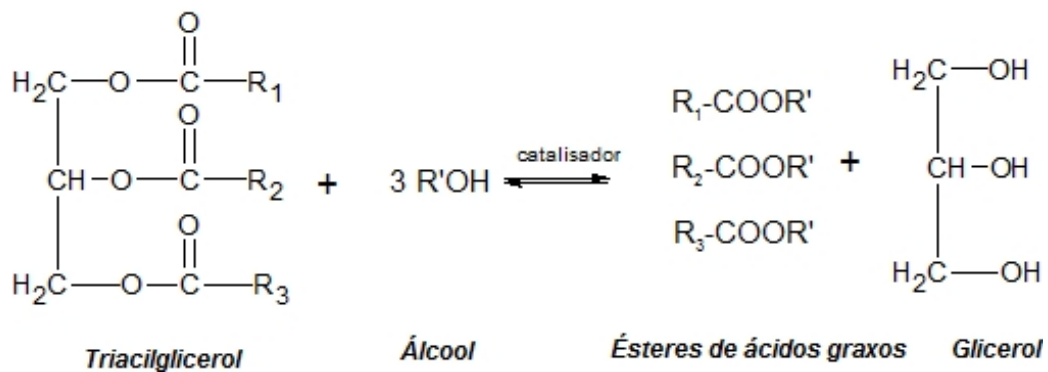


Figura 3 - Processo de transesterificação de óleos vegetais para produção de biodiesel.

Fonte: adaptado de FUKUDA *et al.* (2001)

O processo de transesterificação pode ser realizado por meio de um catalisador ácido ou básico. Contudo, em catálise homogênea o catalisador alcalino (hidróxido de sódio ou de potássio ou os correspondentes alcóxidos) é muito mais eficiente que o catalisador ácido (KNOTHE *et al.*, 2005).

Além do tipo de catalisador, outros parâmetros reacionais já foram estudados, tais como a proporção molar de álcool para óleo vegetal, temperatura, tempo de reação, grau de refinamento do óleo vegetal e efeitos da presença de água e de ácidos graxos livres, como citado por KNOTHE *et al.* (2005) *apud* FREEDMAN *et al.* (1984).

O Processo de transesterificação atinge o máximo de rendimento quando o álcool é livre de água e o conteúdo de ácidos graxos livres no óleo é menor que 0,5%. A ausência de umidade no processo evita que os ésteres formados sejam hidrolisados produzindo ácidos graxos livres (Figura 4).



Figura 4 – Processo de hidrólise dos alquil ésteres.

Fonte: adaptado de GERPEN (2005)

A conversão de óleos e gorduras em ésteres metílicos gera como coproduto o glicerol (glicerina), que pode ser separado da mistura reacional devido à insolubilidade no meio. A alta densidade do glicerol permite que esse seja removido por centrifugação ou decantação (GERPEN, 2005). O aproveitamento do glicerol é fundamental para tornar o processo ainda mais atraente no mercado de combustíveis (FERRARI, 2005). A previsão para produção global do glicerol em 2012 foi de 1,2 milhões de toneladas. No Brasil, a produção estimada é de 260 mil toneladas por ano, com tendência

de aumento devido à implantação da mistura de biodiesel com diesel de petróleo, na proporção de 5:95, respectivamente, (B5). Em contrapartida, o consumo de glicerol no país é de cerca de 30 mil toneladas por ano, principalmente em cosméticos, indústria alimentícia e cuidados pessoais (SILVA, 2010). Logo, é essencial encontrar novas aplicações para o excesso de glicerol produzido a partir do biodiesel.

O biodiesel produzido hoje no mundo deriva, em sua grande maioria, do óleo de soja, utilizando metanol e catalisador alcalino. A escolha do óleo vegetal de maior interesse depende de fatores geográficos, climáticos e econômicos (FERRARI, 2005).

O metanol e o etanol são os alcoóis mais utilizados na transesterificação de óleos e gorduras. O metanol possui maior aplicação em escala industrial, já que é mais reativo, o que implica em menor temperatura e menor tempo de reação. O etanol, por sua vez, é menos tóxico, renovável e produz biodiesel com maior número de cetano e lubricidade. Entretanto, o etanol provoca uma maior dispersão da glicerina no biodiesel, dificultando a separação desta. No processo de transesterificação é comum usar um excesso de álcool para garantir melhores rendimentos, assim, para o metanol a razão molar geralmente empregada é de 6:1, enquanto que para o etanol, a razão é de 9:1 a 12:1 (LÔBO *et al.*, 2009).

No Brasil, o Governo Federal determinou que o diesel de petróleo contivesse 4% em volume de biodiesel (B4) a partir de 2009, chegando a 5% v v⁻¹ (B5) em 2010. Assim, o país se torna um dos grandes produtores e consumidores de biocombustíveis do mundo (SILVA, 2010).

2.2. Métodos de quantificação de ésteres graxos

2.2.1. Técnicas cromatográficas

O biodiesel, assim como qualquer outro combustível, deve ser monitorado quanto aos teores de contaminantes, quanto ao desempenho e possíveis degradações durante a estocagem, a fim de garantir a integridade dos motores, segurança durante transporte e manuseio do produto e o controle das emissões da queima. Assim, foram estabelecidos padrões de qualidade segundo normas como a ASTM D6751 e a EN 14214. No Brasil, a Lei 11097/05 que instituiu a obrigatoriedade da adição de biodiesel ao diesel

fez com que especificações do B100 fossem estabelecidas pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), através da Resolução nº 07 de 2008 (RANP 07/08). Essa resolução se baseou nos padrões de qualidade norte-americano e europeu. A mistura óleo diesel/biodiesel tem sua especificação estabelecida pela resolução ANP 15/2006 (LÔBO *et al.*, 2009).

A glicerina é um co-produto na reação de transesterificação óleos e gorduras. A glicerina combinada, que compreende mono-, di- e triglicerídeos, é proveniente da reação incompleta dos glicerídeos, portanto, este é um importante parâmetro que pode ser utilizado para avaliar a eficácia da conversão dos óleos e gorduras em biodiesel. Atualmente a cromatografia gasosa (CG) é a técnica mais utilizada para análise de glicerina livre e total em biodiesel. Os métodos analíticos americano e europeu foram desenvolvidos, tendo como referência o biodiesel proveniente de soja (ASTM D6584), canola e girassol (EN ISO 14105).

Desde 1984 vários métodos cromatográficos foram propostos para análise de biodiesel. Nesta ocasião foram realizadas comparações entre técnicas cromatográficas, uso de derivatizantes e entre sistemas de detecção. As técnicas cromatográficas trabalhadas foram a cromatografia em camada delgada com detecção por ionização de chama (CCD/DIC), cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (CG/DIC), cromatografia por exclusão molecular (CEM) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Esta última foi empregada com diferentes formas de detecção: espectrometria de massas (DEM), ultravioleta (*DUV*), entre outras (LÔBO *et al.*, 2009).

No trabalho de FREEDMAN *et al.* (1986), foram analisados ésteres mono, di- e triglicerídeos na mesma eluição, para estudo da reação de transesterificação do óleo de soja. A análise foi feita em um CG-DIC com coluna capilar de sílica fundida. A temperatura do forno foi programada de 160 a 350°C numa rampa de 30°C/minuto e mantido em 350°C por 6 minutos. O tempo de corrida foi de 12 minutos. Uma série de soluções-padrão de ésteres metílicos foram preparadas, nas concentrações de 20 a 40 µg/mL em acetona, acrescidos de quantidades conhecidas de um padrão interno (tridecanoína). Resultados satisfatórios foram obtidos para o estudo cinético das reações de transesterificação de óleos de soja.

Em seu trabalho, MITTELBACH (1993) estudou dois sistemas de detecção, DIC e DEM, acoplados à CG para análise de glicerina livre. Porcentuais altos de recuperação do analito e limites de detecção para ambos os detectores foram obtidos. O autor defende o uso do detector de massas devido às suas vantagens, como: evitar a sobreposição dos picos e permitir o uso de colunas mais curtas por CG.

Um estudo comparativo entre CLAE e CG foi realizado por FOGLIA *et al.* (2004), para análises de glicerídeos em biodiesel. Os resultados mostraram que não haviam diferenças estatisticamente significativas entre os métodos, salvo quando as amostras apresentavam produtos de oxidação do biodiesel que eram detectados por CLAE mas não por CG, uma vez que eram co-eluídos com os diglicerídeos. Foram enumeradas algumas vantagens da CLAE, como a não necessidade de derivatização, menor tempo de análise e possibilidade de quantificação de alquilésteres, ácidos graxos livres e triglicerídeos, além do di-e mono-glicerídeos, o que permitiu o monitoramento da reação de transesterificação. Já a CG apresentou algumas limitações, como necessidade de derivatização, uso de padrões internos de glicerídeos e limitação na determinação de alquilésteres.

ARZAMENDI *et al.* (2006) desenvolveram uma metodologia analítica baseada em CEM que permitiu determinar simultaneamente as quantidades totais de triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, ésteres metílicos de ácidos graxos e metanol livre em amostras da reação de transesterificação de óleo de girassol com metanol. A CEM foi realizada através de uma bomba de CLAE e detector de índice de refração diferencial. A fase móvel foi de tetrahidofurano (THF) sob fluxos variáveis de 0,6 a 1,2 mL min⁻¹. As colunas utilizadas foram HR 0.5 e HR 2, tamanho 300 mm x 7,8 mm, tamanho de partícula de 5 µm e tamanho de poro de 100 a 500 Å, respectivamente. Padrões de ácidos graxos foram usados como referência. A identificação e a calibração dos picos foram feitas analisando misturas dos padrões de referência em THF, preparadas em diversas concentrações. Curvas analíticas foram obtidas para cada substância (metanol e glicerol livre) ou grupos de substâncias (triglicerídeos, diglicerídeos, monoglicerídeos, ésteres metílicos de ácidos graxos) e utilizadas para converter as áreas integradas por CEM.

Em um trabalho peculiar, GELBARD *et al.* (1995) quantificou ésteres em biodiesel por ressonância magnética nuclear protônica - RMN ^1H . Para calcular a taxa de conversão de triglicerídeos em metil ésteres, os pesquisadores se basearam na razão entre a área do singlete dos prótons alcoólicos (OCH_3) e a área dos sinais dos seus prótons metilênicos α -carbonílicos (OCOCH_2). O resultado final é dado pela multiplicação por um fator $2/3$, que equivale à quantidade de átomos de hidrogênios presentes na molécula dos ésteres metílicos envolvidos no cálculo. Os resultados foram comparados com medidas de viscosidade, obtendo-se um coeficiente de correlação linear de 0,9981, assim, os resultados foram considerados bastante satisfatórios.

No trabalho de GARCIA (2006), biodiesel de soja foi sintetizado e purificado, sendo o produto analisado por espectrômetro de RMN ^1H e ressonância magnética nuclear de carbono 13 (RMN ^{13}C). Posteriormente, essas amostras foram utilizadas no preparo de um conjunto de misturas binárias (triplicatas) de ésteres etílicos de soja (EES) e óleo de soja. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono dos triglicerídeos, diglicerídeos, monoglicerídeos, ésteres de ácidos graxos e glicerina foram simulados utilizando os seguintes softwares: ChemOffice Ultra 2005 versão 9.0 e ACD/Lab versão 4.0. A análise foi considerada simples, rápida e confiável, porém, o custo pode ser um fator limitante para aplicação do RMN.

Embora as técnicas cromatográficas e espectroscópicas sejam bastante estabelecidas, capazes de fornecer resultados de análise de biodiesel com precisão e exatidão satisfatórias, não podem ser facilmente aplicadas em determinações *in situ* para monitoramento da reação de transesterificação. Métodos espectroscópicos vibracionais, aliados à análise multivariada, têm sido estudados com o objetivo de estabelecer modelos de calibração. Estes apresentam vantagens de não serem métodos destrutivos, não necessitarem de reagentes e tratamento da amostra, de possuírem aceitável precisão e exatidão, serem rápidos e pouco laboriosos, além de poderem ser aplicados ao monitoramento *in situ* da reação de transesterificação. Com o uso de ferramentas quimiométricas é possível extrair informações muito importantes e, muitas vezes, não perceptíveis numa análise visual de registros de espectros, cromatogramas ou outra

propriedade medida (resposta instrumental). Outra grande vantagem é a aplicação na análise em matrizes complexas, ou seja, na presença de interferentes, o que seria impraticável para a análise univariada sem tratamento prévio da amostra (LÔBO et al, 2009).

