

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Desenvolvimento de Metodologias Analíticas para Análise de
Biodiesel por RMN - ^1H 1,40 T**

Sara Regina Morais Kollar

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Jorge do Nascimento

Brasília-DF

2012



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Desenvolvimento de Metodologias Analíticas para Análise de
Biodiesel por RMN - ^1H 1,40 T**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação do Instituto de Química da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Sara Regina Morais Kollar

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Jorge Nascimento

Brasília-DF

Março de 2012

A persistência é o menor caminho para o êxito.
Charles Chaplin

Agradecimentos

Primeiramente a Deus porque sem ele nada seria possível.

À minha mãe Carmen, meu pai Alexandre e ao meu irmão Douglas pelo amor, carinho e educação, que me fizeram chegar até aqui.

Aos meus queridos amigos Rafael, Helvia, Bruna, Isabel e Alessandra pela compreensão e pelo apoio em todos os momentos.

A todos os meus colegas do LMC: David, Maria Beatriz, Sarah, Vinícius, Fábio, Guilherme, Osvaldo, Yuri, Alexandre, Fernandinho, Arilson, Vanda, Juliana, Mariana, Paula e Renato pelas conversas e aprendizados nesta jornada.

A minha orientadora Prof^a Dr^a. Claudia Nascimento pela orientação, paciência e apoio durante estes dois anos.

Ao Professor Paulo Suarez por ter me acolhido em seu laboratório, por todos os ensinamentos e pelos momentos de descontração.

À Prof^a. Inês e ao Sérgio pela ajuda no RMN.

À Prof^a. Cristina Brandão e à Prof^a. Yovanka Ginoris pelo apoio.

Ao Instituto de Química da Universidade de Brasília pela realização do mestrado.

Resumo

O biodiesel pode ser obtido a partir de óleos ou gorduras de origem vegetal ou animal, e tem sido usado como um combustível alternativo ao diesel. O biodiesel é obtido por meio da reação de transesterificação ou ainda pela esterificação de ácidos graxos. Embora o método mais comum para a análise de rendimento das reações de esterificação de ácidos graxos seja a titulação ácido-base com solução de KOH (método AOCS 3a-63), a utilização de novos métodos que sejam rápidos, precisos e de baixo custo estão sendo desenvolvidos. A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é amplamente utilizada para a determinação estrutural, podendo também ser aplicada para a quantificação de rendimentos da reação de esterificação de ácidos graxos. A manutenção de um equipamento de RMN supercondutor representa um custo alto, no entanto a utilização de equipamentos de campo mais baixo, que dispensam o uso de criogênicos, diminui drasticamente os custos de manutenção. Neste trabalho, foram utilizadas as técnicas de infravermelho médio (FTIR) associado à quimiometria – utilizando a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) – e a Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) (equipamentos de 7,05 T e 1,40 T) para a quantificação de biodiesel. Foram utilizados 4 modelos contruídos por PLS para a quantificação por infravermelho de amostras obtidas por reação de esterificação em reator sob diferentes condições. Os resultados demonstram que dentre os modelos criados para a quantificação por infravermelho, o modelo 3 apresentou o menor desvio padrão (2,21) quando comparado aos outros modelos que utilizaram 58 amostras para a calibração e 22 para a validação. A técnica de RMN de ^1H de 1,40 T apresentou o menor desvio-padrão (1,41) dentre todas as técnicas utilizadas. Ao comparar as técnicas utilizando o Teste F, alguns modelos diferiram significativamente ao nível de 5 % na calibração, porém na validação todas as técnicas foram estatisticamente concordantes ao nível de 5 %.

Abstract

Biodiesel can be obtained from oils or fats from vegetable or animal origin, and it has been used as an alternative fuel for diesel. Biodiesel is obtained by transesterification reaction or by esterification reaction of fatty acids. Although the most common method for the analysis of reaction yield is acid-base titration with KOH solution (method AOCS 3a-63), the application of new methods that can be faster, accurate and with low cost should be used. The Nuclear Magnetic Resonance (NMR) is widely used for structural determination but can also be used to quantify the reaction yields of esterification reaction from fatty acids. However, the maintenance of a superconducting NMR is very expensive, and the use of lower field equipments exempt the use of cryogenic apparatus and reduces drastically maintenance costs. In this work, we used the techniques of mid-infrared (FTIR) associated with chemometrics - using Partial Least Squares (PLS) - and Proton Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR) (7,05 T and 1,40 T) for the quantification of biodiesel. 4 PLS models were used for the quantification by infrared with samples obtained from esterification reaction in batch with different conditions. The results show that between the models that were built for the quantification using infrared data, the model 3 showed the smallest standard deviation (2,21) when compared to the others that used 58 samples for calibration and 22 for validation. The ^1H NMR technique using the 1,40 T field showed the smallest standard deviation among all the techniques. When comparing the techniques using the F Test, some models showed a significant difference at the level of 5 % in calibration. However in validation, all the techniques agreeded estatistically at the level of 5 %.

Índice

Lista de Abreviaturas e Acrônimos.....	ix
Lista de Esquemas	x
Lista de Figuras	xi
Lista de Símbolos	xii
Lista de Tabelas	xiii
1. INTRODUÇÃO	2
1.1 Objetivos	3
1.2 Objetivos Específicos	3
1.3 Biocombustíveis	6
1.4 Processos de Obtenção de Biodiesel.....	8
1.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	12
1.5.1 Fundamentos de Ressonância Magnética Nuclear	13
1.5.2 Relaxação Longitudinal.....	17
1.5.3 Análise de Ressonância Magnética Nuclear Quantitativa (q-NMR) .	19
1.6 Radiação Infravermelha	21
1.6.1 Métodos Quimiométricos.....	23
1.6.1.1 Calibração Multivariada	24
1.6.1.2 Validação dos Modelos.....	26
1.6.1.2.1 Validação Cruzada	26
1.6.1.2.2 Validação por grupo de teste.....	26
2. METODOLOGIA.....	28
2.1 Reagentes.....	29
2.2 Preparação das Amostras Padrões.....	29
2.3 Preparação das Amostras Reais.....	30
2.4 Análise por Infravermelho (FTIR)	30
2.5 Análise por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H)	31
2.5.1 RMN de ^1H – 7,05 T.....	31
2.5.2 RMN de ^1H – 1,40 T.....	31
2.5.3 Teste F.....	32
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
3.1 Análise por Infravermelho (FTIR)	34
3.1.1 Parâmetros Estatísticos do Modelo PLS/FTIR.....	36
3.2 Espectros de RMN de ^1H	42
3.2.1 RMN de ^1H – 7,05 T.....	42
3.2.2 RMN de ^1H – 1,40 T.....	43
3.3 Comparação entre os resultados obtidos por RMN 7,05 T e RMN 1,40 T com o método tradicional (titulação)	44
3.4 Comparação entre os métodos de RMN e FTIR	47
4. CONCLUSÕES	55
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

Lista de Abreviaturas e Acrônimos

AOCS – American Oil Chemists Society.
ASTM – American Society of Testing and Materials
ATR – Attenuated Total Reflection – Reflectância Total Atenuada
CG – Gas Chromatography – Cromatografia Gasosa
EN – European Norms
FT – Fourier Transform – Transformada de Fourier
CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
MIR – Medium Infrared – Infravermelho Médio
NIR – Near Infrared – Infravermelho Próximo
PROÁLCOOL – Programa Nacional do Álcool
PROBIODIESEL – Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel
PLS – Partial Least Squares – Regressão por Mínimos Quadrados Parciais
RMN de ^1H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMSEE – Root Mean Square Error of Estimation – Raiz Quadrada do Erro Quadrático Médio de Estimação.
RMSEP - Root Mean Square Error of Prediction - Raiz Quadrada do Erro Quadrático Médio de Predição.
T - Tesla
TMS – Tetrametilsilano.

Lista de Esquemas

Esquema 1 - Reação de transesterificação utilizando metanol como álcool.....	8
Esquema 2 - Reação para a formação de sabões.	9
Esquema 3 - Reação de esterificação utilizando metanol como álcool.....	10

Lista de Figuras

Figura 1 - Esquema representativo dos níveis de energia de um núcleo com $I=1/2$ quando estão expostos ao campo B_0	15
Figura 2 - Representação da precessão dos spins na presença do campo magnético B_0	17
Figura 3 - Magnetização polarizada após a aplicação de um pulso de 90°	17
Figura 4 - Representação da sequência de pulsos utilizada na técnica de inversão-recuperação.	20
Figura 5 - Evolução temporal da magnetização longitudinal do espectro de hidrogênio de uma amostra de ácido graxo em função da variável τ	21
Figura 6 - Tipos de modos vibracionais.....	22
Figura 7 - Espectros de infravermelho de algumas amostras-padrão: (a) biodiesel 100%; (b) biodiesel 70%, ácido graxo 30%; (c) biodiesel 25%, ácido graxo 75%; (d) ácido graxo 100%.	34
Figura 8 - Espectros de infravermelho das amostras reais: (a) B1527; (b) B1523; (c) A6027; (d) A0523; (e) Ácido graxo.....	35
Figura 9 - Curva de calibração analítica para o modelo 1	37
Figura 10 - Curva de validação para o modelo 1.....	37
Figura 11 - Curva de calibração analítica para o modelo 2	38
Figura 12 - Curva de validação para o modelo 2.....	38
Figura 13 - Curva de calibração analítica para o modelo 3	39
Figura 14 - Curva de validação para o modelo 3.....	40
Figura 15 - Curva de calibração analítica para o modelo 4	41
Figura 16 - Curva de validação para o modelo 4.....	41
Figura 17 - Comparação entre os espectros de RMN de ^1H de 300 MHz das amostras: (a) A0517 e (b) B3015	42
Figura 18 - Comparação entre os espectros de RMN de ^1H de 300 MHz das amostras: (a) A0517 e (b) B3015	44
Figura 19 - Curva analítica obtida com as amostras padrão no RMN de 60 MHz	45
Figura 20 - Curva analítica obtida com as amostras preparadas a 150°C no RMN de 60 MHz.....	45
Figura 21 - Curva analítica obtida com as amostras preparadas a 180°C no RMN de 60 MHz.....	45
Figura 22 - Curva analítica obtida com as amostras padrão no RMN de 300 MHz.....	46
Figura 23 - Curva analítica obtida com as amostras preparadas a 150°C no RMN de 300 MHz.....	46
Figura 24 - Curva analítica obtida com as amostras preparadas a 180°C no RMN de 300 MHz.....	46

Lista de Símbolos

rf – radiofrequência
 ΔE – Diferença de energia
 λ – Comprimento de onda
 ν -frequência da radiação (Hz)
 E_β – Estado de maior energia
 E_α – Estado de menor energia
 I – Número quântico de spin
 B_0 – Campo magnético externo
 μ – Momento magnético nuclear
 ρ - Momento angular de spin
 γ – Constante magnetogírica ou razão magnetogírica
 ω_0 – Frequência angular de precessão (Frequência de Larmor)
 h – Constante de Planck ($6,626 \times 10^{-34} \text{m}^2 \cdot \text{Kg} \cdot \text{s}^{-1}$)
 N_β – População no nível de maior energia
 N_α – População no nível de menor energia
 K – Constante de Boltzmann ($1,3806 \times 10^{-23} \text{JK}^{-1}$)
 T – Temperatura
 M_0 – Magnetização resultante ou magnetização de equilíbrio
 B_1 – Campo magnético oscilante
 M_z – Magnetização no estado estacionário
 R_1 – Inverso de T_1
 T_1 – Tempo de relaxação longitudinal
 T_2 – Tempo relaxação transversal
 t_1 – Tempo de aquisição
 d_1 – Tempo de reciclo
 θ – Ângulo formado pela magnetização com o eixo z
 t_p – Tempo de duração do pulso de rf
 M_x – Magnetização projetada no eixo x
 M_y – Magnetização projetada no eixo y
 τ – Intervalo entre os pulsos
 $I(\infty)$ - Número de pulsos sucessivos
 R^2 – Coeficiente de Determinação
 E – Energia potencial
 ϑ - Número quântico vibracional
 k – Constante de força ($\text{N} \cdot \text{m}^{-1}$)
 M – Massa reduzida
 ϑ_m - Frequência natural da oscilação
 $\bar{\vartheta}$ – Número de onda do pico de absorção (cm^{-1})
 c – Velocidade da luz ($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$)
 σ – Desvio padrão

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Composição do óleo de soja com os principais ácidos graxos.....	7
Tabela 2 - Parâmetros estatísticos utilizados para a construção do modelo 1 .	36
Tabela 3 - Parâmetros estatísticos utilizados para a construção do modelo 2 .	38
Tabela 4 - Parâmetros estatísticos utilizados para a construção do modelo 3 .	39
Tabela 5 - Parâmetros estatísticos utilizados para a construção do modelo 4 .	40
Tabela 6 - Principais resultados obtidos pelas curvas analíticas da técnica de RMN	47
Tabela 7 - Resultados obtidos pelo teste F	47
Tabela 8 - Principais resultados obtidos para a curva de calibração analítica pelas técnicas de FTIR/PLS e RMN de ¹ H.....	48
Tabela9 - Principais resultados obtidos para a curva de validação pelas técnicas de FTIR/PLS e RMN de ¹ H.....	51
Tabela 10 - Parâmetros estatísticos obtidos na curva analítica.	52
Tabela 11 - Teste F para comparação dos métodos utilizados na construção da curva analítica.	53
Tabela 12 - Parâmetros estatísticos obtidos com as amostras de validação....	53
Tabela 13 - Teste F para comparação dos métodos utilizados na construção da curva analítica.	54

INTRODUÇÃO

1. Introdução

O petróleo se tornou a principal fonte energética mundial, porém diversos fatores políticos, econômicos e ambientais têm levado à sua substituição por fontes renováveis de energia.^{1,2} Assim, a procura por novos combustíveis ambientalmente corretos que possam substituir os combustíveis fósseis tem crescido muito nas últimas décadas.

No início do século XIX, óleos vegetais foram testados e utilizados em motores do tipo diesel. Porém, por razões econômicas e técnicas, os óleos vegetais foram substituídos por diesel de petróleo. Entre 1930 e 1940, durante a II Guerra Mundial, houve a escassez do petróleo e um aumento exorbitante no preço do barril, o que fez com que alguns países substituíssem o diesel por óleos vegetais puros diretamente nos motores diesel em caráter emergencial. Durante a década de 1970, houve a crise do petróleo e com isso o Brasil iniciou um programa para a produção de etanol através da cana-de-açúcar conhecido como PROÁLCOOL. O objetivo desse programa era produzir álcool combustível em larga escala e com preços mais competitivos em relação à gasolina.^{1,3,4}

Atualmente, entre as medidas de incentivo à produção de álcool combustível, inclui-se a obrigatoriedade da mistura de álcool na gasolina que pode variar entre 18% e 25% de álcool anidro, sendo este percentual determinado pelo governo.⁵

Na atual conjuntura política e econômica, o petróleo continua sendo a principal fonte energética e permanece sendo um problema devido a aumentos sucessivos no preço do barril, à instabilidade política nas regiões onde se encontram as maiores reservas de petróleo e ao aumento da emissão de gases poluentes provenientes da queima deste combustível, principalmente em ambientes urbanos com grandes atividades industriais e grande frota de veículos. Diante destes problemas, houve a necessidade de se procurar novos combustíveis de caráter renovável que pudessem acompanhar o grande e acelerado aumento do desenvolvimento econômico e social do mundo, aliado à diminuição dos problemas ambientais.^{2,6}

Uma alternativa ambientalmente correta tem sido a substituição dos combustíveis fósseis por combustíveis obtidos a partir de fontes renováveis. O

uso de biomassa tem se mostrado um grande aliado para o desenvolvimento sustentável devido à sua biodegradabilidade, baixo custo, alta disponibilidade e também pela baixa emissão de gases poluentes para a atmosfera.⁷⁻⁹ Porém, a produção de biomassa em larga escala voltada para a produção de biocombustíveis pode ocupar áreas que normalmente são utilizadas para o cultivo de alimentos.²

O Brasil lidera a produção e o consumo de biodiesel no mundo, tendo chegado em 2010 a produzir 2,4 bilhões de litros, sendo que 18% do consumo total dos combustíveis líquidos são renováveis.⁵ Essa liderança é devida à extensa área agricultável, climas diferentes em todo o território e grandes reservas superficiais de água doce.¹⁰

Em 2005 o Brasil introduziu o biodiesel à matriz energética brasileira e o governo brasileiro instituiu que o biodiesel deve ser misturado em uma quantidade de 5% em volume no diesel, sendo este o percentual mínimo obrigatório que deveria ser colocado em um prazo de 8 anos. No entanto, esta meta foi antecipada e desde janeiro de 2010, pela Resolução da ANP nº 6/2009, todo o óleo diesel comercializado no Brasil deve conter 5% de biodiesel, o que demonstra que o programa que incentiva a produção do biocombustível tem sido um sucesso.^{5,11}

1.1 Objetivos

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia alternativa para análise de rendimento do biodiesel utilizando a ressonância magnética nuclear de hidrogênio (1,40 T) a baixo custo.

