

Maiquel Bonato

**ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO MÉDIO
COM TRANSFORMADA DE FOURIER APLICADA
AO CONTROLE DE QUALIDADE
NA PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan

Coorientadora: Prof. Dr. Débora de Oliveira

Florianópolis

2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Bonato, Maiquel
ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO MÉDIO COM TRANSFORMADA
DE FOURIER APLICADA AO CONTROLE DE QUALIDADE NA PRODUÇÃO
DE BIODIESEL / Maiquel Bonato ; orientador, Ariovaldo
Bolzan ; coorientadora, Débora de Oliveira. -
Florianópolis, SC, 2016.
109 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Química.

Inclui referências

1. Engenharia Química. 2. Biodiesel. 3. FTIR. 4.
Glicerina. 5. Infravermelho. I. Bolzan, Ariovaldo. II. de
Oliveira, Débora. III. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.
IV. Título.

Maiquel Bonato

**ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO MÉDIO
COM TRANSFORMADA DE FOURIER APLICADA
AO CONTROLE DE QUALIDADE
NA PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Engenharia Química”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 04 de Outubro de 2016.

Prof.^a. Dr.^a. Cíntia Soares
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^aDr.^a Débora de Oliveira
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Marco Di Luccio
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr.^a. Aleksandra Valério
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr.^a. Mara Cristina Zenevitz
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado à minha esposa Daniela Josiane Glowacki Bonato por estar ao meu lado incondicionalmente.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Ariovaldo Bolzan, por me aceitar como orientando.

À professora Débora de Oliveira, pelo inestimável apoio e orientação na realização do mestrado e deste trabalho.

À banca examinadora Marco Di Luccio, Alexsandra Valério e Mara Cristina Zenevicz.

À empresa Olfar S/A Alimento e Energia pela liberação da estrutura, disponibilização a equipe da qualidade para auxiliar a realização da parte experimental deste trabalho e pela dispensa do trabalho para participação das aulas.

Aos laboratoristas, técnicos e analistas do setor de qualidade da Olfar S/A pelo auxílio na realização da parte experimental deste trabalho.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, que muito contribuíram na conclusão dessa etapa na minha formação.

À Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade em cursar o Mestrado em Engenharia Química.

RESUMO

A espectroscopia por infravermelho tem se desenvolvido para o controle de qualidade dos mais diversos produtos e processos, ferramenta que se mostra com potencialidade para o controle do processo de produção de biodiesel. Os métodos de análise para o controle de produção de biodiesel são caros, trabalhosos, demoradas e exigem operadores qualificados, a técnica de infravermelho se apresenta uma técnica economicamente mais barata que as técnicas convencionais, rápida, de simples operação, com baixa geração de resíduo, de fácil adaptação para quantificação em linha de produção. Nesta dissertação construíram-se curvas de calibração multivariadas empregando a técnica de infravermelho médio com transformada de Fourier e ATR acoplado para quantificação direta de amostra através de correlação com métodos convencionais. As curvas desenvolvidas para quantificação de parâmetros importantes para o controle de qualidade da produção de biodiesel foram selecionadas em função da importância para a produção, quantidade de análises realizadas durante uma rotina de trabalho e métodos mais demorados e caros. Os parâmetros trabalhados foram o teor de acidez e fósforo para o refino do óleo, teores de mono, di, triacilglicerol e glicerol total na fase de transesterificação, e os teores de umidade, glicerol e cinzas no processo de tratamento de glicerina. As curvas para quantificação da acidez no óleo apresentaram boa correlação, precisão e exatidão. A curva para teor de fósforo no óleo de alimentação na planta de tratamento do óleo se mostrou eficiente, no entanto as curvas de fósforo nas etapas de centrifugação e óleo neutralizado não apresentaram boa correlação, precisão e exatidão, indicando a necessidade de melhoria para viabilizar o controle de qualidade do referido parâmetro pela técnica de infravermelho. As curvas para quantificação dos teores de mono, di, triacilglicerol e glicerol total na etapa de transesterificação não apresentaram boa correlação, precisão e exatidão e necessitam ser aprimoradas para possibilitar o controle da produção. As curvas para quantificação do teor de umidade, cinzas e glicerol na glicerina apresentaram boa correlação, precisão e exatidão possibilitando a utilização no controle de qualidade. A técnica se mostra viável para o controle de qualidade do processo de produção de biodiesel e de purificação de glicerina, mesmo as curvas que não apresentaram boa correlação, precisão e exatidão mostram o potencial da técnica e após evolução podem ser utilizadas no controle de qualidade.