2.2.2. Espectroscopia de IV para determinação de biodiesel

O método de quantificação por espectroscopia de infravermelho (IV) utiliza curvas de calibração para obter valores de referência, ou seja, obter relações entre absorbâncias registradas experimentalmente para uma série de soluções conhecidas e, assim, determinar a concentração das amostras. Isso é possível já que as medidas de absorbância da radiação, em um determinado comprimento de onda são diretamente proporcionais à concentração das soluções.

A espectroscopia de infravermelho próximo (IVP) é uma técnica analítica bem estabelecida com base na absorção da energia eletromagnética na região de 780 a 2500 nm, permitindo a análise de multi-componentes de forma rápida, sem destruir a amostra. Assim, o trabalho de BAPTISTA *et al.* (2008) descreve a utilização da espectroscopia de IVP para determinar o teor de ésteres em biodiesel. Para o desenvolvimento do modelo de calibração para determinação do conteúdo de ésteres, foram utilizadas 148 amostras de biodiesel produzidas a partir de óleo de soja, de misturas de óleos de soja, óleos de palma e de colza. O conteúdo de ésteres nessas amostras, oriundas de escala industrial e laboratorial, variavam de 78,4% a 99,3% (m m^{-1}). Apenas a região entre 9000 e 4500 cm^{-1} foi utilizada para calibração. As amostras foram analisadas sem qualquer necessidade de preparação.

A IV também tem sido usada para avaliar misturas de biodiesel:diesel, certificando-se que estas estejam dentro das normas estabelecidas pela ANP (OZEN, 2002 *apud* GUARIEIRO *et al.*, 2004). É possível também quantificar o percentual de biodiesel presente nessas misturas, já que as bandas características desses combustíveis são distinguíveis no espectro. Além disso, a IV pode ser empregada no monitoramento da reação de transesterificação de óleos vegetais com metanol e etanol, para se determinar a taxa de conversão (GUARIEIRO *et al.*, 2004).

De forma específica, GUARIEIRO *et al.* (2004) realizaram a determinação das concentrações das misturas biodiesel:diesel utilizando a técnica de IV com Transformada de Fourier (FT-IR), através do método de reflectância total atenuada (RTA) e porta-amostra de cristal de germânio. Foram produzidas misturas de biodiesel provenientes de algodão, colza, girassol, linhaça, mamona e soja e gerados os espectros de IV das misturas B1, B2, B3, B4, B5 e B100, além do espectro do óleo diesel. A curva de calibração da mistura biodiesel:diesel foi obtida medindo-se a intensidade da banda de deformação axial da carbonila dos ésteres, localizada em aproximadamente 1745 cm^{-1} .

2.3. Espectroscopia no infravermelho

A espectroscopia no IV fornece uma técnica experimental rápida para a caracterização de compostos orgânicos, capaz de fornecer evidências sobre a presença de grupos funcionais.

2.3.1. Princípios da técnica de IV

A região espectral do IV compreende a radiação com número de onda que varia de cerca de 12800 a 10 cm^{-1} ou 0,78 a 1000 μm , sendo a faixa dividida em três regiões, denominadas infravermelho próximo (IVP), infravermelho médio (IVM), mais usada, e infravermelho distante (IVD) (Tabela 1).

Tabela 1 – Regiões espectrais do IV

Região	λ (μm)	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1})
Próximo	0,78 a 2,5	12800 a 4000
Médio	2,5 a 50	4000 a 200
Distante	50 a 1000	200 a 10
Mais usada	2,5 a 15	4000 a 670

Fonte: Modificado de HOLLER *et al.* (2009)

A espectroscopia de IV, como todas as formas de espectroscopia, depende da interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética. A radiação correspondente faz com que os átomos ou grupos de átomos de compostos vibrem com amplitude aumentada ao redor das ligações covalentes que os ligam. A radiação no infravermelho não é suficiente para excitar elétrons, como é o caso quando algumas moléculas interagem com a luz no visível, no ultravioleta ou com formas de radiação de energia mais

alta. Uma vez que os grupos funcionais das moléculas orgânicas incluem arranjos específicos de átomos ligados, a absorção da energia no IV por uma molécula orgânica ocorrerá em frequências específicas, características dos tipos de ligações e átomos presentes nos grupos funcionais específicos daquela molécula. Essas vibrações são quantizadas e, à medida que elas ocorrem, os compostos absorvem energia em regiões específicas do espectro (SOLOMONS *et al.*, 2009).

Para que uma molécula absorva radiação IV ela deve sofrer variação no momento dipolo durante seu movimento rotacional ou vibracional. Desta forma, o campo elétrico alternado da radiação incidente pode interagir com a molécula e provocar variações na amplitude de seus movimentos. Para moléculas assimétricas, a rotação em torno de seus centros de massa resulta em oscilações periódicas do momento dipolar, possibilitando também a interação com o campo da radiação (HOLLER *et al.*, 2009).

2.3.1.1 Transições rotacionais-vibracionais

A energia necessária para provocar mudança rotacional em uma molécula é pequena ($\lambda \geq 100 \mu\text{m}$) e os níveis rotacionais são quantizados. Desta forma, para os gases a absorção na região do IVD é caracterizado por linhas discretas e bem-definidas; já para os líquidos e sólidos, as interações intermoleculares e as colisões causam o alargamento das linhas (HOLLER *et al.*, 2009).

Os níveis de energia vibracionais também são quantizados e correspondem, para a maioria das moléculas, à região do IVM. Para um gás, o espectro de IV mostra-se, em geral, como uma série de linhas muito próximas uma vez que para cada nível vibracional há vários níveis rotacionais. Em líquidos e sólidos observa-se apenas bandas vibracionais razoavelmente largas, já que a rotação é fortemente reduzida nesses estados (HOLLER *et al.*, 2009).

2.3.1.2 Tipos de vibrações moleculares

Uma molécula formada por muitos átomos possui vários centros de vibração, que podem ser classificados como estiramento ou deformação. As vibrações de *deformação* são caracterizadas por uma variação no ângulo entre duas ligações e podem ser de quatro tipos: deformação simétrica no plano, deformação assimétrica no plano, deformação simétrica fora do plano

e deformação assimétrica fora do plano. As vibrações de estiramento, por sua vez, compreendem uma variação contínua na distância interatômica ao longo da ligação entre dois átomos. Os tipos de vibração estão exemplificados na Figura 5.

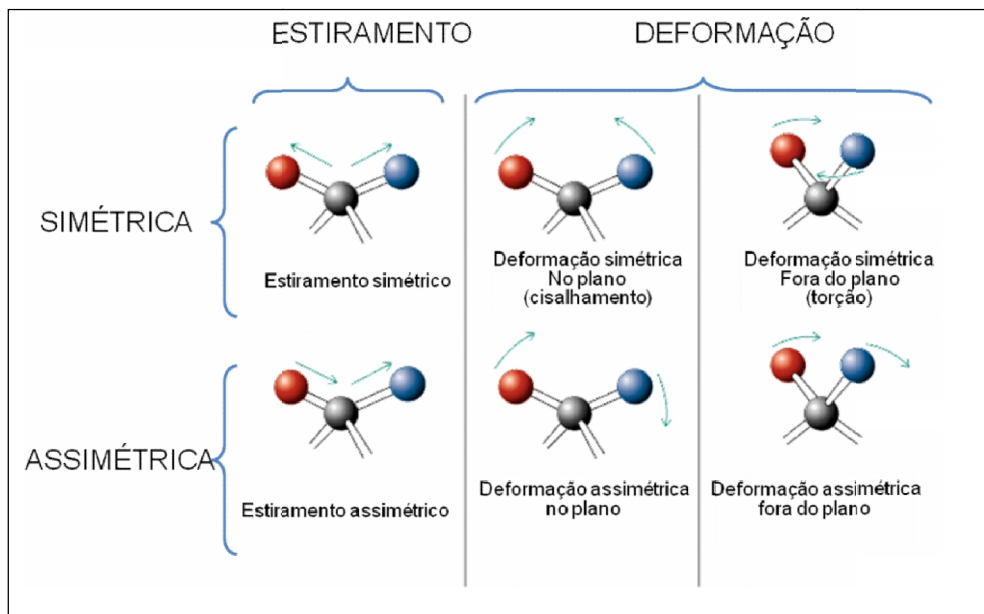


Figura 5 – Representação da vibração por (a) estiramento e por (b) deformação. Fonte: adaptado de HOLLER *et. al* (2009).

2.3.2. Bandas características de ésteres metílicos no IVM

Os grupos funcionais de carbonila apresentam alta intensidade nos espectros de IVM. O grupo carbonila está presente em aldeídos, cetonas, ésteres, ácidos carboxílicos, anidridos, cloretos de acida e nas amidas. Sua frequência de estiramento em tais funções orgânicas ocorre entre 1630 e 1780 cm^{-1} . Para os ésteres, de interesse no presente trabalho, a banda da carbonila se encontra no intervalo entre 1735 a 1750 cm^{-1} (SOLOMONS, 2009).

As bandas de absorção das ligações carbono-oxigênio dos ésteres são geralmente mais largas que a correspondente banda de absorção da carbonila. Isso se deve às interações com as vibrações das ligações carbono-carbono vizinhas. Essas bandas correspondem a duas vibrações assimétricas que envolvem as ligações carbono-carbono e carbono-oxigênio, como apresentado na Figura 6, p.13 (BARBOSA, 2007).

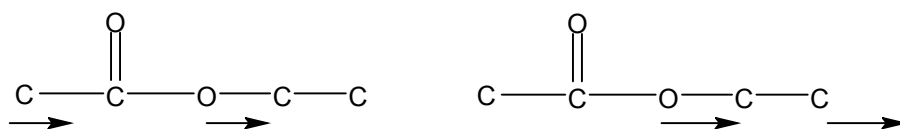


Figura 6 – Representação dos modos de estiramento das ligações carbono-oxigênio em um éster. Fonte: adaptado de BARBOSA (2007).

As vibrações de estiramento carbono-hidrogênio e carbono-carbono e vibrações de deformação angular carbono-carbono-carbono e hidrogênio-carbono-hidrogênio são as mais importantes entre os grupos alquila. Na região de 3000 a 2850 cm^{-1} podem ser observadas quatro bandas distintas, que correspondem às absorções de estiramento assimétrico de CH_3 ($\nu_{\text{as}} \text{CH}_3$), estiramento simétrico de CH_3 ($\nu_{\text{s}} \text{CH}_3$), estiramento assimétrico de CH_2 ($\nu_{\text{as}} \text{CH}_2$) e estiramento simétrico de CH_2 ($\nu_{\text{s}} \text{CH}_2$). De modo geral, as posições das bandas relativas a esses estiramentos pouco variam, sendo que grupos metila apresentam as absorções de estiramento assimétrico em torno de 2975 a 2950 cm^{-1} , podendo facilmente ser distinguida do estiramento assimétrico de CH_2 que ocorre em torno de 2930 a 2920 cm^{-1} . O grupo CH_3 em hidrocarbonetos dá origem à banda de deformação angular assimétrica ($\delta_{\text{as}} \text{CH}_3$) em torno de 1465 a 1440 cm^{-1} e de deformação angular simétrica ($\delta_{\text{s}} \text{CH}_3$) em 1390 a 1370 cm^{-1} . A banda $\delta_{\text{as}} \text{CH}_3$ geralmente se sobrepõe à de $\delta_{\text{s}} \text{CH}_2$, que ocorre em 1480 a 1440 cm^{-1} . As bandas de estiramento de ligação carbono-carbono insaturada ($\text{C}=\text{C}$) aparecem na faixa de 1680 a 1620 cm^{-1} . Essa banda está ausente nos espectros de alcenos simétricos e é fraca nos de alcenos quase simétricos. Consequentemente, alcenos com ligações duplas terminais apresentam geralmente absorções mais intensas que os correspondentes com ligações duplas internas. As posições dessas absorções variam em função do padrão de substituição da ligação dupla. Comumente os grupos vinil, vinilideno e alcenos *cis* absorvem na região de menor frequência (abaixo do número de onda 1650 cm^{-1}), enquanto alcenos *trans*-, tri- e tetrassubstituídos absorvem acima de 1650 cm^{-1} (BARBOSA, 2007).