1.2 Objetivos Específicos

- Analisar diferentes amostras de biodiesel pelo método tradicional de titulação seguindo o procedimento padrão (Método AOCS Cd 3a-63);
- Analisar diferentes amostras de biodiesel por infravermelho médio, por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio usando magneto

supercondutor de 7,5 T e por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio utilizando um magneto de 1,40 T;

- Utilizar métodos quimiométricos (PLS) nos espectros obtidos por infravermelho médio para quantificar o rendimento da reação para produção de biodiesel;
- Comparar os resultados obtidos pelos diferentes métodos;
- Avaliar as vantagens da utilização da RMN em campo magnético de 1,40 T para o desenvolvimento de método de análise.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.3 Biocombustíveis

A utilização de combustíveis provenientes da biomassa tem sido incentivada por diversos países que assinaram o Protocolo de Quioto, com o objetivo de reduzir a emissão de gases poluentes que agravam o efeito estufa. Por isso, os países que cooperam com o Protocolo têm incentivado pesquisas com o intuito de se obter/desenvolver combustíveis a partir de fontes renováveis.^{10,12} De acordo com a Lei Federal nº 11.097/2005, o biodiesel é um derivado de biomassa renovável para ser utilizado em motores a combustão interna com ignição por compressão, ou para geração de outro tipo de energia que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil.⁵ O biodiesel pode ser obtido a partir de óleos e gorduras vegetais ou animais. Uma das vantagens advindas deste combustível é o fato de poder ser utilizado diretamente nos motores que funcionam com diesel comum sem modificações mecânicas, sendo o desempenho no motor praticamente o mesmo quando comparados a potência e o torque.^{13,14} Suas propriedades físico-químicas são similares às do diesel de petróleo (como número de cetano e viscosidade cinemática), não contém compostos de enxofre, libera menos material particulado, é biodegradável e não é tóxico.⁷

Boa parte das matérias-primas utilizadas para a produção de biodiesel são obtidas de fontes oleaginosas, mas estudos mostram que a utilização de resíduos domésticos, como o óleo de fritura, também permitem a produção de biodiesel, reduzindo a quantidade de rejeitos que deveriam ser descartados para o meio ambiente e aumentando a produção de biocombustíveis.² Os óleos vegetais podem ser extraídos de diversas sementes oleaginosas como a soja, o amendoim, o algodão, o girassol, o dendê, a canola, entre outros.^{15,16} Porém a produção desses óleos para serem usados como fontes energéticas podem competir diretamente com a produção de alimentos. Por isso, pesquisas mais recentes têm demonstrado que outras sementes não usuais de fontes oleaginosas – como a macaúba, a palma, o pinhão-manso e gorduras animais – substituem os óleos vegetais usuais para a produção de biodiesel.^{2,4}

Do ponto de vista físico-químico, óleos e gorduras são substâncias hidrofóbicas, podendo ser tanto de origem animal quanto vegetal. Possuem em suas estruturas ácidos graxos livres ou esterificados com glicerol, sendo chamados de acilglicerídeos. Os ácidos graxos se diferem pela quantidade de carbonos, presença de outros grupos funcionais e insaturações em sua cadeia. Dependendo da quantidade de ácidos graxos associados à molécula de glicerol, podem ser chamados de mono-, di- ou triacilglicerídeos.¹⁷ A principal diferença entre óleos e gorduras está no ponto de fusão, onde óleos são líquidos à temperatura ambiente e gorduras são sólidas. Isso acontece porque a gordura possui triglicerídeos saturados, que aumentam o efeito de empacotamento pelas interações de Van Der Waals, enquanto os óleos vegetais possuem uma ou mais insaturações que diminuem essas interações e, por consequência, seu ponto de fusão.¹⁸

Os óleos e gorduras provenientes de fontes vegetais ou animais apresentam em sua composição misturas de ácidos graxos de estruturas diferentes (Tabela 1), além de outros compostos como fosfolipídeos, esteróis, água e outras impurezas.¹ Além da matéria-prima, é necessário saber qual o processo que será utilizado para a obtenção do biodiesel. Os processos industriais mais utilizados envolvem a transesterificação ou esterificação. Dependendo do tipo de reação que será realizada para a produção de biodiesel, torna-se necessária a purificação das matérias-primas, como por exemplo, uma reação de esterificação que necessita de grande quantidade de ácidos graxos livres; já na transesterificação básica, uma grande quantidade de ácidos graxos livres leva à formação de sabões, o que diminui o rendimento da reação. Por isso deve-se utilizar um óleo ou gordura com baixa quantidade de ácidos graxos livres.

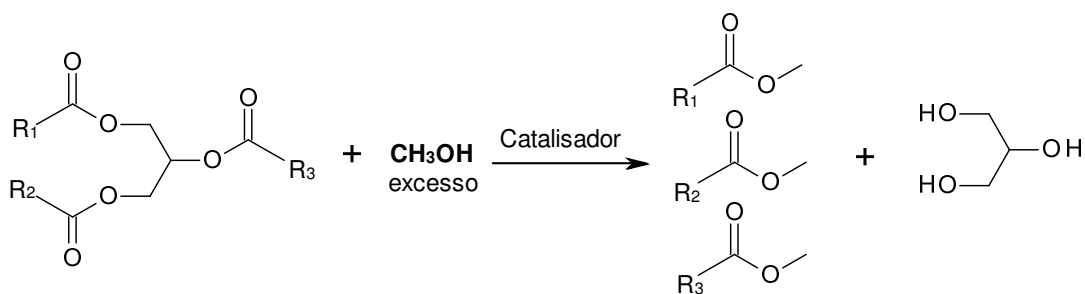
Tabela 1. Composição do óleo de soja com os principais ácidos graxos.

ÁCIDOS GRAXOS	ESTRUTURA	VALORES DE REFERÊNCIA (%)
-	C<14	< 0,1
Ácido Mirístico	C14:0	< 0,5
Ácido Palmítico	C16:0	7,0 - 14,0
Ácido Palmitoleico	C16:1	< 0,5
Ácido Esteárico	C18:0	1,4 - 5,5
Ácido Oleico (Ômega 9)	C18:1	19,0 - 30,0
Ácido Linoleico (Ômega 6)	C18:2	44,0 - 62,0
Ácido Linolênico (Ômega 3)	C18:3	4,0 - 11,0
Ácido Araquídico	C20:0	< 1,0
Ácido Eicosenoico	C20:1	< 1,0
Ácido Behênico	C22:0	< 0,5

Valores de Referência: RDC Nº482, de 23/09/1999, da Agência Nacional da Vigilância Sanitária - ANVISA.

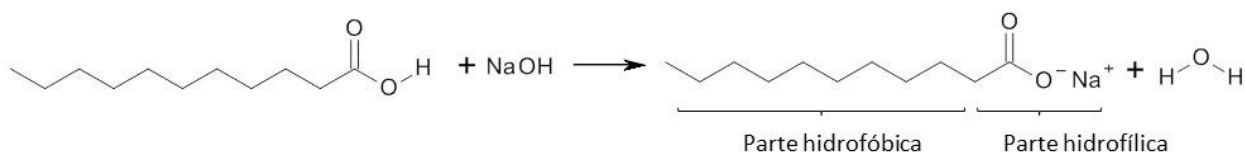
1.4 Processos de Obtenção de Biodiesel

O processo mais utilizado em indústrias para a obtenção do biodiesel é a reação de transesterificação catalítica, que consiste na reação de triacilglicerídeos com álcoois de cadeias curtas (metanol ou etanol) na presença de um catalisador para a formação de ésteres e glicerol.^{8,16} A reação se processa em três etapas consecutivas e reversíveis, formando monoacilglicerídeos e diacilglicerídeos como intermediários da reação. Por ser uma reação reversível, utiliza-se um excesso de álcool para deslocar o equilíbrio a favor dos produtos (Esquema 1).¹²



Esquema 1. Reação de transesterificação utilizando metanol como álcool.

Os catalisadores utilizados nesta reação podem ser ácidos, básicos ou enzimáticos. A catálise básica é a mais empregada em processos industriais por ser mais eficiente, possuir baixo custo e apresentar altos rendimentos.¹³ O tipo de catalisador utilizado influencia a separação ou a purificação do produto final. Os óleos utilizados como matéria-prima neste tipo de reação devem ser purificados e ter uma baixa quantidade de ácidos graxos livres (menos de 1%), já que estes ácidos graxos podem reagir com os catalisadores homogêneos básicos (como o NaOH), onde haverá a formação de sabões que geram emulsões e dificultam a separação dos produtos. Além disso, também pode consumir parte do catalisador no sistema, o que limita o método ao uso de óleos refinados com baixa quantidade de ácidos graxos livres e que, com isso, aumentam os custos de produção. As reações que utilizam catalisadores ácidos heterogêneos não são tão afetadas pela presença de ácidos graxos livres, já que não há formação de sabões. Porém este tipo de catalisador apresenta atividade muito inferior àquela observada para os catalisadores básicos, resultando em baixos rendimentos. (Esquema 2).^{13,19}



Esquema 2. Reação para a formação de sabões.

A reação de esterificação pode ser uma saída viável para a produção de biodiesel. Consiste na reação dos ácidos graxos com o álcool em excesso, levando à formação de ésteres de ácidos graxos e água. A matéria-prima utilizada deve ter grande quantidade de ácidos graxos livres, como o óleo bruto

de algumas palmeiras ou também a borra ácida oriunda de processos físicos de refino de óleos e gorduras.²⁰⁻²² Esta reação pode ser feita utilizando uma autoclave com uma matéria-prima rica em ácidos graxos e catalisador heterogêneo (alumina, óxido de estanho, ou alumina dopada com estanho e zinco).²³ Também pode ser utilizada como um pré-tratamento para a transesterificação, onde os ácidos graxos livres são convertidos em ésteres metílicos evitando, assim, a saponificação em uma etapa posterior de transesterificação homogênea básica.

A esterificação se processa em uma etapa (Esquema 3), enquanto a transesterificação passa por três etapas com mono- e diacilglicerídeos como intermediários, e também a presença de glicerol no meio reacional.^{22,24}



Esquema 3. Reação de esterificação utilizando metanol como álcool.

A esterificação pode ocorrer naturalmente devido à acidez de Brønsted dos ácidos graxos (auto-catálise da reação). No entanto, a reação é bastante lenta uma vez que, para esse caso, demora-se a atingir o equilíbrio. Como consequência, os rendimentos da reação são baixos ou demandam longos tempos reacionais para atingir o equilíbrio. Na esterificação direta, o produto final pode conter triglicerídeos, sendo necessário destilar o produto a baixa pressão e alta temperatura para purificação do produto final.^{2,25}

A utilização de catalisadores ácidos homogêneos – como o H_2SO_4 – nas reações de esterificação diminuem o tempo de reação, mas causam corrosividade em equipamentos além de dificultar a separação dos produtos.²⁰

Os catalisadores heterogêneos ácidos têm sido bastante estudados com o objetivo de otimizar os processos para a obtenção do biodiesel desde que possuam alta atividade, sejam de fácil separação do meio reacional, possam ser reutilizados, não apresentem corrosividades aos equipamentos e que aumentem o rendimento final, já que são pouco afetados por grandes concentrações de ácidos graxos.^{12,19}

O rendimento das reações e a pureza do produto final devem passar por um controle de qualidade, obedecendo normas pré-estabelecidas. O método mais comumente utilizado para obter o rendimento das reações é a titulação ácido-base com solução de KOH (Método AOCS Cd 3a-63). Métodos cromatográficos, baseados em cromatografia gasosa (CG), também são utilizados e regidos por normas americanas (ASTM D 6751 e D6584), ou por normas européias (EN 14105 ou 14214).

Estudos mostram que a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) também pode ser usada para quantificação.²⁶ No entanto, estes métodos cromatográficos são lentos e utilizam grande quantidade de solventes ou gases, elevando os custos de análise. Por isso, outros métodos têm sido estudados com o objetivo de se otimizar o processo para a quantificação. Como, por exemplo, os métodos espectroscópicos na região do infravermelho próximo e médio (FTNIR e FTIR)^{12,27-34}, ou também a ressonância magnética nuclear de hidrogênio³⁵⁻⁴⁴ (RMN de ¹H).

A espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) é uma técnica simples e rápida para a obtenção de resultados, o equipamento é de fácil operação e não há destruição da amostra analisada. Esta técnica associada à quimiometria tem sido utilizada para quantificar o teor de biodiesel em blends com diesel³¹ e também no monitoramento de reações e quantificação do rendimento final. Algumas propriedades do biodiesel como viscosidade cinemática³², densidade³⁰ e índice de iodo³⁴ também podem ser avaliadas por esse tipo de espectroscopia.

A técnica de FTNIR já foi usada para monitorar reações de transesterificação e também para quantificação do produto obtido, que foi feita pelo método de mínimos quadrados parciais (PLS) sendo utilizadas as regiões espectrais em 6005 cm⁻¹ e 4430 – 4425 cm⁻¹, que são relacionadas aos triglicerídeos do óleo de soja e aos ésteres metílicos, respectivamente.²⁸ A técnica de FTNIR também já foi utilizada associada à RMN de ¹H. Foi observada uma boa correlação entre os resultados de FTNIR e RMN de ¹H, onde, para os espectros de RMN, foram feitas integrações dos picos relacionados aos ésteres de metila (3,6 ppm) e dos hidrogênios do CH₂ ligado ao grupo acila (2,3 ppm).²⁹ A FTNIR associada com a RMN de ¹H pode também

ser utilizada para quantificar o teor de biodiesel em diesel modificando a região espectral do NIR (4800 – 4600 cm^{-1}).³⁰

Alguns estudos descrevem a quantificação por RMN de ^1H dos rendimentos em reações de transesterificação como também a identificação dos intermediários de reação.^{28,41} Este tipo de quantificação é feita normalmente utilizando o pico relacionado ao éster metílico em 3,6 ppm. Outros trabalhos, no entanto, mostram que a quantificação pode ser feita também pela integração dos grupos $\alpha\text{-CH}_2$ ligados à acila, onde, à medida que a reação ocorre, há um pequeno deslocamento do tripleto no espectro relacionado ao $\alpha\text{-CH}_2$.⁴⁵

Mello *et al.*²³ verificaram o rendimento de reações de esterificação utilizando catalisadores heterogêneos por RMN de alta resolução. Nesse caso, a integração do pico relacionado ao éster metílico foi correlacionada com outras áreas referentes a outros hidrogênios da cadeia, como os hidrogênios olefínicos (5,30 – 5,46 ppm) e com os alifáticos (0,84 – 2,78 ppm). Os resultados mostraram boa correlação entre as intensidades das áreas integradas.²³

1.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é um método espectroscópico observado inicialmente em 1946 pelos pesquisadores Felix Bloch e Edward Purcell de forma independente, onde eles demonstraram que os núcleos absorvem radiação eletromagnética em um campo magnético intenso, como consequência do desdobramento de níveis de energia induzido pelo campo magnético. Para isso, observaram sinais de absorção de radiofrequência (*rf*) da água e da parafina respectivamente. Em 1952 ganharam o prêmio Nobel de Física por essa descoberta. Outras descobertas que levaram à melhoria desta técnica foram feitas nos anos seguintes^{10,46-50}.