Palavras chave: FTIR, biodiesel, glicerina, infravermelho.

ABSTRACT

The infrared spectroscopy has been developed for the quality control of various products and processes, tool that shows with potential to control biodiesel production process and glycerin. The methodologies of analysis for the control of biodiesel production are expensive, laborious, long and require skilled operators, the technical Infrared presents an economically cheaper that the techniques conventional, fast, simple operation, with low waste generation, easy adaptation to quantification production line. This was constructed curves of calibration multivariate employing the mid-infrared technique with Fourier transform and ATR coupled to direct quantitation of sample through correlation with conventional methodology. Curves developed for the quantification of important parameters for quality control biodiesel production were selected according to the importance for the production, amount of analyzes performed during a routine work and more long and expensive methodologies. The parameters work end were acid and phosphorous tenor for the treatment of oil, mono tenors, di, triacylglycerol and the total glycerol in the transesterification stage, and moisture tenor, glycerol and ashes in glycerin. The curves for quantification of acidity in oil show good correlation, precision and accuracy. The curve for phosphorus tenor in the feeding oil on treatment plant of oil proved effective, however the curves of phosphorus in the centrifugation steps and oil neutralized did not show good correlation, precision and accuracy, indicating the need for improvement to enable quality control of said parameter by infrared technique. The curves for quantification the tenor of mono, di, triacylglycerol and total glycerol in step transesterification did not show good correlation, precision and accuracy and need to be improved to enable the control of production. The curves to quantification the moistness tenor, ash and glycerol in glycerin showed good correlation, precision and accuracy allowing the use in quality control. The technique has proven feasible for the quality control of process production of biodiesel and glycerin purification, even the curves that no presented good correlation, precision and accuracy show the potential of the technique and after development can be used in quality control.

Keywords: FTIR, biodiesel, glycerin, infrared, FAME.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama esquemático do processo de produção de biodiesel.	31
Figura 2 - Faixas espectrais da luz infravermelho.	40
Figura 3 - Esquema ilustrativo de espectrômetro de FTIR.	41
Figura 4 - Tela do software OPUS para configuração do nome do analito e da unidade de medida.	55
Figura 5 - Tela do software OPUS para inclusão dos espectros no método e digitação dos valores obtidos por análise normatizada tido como rea..	56
Figura 6 - Tela do software OPUS para configuração dos parâmetros de otimização do método.	57
Figura 7 - Ilustração dos conceitos de exatidão e precisão.	59
Figura 8 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração das curvas de calibração para a determinação do teor de acidez no processo de tratamento de óleo.	65
Figura 9 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de acidez no processo de tratamento do óleo, etapa alimentação de óleo (matéria prima).	66
Figura 10 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de acidez no processo de tratamento do óleo na etapa de purificação do óleo (centrifugação).	66
Figura 11 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de acidez no processo de tratamento do óleo na etapa óleo neutralizado (produto final).	67
Figura 12 - Faixa espectral utilizada na elaboração das curvas de calibração para a determinação do teor de fósforo no processo de tratamento de óleo.	73
Figura 13 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de fósforo no processo de tratamento do óleo na etapa alimentação de óleo.	74
Figura 14 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de fósforo no processo de tratamento do óleo na etapa purificação de óleo.	74