Como as amostras de biodiesel utilizadas no presente trabalho são provenientes de reações de transesterificação com óleos de soja e metanol, foi dada ênfase aos triacilgliceróis, majoritários em óleos de soja.

Os ácidos graxos mais comuns apresentam 12, 14, 16 ou 18 átomos de carbono, embora ácidos com menor ou maior número de átomos de carbono possam ser encontrados em vários óleos e gorduras. Devido à enorme variedade de ácidos graxos, fica evidente que os óleos e gorduras são compostos de muitos tipos de triglicerídeos com diferentes graus de insaturação. Na Tabela 2 está apresentada a composição média de ácidos graxos presentes no óleo de soja (GARCIA, 2006).

Tabela 2 – Distribuição média de ácidos graxos em óleo de soja.

Ácido graxo	12:0	14:0	16:0	18:0	18:1 Δ^9	18:2 $\Delta^{9,12}$	18:3 $\Delta^{9,12,15}$
(%) m m ⁻¹	—	—	2,3 a 11	2,4 a 6	23,5 a 31	49 – 51,5	2 – 10,5

Fonte: adaptado de GARCIA (2006)

2.4. Avaliação estatística

O processo de quantificação empregando IVM exige que a faixa de concentração de trabalho apresente um padrão de comportamento, representado através de uma relação matemática, com o sinal analítico (absorbância). Tais padrões podem refletir regressões lineares ou não lineares.

2.4.1 Regressão linear

Segundo MONTGOMERY *et.al* (2009), a regressão linear considera que a relação da resposta às variáveis é uma função linear, sendo uma das primeiras formas de análise *regressiva* a ser estudada rigorosamente e usada extensamente em aplicações práticas. Existem modelos de regressão que não são função linear dos parâmetros como, por exemplo, a regressão logística, quadrática, cúbica e logarítmica. Para estimar o valor esperado da variável resposta, usa-se da Equação 1, que estabelece a relação entre ambas as variáveis:

$$Y_i = \alpha + \beta X_i + \epsilon_i \quad \text{(Equação 1)}$$

Em que:

Y_i : variável resposta;

α : constante que representa a interceptação da reta com o eixo vertical;

β : constante que representa a inclinação da reta;

X_i : variável explicativa (independente); é o valor que se deseja conhecer;

ϵ_i : variável que inclui todos os fatores residuais, além dos possíveis erros de medição. Seu comportamento é aleatório.

2.4.2 Coeficiente de determinação (R^2)

Uma medida largamente usada para um modelo de regressão é a razão da soma de quadrados:

$$R^2 = 1 - \frac{\text{Soma de Quadrados dos Resíduos}}{\text{Soma de Quadrados Totais}}$$

O coeficiente é frequentemente usado para julgar a adequação de um modelo de regressão. Portanto, nos casos em que X e Y são variáveis aleatórias distribuídas conjuntamente, R^2 será o quadrado do coeficiente de correlação entre X e Y (*Portal Action*, 2013).

Entende-se por R^2 como a quantidade de variabilidade nos dados explicada ou considerada pelo modelo de regressão. Apenas esta estatística não deve ser usada para validar um modelo de regressão, uma vez que este pode ser artificialmente aumentado através da adição de termos polinomiais de ordem superior em X. Neste caso, é necessário validar o modelo de regressão através da análise dos resíduos (MONTGOMERY *et. al.*, 2009).

2.4.3 Análise dos Resíduos

Tanto na regressão linear simples quanto em qualquer outro modelo de regressão, as suposições do modelo ajustado precisam ser validadas para que os resultados sejam confiáveis, de acordo com MONTGOMERY e colaboradores (2009). É denominada *análise dos resíduos* um conjunto de técnicas utilizadas para investigar a adequabilidade de um modelo de regressão com base nos resíduos. O resíduo ϵ_i é dado pela diferença entre a variável resposta observada (Y_i) e a variável resposta estimada (\hat{Y}_i), isto é:

$$\epsilon_i = Y_i - \hat{Y}_i \quad \text{(Equação 2)}$$

A ideia básica da análise dos resíduos é que, se o modelo for apropriado, os resíduos devem refletir as propriedades impostas pelo termo de erro do modelo. Tais suposições são evidenciadas na Equação 3, p.16.

$$Y = X\beta + \epsilon_i \quad \text{(Equação 3)}$$

Em que:

$\epsilon_i = (\epsilon_1, \epsilon_2, \epsilon_3, \dots, \epsilon_n)$, com:

- Condição 1ª: ϵ_i e ϵ_j devem ser independentes ($i \neq j$), ou seja, $\epsilon_1 \neq \epsilon_2$ e $\epsilon_2 \neq \epsilon_3$, e assim sucessivamente;
- Condição 2ª: a variância de ϵ_i é constante em todos os pontos considerados, ou seja, $\text{Var}(\epsilon_i) = \sigma^2$ (constante);
- Condição 3ª: ϵ_i segue uma distribuição Normal com média zero e variância constante (condição de homocedasticidade), ou seja, $\epsilon_i \sim N(0, \sigma^2)$.
- Condição 4ª: Não devem existir *outliers* (pontos atípicos, discrepantes ou influentes).

As técnicas utilizadas para verificar as suposições descritas acima podem ser *informais* (como gráficos) ou *formais* (como testes). As técnicas gráficas, por serem visuais, podem ser subjetivas e por isso técnicas formais são mais indicadas para a tomada de decisão. O ideal é combinar ambas as técnicas para o diagnóstico de problemas nas suposições do modelo. Algumas técnicas gráficas para análise dos resíduos são:

- Gráfico dos resíduos *versus* valores ajustados: verifica a homocedasticidade do modelo, isto é, σ^2 constante.
- Gráfico dos resíduos *versus* a ordem de coleta dos dados: avaliar a hipótese de independência dos dados.
- Papel de probabilidade normal: verificar a normalidade dos dados.
- Gráfico dos resíduos padronizados *versus* valores ajustados: verifica se existem *outliers* em Y.

Por fim, para a análise da distribuição dos resíduos, pode-se realizar o teste de normalidade de Anderson-Darling (*Portal Action*, 2013).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Para determinação da região do espectro de IV a ser trabalhada foi utilizado o biodiesel puro (B100), doado pelo laboratório de análise de combustíveis do DEQUI/CEFET-MG. Origem: 1346 - PETROBRAS[®], operação: recertificação, datado de 08/10/12.

Para a construção da Curva Analítica, misturas de biodiesel:óleo de soja foram preparadas utilizando o Óleo de soja da marca Qualitá[®] (Validade: 15/05/13; Fabricação: 15/08/12 – Lote: L0812 A).

No preparo das soluções, foram utilizados micropipetadores e ponteiros de 1 mL.

3.2 Equipamentos

As misturas de biodiesel:óleo de soja foram preparadas em diversas concentrações medindo-se a massa correspondente em Balança Analítica da marca Shimadzu[®], modelo AW220 com resolução de $\pm 0,00001$ g. Os espectros de infravermelho foram obtidos através do Espectrofotômetro de Infravermelho com amostrador do tipo RTA, marca Shimadzu[®] - modelo IR Prestige-21, serial number A210046.

3.3 Parte experimental

3.3.1 Espectrofotometria de IVM

A parte experimental foi realizada em duas partes: a primeira consistiu em reconhecer as bandas características ou comportamentos padrão em IV referentes ao biodiesel (B100) e ao óleo de soja: o objetivo era identificar as regiões do espectro que apresentassem diferenças significativas entre ambos. Determinada a região do espectro que seria trabalhada, a segunda etapa envolveu o preparo das misturas (hexaplicatas) com diferentes concentrações de biodiesel em óleo de soja (50%, 70%, 90% e 100% de biodiesel na mistura, em m m^{-1}). Essas amostras foram analisadas em espectrofotômetro de IVM e os correspondentes valores de absorvância para a dada região do espectro foram utilizadas para construção da curva de calibração.

3.3.2. Tratamento estatístico dos dados

A avaliação do padrão da curva de calibração terá como base o valor de R^2 , do estimador do coeficiente angular, a aleatoriedade dos resíduos e sua distribuição normal, conforme descreve MONTEGOMERY *et. al* (2009). Os dados serão processados através do software Minitab v.16.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Linha de Base

As análises preliminares de IVM se mostraram pouco satisfatórias, pois a linha de base dos espectros das replicatas variou intensamente. Como consequência, qualquer tentativa de quantificação foi inviabilizada.

Buscando contornar a situação, procurou-se adaptar o amostrador ATR às necessidades do processo quantitativo. Inicialmente, organizou-se o conjunto de amostras para que todas as análises fossem realizadas em sequência, evitando o uso do equipamento por um longo período de tempo. Em seguida, atendendo à sugestão do prof. Dr. Claudinei R. Calado, protegeu-se o amostrador com papel alumínio, evitando a entrada de luz através do cristal periférico, o que poderia interferir na aquisição dos dados. Concomitantemente, manteve-se a sonda do amostrador a aproximadamente 1 mm de altura, permitindo que um filme mais espesso de amostra pudesse permanecer sobre o cristal periférico (maior relação sinal-ruído). Por fim, passou-se a realizar o ajuste fino do equipamento, além do ajuste geral, logo após iniciar seu funcionamento.

Cada ação foi realizada isoladamente, sendo que o conjunto destas implicou em melhores resultados.

A Figura 7 (p. 20) evidencia os espectros das seis repetições do padrão de biodiesel em óleo de soja (50% m.m⁻¹), onde, através da inspeção visual, observaram-se linhas de base muito próximas entre si.

4.2. Seleção da frequência de quantificação

Após a aquisição dos espectros da amostra de biodiesel B100, do óleo de soja e de algumas misturas biodiesel:óleo de soja, foi realizada sua comparação para avaliar a potencialidade da técnica na quantificação do biodiesel misturado com óleo de soja. As Figuras 8 (p. 20) e 9 (p. 21) apresentam o espectro de IV e o espectro de óleo de soja, respectivamente. Três regiões foram consideradas promissoras nos espectros que diferenciam levemente os dois produtos: 630 a 780 cm⁻¹ (Figura 10), 900 a 1450 cm⁻¹ (Figura 11), 1740 a 1780 cm⁻¹ (Figura 12). As demais regiões não

apresentaram distinção entre as concentrações ou não refletiram satisfatoriamente as diferentes concentrações de biodiesel.

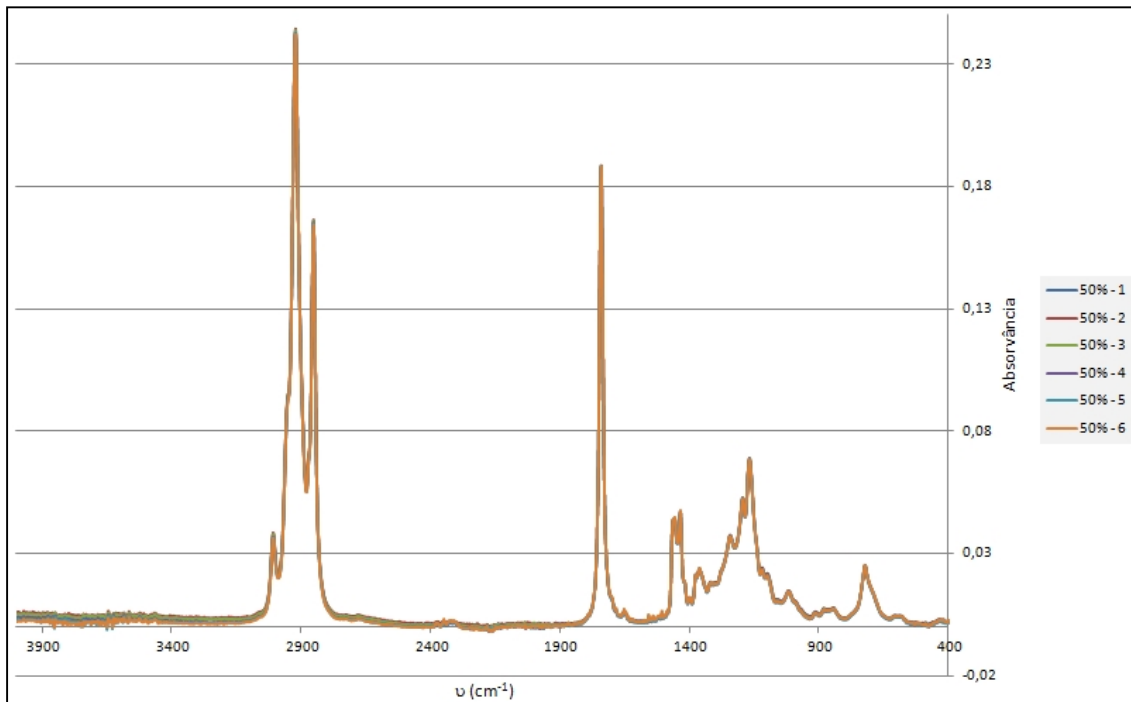


Figura 7 – Espectros de infravermelho das seis repetições da amostra de biodiesel em óleo de soja (50% m m⁻¹).