Atualmente a RMN é usada para a identificação de misturas e na elucidação estrutural desde moléculas simples às mais complexas, como polímeros ou biopolímeros, estudos de cinética de reações químicas e também em aplicações industriais como o monitoramento de reações para a formação

do biodiesel e análises quantitativas do rendimento sem recorrer a pré-tratamentos ou qualquer tipo de separação física entre amostras.^{40,51}

1.5.1 Fundamentos de Ressonância Magnética Nuclear

As técnicas que envolvem espectroscopia molecular ocorrem devido à interação entre a luz e a matéria em função do comprimento de onda (λ). A espectroscopia de RMN ocorre devido à interação dos núcleos atômicos com a radiação eletromagnética pela presença de um campo magnético, onde a energia é absorvida ou emitida de acordo com a equação de Planck:

$$\Delta E = h\nu \tag{1.1}$$

Onde:

ΔE = variação da energia entre o estado final e o inicial da matéria.

h = Constante de Planck ($6,626068 \times 10^{-34} \text{m}^2 \cdot \text{Kg} \cdot \text{s}^{-1}$)

ν = Frequência da radiação (Hz)

A princípio, em 1924, Linus Pauling sugeriu que se alguns núcleos atômicos com propriedades de spin e momento magnético fossem expostos a um campo magnético haveria um desdobramento de níveis de energia. Porém apenas alguns núcleos atômicos se comportam como pequenos dipolos magnéticos. Isso ocorre quando o núcleo apresenta uma rotação do núcleo em torno do seu eixo, conhecido como momento angular de spin. O momento angular de spin é expresso pelo número quântico de spin (I), que determina o número máximo de componentes de spin para um núcleo. De acordo com a teoria quântica, a componente do momento angular é quantizada e possui módulo, direção e sentido, e os valores dos números quânticos devem ser inteiros, semi-inteiros ou zero. O núcleo possui $2I+1$ estados discretos, e a componente do momento angular desses estados em qualquer direção terá valores de $I, I-1, I-2, \dots, -I$. Um núcleo com spin $I=1/2$ gera, na presença de um campo magnético, dois níveis de energia onde os spins separados podem se posicionar parcialmente a favor ou parcialmente contra o campo magnético. O

ângulo que determina essa direção de orientação é quantizado e determinado pela Mecânica Quântica. Assim, os spins inicialmente randomicamente orientados, passam a ter orientação definida, levando à formação de diferentes níveis energéticos. Esta separação dos níveis de energia por um campo magnético é chamado de Efeito Zeeman.^{10,46,51} Figura 4:

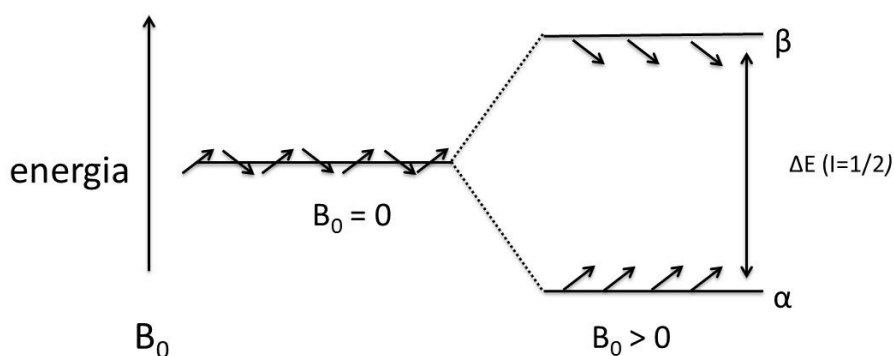


Figura 1. Esquema representativo dos níveis de energia de um núcleo com $I=1/2$ quando estão expostos ao campo B_0 . Adaptado da referência 10.

A diferença de energia das moléculas ocasionada pelas transições entre os níveis de energia pode ser calculada pela Equação 1.2⁴⁶:

$$\Delta E = \frac{h\gamma B_0}{2\pi} \quad (1.2)$$

A distribuição da população de spins é feita entre o estado fundamental e o estado excitado, dado pela distribuição de Boltzmann (Equação 1.6).

$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = \exp\left(\frac{\Delta E}{kT}\right) \quad (1.6)$$

Onde:

N_β = População no nível de maior energia β

N_α = População no nível de menor energia α

k = Constante de Boltzmann ($1,3806 \times 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$)

T = Temperatura (K)

Nas condições experimentais, observa-se por esta equação que a diferença de energia ΔE é muito pequena entre os estados α e β , o que resulta em apenas um pequeno excesso de população no estado de menor energia (α), que determina a probabilidade de ocorrer uma transição. Pela diferença de população origina-se a magnetização resultante (M_0), que é a soma vetorial de todos os momentos magnéticos (μ) que precessam em torno de B_0 (Equação 1.7).¹⁰

$$M_0 = \sum \mu \quad (1.7)$$

Como consequência da pequena diferença de população, a técnica de RMN, apesar de uma ferramenta poderosa para elucidação estrutural, caracteriza-se por sua baixa sensibilidade.⁵¹

Quando um núcleo eletricamente carregado gira em torno do seu eixo nuclear, cria-se um campo magnético análogo ao campo produzido que leva a um momento magnético nuclear (μ). Este momento que está orientado no eixo do spin é proporcional ao momento angular de spin (ρ). A constante de proporcionalidade é chamada constante magnetogírica (γ) ou razão magnetogírica, e representa a razão entre o momento magnético nuclear e o momento angular de spin. Por isso, essa constante apresenta valores diferentes para cada tipo de núcleo, segundo a Equação 1.3:

$$\mu = \gamma \rho \quad (1.3)$$

A RMN ocorre quando um núcleo com momento magnético não-nulo ($I \neq 0$) é colocado em um campo magnético externo (B_0) resultando em uma interação entre o μ e o campo B_0 . Essa interação incita a orientação do spin em relação ao campo B_0 de forma que passa a precessar em torno da direção de B_0 com frequência angular (ω_0), conhecida como frequência de Larmor (Figura 5). Essa frequência é proporcional ao campo magnético B_0 e também à razão magnetogírica (Equação 1.4).⁵¹

$$\nu = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (1.4)$$

A frequência de Larmor é idêntica à frequência da radiação absorvida obtida a partir das considerações da Mecânica Quântica. A velocidade angular de precessão é dada pela Equação 1.5:

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (1.5)$$

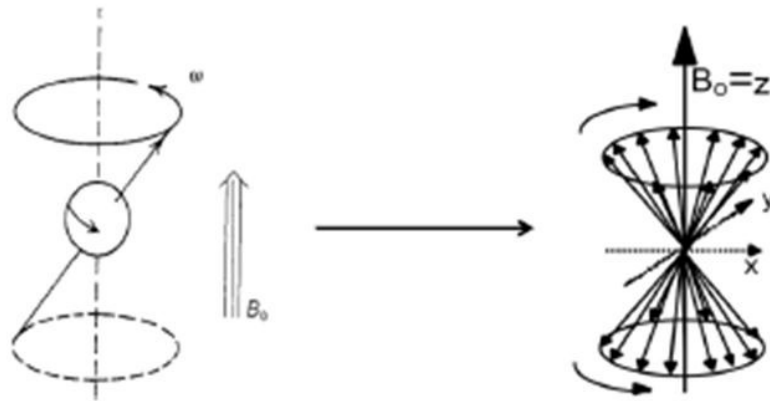


Figura 2. Representação da precessão dos spins na presença do campo magnético B_0 .
Figura retirada da referência 54.

O comportamento da magnetização em um campo magnético pode ser descrito através de vetores representados pelas coordenadas z , x e y , onde a coordenada z representa a magnetização (M_0) alinhada ao campo magnético B_0 . Considera-se que o plano xy gira em torno do eixo z (direção de B_0), com frequência de rotação idêntica ao do pulso de rf aplicado (Figura 6).⁵¹

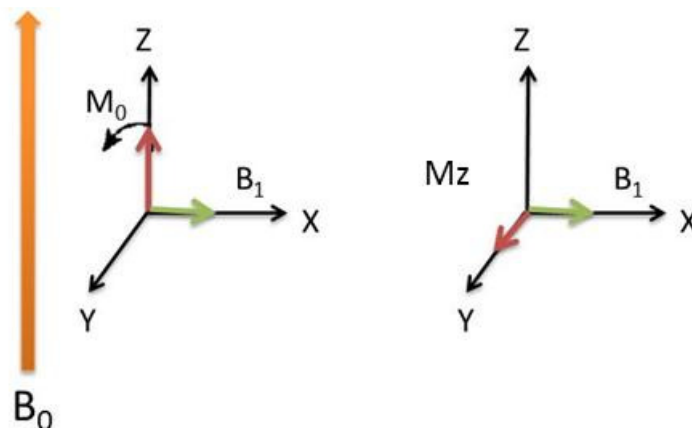


Figura 3. Magnetização resultante após a aplicação de um pulso de 90° .
Figura adaptada da referência 10.

Ao aplicar o campo B_1 (região das radiofrequências na direção $+x$, o vetor de magnetização (M_0) que estava na direção $+z$ sofre um torque, o que leva o vetor a sair do equilíbrio e girar em torno do eixo y , alterando a distribuição da população de Boltzmann induzindo as transições simultâneas entre os níveis α e β e, conseqüentemente, modificando o módulo da magnetização resultante denominada M_z . O ângulo entre o eixo z e M_z varia proporcionalmente à duração do pulso de rf incidido da amostra bem como a magnitude de B_1 .⁵¹ (Equação 1.8):

$$\theta = \gamma B_1 t_p \quad (1.8)$$

Onde:

θ = ângulo formado pela magnetização com o eixo z ;

t_p = tempo de duração do pulso de rf ;

B_1 = intensidade do campo de rf .

Depois de aplicado o pulso, os spins nucleares tendem a voltar para a situação inicial de equilíbrio, passando a precessar novamente em torno de B_0 . O decaimento do sinal até a situação de equilíbrio é detectado e conhecido como FID (*Free Induction Decay*).⁵¹

Imediatamente após um pulso de 90° , a magnetização está no estado excitado, sendo a componente longitudinal z nula ($M_z = 0$) e a componente transversal (M_{xy}) igual à magnetização de equilíbrio M_0 . O processo de retorno dos spins à situação de equilíbrio ($M_z=M_0$ e $M_{xy}=0$) é chamado relaxação, e envolve dois processos distintos e simultâneos: a relaxação longitudinal (T_1), onde a magnetização de equilíbrio se recupera ao longo da direção z , e a relaxação transversal (T_2), que se recupera ao longo do plano xy .⁵¹

1.5.2 Relaxação Longitudinal

A relaxação longitudinal é caracterizada por um decaimento exponencial de primeira ordem cuja constante de tempo é denominada R_1 ($1/T_1$), que é uma medida do tempo de vida médio dos núcleos no estado de maior energia. Esta medida de tempo depende da razão magnetogírica do núcleo e pode ser

afetada fortemente pela mobilidade da rede. Por exemplo, caso a amostra seja um sólido cristalino ou um líquido viscoso, as mobilidades da rede são pequenas aumentando o T_1 . À medida que a mobilidade cresce, as frequências vibracionais e rotacionais aumentam, e assim aumenta a probabilidade para ocorrer o processo de relaxação e, por consequência, o valor de T_1 diminui. ⁴⁶

No instante inicial ($t=0$) em que a amostra é colocada em um campo magnético estático B_0 , todos os níveis energéticos estão igualmente povoados e o sistema não se encontra em equilíbrio. Para atingir o equilíbrio, o sistema de spins diminui a intensidade e transfere o excesso de energia potencial magnética para a rede na forma de energia cinética molecular. Para que isso ocorra, é necessária uma interação entre o sistema de spins e a rede. ⁵¹

A transferência de energia ocorre pela existência de momentos magnéticos oscilatórios produzidos pelos movimentos vibracionais e rotacionais de moléculas vizinhas que oscilam em frequências próximas às de Larmor para que a rede seja capaz de absorver essa energia. Este processo é conhecido como relaxação longitudinal ou como relaxação *spin-rede*. ⁵¹

A técnica mais utilizada para medir T_1 , é a sequência denominada inversão-recuperação. Nesta técnica ocorre a inversão da magnetização através de um pulso de 180° , e em seguida aguarda a recuperação da magnetização durante um determinado período de tempo τ , em que ocorre a relaxação. Como existe magnetização apenas em z, todo o processo de relaxação será puramente longitudinal. Logo em seguida, para se obter o valor da magnetização longitudinal $M_z(\tau)$, aplica-se um pulso de 90° no mesmo eixo para determinar a intensidade do sinal que foi gerado durante o tempo de aquisição (t_1). O grau de recuperação de M_z , de $-M_0$ a $+M_0$ depende do tempo de relaxação T_1 e de τ . (Equação 1.9).

$$M_z(\tau) - M_0 = -2M_0 \exp\left(\frac{-\tau}{T_1}\right) \quad (1.9)$$

Onde:

$M_z(\tau)$ – Valor da magnetização longitudinal em um tempo τ

M_0 – Magnetização resultante ou magnetização de equilíbrio

τ – Intervalo entre pulsos

T_1 – Tempo de relaxação longitudinal

d_1 – Tempo de reciclo

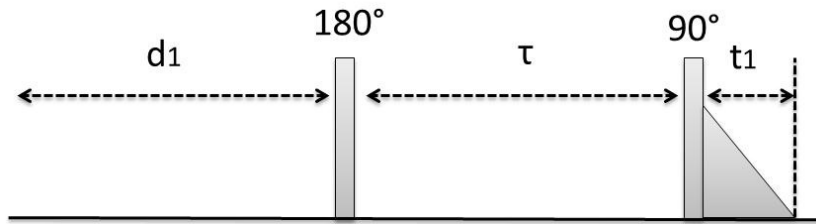


Figura 4. Representação da sequência de pulsos utilizada na técnica de inversão-recuperação. Figura adaptada da referência 51.

Como a intensidade é proporcional a $M_z(\tau)$, e $I(\infty)$ é proporcional a M_0 obtêm-se a Equação 1.10:

$$I(\tau) = I(\infty) \left[1 - 2 \exp\left(-\frac{\tau}{T_1}\right) \right] \quad (1.10)$$

Onde:

$I(\tau)$ —Intensidade do sinal em um tempo τ .

$I(\infty)$ - Intensidade medida proporcional à magnetização de equilíbrio.

Os valores de T_1 são obtidos através de um gráfico semilogarítmico ou exponencial dos valores experimentais $I(\tau)$ para diferentes valores de τ , análogo ao que se observa na Figura 8.

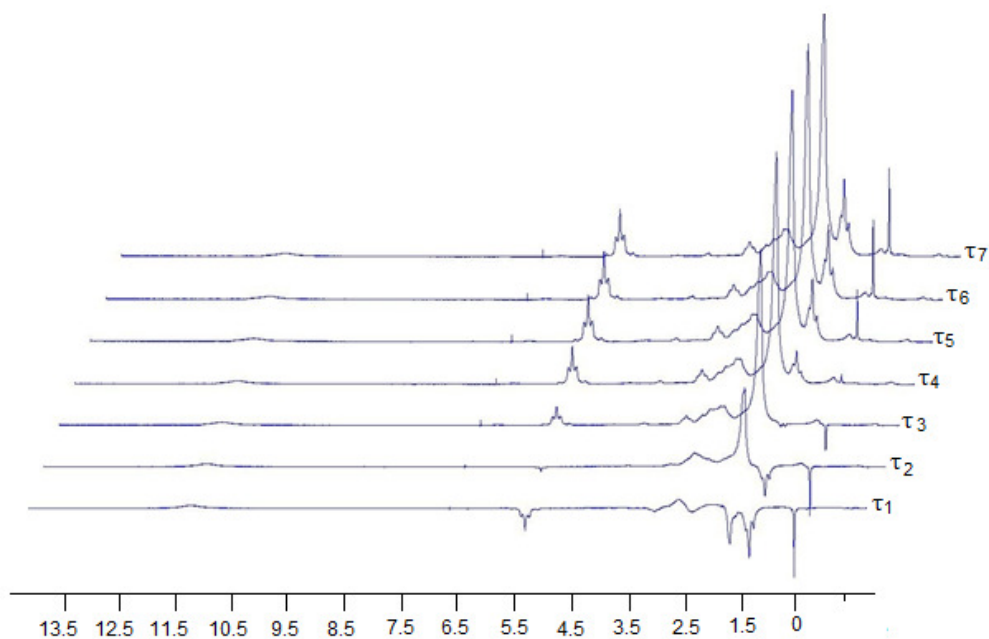


Figura 5. Evolução temporal da magnetização longitudinal do espectro de hidrogênio de uma amostra de ácido graxo em função da variável τ .