Figura 15 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de fósforo no processo de tratamento do óleo na etapa óleo neutralizado.....	75
Figura 16 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração da curva de calibração para a determinação do teor de glicerol total na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	81
Figura 17 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração da curva de calibração para a determinação do teor de monoacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	82
Figura 18 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração da curva de calibração para a determinação do teor de diacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	82
Figura 19 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração da curva de calibração para a determinação do teor de triacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	83
Figura 20 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de glicerol total na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	84
Figura 21 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de monoacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	84
Figura 22 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de diacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	85
Figura 23 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de triacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	85
Figura 24 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração do método de predição do teor de umidade no processo de purificação de glicerina.....	91
Figura 25 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração do método de predição do teor de glicerol no processo de purificação de glicerina.....	92
Figura 26 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração do método de predição do teor de cinzas no processo de purificação de glicerina.....	93
Figura 27 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de umidade no processo de purificação de glicerina.....	94

Figura 28 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de glicerol no processo de purificação de glicerina.....	94
Figura 29 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de cinzas no processo de purificação de glicerina.....	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características de identidade das curvas de calibração para determinação do teor de acidez no processo de purificação do óleo.....	63
Tabela 2 – Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de acidez na etapa denominada alimentação de óleo (matéria prima).....	68
Tabela 3 – Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de acidez na etapa denominada purificação de óleo (centrifugação).....	69
Tabela 4 – Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de acidez na etapa denominada óleo neutralizado (produto final).....	70
Tabela 5 – Características de identidade da curva de calibração para determinação do teor de fósforo no processo de purificação do óleo....	72
Tabela 6 – Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de fósforo na etapa denominada alimentação de óleo.....	76
Tabela 7 – Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de fósforo na etapa denominada purificação de óleo.....	77
Tabela 8 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de fósforo na etapa denominada óleo neutralizado.....	78
Tabela 9 - Características de identidade das curvas de calibração para determinação do teor mono, di, triacilglicerol e glicerol total na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	80
Tabela 10 – Tabela de resultados de validação da curva de calibração para o teor de glicerol total na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	86
Tabela 11 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para o teor de monoacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	87
Tabela 12 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para o teor de diacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	88

Tabela 13 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para o teor de triacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.....	89
Tabela 14 - Características de identidade dos métodos de calibração para determinação do teor de umidade, cinza e glicerol na glicerina.....	90
Tabela 15 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para a determinação do teor de umidade no processo de tratamento de glicerina.....	96
Tabela 16 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para a determinação do teor de glicerol no processo de tratamento de glicerina.....	97
Tabela 17 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para a determinação do teor de cinzas no processo de tratamento de glicerina.....	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

B7	Percentual de 7 % de mistura de biodiesel no diesel de origem fóssil
FTIR	Espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier, do inglês “Fourier Transform Infrared Spectroscopy”
ATR	Refletância total atenuada, do inglês “Attenuated Total Reflectance”
Mono	Composto oriundo do processo de transesterificação do triacilglicerol denominado monoacilglicerol
Di	Composto oriundo do processo de transesterificação do triacilglicerol denominado diacilglicerol
Tri	Composto não transesterificado denominado triacilglicerol
PLS	Mínimos quadrado parciais, do inglês “Partial Least Square”
EN	Comitê Europeu de Normalização
ASTM	Comitê Americano de Normalização
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
DOU	Diário Oficial da União
GC	Cromatografia Gasosa, do inglês “Gas Chromatography”.
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês “High Performance Liquid Chromatography”
AOCS	American Oil Chemists' Society
RMSECV	Erro quadrático médio de validação cruzada
R ²	Coefficiente de determinação
ICP	Espectrometria de Emissão com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês “Inductively Coupled Plasma – Emission Spectrometry”
NIR	Espectroscopia de Infravermelho Próximo, do inglês “Near Infrared Spectroscopy”
OPUS	Sistema operacional do equipamento de infravermelho
MONG	Matéria orgânica não glicerínica
ISO	International Organization for Standardization

MSTFA N-Metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida

LISTA DE SÍMBOLOS

NH	Ligação química entre nitrogênio e hidrogênio
OH	Ligação química entre oxigênio e hidrogênio
CH	Ligação química entre carbono e hidrogênio
b	Função de calibração da equação de quantificação PLS
s	Segundos
cm	Centímetros
PO ₂	Ligação química entre oxigênio e fósforo
POP	Ligação química entre fósforo e oxigênio
POC	Ligação química entre carbono, fósforo e oxigênio