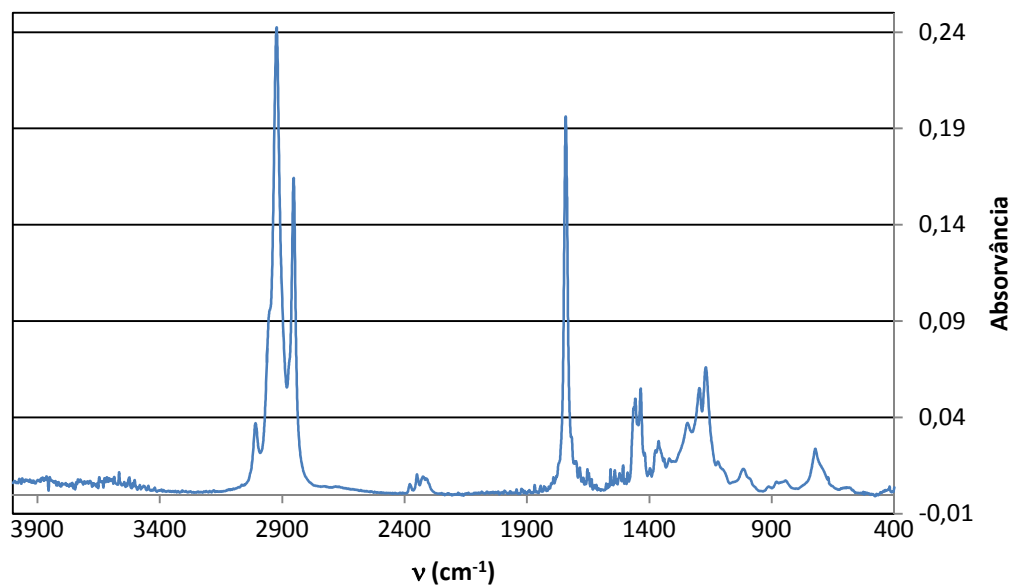


Figura 8– Espectro de infravermelho do biodiesel puro (B100).

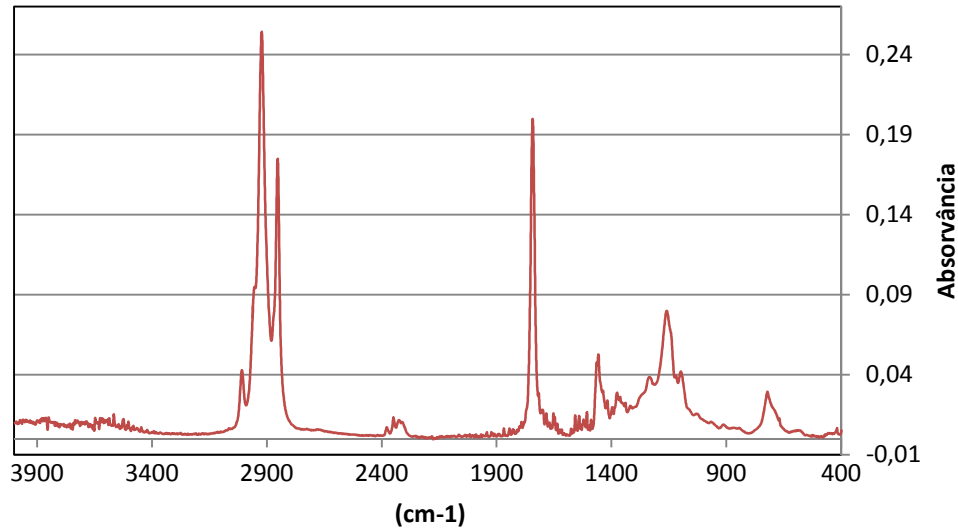


Figura 9 – Espectro de infravermelho de óleo de soja comercial puro.

Como o presente trabalho vislumbra a aplicação e avaliação de uma técnica univariada, procurou-se selecionar a frequência, dentro dos três intervalos selecionados (Figuras 10 (p. 21), 11 e 12 (p. 22)), que apresentou a maior variação entre a absorvância do biodiesel B100 e o óleo de soja, no caso, 1100 cm^{-1} .

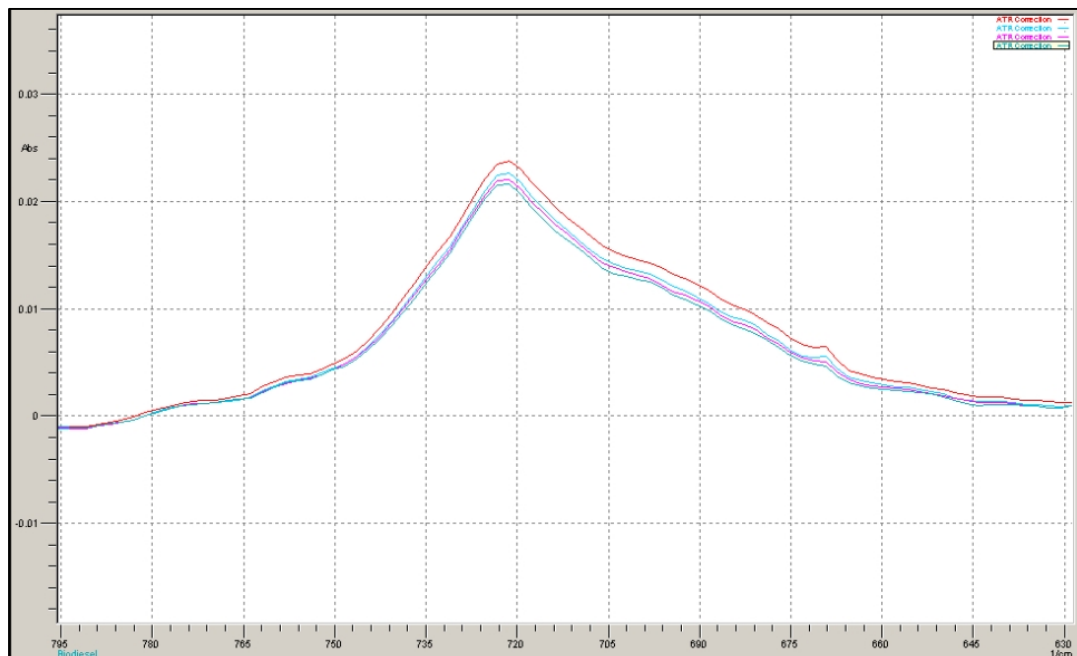


Figura 10 – Comparação entre os espectros de óleo de soja (vermelho) e misturas de biodiesel em óleo de soja. Intervalo: 630 a 795 cm^{-1} .

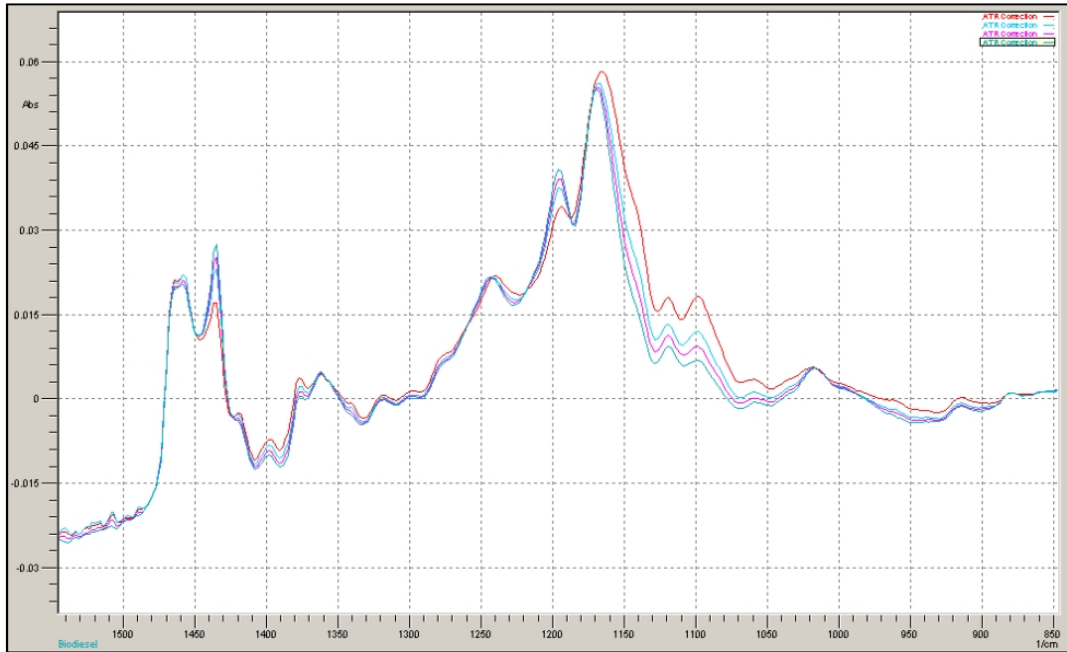


Figura 11 – Comparação entre os espectros de óleo de soja (vermelho) e misturas de biodiesel em óleo de soja. Intervalo: 950 a 1550 cm^{-1} .

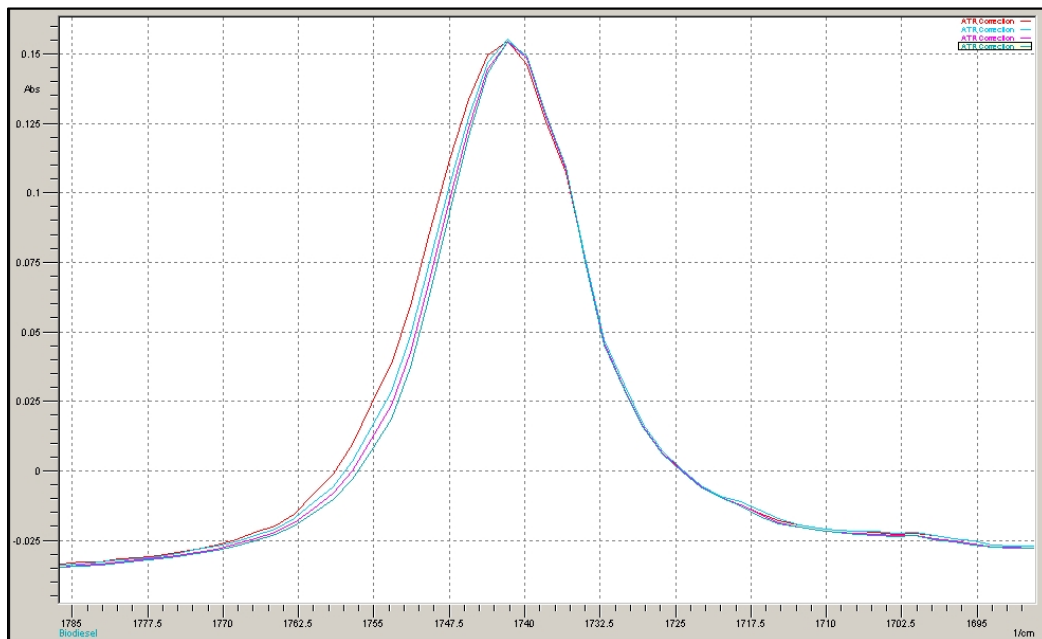


Figura 12 – Comparação entre os espectros de óleo de soja (vermelho) e misturas de biodiesel em óleo de soja. Intervalo: 1690 a 1785 cm^{-1} .