Para medidas quantitativas, o valor de T_1 é fundamental para que se tenha corretamente o valor de área de cada pico. A aquisição de vários FID's é importante para que, se somados ao final, possam aumentar a razão sinal-ruído.⁵¹

1.5.3 Análise de Ressonância Magnética Nuclear Quantitativa (q-NMR)

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear é um método primário de análise e pode ser utilizado para a quantificação de diversos produtos. Para realizar a quantificação, é importante que a substância seja inerte e com baixa volatilidade, já que durante o tempo de aquisição a concentração da substância pode ser afetada.⁵²

Um dos métodos para realizar a quantificação por RMN é a integração do sinal referente à parte que se deseja quantificar. Na integração do sinal deve-se levar em conta a intensidade do sinal, que é diretamente proporcional ao número de núcleos que absorvem naquela determinada frequência e também a concentração molar. Essa é uma grande vantagem para a RMN em relação a outros métodos espectroscópicos em análises quantitativas, já que métodos como infravermelho necessitam de um fator de resposta como a absorvidade molar para fazer a quantificação.⁵³

O pico que será utilizado para a quantificação deve ser separado de outros picos. Sinais sobrepostos dificultam a integração dos sinais. Outro fator que interfere na quantificação são os satélites de carbono-13 que podem aparecer sobrepostos ou bem próximos aos picos que serão utilizados na integração. Um modo para que não haja interferência seria a subtração dos sinais referentes aos satélites ou fazer um desacoplamento heteronuclear.

As integrais da RMN são calculadas pela soma das intensidades dos dados que definem a região que será integrada. Para isso é importante que tenha uma linha base com intensidade baixa para que não haja interferência na quantificação.⁵³

A análise quantitativa pode ser também afetada pela falta de homogeneidade do campo magnético. Por isso é importante que se tenha um campo magnético homogêneo (realizando o *shimming*).

Durante a aquisição dos espectros, o intervalo entre os pulsos depende do maior tempo de relaxação (T_1) do sinal que será integrado. Normalmente espera-se um tempo de 5 vezes o valor de T_1 entre os pulsos para que a magnetização possa relaxar completamente.

O número de aquisições (*scans* ou transientes) melhora a relação sinal/ruído para que a área do pico seja mais precisa, retirando ruídos que interferem na integração. Em amostras concentradas pode-se utilizar 8 scans para reduzir interferência relacionadas a pulsos imperfeitos.⁵³

1.6 Radiação Infravermelha

A radiação infravermelha se encontra entre a região do visível e das micro-ondas no espectro eletromagnético e possui números de onda num intervalo de 12.800 a 10 cm^{-1} , sendo dividida, de acordo com a aplicação, em infravermelho próximo (12.800 a 4.000 cm^{-1}), médio (4.000 a 200 cm^{-1}) e distante (200 a 10 cm^{-1}).⁵⁵

A absorção da radiação infravermelha ocorre quando a molécula sofre uma variação no momento de dipolo elétrico (μ) relacionada ao movimento vibracional ou rotacional. O campo elétrico interage com a molécula e causa pequenas variações de energia entre dois estados vibracionais, modificando a amplitude de seus movimentos.^{46,56}

O momento de dipolo é ocasionado pela diferença de carga distribuída entre os átomos e a distância entre os dois centros de carga, que vibram resultando no surgimento de um campo elétrico alternado que interage diretamente com o campo elétrico oscilante da radiação infravermelha. Nas transições rotacionais ocorre a rotação de moléculas assimétricas em torno de seus centros de massa, gerando uma variação regular no momento de dipolo possibilitando a absorção da radiação, que ocorrem em frequências inferiores a 100 cm^{-1} . Em gases, as absorções são caracterizadas por linhas discretas, separadas e bem definidas no espectro. No caso de líquidos e sólidos, essa

rotação é muito restrita e os picos observados no espectro para estes estados são largos, devido a absorções na região do infravermelho médio.⁵⁵

No infravermelho médio ocorrem as transições vibracionais fundamentais, que envolvem o estado fundamental e o primeiro estado vibracional excitado, onde ocorrem as frequências dos grupos funcionais.⁵⁵

As vibrações moleculares podem ser de dois tipos: (i) o estiramento, onde há uma variação da distância entre os átomos da molécula ao longo do eixo de ligação, que pode ser simétrico ou assimétrico; e (ii) as deformações, que ocorrem pela variação do ângulo entre duas ou mais ligações, podendo ser no plano ou fora do plano. Nas ligações de um mesmo átomo central, podem ocorrer interações ou acoplamentos de vibrações resultando em algumas variações nas características das vibrações envolvidas⁴⁶ (Figura 9).

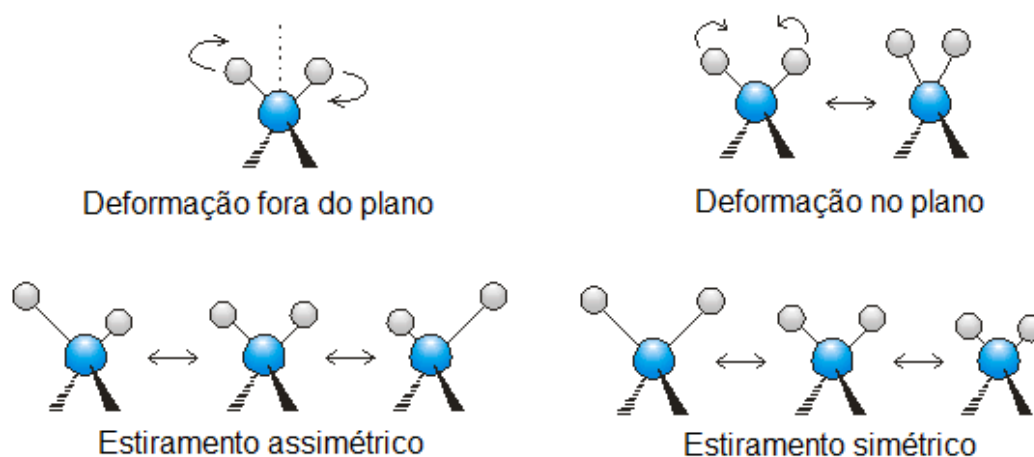


Figura 6. Tipos de modos vibracionais.

Figura adaptada da referência 55.

A vibração de estiramento de uma molécula diatômica pode se relacionar a um movimento rítmico ao longo do eixo da ligação, como em um sistema massa-mola (conhecido como oscilador harmônico). As equações da mecânica clássica não conseguem descrever a energia vibracional quantizada nas moléculas, mas a Mecânica Quântica pode descrever melhor o comportamento dos átomos. A solução para a energia potencial em um oscilador harmônico⁴⁶ pode ser descrita pela Equação 2.1:

$$E = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{M}} \quad (2.1)$$

Onde:

E – Energia potencial

ν – Número quântico vibracional (somente com valores positivos e inteiros)

k – Constante de força (N. m⁻¹)

M – Massa reduzida

h = Constante de Planck (6,626068 x 10⁻³⁴ m².Kg.s⁻¹)

Temos que:

$$E = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) \nu_m \quad (2.2)$$

Onde:

$$\nu_m = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{M}} \text{ – Frequência natural da oscilação. }^{12,46}$$

A frequência natural de oscilação (ν_m) é igual à frequência da radiação que vai causar as transições entre os níveis de energia expressa em número de onda, conforme Equação 2.3 ^{12,46}:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{M}} \quad (2.3)$$

Onde:

$\bar{\nu}$ – Número de onda do pico de absorção (cm⁻¹)

c – Velocidade da luz (cm.s⁻¹)

k – Constante de força (N. m⁻¹)

M – Massa reduzida

A vibração molecular descrita pela Mecânica Clássica e a Quântica de um oscilador harmônico é imperfeita porque nas moléculas reais ocorre a repulsão coulombiana entre dois núcleos. Assim, a energia potencial cresce mais rapidamente no oscilador harmônico do que no modelo, e quando os átomos estão afastados há uma diminuição da força de restauração e também da energia potencial.^{12,46}

1.6.1 Métodos Quimiométricos

A quimiometria consiste basicamente no desenvolvimento e utilização de métodos estatísticos, matemáticos e gráficos para a análise de dados químicos ou para facilitar a sua interpretação. Pode-se também desenvolver procedimentos experimentais que forneçam diversas informações químicas relevantes pela análise de dados.

Com o desenvolvimento de técnicas instrumentais mais avançadas e também em melhorias de computadores para a realização de cálculos estatísticos e matemáticos complexos visando fornecer respostas rápidas e mais precisas, a análise de dados foi aprimorada. Hoje em dia existem diversas ferramentas quimiométricas que podem ser utilizadas, sendo duas delas bastante usadas: a PCA (Análise por Componentes Principais) e a PLS (Regressão por Mínimos Quadrados Parciais).⁵⁸

A PCA reduz a quantidade de dados nas mais diversas variáveis através de uma manipulação na matriz. A redução desses dados é feita por um novo sistema de eixos, conhecido por componentes principais, que representará as amostras multivariadas em um número menor de coordenadas. As novas coordenadas das amostras são chamadas de *scores*, e os pesos, que indicam a importância das variáveis, denominados de *loadings*.⁵⁸

A PCA pode detectar amostras que não correspondem bem ao modelo, conhecidas como *outliers* que podem prejudicar o desempenho do modelo. Ela consiste num método de decomposição matricial que projeta os dados originais em um espaço menor sem perda significativa de informação original, mantendo as informações mais importantes e relevantes, podendo, assim, serem facilmente interpretadas. Já a PLS, que utiliza a mesma técnica de

decomposição matricial, se diferencia da PCA porque utiliza as informações das concentrações das amostras de calibração na decomposição (**Y**) de forma que maximiza a covariância entre a matriz do Eixo (**X**) e o vetor (**Y**), originando uma variável latente. ⁵⁸

1.6.1.1 Calibração Multivariada

A quimiometria se destina a fazer análises de dados químicos multivariados, onde é permitido medir diversas variáveis simultaneamente em uma determinada amostra e também quando ocorrer superposição de sinais. ¹² A utilização de ferramentas quimiométricas facilita o monitoramento de reações e de qualidade de produtos, onde aliada aos métodos espectroscópicos tem demonstrado uma boa precisão nos resultados, utilizando uma pequena quantidade de amostra e baixo custo de análise sem necessidade de destruí-las. ²⁸

Na quimiometria utilizam-se normalmente duas etapas no desenvolvimento dos modelos: a calibração e a validação. A calibração visa em correlacionar as medidas de forma quantitativa usando amostras com valores conhecidos e representativos da propriedade de interesse (conjunto de calibração), criando assim um modelo de calibração.

Na validação dos modelos de calibração realizam-se análises com o intuito de determinar o valor da propriedade de interesse para uma amostra ou amostras que não foram utilizadas na construção do modelo. Para isso, as amostras que serão utilizadas como conjunto de calibração deve cobrir uma faixa extensa da propriedade de interesse para que se tenha um modelo de análise mais estável. As amostras não devem mostrar colinearidade, ou seja, elas devem ser independentes e todas elas devem ter experimentado as mesmas condições, para diminuir o erro de análise. ¹²

Na construção do modelo de calibração multivariada utiliza-se uma maior quantidade de amostras em relação à calibração univariada, o que permite o estudo de sistemas com diversas espécies presentes. Para compor o conjunto de dados, estes são organizados em forma de matrizes sendo uma matriz de variáveis independentes (**X**) e uma matriz de variáveis dependentes

(**Y**). No entanto, os dados possuem ruídos e informações desnecessárias que podem atrapalhar a obtenção dos resultados. Neste caso, decompõe-se as matrizes em variáveis latentes, que agregam as informações mais relevantes em um número menor de variáveis para facilitar o entendimento dos dados, e em outra matriz se concentram os ruídos (matriz residual).¹²

Existem diversos tipos de pré-processamento de dados, que tem como objetivo a melhora do modelo de calibração. Alguns dos pré-processamentos utilizados neste trabalho são:

- *Centrar na média*: Muito utilizado na construção de modelos com dados espectrofotométricos, que consiste na subtração do valor de cada de cada elemento de uma determinada coluna pelo valor médio dos elementos dessa coluna.
- *Normalização de vetor*: Pode ser usada para corrigir a variação espectral advinda da espessura das amostras submetidas à radiação infravermelha.
- *Subtração de linha reta (SLS, da sigla em inglês)*: Reduz as inclinações do espectro melhorando a linha base.
- *1ª derivada*: Calcula a 1ª derivada do espectro onde ela é capaz de medir a inclinação da curva. Realça sinais de baixa intensidade e amplifica os ruídos.
- *Correção do sinal ortogonal (OSC, da sigla em inglês)*: usada para reduzir o número de informações do espectro que não são relacionadas às variáveis alvo na análise das componentes principais.⁵⁹

1.6.1.2 Validação dos Modelos

O modelo feito para a calibração será usado para analisar amostras desconhecidas. Existem dois tipos de validação: a validação cruzada e a validação por grupo teste.

1.6.1.2.1 Validação Cruzada

Na validação cruzada retira-se uma amostra ou um conjunto de amostras do conjunto de calibração para testar o modelo e o restante das amostras são utilizadas para criar o modelo de calibração. Esse processo se repete até que todas sejam testadas. A vantagem de se utilizar a validação cruzada é que se utiliza uma quantidade reduzida de amostras, principalmente quando o número de amostras é limitado e com isso determinam o número de variáveis latentes.¹²

1.6.2.2 Validação por Grupo de Teste

Na validação por grupo de teste utilizam-se dois grupos com amostras independentes, sendo um para calibração e o outro para validação do modelo, possibilitando maior confiança em relação ao nível de exatidão e a estabilidade do modelo. No conjunto que será utilizado para a validação, as amostras devem ter concentrações conhecidas e não podem ser usadas na construção do modelo de calibração.¹²

METODOLOGIA

2. Metodologia

2.1 Reagentes

As amostras padrão foram preparadas utilizando óleo de soja refinado da marca Cargill, obtido em comércio local e usado como recebido. Outros reagentes utilizados foram obtidos da VETEC Química Fina LTDA e SYNTH. Todos os reagentes foram utilizados sem tratamento prévio.

Os ácidos graxos foram preparados a partir do óleo de soja por saponificação com hidróxido de sódio (NaOH) seguida de acidificação com ácido clorídrico (HCl). A purificação foi feita por lavagem com água destilada e depois foi feita a secagem com sulfato de magnésio anidro (MgSO₄).

2.2 Preparação das Amostras Padrões

As amostras padrões foram preparadas com misturas de ácidos graxos e de ésteres metílicos com quantidades conhecidas à temperatura ambiente. Os ácidos graxos foram obtidos por saponificação e os ésteres metílicos por transesterificação utilizando-se NaOH como catalisador. Primeiramente, as concentrações de ácidos graxos e de ésteres metílicos puros foram determinados por titulação, onde se utilizou 0,3 g de amostra dissolvida em uma solução de tolueno e álcool isopropílico (1:1, v/v) e titulados com uma solução de KOH em metanol (0,1 M) utilizando fenolftaleína como indicador. Todas as análises foram feitas em triplicata. Os resultados obtidos indicaram o índice de acidez de cada amostra. Para os cálculos considerou-se que o ácido graxo puro seria 100% e o biodiesel teria 0% de acidez. As amostras foram preparadas com as seguintes concentrações: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 e 100% de biodiesel (m/m). As amostras padrão foram preparadas utilizando-se uma balança semi-analítica (Mettler± 0,001g).