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	25
2.	OBJETIVO GERAL	27
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
3.1	MONITORAMENTO DE PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL	29
3.2	MONITORAMENTO DO TEOR DE FÓSFORO NO PROCESSO DE TRATAMENTO DE ÓLEO	32
3.3	MONITORAMENTO DO TEOR DE ACIDEZ EM ÓLEO.....	34
3.4	MONITORAMENTO DO TEOR DE MONO, DI E TRIACILGLICEROL NA TRANSESTERIFICAÇÃO	36
3.5	PROCESSO DE PURIFICAÇÃO DE GLICERINA	37
3.6	ESPECTRO DE INFRAVERMELHO MÉDIO	39
3.7	INFRAVERMELHO MÉDIO COM TRANSFORMADA DE FOURIER	40
3.8	VANTAGENS DO MÉTODO DE FTIR	42
3.9	DESvantagens DO MÉTODO DE FTIR.....	43
3.10	CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA.....	43
3.11	MÉTODO DE AJUSTE MATEMÁTICO DOS MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS (PLS).....	44
3.12	VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO DE FTIR	45
3.13	MODELO QUIMIOMÉTRICO.....	46
3.14	MONITORAMENTO DE MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO POR FTIR.....	47
3.15	BIAS	48
3.16	CONSIDERAÇÕES A RESPEITO DO ESTADO DA ARTE..	49
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1	MÉTODOS DE ANÁLISE	51
4.1.1	Teor de acidez em óleo	51

4.1.2	Teor de fósforo em óleo	52
4.1.3	Teor de monoacilglicerol, diacilglicerol e triacilglicerol em biodiesel	52
4.1.4	Teor de água em glicerina	52
4.1.5	Teor de glicerol.....	52
4.1.6	Análise de cinzas em glicerina	53
4.1.7	Análise por FTIR.....	53
4.1.7.1	Condições do método de análise no infravermelho.....	53
4.2	CONSTRUÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO.....	54
4.3	VALIDAÇÃO DE CURVA DE CALIBRAÇÃO POR FTIR	57
4.3.1	Precisão entre métodos	58
4.3.2	Exatidão (Erro relativo %)	58
4.3.3	Precisão (DPR %)	59
4.3.4	Faixa de trabalho.....	60
4.3.5	Faixa de trabalho.....	60
4.3.5	Faixa de trabalho.....	60
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
5.1	CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ NO TRATAMENTO DE ÓLEO.....	63
5.2	CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FÓSFORO NO TRATAMENTO DE ÓLEO	71
5.3	CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GLICERÍDEO TOTAL, MONO, DI E TRIACILGLICEROL NO PROCESSO DE TRANSESTERIFICAÇÃO	79
5.4	CURVAS DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE, GLICEROL E CINZAS NA GLICERINA	90
6.	CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	99
6.1	CONCLUSÕES.....	99
6.2	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	100
	REFERÊNCIAS	101

1 INTRODUÇÃO

O infravermelho médio (FTIR) pode ser utilizado para analisar praticamente todos os tipos de amostras, líquidos, soluções, pastas, pós, filmes, fibras, gases e superfícies são alguns exemplos (MCKELVY et al., 1998). Recentemente, a técnica de FTIR tem sido utilizada como ferramenta para análise da qualidade do biodiesel e a composição das misturas de diesel e biodiesel com o intuito de fiscalizar a qualidade e o cumprimento do teor obrigatório de mistura B7. Os métodos de análise tradicionais de biodiesel são lentos, caros, demorados, exigem operadores qualificados, e não são facilmente adaptados ao monitoramento em tempo real através da instalação de equipamento em linha de produção. O FTIR tem proporcionado a oportunidade de obter informação quantitativa e qualitativa sobre a amostra de interesse por método rápido, simples e economicamente mais viável. Motivos estes que aumentam o interesse da técnica de FTIR para o controle de produção de biodiesel (HIDAWATI, MIMI, 2011).