4.3. Curva de calibração

A curva de calibração foi obtida a partir das seguintes misturas de biodiesel em óleo de soja: 50% m m⁻¹ (hexaplicata), 70% m m⁻¹ (hexaplicata), 90% m m⁻¹ (hexaplicata) e 100% m m⁻¹ (hexaplicata). Sua construção teve como

base a relação entre a absorvância de cada amostra em 1100 cm^{-1} e a respectiva concentração de biodiesel em cada amostra.

Como se pode observar na Figura 13, conforme a concentração de biodiesel aumenta, a absorvância em 1100 cm^{-1} tende a diminuir, aparentemente através de um comportamento linear. Fez-se, então, o ajuste linear do modelo e verificou-se através de métodos gráficos e por testes estatísticos sua validade.

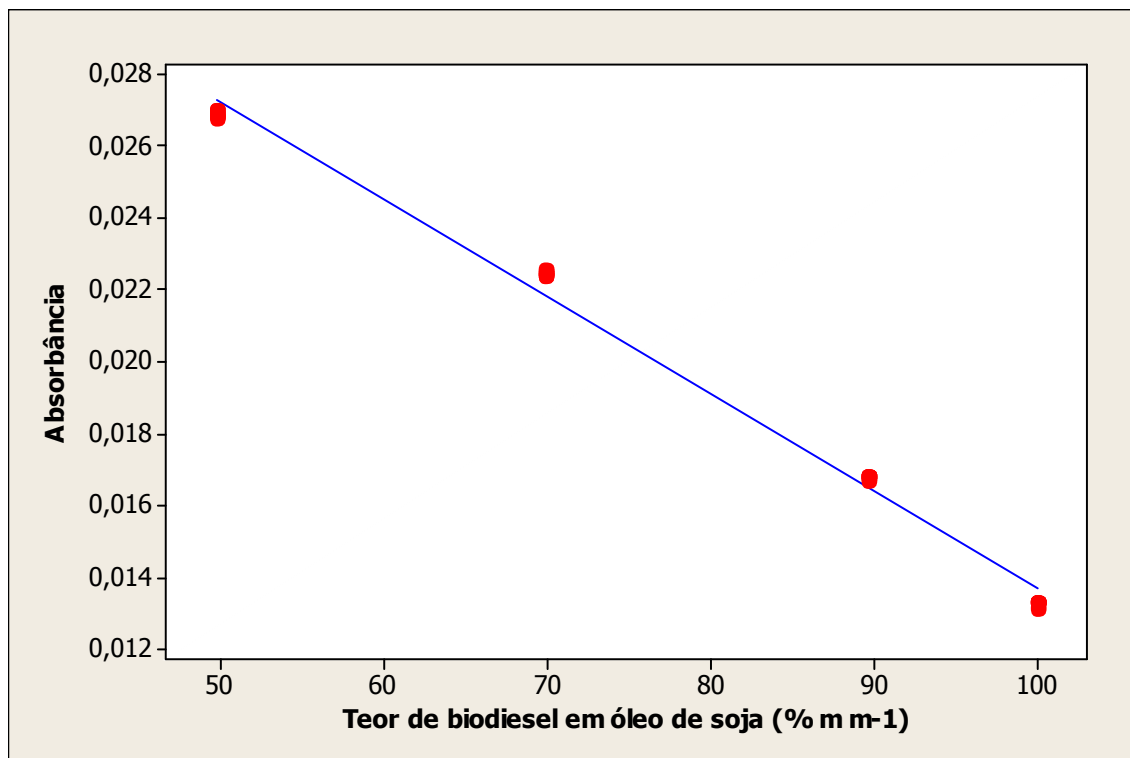


Figura 13 – Curva de calibração das amostras de biodiesel em óleo de soja.

4.3.1. Ajuste da curva de calibração por um modelo de regressão linear simples

O ajuste de um modelo de regressão aos dados obtidos por IVM para a quantificação do teor de biodiesel na mistura biodiesel:óleo de soja, segundo um modelo de regressão linear, gerou a seguinte função matemática:

$$Y = 0,04076 - 0,000270 X$$

Para avaliar a adequabilidade do ajuste desse modelo, primeiramente testou-se a hipótese da significância do ajuste ao nível de 5% (Tabela 3; p. 24).

Tabela 3 - Análise de Variância do Modelo de Regressão Linear.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrados Médios	Estatística F	Probabilidade de Significância
Regressão	1	0,0006515	0,000651500	2925,10	0,000
Resíduos	22	0,0000049	0,000000223		
Total	23	0,0006564			

Para o modelo de regressão linear testado, ocorre que 99,3% da variabilidade dos dados é explicada por este modelo. Embora esta estatística tenha um valor muito satisfatório, esse modelo ainda precisa ser validado através da análise dos resíduos, apresentada a seguir.

Considerando o modelo de regressão linear simples, a análise de regressão estabelece um teste para avaliar o parâmetro β , isto é, testar as hipóteses:

$$H_0 : \beta = 0$$

$$H_1 : \beta \neq 0$$

Obteve-se uma probabilidade de significância para o teste F igual a zero. Como esse valor é muito baixo e menor que o nível de significância pré-estabelecido em 0,05 (5%), então, pode-se dizer que a hipótese nula é rejeitada a este nível, ou seja, existe significância de regressão linear entre as variáveis X e Y.

4.3.2. Análise dos resíduos do modelo de regressão linear

Para averiguar se o modelo de regressão linear é adequado, os resíduos provenientes deste modelo devem ter uma distribuição normal com média zero e variância constante (homocedasticidade). Além de apresentar uma distribuição aleatória em torno da média zero (independência).

Verifica-se através da Figura 14 (p. 25) que existe uma tendenciosidade dos resíduos, violando a suposição de aleatoriedade. Verifica-se que o ajuste deste modelo não está adequado uma vez que, para valores muito baixos e/ou para valores altos, os resíduos estão sempre a um desvio abaixo da média. Já os valores de centralidade da curva analítica encontram-se sempre acima da média.

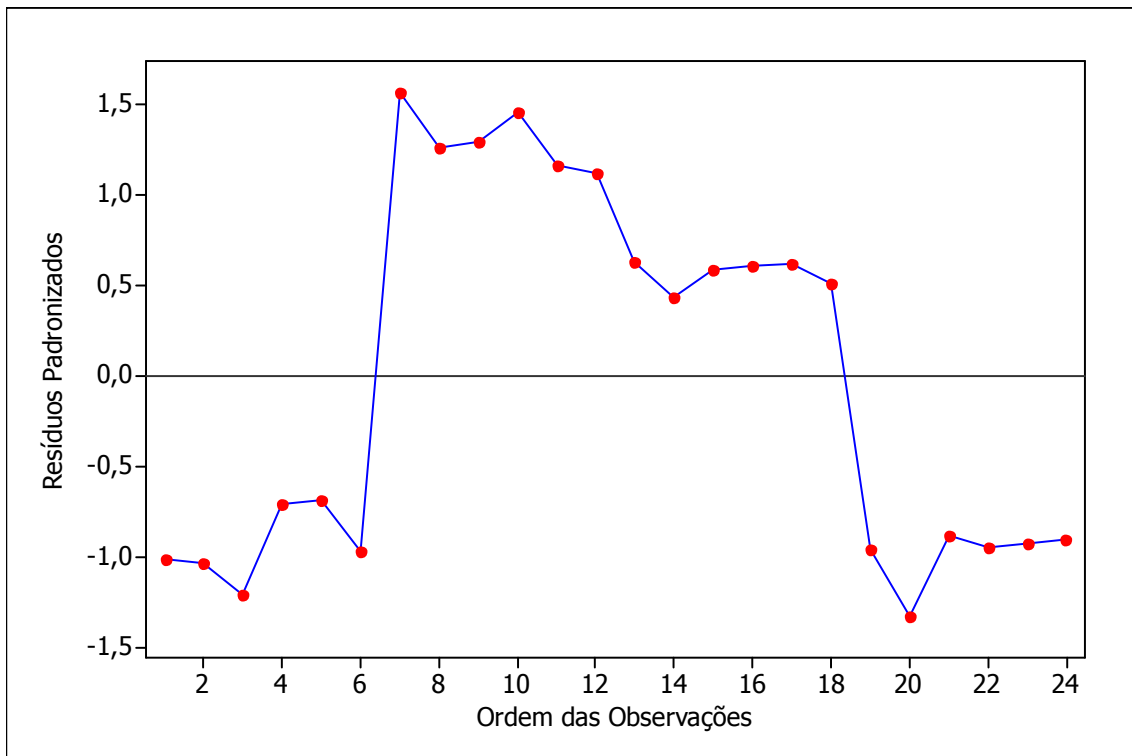


Figura 14 – Relação entre os valores dos resíduos padronizados e a ordem das observações.

Outra suposição do modelo que deve ser satisfeita é que os resíduos apresentem uma distribuição normal com média zero. Para averiguar essa suposição será apresentado um histograma dos resíduos padronizados e, em seguida, um teste de hipótese para avaliar se esses resíduos seguem uma distribuição normal:

H_0 : Os resíduos seguem uma distribuição normal

H_1 : Os resíduos não seguem uma distribuição normal.

De acordo com o histograma apresentado na Figura 15 (p. 26), verifica-se que os resíduos parecem não apresentar uma configuração de simetria de acordo com a característica da distribuição normal. Verifica-se ainda que não há registro de valores residuais que apresentaram proximidade com a média. Isto indica a violação da suposição de normalidade. A suposição de normalidade dos resíduos também foi rejeitada seguindo a estatística de Anderson-Darling (probabilidade de significância menor que o nível de significância estabelecido de 5%), como apresentado na Figura 16 (p. 26).

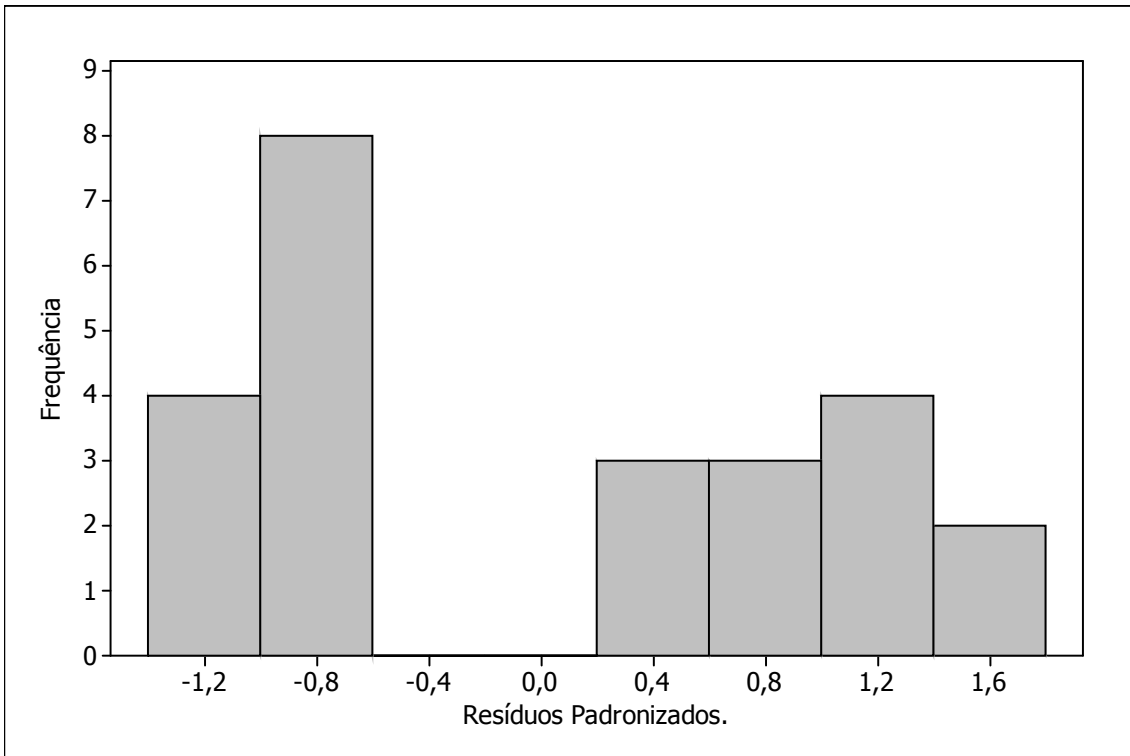


Figura 15 - Histograma dos resíduos padronizados.