2.3 Preparação das Amostras Reais

As amostras reais foram preparadas pela reação de esterificação utilizando-se um reator de aço inoxidável com capacidade de 100 mL, com uma barra magnética para a agitação e um termopar para medir a temperatura. A síntese do biodiesel foi feita com ácidos graxos obtidos por saponificação do óleo de soja e com alumina comercial como catalisador. A fim de se obter diferentes rendimentos, foram feitas diversas reações em temperaturas de 150 °C e 180 °C, variando-se o tempo de reação em 5, 10, 15, 30 e 60 minutos, com diferentes concentrações de catalisador (0,5% e 1,0%) e também com diferentes proporções molares de ácidos graxos e metanol (3:1, 5:1, 7:1, AG:Metanol).

Após colocar os ácidos graxos e o catalisador no reator, esperou-se a temperatura estabilizar para adicionar o metanol e assim contabilizar o tempo. O reator foi então retirado da chapa de aquecimento e aberto para esfriar. O produto foi colocado em uma centrífuga para separar o catalisador sólido. As amostras ficaram armazenadas no congelador (-22 °C) quando não estavam em uso. As amostras foram identificadas com um código onde a letra A significa que as amostras foram preparadas a temperatura de 180 °C e a letra B a 150 °C. Em seguida coloca-se o tempo da reação (05, 10, 15, 30 e 60 minutos), o tipo de catalisador (1 se foi 1 % de catalisador e 2 se foi 0,5 %) e por fim a proporção molar de ácidos graxos (3, 5 ou 7).

Os rendimentos foram analisados por titulação (método AOCS 3a-63), por espectroscopia de FTIR e por RMN de ¹H (7,05 T e 1,40 T), conforme descrito nos itens 3.4 e 3.5, respectivamente.

2.4 Análise por Infravermelho (FTIR)

As amostras foram analisadas em um equipamento SHIMADZU IR PRESTIGE-21 (FTIR-8400S) utilizando-se uma célula de ATR (Attenuated Total Reflectance) horizontal à temperatura ambiente, onde foram feitas 32 varreduras. A região espectral utilizada foi de 4000 a 600 cm⁻¹. A quantificação foi feita utilizando os programas OPUS-NT versão 3.1 da Bruker, que possui o

aplicativo Quant 2 (PLS 1) para elaborar os modelos de calibração PLS. Foram feitas 3 curvas de calibração variando-se a quantidade de amostras e a região espectral utilizada para a quantificação. Também foi utilizado o programa UNSCRAMBLER versão 10.1 da CAMO, onde foi feita apenas uma curva de calibração. Para o modelo 1 foram utilizadas 29 amostras para a calibração e 36 amostras para a validação. Nos outros métodos foram utilizadas 58 amostras para a calibração e 22 amostras para a validação.

2.5 Análise por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H)

2.5.1 RMN de ^1H – 7,05 T.

Os espectros de RMN de alta resolução foram obtidos em um espectrômetro Mercury Plus de 7,05 T (300 MHz para hidrogênio), utilizando-se uma sonda de 5 mm de diâmetro. Os espectros foram adquiridos a temperatura ambiente, utilizando-se 0,05 mL de amostra, 0,6 mL de clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solvente e tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Foram adquiridos 12 scans e o tempo de reciclo d_1 foi de 20 s, considerando-se os valores obtidos para os tempos de relaxação T_1 dos hidrogênios das amostras, que foram medidos utilizando-se a sequência inversão-recuperação.^{23,49}

2.5.2 RMN de ^1H – 1,40 T.

Os espectros de RMN em baixa resolução foram adquiridos em um espectrômetro EFT Anasazi 1,40 T (60 MHz para hidrogênio). As análises foram feitas em sondas de 5 mm de diâmetro utilizando-se 0,5 mL de amostra e uma gota de TMS como padrão interno. Não foi necessária a utilização de solvente. O tempo de reciclo d_1 utilizado foi de 20 s, tendo sido adquiridos 12 scans. A deconvolução de alguns picos foi feita com o software NUTS PRO da ANASAZI.

2.5.3 Teste F

O teste F foi usado para comparar as variâncias dos desvios-padrões das técnicas espectroscópicas utilizadas para a determinação dos ésteres metílicos das amostras. Realizou-se um cálculo utilizando os valores de desvio-padrão dos métodos (s_1 e s_2) e usando a relação (s_1^2/s_2^2), calculado de forma que o valor de s_1 utilizado seja maior que o de s_2 (para que $F > 1$). Se o valor de F experimental for maior que o valor de F tabelado, o desvio padrão (s_1) é diferente estatisticamente de s_2 . Caso seja o contrário, não há diferença significativa. O valor do teste F depende da quantidade de amostras, do nível de significância e do tipo de ensaio realizado.²³

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. Resultados e Discussão

3.1 Análises por Infravermelho (FTIR)

As Figuras 7 e 8 apresentam espectros de misturas de algumas amostras padrão e algumas amostras reais, respectivamente, onde as amostras padrão estão representadas de forma decrescente em relação a concentração de ésteres metílicos, e as amostras reais estão de forma aleatória.

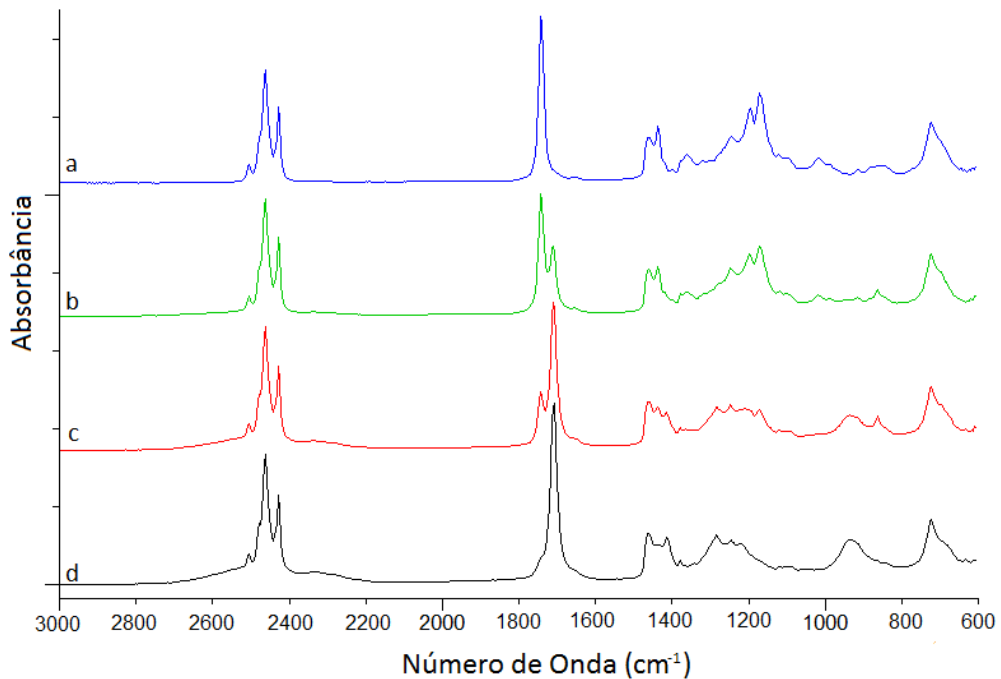


Figura 7. Espectros de infravermelho de algumas amostras-padrão: (a) biodiesel 100%; (b) biodiesel 70%, ácido graxo 30%; (c) biodiesel 25%, ácido graxo 75%; (d) ácido graxo 100%.

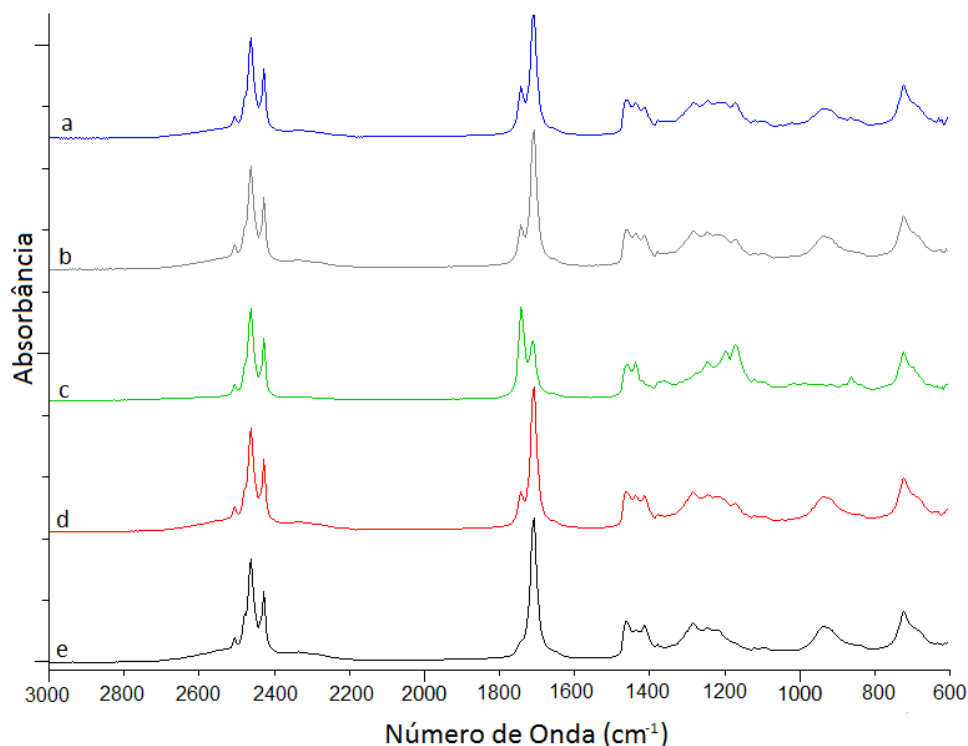


Figura 8. Espectros de infravermelho das amostras reais: (a) B1527; (b) B1523; (c) A6027; (d) A0523; (e) Ácido graxo.

As maiores diferenças nos espectros de FTIR-ATR foram observadas nas regiões de $1000\text{-}850\text{ cm}^{-1}$, que corresponde à deformação fora do plano O-H relacionada às ligações de hidrogênio ou dímeros; de $1200\text{-}1080\text{ cm}^{-1}$, que corresponde ao estiramento assimétrico C-C(=O)-O e O-C-C; 1400 cm^{-1} , que corresponde à deformação da ligação C-O-H, e à região entre $1800\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$, que mostra duas absorções relacionadas às vibrações intensas do estiramento C=O da acila dos ácidos graxos (1710 cm^{-1}) e dos ésteres metílicos (1740 cm^{-1}) que absorvem em frequências próximas. O deslocamento da absorção dos ésteres metílicos e do ácido graxo é bem visível quando há misturas das substâncias, sendo possível observar o crescimento de um pico e o decréscimo de outro. Quando há uma quantidade maior de ésteres metílicos na mistura, observa-se a formação de um pico mais intenso em 1200 cm^{-1} relacionado ao estiramento assimétrico da ligação C(=O)-O-CH₃ e a diminuição da absorção na região de $1000\text{-}850\text{ cm}^{-1}$, relacionada à deformação fora do plano O-H.

3.1.1 Parâmetros Estatísticos do Modelo PLS/FTIR

Os parâmetros estatísticos para a construção dos modelos PLS/FTIR para ésteres metílicos estão representados nas Tabelas de 2 a 5. Nos modelos foram utilizadas diferentes quantidades de amostras para a calibração e também para a validação.

Na construção da curva analítica para o modelo 1, foram detectados alguns pontos que estavam bastante dispersos conhecidos como *outliers*, que elevaram o erro associado à calibração. A detecção deste tipo de amostra é muito importante para a construção da curva de calibração para que o modelo que será criado não tenha erros com valores altos e baixa capacidade de previsão. Por isso, as amostras que foram consideradas como amostras anômalas foram excluídas, já que poderiam influenciar nos resultados dos testes de validação com as amostras reais. Foram utilizadas 6 variáveis latentes na construção deste modelo.

Tabela 2. Parâmetros estatísticos utilizados para a construção do modelo 1.

Componente	Região Espectral (cm ⁻¹)	Pré-processamento	Calibração			Validação		
			R ²	σ	RMSEE	R ²	σ	RMSEP
Ésteres Metílicos	3288,6 a 2750,5 e 1139,9 a 869,9	Primeira derivada + normalização vetorial	0,9998	0,17	0,49	0,9994	0,56	0,69

Na validação cruzada aplicou-se o modelo construído para a calibração. Neste caso foi necessário excluir 11 amostras que apresentaram valores de rendimentos muito diferentes quando comparados aos valores de referência. Figura 10.

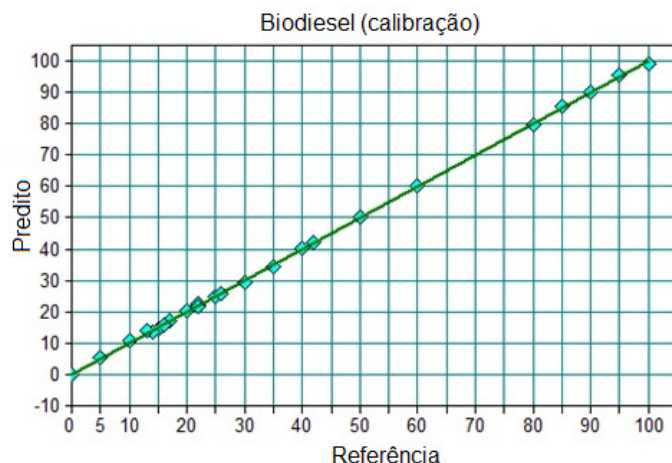


Figura 9. Curva de calibração analítica para o modelo 1.

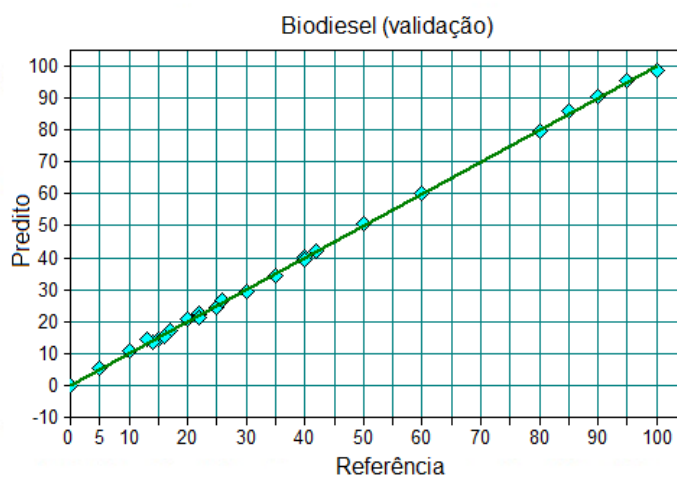


Figura 10. Curva de validação para o modelo 1.

Observa-se que o erro associado a predição (RMSEP) e o erro associado a estimação (RMSEE) foram pequenos neste modelo. A retirada de algumas amostras ajustou as curvas de calibração e validação e fez com que as amostras analisadas tivessem resultados compatíveis aos observados pelo método de referência.

Na construção da curva analítica do modelo 2, utilizou-se toda a região espectral para a quantificação, com todo o conjunto de amostras, onde não foi considerado nenhum *outlier*. Essa curva demonstrou que os pontos considerados como *outliers* no modelo 1 não apresentaram grandes diferenças em relação aos resultados finais no modelo 2, mesmo com o erro associado a calibração e ao erro associado a validação sendo maiores. Neste modelo foram

utilizadas duas variáveis latentes. Os principais dados na construção da curva analítica para o modelo 2 estão na tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros estatísticos utilizados para a construção do modelo 2.

Componente	Região Espectral (cm ⁻¹)	Pré-processamento	Calibração			Validação		
			R ²	σ	RMSEE	R ²	σ	RMSEP
Ésteres Metílicos	Todo o espectro	Subtração de linha reta (SLS)	0,9933	2,29	2,01	0,9919	3,54	2,16

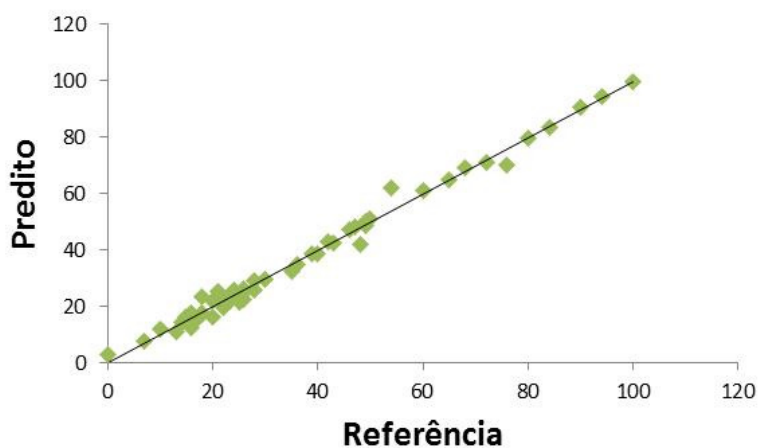


Figura 11. Curva de calibração analítica para o modelo 2.

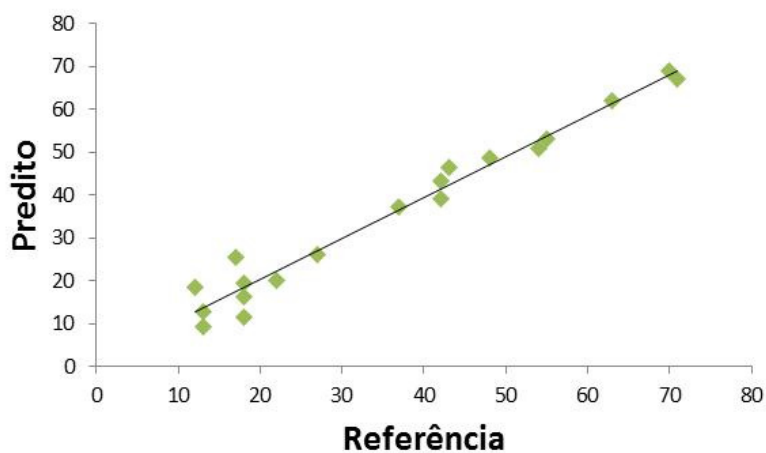


Figura 12. Curva de validação para o modelo 2.

A diferença entre os modelos 2 e 3 está apenas na região espectral utilizada na quantificação, o que gerou uma curva analítica com erro associado a calibração e a validação mais baixos que o modelo 2.

Tabela 4. Parâmetros estatísticos utilizados para a construção do modelo 3.

Componente	Região Espectral (cm ⁻¹)	Pré-processamento	Calibração			Validação		
			R ²	σ	RMSEE	R ²	σ	RMSEP
Ésteres Metílicos	1606,7 a 1826,6	Constant Offset Elimination (COE)	0,9935	2,21	1,98	0,9926	3,22	2,06

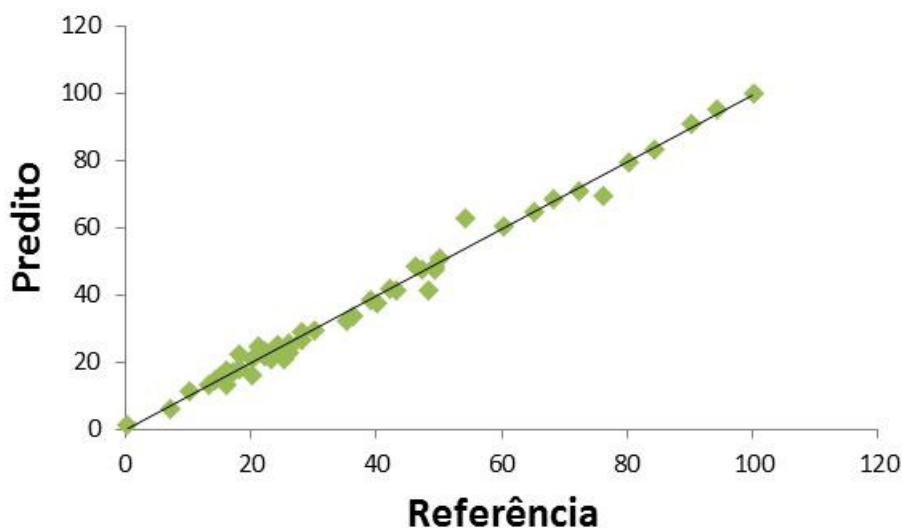


Figura 13. Curva de calibração analítica para o modelo 3 .

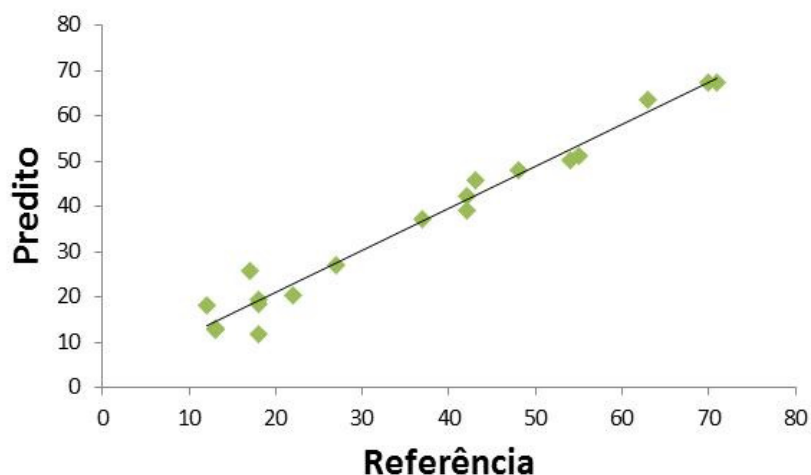


Figura 14. Curva de validação para o modelo 3.

O modelo 4 foi feito com um software diferente e utilizando toda a região espectral para a quantificação, mudando o pré-processamento utilizado. Este modelo apresentou um erro associado a calibração mais baixo que os outros modelos e utilizando apenas uma variável latente, mas o erro associado a validação e os desvios-padrão foram altos, quando comparados aos outros modelos.

Tabela 5. Parâmetros estatísticos utilizados para a construção do modelo 4.

Componente	Região Espectral (cm ⁻¹)	Pré-processamento	Calibração			Validação		
			R ²	σ	RMSEE	R ²	σ	RMSEP
Ésteres Metílicos	Todo o espectro	Correção do sinal ortogonal (OSC)	0,9988	3,31	0,85	0,9716	3,75	3,49

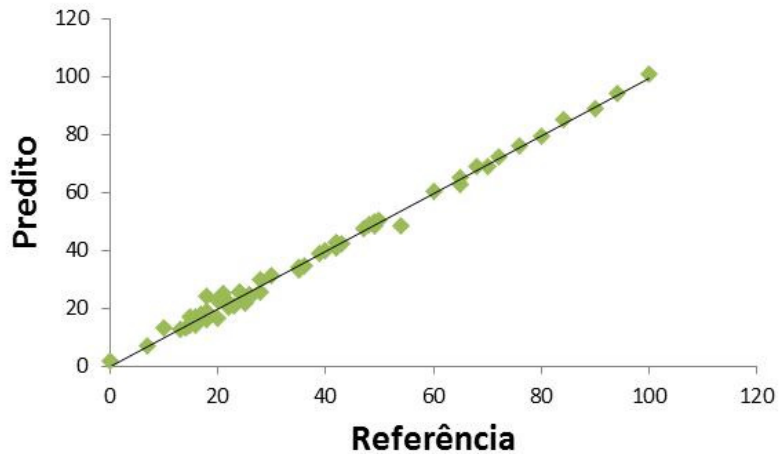


Figura 15. Curva de calibração analítica para o modelo 4.

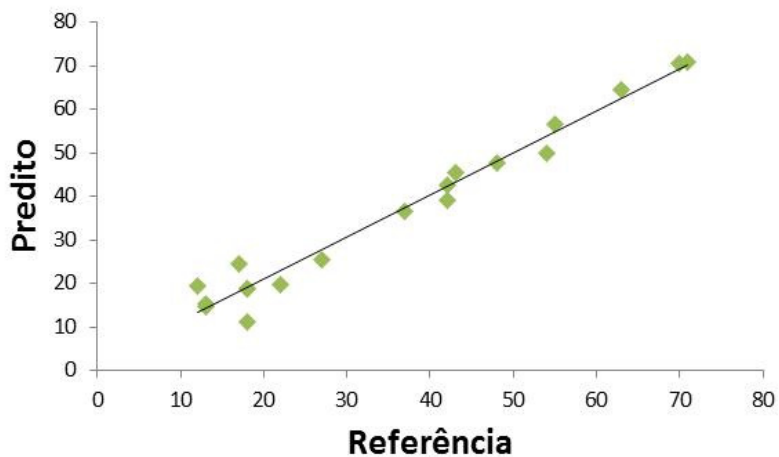


Figura 16. Curva de validação para o modelo 4.

Neste modelo, as amostras que estão com concentrações menores se ajustaram melhor na curva analítica de calibração devido ao uso do pré-processamento de correção do sinal ortogonal. Porém esse pré-processamento faz a decomposição singular dos dados brutos e com isso as amostras que foram utilizadas para a validação não foram bem tratadas como o modelo gerado, já que as amostras não se ajustaram bem a curva de validação. Por isso o erro associado a validação e o desvio padrão foram maiores.

3.2 Espectros de RMN de ^1H

3.2.1 RMN de ^1H – 7,05 T.

Os espectros do óleo e do biodiesel apresentaram picos relacionados aos hidrogênios olefínicos (5,46-5,27 ppm, multipletto) e aos hidrogênios alifáticos (2,78-2,67 ppm, multipletto; 2,30 ppm, triplete; 2,12-1,96 ppm, multipletto; 1,68-1,56 ppm, multipletto; 1,42-1,22 ppm, multipletto; 0,98 ppm, triplete; e 0,92-0,83 ppm, multipletto), todos parte da cadeia e que não variam durante a reação de esterificação.

A única diferença observada entre os espectros do ácido graxo e do éster metílico de soja corresponde ao simpleto observado em 3,67 ppm, associado aos hidrogênios do grupo metoxila do éster metílico. As posições dos outros picos estão de acordo com trabalhos publicados anteriormente.^{23,29,45} (Figura 16). Assim, para a quantificação do teor de biodiesel foram integradas as áreas dos hidrogênios olefínicos da cadeia (assumindo o valor de 1,00), relacionando-os à área integrada referente ao grupo metoxila dos ésteres metílicos.

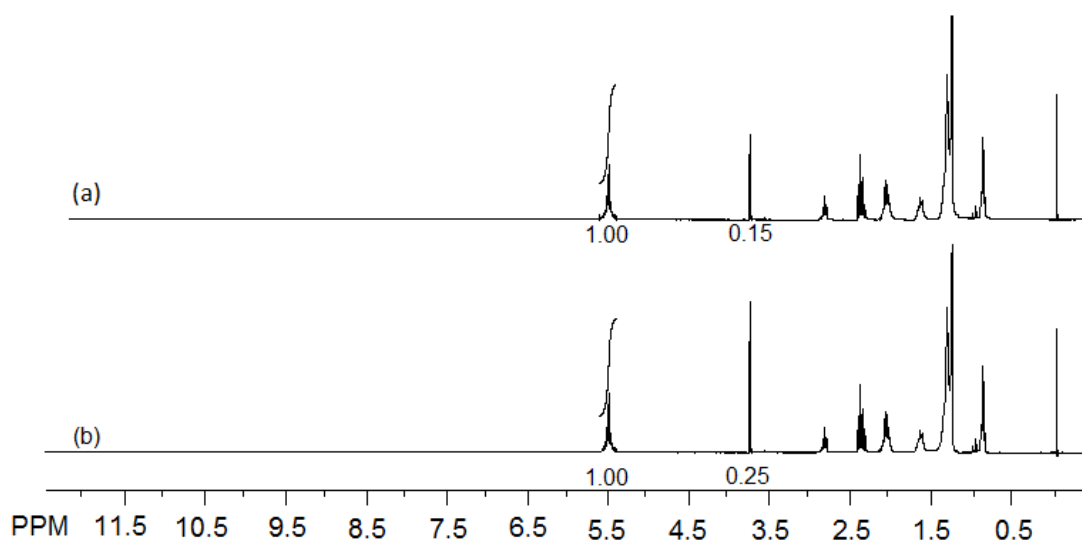


Figura 17. Comparação entre os espectros de RMN de ^1H de 300 MHz das amostras: (a) A0517 e (b) B3015.

3.2.2 RMN de ^1H – 1,40 T

Diferentemente dos espectros obtidos no equipamento de 300 MHz, onde se observa uma boa resolução espectral e maior dispersão dos sinais – o que facilita o assinalamento –, os espectros obtidos no equipamento de 60 MHz apresentam maior superposição dos sinais, como é esperado para um equipamento de menor campo. Ainda assim, as regiões de interesse (grupo metoxila em 3,67 ppm e a região dos hidrogênios olefínicos) podem ser integradas facilmente, já que estes picos não estão sobrepostos em outros. Algumas amostras apresentam nos espectros obtidos pequenos picos referentes ao metanol utilizado na preparação das amostras e, para esses casos, foi necessário fazer a deconvolução do sinal referente ao grupo metoxila. Os satélites de carbono-13 aparecem nos espectros de RMN o que poderia causar problemas para as medidas quantitativas. Porém não foi necessário fazer o desacoplamento dos satélites de carbono-13 já que as áreas dos satélites foram utilizadas na integração. Nos espectros de 60 MHz, apresentados na Figura 17, o hidrogênio ácido ligado à hidroxila da carbonila foi observado por volta de 11 ppm, e esse pico não é observado nos espectros de 300 MHz. Isso se deve ao fato de que o ambiente químico das amostras foi diferente para cada análise: as amostras que foram utilizadas no RMN de 300 MHz foram preparadas utilizando-se solvente e, por isso, houve a permuta intermolecular entre os hidrogênios ácidos da amostra e os átomos de deutério do solvente. Para as análises no RMN de 60 MHz, não foi utilizado solvente no preparo das amostras e, portanto, não houve troca, o que possibilita o aparecimento do sinal dos hidrogênios ácidos da amostra.

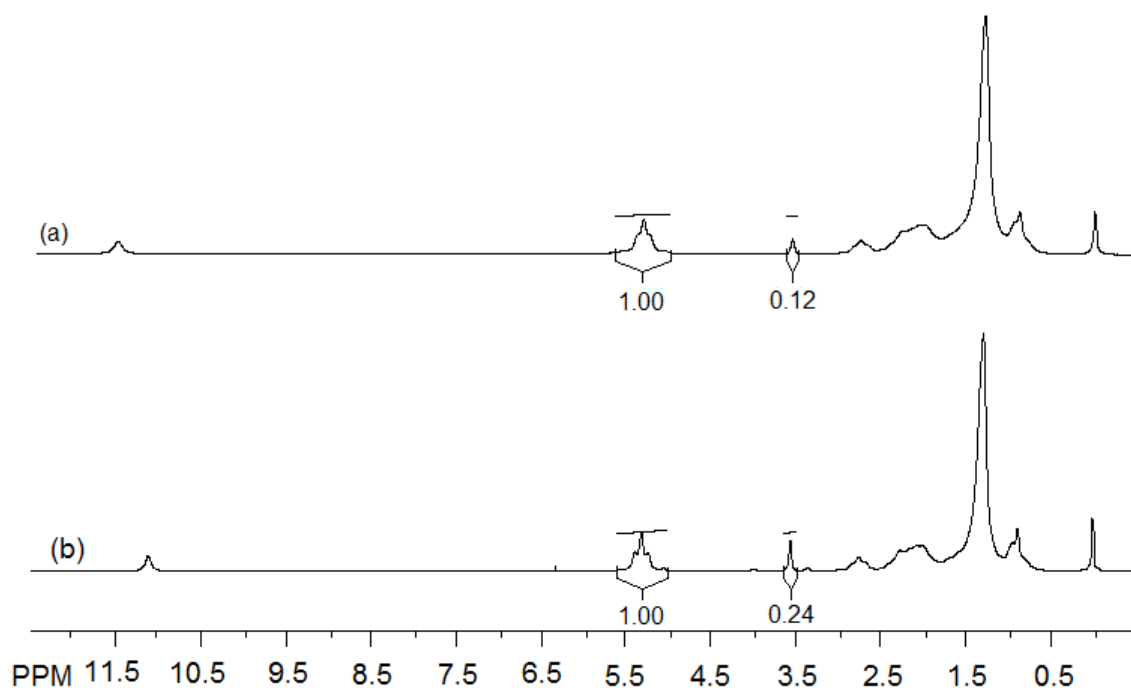


Figura 18. Comparação entre os espectros de RMN-¹H de 60 MHz das amostras: (a) A0517 e (b) B3015.