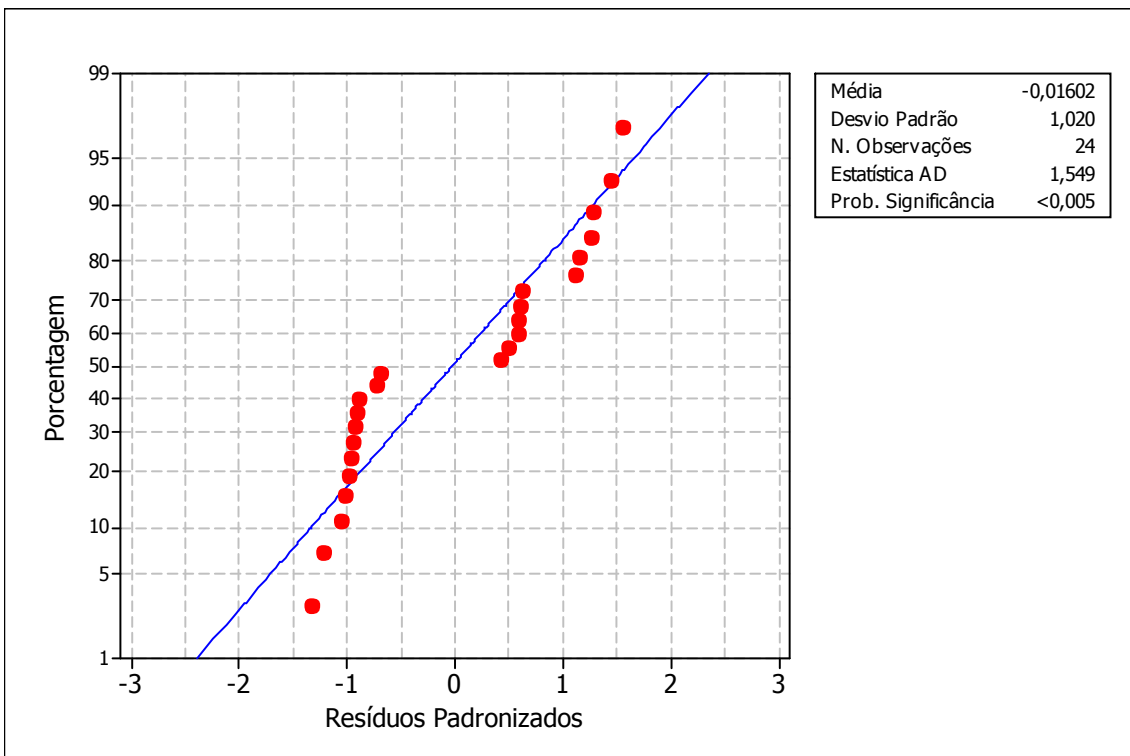


Figura 16 - Teste de Normalidade Anderson-Darling.

4.3.3. Diagnóstico de homocedasticidade

Homocedasticidade é o termo para designar variância constante dos erros ϵ_i para observações diferentes. Caso a suposição de homocedasticidade não seja válida, podemos listar alguns efeitos no ajuste do modelo:

- Os erros padrões dos estimadores, obtidos pelo Método dos Mínimos Quadrados, são incorretos e, portanto, a inferência estatística não é válida.
- Não se pode afirmar que os estimadores de Mínimos Quadrados são os melhores estimadores de mínima variância para β_i , embora ainda possam ser não viciados.

O gráfico dos resíduos *versus* valores ajustados é uma das principais técnicas utilizadas para verificar as suposições dos resíduos. Além da detecção de heterocedasticidade, esse gráfico pode indicar que não existe uma relação linear entre a variável explicativa com a variável resposta por meio de alguma tendência nos pontos. No caso em estudo (Figura 17; p. 28), os pontos mostraram uma tendência de formação de uma parábola, portanto, um ajuste de segundo grau poderia melhor descrever o modelo entre as variáveis.

Para o diagnóstico de heterocedasticidade, procuramos no gráfico alguma tendência. Quando os pontos estão aleatoriamente distribuídos em torno de zero, sem nenhum comportamento ou tendência, têm-se indícios de que a variância dos resíduos é homocedástica. Já a violação de aleatoriedade é um indicativo da presença de heterocedasticidade.

O modelo de regressão linear proposto não apresentou um bom ajuste devido à violação de adequabilidade dos resíduos. Como os pontos da Figura 17 apresentaram uma distribuição em forma de parábola, então foi proposto um ajuste de modelo de regressão quadrática.

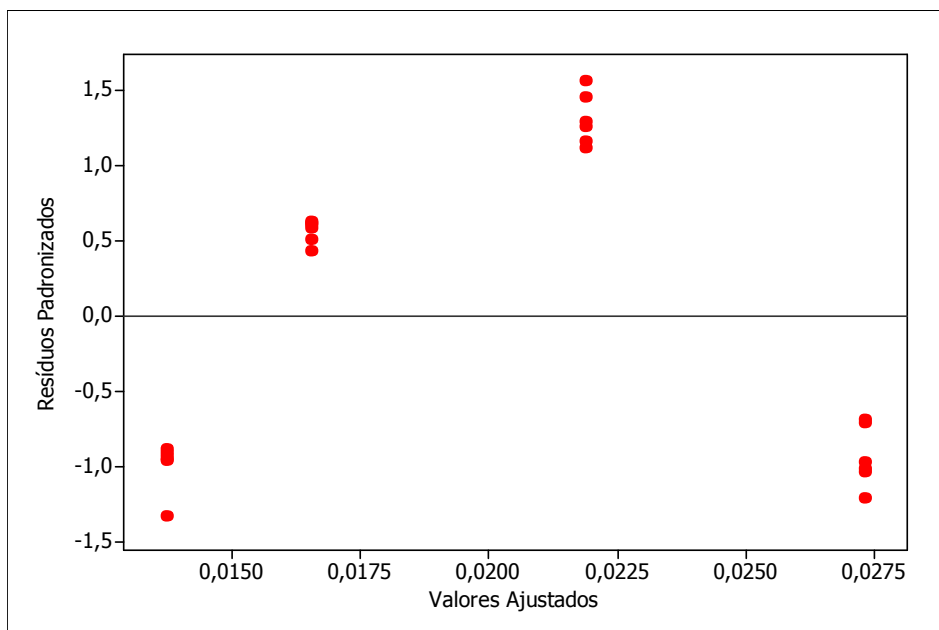


Figura 17 - Gráfico de Resíduos versus Valores Ajustados.

4.3.4. Ajuste da curva de calibração por um modelo de regressão quadrática

O ajuste dos dados segundo um modelo de regressão quadrática gerou a seguinte função matemática:

$$Y = 0,03197 - 0,000018 X - 0,000002 X^2$$

Para avaliar a adequabilidade do ajuste desse modelo testou-se a hipótese da significância do ajuste no nível de significância de 5% (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4 - Análise de variância do modelo de regressão quadrática.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrados Médios	Estatística F	Probabilidade de Significância
Regressão	2	0,0006563	0,000328150	68911,50	0,000
Resíduos	21	0,0000001	0,000000005		
Total	23	0,0006564			

Para o modelo de regressão quadrática tem-se que 99,9% da variabilidade dos dados é explicada por este modelo, expressando a alta qualidade do ajuste.

Para o modelo de regressão quadrática, a análise estabelece um teste para avaliar o parâmetro β_1 (parâmetro linear) e β_2 (parâmetro quadrático),

isto é, testar as seguintes hipóteses:

$$H_0: \beta_1 = 0$$

$$H_1: \beta_1 \neq 0$$

$$H_0: \beta_1 = 0$$

$$H_1: \beta_1 \neq 0$$

e

$$H_0: \beta_2 = 0$$

$$H_1: \beta_2 \neq 0$$

Obteve-se uma probabilidade de significância para o teste F igual a zero para ambos os parâmetros (Tabela 5).

Tabela 5 - Análise de variância sequencial.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Estatística F	Probabilidade de Significância
Linear	1	0,0006515	2927,07	0,000
Quadrático	1	0,0000048	947,15	0,000

Como esses valores são muito baixos e menores que o nível de significância pré-estabelecido em 0,05 (5%), então, pode-se dizer que a hipótese nula é rejeitada a este nível, ou seja, existe significância do parâmetro linear e parâmetro quadrático entre as variáveis X e Y no modelo proposto.

4.3.5. Análise dos resíduos do modelo de regressão quadrática

Para averiguar a adequabilidade do modelo de regressão quadrática, os resíduos provenientes deste modelo também devem atender as suposições de normalidade com média zero e variância constante (homocedasticidade), além de verificar aleatoriedade desses resíduos (independência).

Pode-se verificar pela Figura 18 (p. 30) que os dados apresentaram aleatoriedade, confirmando que neste modelo os resíduos são independentes entre si. Pode-se afirmar também que os resíduos não ultrapassam três desvios-padrão, o que indicaria dados discrepantes (*outliers*).

Outra suposição do modelo que deve ser atendida é que os resíduos apresentem uma distribuição normal com média zero. Para averiguar essa

suposição, foi construído um histograma dos resíduos padronizados (Figura 19; p. 30) e, em seguida, realizado o Teste de Anderson-Darling (Figura 20; p. 31) para avaliar se os dados seguem uma distribuição normal.

H_0 : Os resíduos seguem uma distribuição normal

H_1 : Os resíduos não seguem uma distribuição normal.

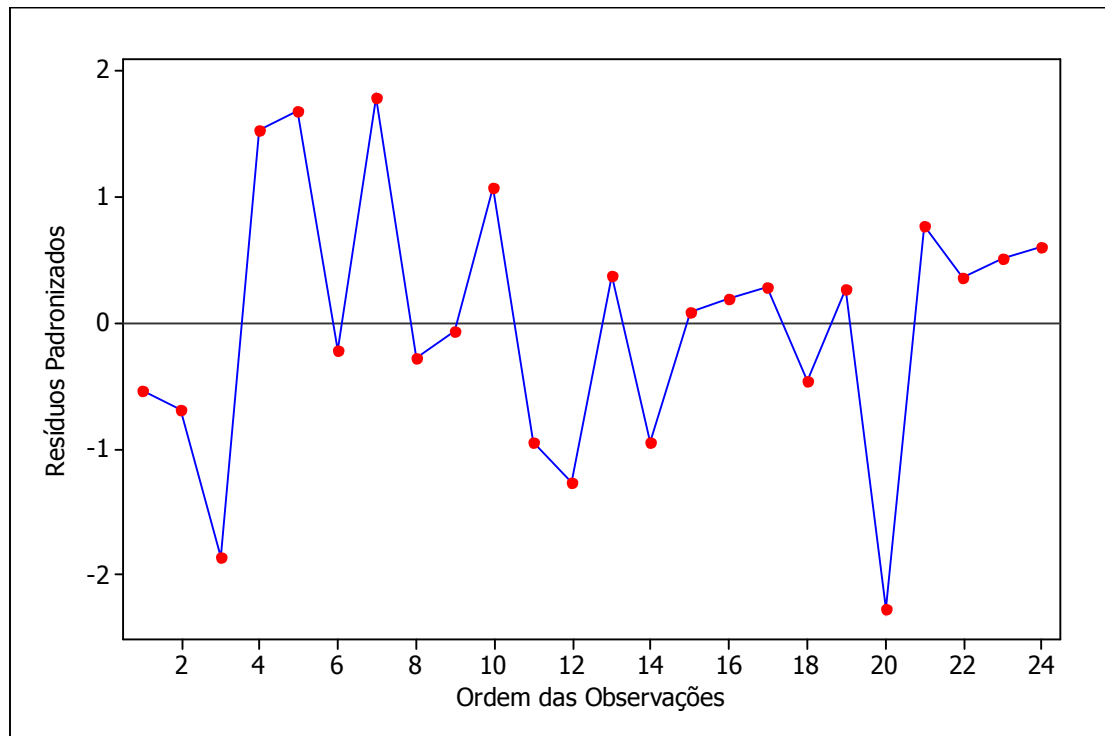


Figura 18 – Relação entre os resíduos padronizados e a ordem de observações.