3.3 Comparação entre os resultados obtidos por RMN 7,05 T e RMN 1,40 T com o método tradicional (Método AOCS 3a-63)

A curva analítica foi gerada plotando-se os valores dos rendimentos reacionais das técnicas de titulação (método AOCS 3a-63), RMN de ¹H 1,40 T e RMN-¹H 7,05 T. Observa-se que os valores apresentaram uma boa correlação. Os resultados são apresentados nas figuras de 19 a 24 e na Tabela 6.

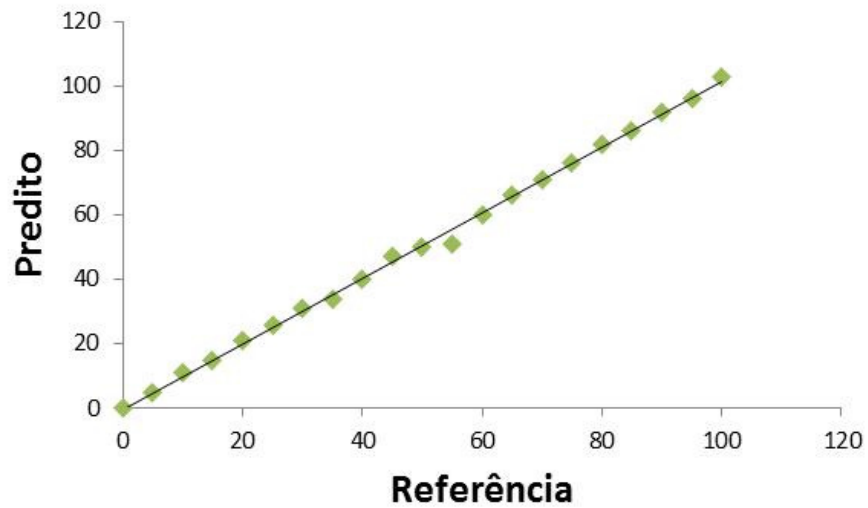


Figura 19. Curva analítica obtida com as amostras padrão no RMN de 60 MHz.

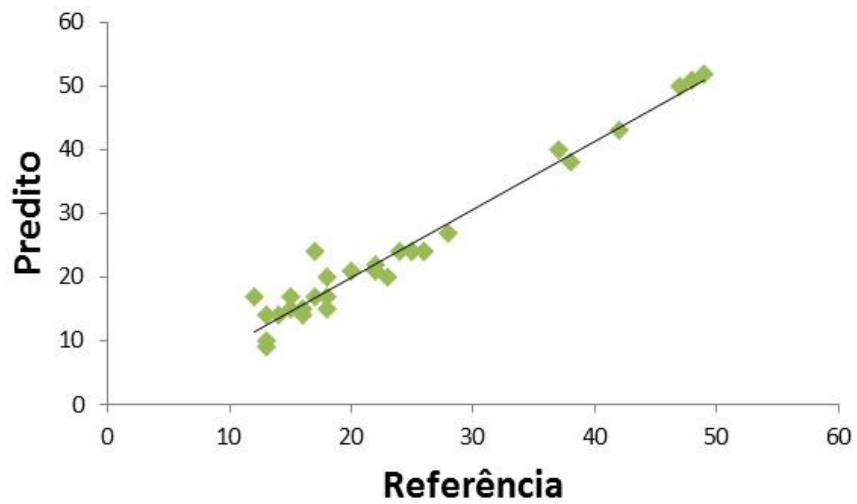


Figura 20. Curva analítica obtida com as amostras preparadas a 150 °C no RMN de 60 MHz.

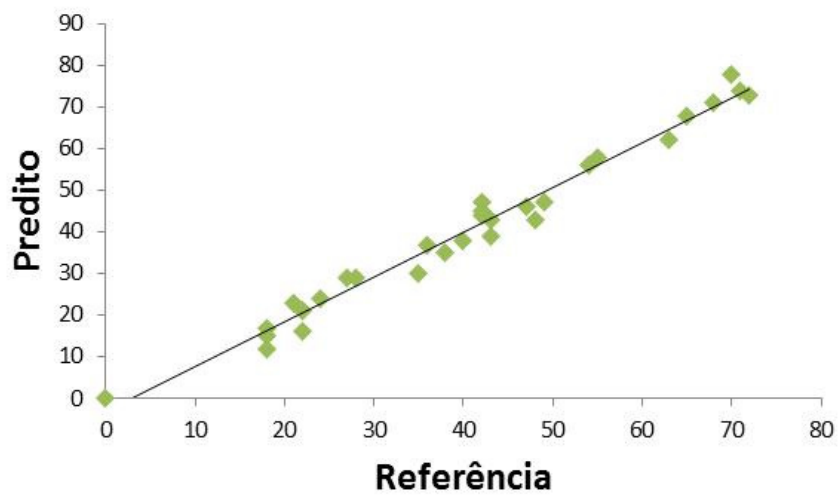


Figura 21. Curva analítica obtida com as amostras preparadas a 180 °C no RMN de 60 MHz.

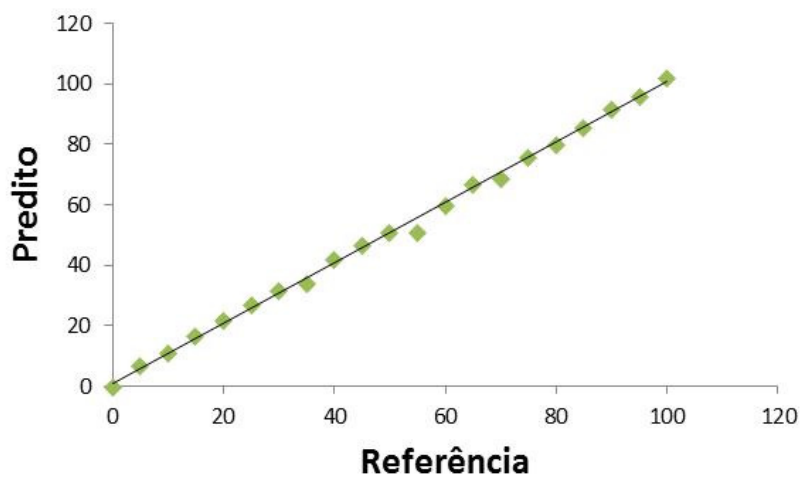


Figura 22. Curva analítica obtida com as amostras padrão no RMN de 300 MHz.

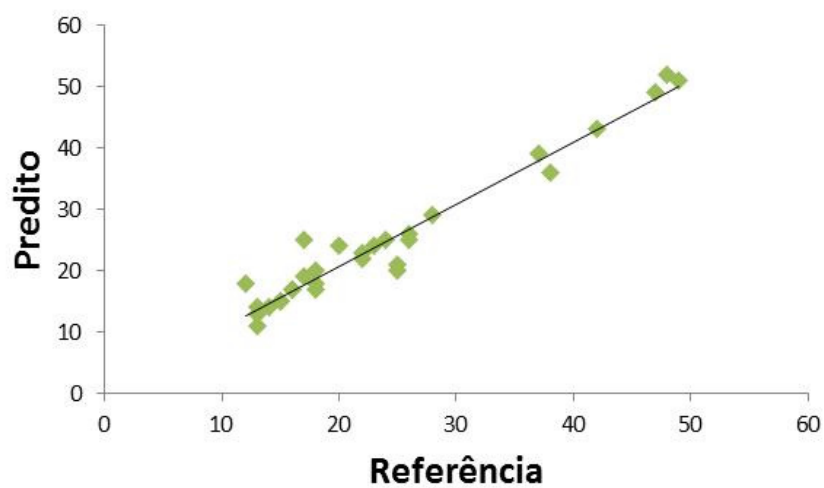


Figura 23. Curva analítica obtida com as amostras preparadas a 150 °C no RMN de 300 MHz.

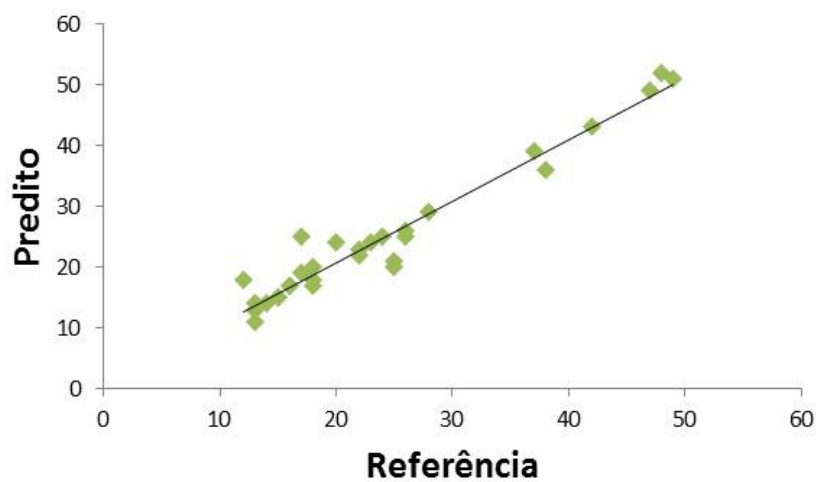


Figura 24. Curva analítica obtida com as amostras preparadas a 180 °C no RMN de 300 MHz.

Tabela 6. Principais resultados obtidos pelas curvas analíticas da técnica de RMN.

Metodologia	Amostras Padrão		150 °C		180 °C	
	σ	R^2	σ	R^2	σ	R^2
RMN de ^1H (60 MHz)	0,60	0,9981	1,41	0,9792	1,18	0,9481
RMN de ^1H (300 MHz)	0,65	0,9977	1,75	0,9685	1,44	0,9243

Foi realizado o teste F para se comparar os valores obtidos pela titulação (valores de referência) e os valores obtidos pelas técnicas de RMN de ^1H de 1,40 T e de 7,05 T. Para a curva das amostras padrão foram utilizadas 21 amostras, e para as curvas das amostras reais foram utilizadas 30 amostras em cada; o número de graus de liberdade para as amostras padrão foi de 20 e para as amostras reais foram 29.

De acordo com os valores do teste F todas as curvas apresentaram um valor de desvio padrão abaixo do valor de F tabelado, indicando que estes métodos são estatisticamente concordantes a um nível de 95 % de confiança.

Tabela 7. Resultados obtidos pelo teste F.

Curva	Teste F	F tabelado
Amostras Padrão	1,19	2,24
150 °C	1,53	1,94
180 °C	1,50	1,91

3.4 Comparação entre os métodos de RMN e FTIR

Em seguida, construiu-se uma curva de calibração analítica dos resultados obtidos pelas técnicas de RMN (1,40 T e 7,05 T), utilizando as mesmas amostras que foram utilizadas para a construção das curvas analíticas dos modelos de Infravermelho e também as mesmas amostras utilizadas para a curva de validação. Foram utilizadas 58 amostras para fazer a curva analítica de calibração e 22 para a validação. Os dados de titulação foram então comparados com os dados obtidos pela RMN de ^1H 1,40 T, RMN de ^1H 7,05 T e pelo modelo de PLS/FTIR. Os resultados são apresentados nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8. Principais resultados obtidos para a curva de calibração analítica pelas técnicas de FTIR/PLS e RMN de ¹H.

Amostras	Titulação	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4	RMN 60 MHz	RMN 300 MHz
A0523	18	17	18	18	18	17	17
A0525	43	42	42	42	43	43	43
A0527	22	21	20	22	22	21	22
A1013	22	23	23	23	22	21	22
A1023	21	24	25	25	21	23	23
A1025	36	38	35	34	36	37	37
A1513	28	27	26	27	28	29	29
A1523	24	26	25	25	24	24	26
A1525	42	42	43	42	42	44	42
A1527	40	39	39	38	40	38	38
A3025	49	49	48	48	49	47	48
A6013	65	-	65	65	65	68	62
A6023	68	69	69	69	68	71	69
A6025	72	73	71	71	72	73	78
B0513	14	13	14	15	14	14	14
B0517	17	17	15	17	17	17	19
B0523	13	14	11	13	13	14	13
B1013	15	14	15	16	15	17	15
B1015	16	15	14	15	16	15	17
B1017	18	17	17	18	18	17	17
B1023	25	22	23	24	25	24	21
B1027	16	16	18	18	16	14	17
B1515	20	-	16	16	20	21	24
B1517	22	21	23	23	22	21	22

Continuação da Tabela 8.

Amostras	Titulação	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4	RMN 60 MHz	RMN 300 MHz
B1523	22	20	21	22	22	22	23
B1525	25	-	22	21	25	24	20
B1527	28	29	29	29	28	27	29
B3013	23	23	21	21	23	20	24
B3015	24	25	26	25	24	24	25
B3017	18	23	23	23	18	20	18
B3023	26	24	25	24	26	24	25
B3025	26	26	26	26	26	24	26
B3027	15	17	16	16	15	15	15
B6015	42	40	42	42	42	43	52
B6025	47	47	48	47	48	50	49
B6027	49	49	50	49	49	52	51
B6017	48	49	50	49	49	49	50
B6023	38	40	39	38	39	40	39
B6025	47	47	47	47	48	47	47
5	7	5	8	6	7	5	7
10	10	11	12	11	10	11	11
15	16	14	13	14	16	15	17
20	20	21	22	21	20	21	22
25	26	25	22	23	26	26	27
30	30	29	30	29	30	31	32
35	35	34	32	33	35	34	34
40	39	40	38	39	39	40	42
45	46	-	47	49	50	47	47

Continuação da **Tabela 8.**

Amostras	Titulação	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4	RMN 60 MHz	RMN 300 MHz
50	50	50	51	51	54	50	51
55	54	-	62	63	60	51	51
60	60	60	61	60	65	60	60
75	76	-	70	69	70	76	76
85	84	-	83	84	76	86	86
95	94	-	95	95	80	96	96
80	80	80	80	80	84	82	80
90	90	90	91	91	90	92	92
100	100	99	99	100	100	103	102
0	0	0	3	1	0	0	0

Tabela 9. Principais resultados obtidos para a curva de validação pelas técnicas de FTIR/PLS e RMN de ¹H.