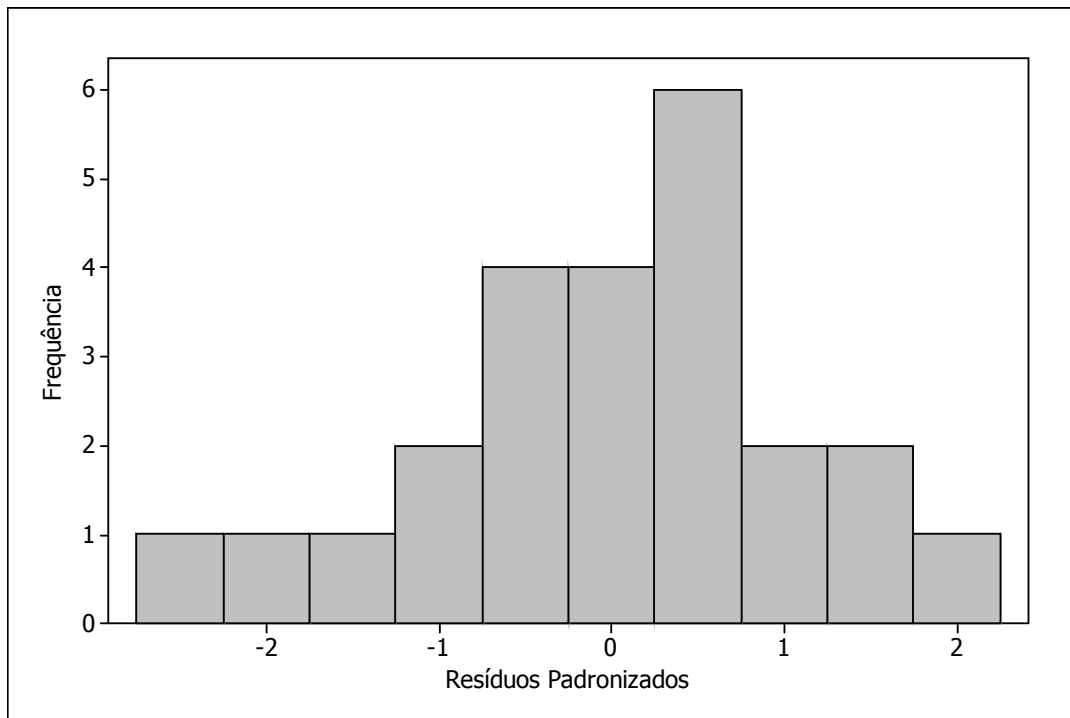


Figura 19 - Histograma dos resíduos padronizados.

De acordo com o histograma (Figura 19), verificou-se que os resíduos apresentaram uma configuração de simetria de acordo com uma característica da distribuição normal. Verificou-se ainda que a maioria dos dados encontra-se centralizada no histograma. Isto pressupõe uma distribuição normal, o que foi confirmado através do teste de Anderson-Darling (Figura 20).

A suposição de normalidade dos resíduos não foi rejeitada, seguindo a estatística de Anderson-Darling (probabilidade de significância maior que o nível de significância estabelecido de 5%). Ainda pôde-se verificar que a estimativa da média para essa distribuição foi bem próxima de zero.

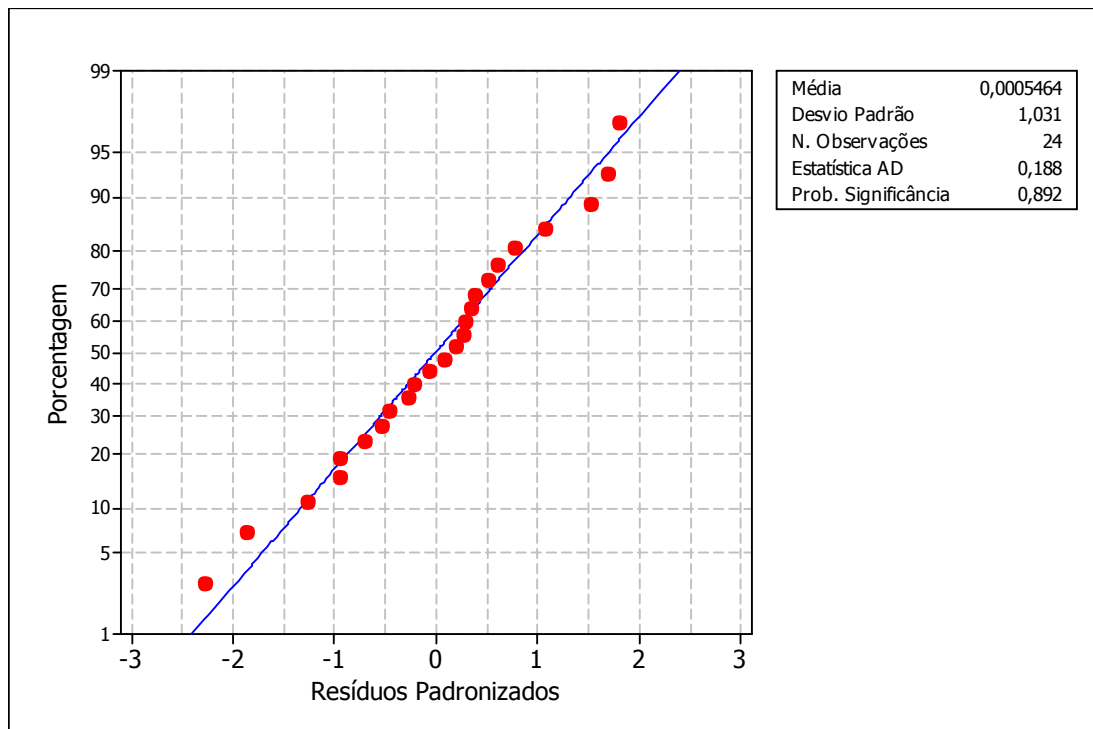


Figura 20 - Teste de normalidade Anderson-Darling para o modelo de regressão quadrática.

Para o diagnóstico de homocedasticidade, verificou-se através da Figura 21 (p. 32) que os pontos dos resíduos padronizados estão aleatoriamente distribuídos em torno de zero, sem nenhum comportamento ou tendência. Além disso, verificou-se que os resíduos encontram-se dispostos entre -2 e 2 desvios, o que confirma a ausência de dados discrepantes no modelo proposto (*outliers*).

Dessa forma, pode-se afirmar que o modelo de regressão quadrática proposto apresentou um bom ajuste sendo validado através da análise de resíduos.

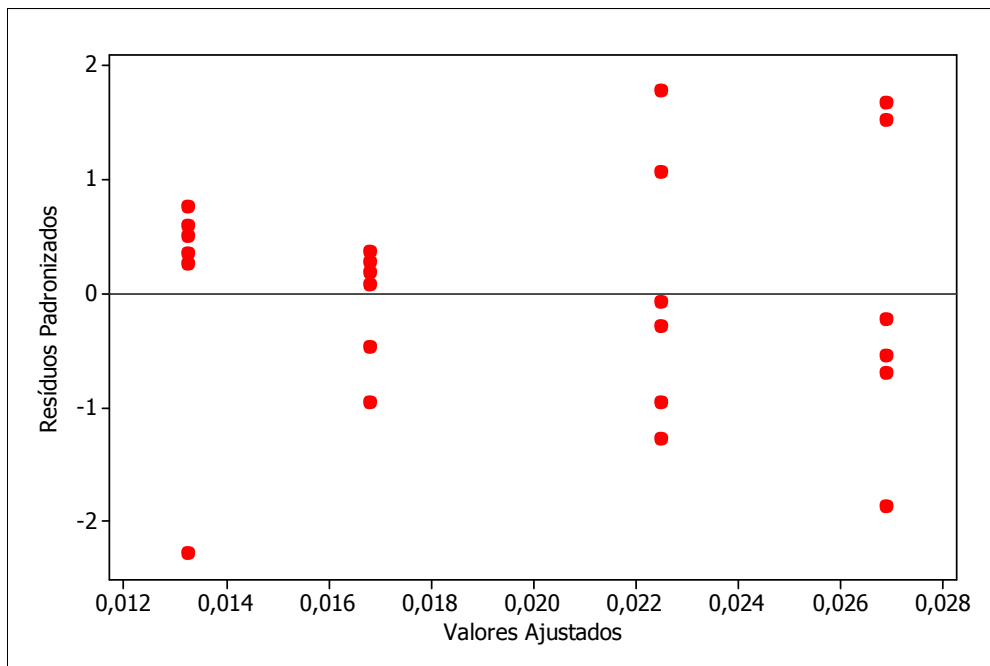


Figura 21 – Relação entre os resíduos padronizados e os valores ajustados para o modelo de regressão quadrática.

A seguir disponibiliza-se um gráfico com os intervalos de confiança para os valores e de predição do modelo proposto (Figura 22).

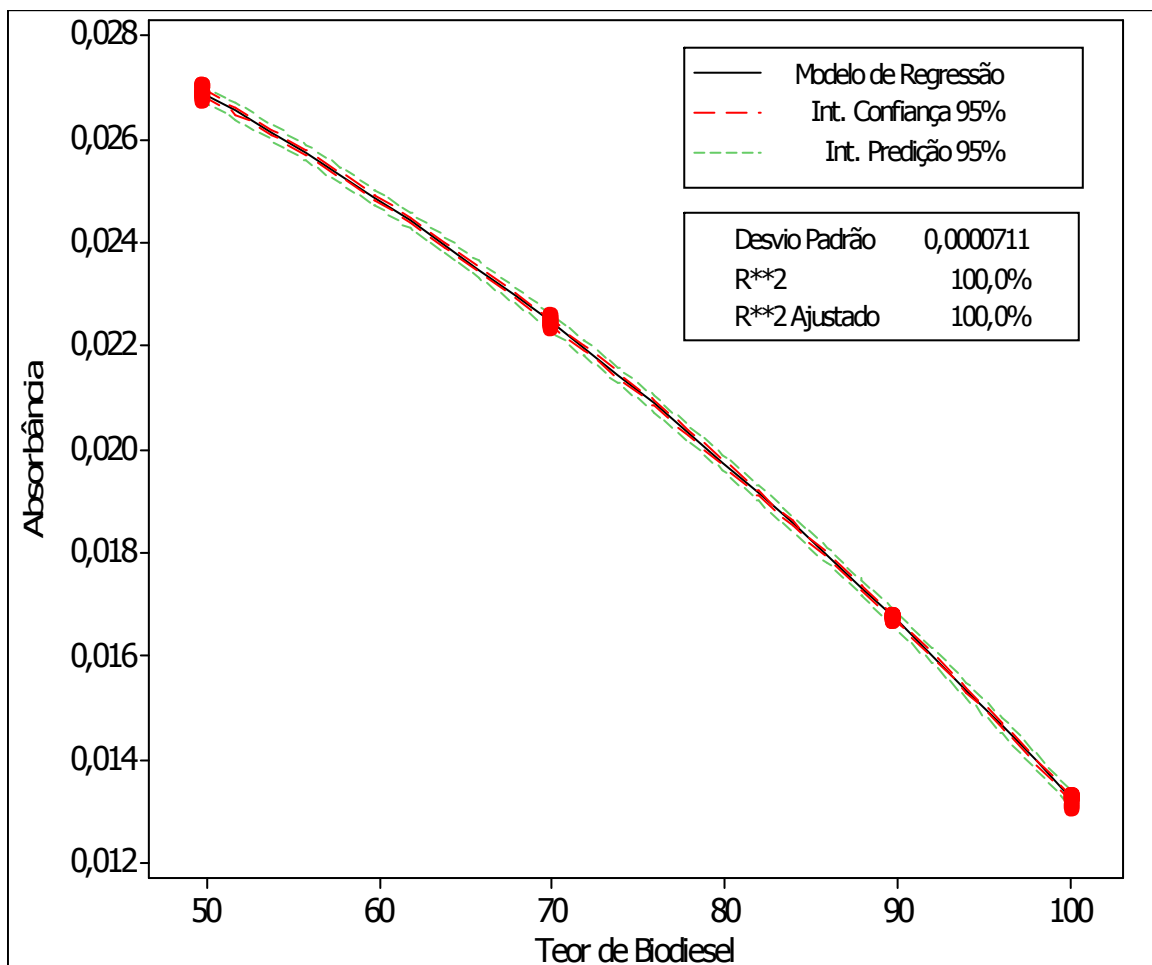


Figura 22 - Intervalos de confiança e de predição do modelo de regressão quadrática.