Amostras	Titulação	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4	RMN 60 MHz	RMN 300 MHz
A0513	18	-	11	12	8	15	11
A0515	22	-	20	20	16	16	17
A0517	18	-	19	19	17	12	15
A1015	27	26	26	27	26	29	36
A1017	37	36	35	37	36	39	44
A1027	43	45	46	46	42	10	11
A1515	48	48	49	48	46	17	18
A1517	42	39	39	39	40	40	41
A3013	42	42	43	42	40	43	50
A3015	55	-	53	51	51	45	40
A3017	54	-	51	50	48	47	42
A3023	34	34	34	34	34	58	56
A3027	48	47	47	46	47	56	50
A6015	70	-	69	67	67	78	77
A6017	63	65	62	64	62	62	66
A6027	71	72	67	67	66	74	81
B0515	13	13	13	13	11	15	20
B6013	37	36	37	37	37	36	37
B0525	12	-	18	18	14	24	25
B0527	13	14	9	13	14	40	39
B1025	18	18	16	19	17	18	16
B1513	17	-	25	26	24	18	25

Os rendimentos obtidos à temperatura de 180 °C apresentaram melhores resultados quando comparados aos rendimentos obtidos para as reações realizadas a 150 °C, chegando a valores próximos a 80 %, com tempo de reação de 60 min, proporção molar de 7:1 e 0,5% de catalisador. Sob a mesma proporção molar e quantidade de catalisador à temperatura de 150 °C, os rendimentos encontrados foram de aproximadamente 50 %. Ao comparar os rendimentos obtidos sob as mesmas condições reacionais, mudando apenas a quantidade de catalisador, observa-se que não há diferença significativa no rendimento dessas reações. Ao mudar o tempo de reação e também a temperatura, o rendimento também aumenta.

Foi realizado o teste F para as curvas analíticas obtidas pelos modelos de PLS/FTIR e também pela RMN. O modelo 1 não foi considerado para fazer o teste F porque o conjunto de amostras utilizadas foi diferente dos outros modelos. Os principais resultados estão nas tabelas 10 e 11.

Tabela 10. Parâmetros estatísticos obtidos na curva analítica.

Metodologia	Calibração	
	R ²	σ
a) Modelo 2	0,9933	2,29
b) Modelo 3	0,9935	2,21
c) Modelo 4	0,9988	3,31
d) RMN de ¹ H (60 MHz)	0,9966	1,41
e) RMN de ¹ H (300 MHz)	0,9919	2,14

De acordo com os dados apresentados na Tabela 10, é possível observar que o valor do desvio-padrão para a técnica de RMN de ¹H (1,40 T) apresentou o menor valor (1,41). Já o modelo 4 de PLS/FITR apresentou o valor mais alto (3,31). Foi realizado o teste F entre os métodos utilizados. Os resultados estão na tabela 11.

Tabela 11. Teste F para comparação dos métodos utilizados na construção da curva analítica.

Método	Teste F
RMN de ¹H (1,40 T) versus Modelo 3	2,42
RMN de ¹H (1,40 T) versus Modelo 2	2,61
RMN de ¹H (7,05 T) versus Modelo 3	1,03
RMN de ¹H (7,05 T) versus Modelo 2	1,11
RMN de ¹H (1,40 T) versus Modelo 4	5,51
RMN de ¹H (7,05 T) versus Modelo 4	2,39
Valor de F tabelado	1,56

Os resultados do teste F para alguns métodos apresentaram valores maiores que o valor de F tabelado, e com isso demonstraram que os mesmos possuem variâncias que não são estatisticamente concordantes a um nível de 95 % de confiança. Apenas para os métodos que comparam a RMN de ¹H de 7,05 T com o modelo 3 e com o modelo 2 é que se tem valores estatisticamente concordantes a um nível de 95 % de confiança.

Para a curva obtida com as amostras de validação, os principais resultados estão na tabela 12e 13.

Tabela 12. Parâmetros estatísticos obtidos com as amostras de validação.

Metodologia	Validação	
	R²	σ
a) Modelo 2	0,9919	3,54
b) Modelo 3	0,9926	3,22
c) Modelo 4	0,9716	3,75
d) RMN de ¹ H (60 MHz)	0,9625	4,13
e) RMN de ¹ H (300 MHz)	0,9535	4,61

Tabela 13. Teste F para comparação dos métodos utilizados na construção da curva analítica.

Método	Teste F
RMN de ¹H (1,40 T) versus Modelo 3	1,68
RMN de ¹H (1,40 T) versus Modelo 2	1,39
RMN de ¹H (7,05 T) versus Modelo 3	2,05
RMN de ¹H (7,05 T) versus Modelo 2	1,70
RMN de ¹H (1,40 T) versus Modelo 4	1,21
RMN de ¹H (7,05 T) versus Modelo 4	1,51
Valor de F tabelado	2,14

Os resultados do teste F para as curvas obtidas com as amostras de validação mostraram que as variâncias são estatisticamente concordantes para os parâmetros analisados. Neste caso o modelo 3 de PLS/FTIR apresentou o menor valor de desvio padrão.

Os valores de teste F para as amostras de validação (Tabela 13) apresentaram valores menores que o valor tabelado. Já para as amostras utilizadas na calibração (Tabela 11), alguns resultados foram discordantes. Isso pode estar ligado ao fato de que na construção da curva de validação foi utilizado um número menor de amostras e com concentrações diferentes, enquanto na curva analítica de calibração foi utilizado um grande número de amostras com concentrações bem próximas.

CONCLUSÕES

4. Conclusões

As técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H utilizando campos de 7,05 T e de 1,40 T são capazes de quantificar de forma satisfatória o teor de ésteres metílicos em amostras obtidas por esterificação.

O teste F demonstrou que os resultados obtidos por RMN de ^1H de 7,05 T e de 1,40 T foram estatisticamente concordantes ao nível de 95% de confiança tanto para as amostras padrão como para as amostras reais.

Foram utilizados 4 modelos diferentes de PLS/FTIR aliados a quimiometria que apresentaram bons resultados. Porém, para o modelo 1, foi necessário retirar 11 amostras que foram considerados *outliers* para ajustar a curva de calibração e utilizar 6 variáveis latentes. Para os modelos 2 e 3 não foi necessário retirar nenhuma amostra e foram utilizadas 2 variáveis latentes. Nos modelos 2 e 4 foi utilizada toda a região espectral, o que demonstra que não é necessário selecionar regiões para a quantificação por PLS/FTIR.

O modelo 4 dispensou a segunda variável latente e forneceu um modelo com maior homogeneidade. Mas para a curva de validação o desvio padrão aumentou, demonstrando que para esse modelo as amostras não se ajustaram bem à curva de validação.

Ao realizar o teste F para a calibração foi perceptível que alguns modelos diferiram significativamente ao nível de 95 % de confiança. Mas para a curva de validação, todos os modelos foram estatisticamente concordantes a um nível de 95% de confiança.

Todos os métodos confirmam que os melhores rendimentos foram obtidos utilizando a temperatura de 180 °C com tempo de reação de 60 minutos.

As técnicas espectroscópicas de Infravermelho, RMN (7,05 T) e (1,40 T) foram de mais fácil operação, preparação e manuseio de amostras quando comparadas ao método tradicional (titulação), cuja análise deve ser feita em triplicata, com alto consumo de solventes, além de apresentar um ponto de viragem visualmente difícil.

A vantagem de se utilizar um equipamento de RMN de 1,40 T é o baixo custo da análise, no qual não é necessário o uso de solventes, como na titulação,

e nem criogênicos, como é o caso de um magneto supercondutor, o que poderia ser aplicado em análises de rotina em indústrias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

5. Referências Bibliográficas

1. Ma, F.; Hanna, M. A.; *Bioresource Technology*. **1999**, 70, 1.
2. Suarez, P. A. Z.; Santos, A. L. F.; Rodrigues, J. P.; Alves, M. B.; *Química Nova*. **2009**, 32, 768.
3. Pousa, G. P. A. G.; Santos, A. L. F.; Suarez, P. A. Z.; *Energy Policy*. **2007**, 35, 5393.
4. Suarez, P. A. Z.; Meneghetti, S. M. P.; Meneghetti, M. R.; Wolf, C. R.; *Química Nova*. **2007**, 30, 667.
5. www.anp.gov.br acessado dia 30 de agosto de 2011
6. Di Serio, M.; Tesser, R.; Casale, L.; D'Ángelo, A.; Trifuoggi, M.; Santacesaria, E.; *Top. Catal.* **2010**, 53, 811.
7. Caetano, C.S.; Fonseca, I.M.; Ramos, A.M.; Vital, J.; Castanheiro, J.E. *Catalysis Communications*. 2008, 9, **1996**.
8. Macário, A.; Giordano, G.; Onida, B.; Cocina, D.; Tagarello, A.; Giufré, A.M. *Applied Catalysis A: General*. **2010**, 378, 160.
9. Dorado, M. P.; Pinzi, S.; Haro, A.; Font, R.; Garcia-Olmo, J.; *Fuel*. **2011**, 90, 2321.
10. Toma, D. *Análise da Qualidade de Óleos Vegetais em Sementes intactas por RMN de Baixa Resolução*. 2009. 114f. Dissertação de Mestrado em Ciências - Instituto de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2009.
11. Cordeiro, C. S.; Arizaga, G. G. C.; Ramos, L. P.; Wypych, F.; *Catal, Communications*. **2008**, 9, 2140.
12. Daher, L. de O.; *Determinação Simultânea dos Conteúdos de Monoacilglicerídeos, Diacilglicerídeos, Triacilglicerídeos e Metil Éster de Ácidos Graxos e de Parâmetros Físico-Químicos em Amostras de Biodiesel por Calibração Multivariada no FTNIR e FTIR/ATR*. 2009. 64f. Dissertação de Mestrado em Química – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília. 2009.
13. Lôbo, I. P.; Ferreira, L. S. C.; Cruz, R. S.; *Química Nova*. **2009**, 32, 1596.
14. López, D.E.; Goodwin Jr, J.G.; Bruce, D.A.; Lotero, E. *Applied Catalysis A General*. **2005**, 295,97.
15. Aranda, D.A.G.; Antunes, O.A.C.; *WO pat.2004096962* **2004**.
16. Yan, S.; DiMaggio, C.; Mohan, S.; Kim, M.; Salley, S. O.; Simon, K. Y.; *Top. Catal.* **2010**, 53, 721.
17. Reda, S. Y.; Carneiro, P. I. B.; *Revista Analytica*, **2007**, N. 27, 60.
18. Moretto, E.; Fett, R. *Tecnologia de óleos e gorduras vegetais*, Varella, São Paulo, 1998.
19. Goff, M. J.; Bauer, N. S.; Lopes, S.; Sutterlin, W. R.; Suppes, G. J.; *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **2004**, 4, 81.
20. Pousa, G. P. A. G.; *Avaliação do Desempenho de Óxidos Metálicos em Reações de Esterificação de Ácidos Graxos Obtidos a partir do Óleo de oja para Produção de Biodiesel*. 2007. 55f. Tese de Mestrado em Química – Universidade de Brasília, Brasília. 2007.
21. Aranda, D. A. G.; Gonçalves, J. A.; Peres, J. S.; Ramos, A. L. D.; junior, C. A. R. M.; Antunes, O. A. C.; Furtado, N. C.; Taft, C. A.; *J. Phys. Organic Chem.* **2009**, 22, 709.

22. Aranda, D. A. G.; Santos, R. T. P.; Tapanes, N. C. O.; Ramos, A. L. D.; Antunes, O. A. C.; *Catal. Lett.* **2008**, *20*,122.
23. Mello, V. M.; Oliveira, F. C. C.; Fraga, W. G.; Nascimento, C. J. Suarez, P. A. Z.; *Magn. Reson. Chem.* **2008**,*46*, 1051.
24. Lotero, E.; Liu, Y.; Lopez, D. E.; Suwannakarn, K.; Bruce, D.A.; Goodwin, J. G.; *Ind. Eng. Chem.* **2005**, *44*, 5353.
25. Liu, Y.; Lotero, E.; Goodwin Jr, J.G. *Journal of Catalysis.* **2006**, *245*, 132.
26. Holcapek, M.; Jandera, P.; Fischer, J.; Prokes, B.; *J. of Chromatography A.* **1999**, *858*, 13.
27. Dorado, M. P.; Pinzi, S.; Haro, A.; Font, R.; Garcia-Olmo, J.; *Fuel.* **2011**, *90*, 2321
28. Knothe, G.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1999**, *76*,7.
29. Knothe, G.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2000**, *77*, 5.
30. Knothe, G.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2001**, *78*,1.
31. Oliveira, J. S.; Montalvão, R.; Daher, L.; Suarez, P. A. Z.; Rubim, J. C.; *Talanta.* **2006**, *69*, 1278.
32. Balabin, R. M.; Lomakina, E. I.; Safieva, R. Z.; *Fuel.* **2011**,*90*, 2007.
33. Ferrão, M. F.; Viera, M. S.; Pazos, R. E. P.; Fachini, D.; Gerbase, A. E.. Marder, L.; *Fuel.* **2011**, *90*, 701.
34. Balabin, R. M.; Safieva, R. Z.; *Energy Fuels.* **2011**, *25*, 2373.
35. Borges, M. E.; Díaz, L.; Gavín, J.; Brito, A.; *Fuel Proc. Technology.* **2011**, *92*, 597.
36. Jin, F.; Kawasaki, K.; Kishida, H.; Tohji, K.; Moriya, T.; Enomoto, H.; *Fuel.* **2007**, *86*, 1201.
37. Monteiro, M. R.; Ambrozin, A. R. P.; Lião, L. M.; Ferreira, A. G.; *Fuel.* **2009**, *88*, 691.
38. Monteiro, M. R.; Ambrozin, A. R. P.; Santos, M. S.; Boffo, E. F.; Pereira-Filho, E. R.; Lião, L. M.; Ferreira, A. G.; *Talanta.* **2009**, *78*, 660.
39. Monteiro, M. R.; Ambrozin, A. R. P.; Lião, L. M.; Boffo, E. F.; Pereira-Filho, E. R.; Ferreira, A. G.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2009**, *86*, 581.
40. Morgenstern, M.; Cline, J.; Meyer, S.; Cataldo, S.; *Energy & Fuels.***2006**, *20*, 1350.
41. Neto, P. R. C.; Caro, M. S. B.; Mazzuco, L. M.; Nascimento, M. G.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2004**, *81*, 12.
42. Ghesti, G. F.; Macedo, J. L.; Reck, I. S.; Dias, J. A.; Dias, S. C. L.; *Energy & Fuels.* **2007**, *21*, 2475.
43. Cabeça, L. F.; Marconcini, L. V.; Mambrini, G. P.; Azeredo, R. B. V.; Colnago, L. A.; *Energy & Fuels.* **2011**, *25*, 2696.
44. Rosset, I. G.; Tavares, M. C. H.; Assaf, E. M.; Porto, A. L. M.; *Ap. Catal. A: Gen.* **2011**, *392*, 136.
45. Satyarthi, J. K.; Srinivas, D.; Ratnasamy, P.; *Energy & Fuels.* **2009**, *23*, 2273.
46. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. **Princípios de Análise Instrumental.** 6ª edição. Porto Alegre: Bookman, 2009.
47. Site Nobel Foundation www.nobelprize.org acessado no dia 12 de janeiro de 2012.
48. Bloch, F.; Hansen, W. W.; Packard, M. E.; *Phys. Rev.*, **1946**, *69*, 127.
49. Purcell, E. M.; Torrey, H. C.; Pound, R. V. *Phys. Rev.*, **1946**, *69*, 37.
50. Arnold, J. T.; Dharmatti, S. S.; Packard, M. E. *J. Chem. Phys.*, **1951**, *19*, 507.

51. Gil, V. M. S.; Geraldies, C. F. G. C. **Ressonância Magnética Nuclear: Fundamentos, Métodos e Aplicações**. 2ª edição. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002.
52. Holzgrabe, U.; *Progr. In Nuc. Magn. Reson. Spect.*, **2010**, 57, 229.
53. <http://www.asdlib.org/onlineArticles/ecourseware/Larive/Practical%20Aspects.pdf> acessado no dia 12 de janeiro de 2012.
54. <http://www.gradadm.ifsc.usp.br/dados/20101/FFI0796-1/Aula%202%20-%20RMN.pdf> acessado no dia 12 de janeiro de 2012.
55. Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J.; **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7ª edição. Rio de Janeiro: LTC, 2007
56. Sala, O.; **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. Editora Unespe: São Paulo, 1996.
57. <http://reocities.com/Vienna/choir/9201/espectrometria2.htm> acessado em 31/01/2012.
58. <http://laqqa.igq.unicamp.br/CalibMultQui.html> acessado em 12 de janeiro de 2012.
59. Bruker Optik GmbH. **Opus NT Quant Manual Version 3**. 1ª Edição. 2000.