Pode-se observar na Figura 22 que em virtude dos intervalos de confiança e de predição (nível de confiança igual a 95%) serem estreitos, o ajuste apresenta uma baixa variação, além da predição de dados novos se mostrar muito próxima dos valores ajustados.

4.3.6 Quantificação de amostras de biodiesel sintetizadas no CEFET-MG

Amostras de biodiesel via catálise básica com CaO, obtidas de óleo de soja, foram cedidas gentilmente pela graduanda Glenda Ribeiro de Barros Silveira Lacerda e todas foram avaliadas quanto ao teor de biodiesel. A Figura 23 disponibiliza o espectro de IVM de uma das amostras.

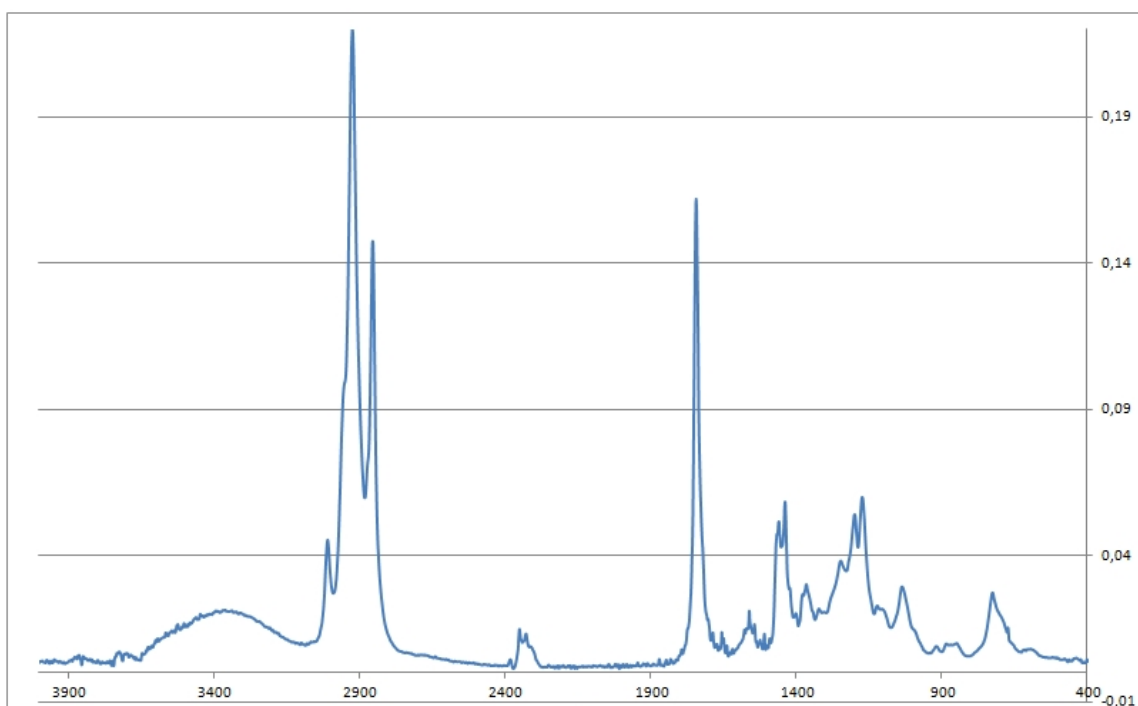


Figura 23 – Espectro de IVM de uma amostra de biodiesel sintetizado.

Ao observar a Figura 23, pode-se perceber que as bandas características de biodiesel se encontram presentes, porém bandas extras na região próxima a 3400 cm^{-1} (deformação axial de hidroxilas) e 1200 cm^{-1} (deformação axial carbono-oxigênio) são identificadas, comprovando a presença de glicerol. Ou seja, todas as amostras de biodiesel ainda precisavam passar por um processo final de purificação.

Como as bandas de deformação axial carbono-oxigênio do glicerol são próximas à respectiva banda do biodiesel, os valores de absorvância foram superestimados, gerando teores menores que o esperado (Tabela 6; p. 34).

Tabela 6 – Teores de biodiesel das amostras geradas no CEFET-MG.

Amostra	Teor de biodiesel % (m m^{-1})
1	< 50
2	78
3	79
4	77
5	82
6	78
7	78

Tal comportamento leva à duas hipóteses: a) necessidade de desenvolver um método de IVM que leve em conta possíveis contaminações de glicerol e b) necessidade de validar o presente método, considerando que a contaminação do glicerol é consequência de um processo de purificação falho.

5. CONCLUSÃO

A quantificação de biodiesel em misturas com óleo de soja por IVM é uma técnica simples, rápida e confiável para monitorar a eficiência e o rendimento das reações de transesterificação. Desta forma, podemos considerá-la como promissora para a quantificação de biodiesel em mistura com óleo de soja, empregando RTA e análise univariada. Entretanto, para que o método possa ser futuramente validado, é necessário avaliar se a presença do glicerol é inerente das amostras sintetizadas de biodiesel.

Durante os ensaios foi necessário proteger o amostrador de RTA com papel alumio para evitar a interferência de luz externa através do cristal periférico, inviabilizando os testes quantitativos. Também foram necessárias utilizar um filme espesso da amostra líquida e manter a sonda do amostrador a aproximadamente 1 mm de altura do filme. Para determinar a região espectral a ser trabalhada, buscou-se a frequência onde houvesse maior variação entre a absorbância de misturas biodiesel:óleo de soja comparada à absorbância do óleo de soja puro. Assim, foi selecionada a região de 1100 cm^{-1} , na qual todo o processo de quantificação foi realizado. O presente trabalho contribui para complementação acadêmica ao focar a espectroscopia de infravermelho como técnica de caracterização de compostos orgânicos numa área de grande interesse industrial, como a de biodiesel na matriz energética brasileira.

As ferramentas estatísticas empregadas na avaliação do método foram satisfatórias, dando credibilidade e direcionando o planejamento. Com base nas avaliações estatísticas_ análise de variância e aleatoriedade dos resíduos e os testes de Normalidade, pôde-se verificar que o melhor ajuste para a quantificação do biodiesel na mistura é a regressão quadrática.

Por fim, disciplinas como Química Orgânica Fundamental, Química Orgânica, Estatística, Química Analítica Instrumental e Métodos Espectrométricos de Análise de Compostos Orgânicos foram essenciais para o desenvolvimento da presente monografia.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARZAMENDI, G.; ARGUIÑARENA, E.; CAMPO, I.; GANDÍA, L. M. Monitoring of biodiesel production: Simultaneous analysis of the transesterification products using size-exclusion chromatography. **Chemical Engineering Journal**. v.122, p. 31-40, 2006.

BAPTISTA, Patrícia; FELIZARDO, Pedro; MENEZES, José C.; CORREIA, M. Joana Neiva. Multivariate near infrared spectroscopy models for predicting the methyl esters content in biodiesel. **Analytica Chimica Acta.**, 607, p. 153 – 159, 2008.

BARBOSA, Luiz Cláudio de Almeida. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Ed. UFV, 2007.

FAEMG (2010) Federação da Agricultura e Pecuária do Estado de Minas Gerais. *Biodiesel utiliza 66% mais óleo de soja no ano*. Disponível em: <<http://www.faemg.org.br/Search.aspx?textSearch=%c3%b3leo+de+soja>> Acesso em 07 Agosto 2012.

FAEMG (2011) Federação da Agricultura e Pecuária do Estado de Minas Gerais. *Consumo interno de óleo de soja recua 22% no ano*. Disponível em: <<http://www.faemg.org.br/Search.aspx?textSearch=%c3%b3leo+de+soja>>. Acesso em 07 Agosto 2012.

FERRARI, Roseli Aparecida; OLIVEIRA, Vanessa da Silva; SCABIO, Ardalla. Biodiesel de soja _ taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físicoquímica e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p.19-23, 2005.

FOGLIA, T.A; JONES, K.C.; NUÑEZ, A.; PHILIPS, J.G.; MITTELBAACH, M. **Chromatographia**, 2004, 60, 305 *apud* LÔBO, Ivon Pinheiro; FERREIRA, Sérgio Luis Costa; CRUZ, Rosenira Serpa da. Biodiesel: Parâmetros de Qualidade e Métodos Analíticos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.

FREEDMAN, B., E.H. Pryde, and T.L. Mounts, Variables Affecting the Yields of Fatty Esters from Transesterified Vegetable Oils. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 61, p. 1638–1643, 1984.

FREEDMAN, B.; KWOLEK, W.F.; PRYDE, E.H.. Quantitation in the analysis of transesterified soybean oil by capillary gas chromatography. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v 63, p. 1370, 1986.

FUKUDA, Hideki; KONDO, Akihiko; NODA, Hideo. Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oils. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 92, n. 5, p. 405-416, 2001.

GARCIA, C. M. **Transesterificação de óleos vegetais**. 2006. 136p. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

GELBARD, G.; Bres, O.; Vargas R. M.; Vielfaure F.; Schuchardt U. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 1995, 72, 1239 *apud* LÔBO, Ivon Pinheiro; FERREIRA, Sérgio Luis Costa; CRUZ, Rosenira Serpa da. Biodiesel: Parâmetros de Qualidade e Métodos Analíticos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.

GERPEN, Jon Van. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**, v. 86, p. 1097– 1107, 2005.

GUARIEIRO, Lílian Lefol Nani; RIBEIRO, Núbia Moura; PINTO, Ângelo C. Desenvolvimento de Metodologia para Quantificação das Misturas Biodiesel: Diesel por infravermelho. In: 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás, 3., 2004, Salvador. Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás – IBP. 2004.

GUARIEIRO, Lílian Lefol Nani; PINTO, Angelo C.; AGUIAR, Paula Fernandes de; RIBEIRO, Núbia Moura. Metodologia Analítica para Quantificar o Teor de Biodiesel na Mistura Biodiesel: Diesel Utilizando Espectroscopia na Região do Infravermelho. **Química Nova**, Vol. 31, nº 2, p.421-426, 2008.

HOLLER, F. James; SKOOG, Douglas A.; CROUCH, Stanley R. Tradução Celio Pasquini [et. al.]. **Princípios de Análise Instrumental**. 6. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

KNOTHE, Gerhard; GERPEN, Jon Van; KRAHL, Jürgen. **The Biodiesel Handbook**. Champaign, Illinois: AOCS Press, 2005.

MA Fangrui; HANNA, Miliford A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, v. 70, p. 1-15, 1999.

MITTELBACH, M. **Chromatographia** 1993, 37, 623 *apud* LÔBO, Ivon Pinheiro; FERREIRA, Sérgio Luis Costa; CRUZ, Rosenira Serpa da. Biodiesel: Parâmetros de Qualidade e Métodos Analíticos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.

MONTGOMERY, Douglas C.; RUNGER, George C.; CALADO, Verônica. **Estatística Aplicada e Probabilidade para Engenheiros**. 4. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009.

PORTAL ACTION. Disponível em: <<http://www.portalaction.com.br>> Acessado em 17 de Março de 2013.

SILVA, Paulo H. R; GONÇALVES, Valter L.C; MOTA, Claudio J. A. Glycerol acetals as anti-freezing additives for biodiesel. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 6225–6229, 2010.

SOLOMONS, T. W. Grahan. FRYHLE, B. Graig. **Química Orgânica**. Volume 1. 9ª edição. Rio de Janeiro: LTC, 2009.