O uso da técnica de FTIR requer a aplicação de métodos quimiométricos, baseados em procedimentos estatísticos e matemáticos para a transformação de dados qualitativos em resultados quantitativos para os componentes da amostra. Um método amplamente usado é a quimiometria, explorando o conceito de calibração multivariada por regressão (VALDERRAMA et al., 2007).

Em se tratando de técnica com potencial para simplificar o controle de qualidade do processo de produção de biodiesel a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) se mostra promissora. XIANGHE et al. (2014) indicam o método de infravermelho como ferramenta analítica útil para análises quantitativas de óleos comestíveis. Voort et al. (2001) dizem que a espectroscopia de FTIR está desempenhando um papel importante na análise de óleo, através de técnica rápida e simples para determinar os parâmetros de qualidade. Uma variedade de métodos foi desenvolvida para quantificar características importantes para a qualidade de óleos e gorduras, tais como índice de acidez (AL-ALAWI et al., 2006), índice de peróxidos (CESA et al., 2012; YU, DU et al., 2009), índice de iodo (HENDL et al., 2001), adulteração de azeite (OUSSAMAA et al., 2012; ROHMAN, CHE MAN, 2010) e teor de fósforo (XIANGHE ET AL., 2014). Estes

métodos normalmente empregam reações estequiométricas para obtenção de compostos ativos que são diretamente mensuráveis por FTIR.

A quantificação direta de amostras é viável, tendo como resultados o ganho de tempo de resposta uma vez que a análise de FTIR é rápida, conduz à redução do custo produtivo devido à simplicidade analítica, redução na geração de resíduo, não utilização de solventes nocivos ao operador e ao meio ambiente e principalmente aumento na estabilidade do processo produtivo uma vez que o número de análises pode ser aumentado em um mesmo período de tempo e possibilidade da instalação de equipamento em linha de produção para automação completa do sistema produtivo.

Este trabalho teve por objetivo desenvolver método de análise rápida através de leitura direta de amostra por FTIR com ATR acoplado no controle de parâmetros críticos na produção de biodiesel e purificação de glicerina, possibilitando a identificação instantânea de não conformidades, ganhando em tempo de resposta, reduzindo o volume produzido de produto não conforme, aumentando a estabilidade do processo produtivo e consequentemente reduzindo o custo do processo produtivo.

2 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é desenvolver métodos de análise de óleo de soja, biodiesel e glicerina, por FTIR para fins de substituição de métodos convencionais.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A partir do objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram delineados:

- Quantificação rápida e sem geração de resíduo de parâmetros críticos para a produção de biodiesel e tratamento de glicerina bruta.
- Elaborar curva para quantificação de fósforo e acidez no processo de tratamento do óleo por FTIR.
- Elaborar curva para a quantificação de monoacilglicerol, diacilglicerol, triacilglicerol e glicerol total na fase de transesterificação.
- Elaborar curva de calibração para a quantificação do teor de glicerol, umidade e cinzas, no processo de tratamento de glicerina bruta.
- Validar as curvas de calibração.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A principal fonte de energia é o petróleo a qual é finita e poluente. Pesquisadores de todo o mundo trabalham em busca de uma fonte renovável, tecnicamente viável, economicamente competitiva e ambientalmente correta (SRIVASTAVA; PRASAD, 2007). Segundo Knothe (2003) e Hernando et al. (2007) o biodiesel mostra-se com potencialidade para substituir o diesel de origem fóssil parcial ou totalmente por atender parte dos requisitos descritos acima. Proveniente de fonte renovável, teor baixo de enxofre, dióxido de carbono e aromáticos, tecnicamente viável, mas que passa por um grande desafio que é a viabilidade econômica (KNOTHE; MATHEAUS; THOMAS, 2003; HERNANDO et al., 2007).

Para colaborar com a redução do custo de produção do biodiesel se busca um método analítico ideal para o controle de qualidade do processo produtivo o qual deve ser capaz de emitir resultados confiáveis mesmo em níveis residuais, barato, rápido, de simples operação, sem a geração de resíduos e possibilitar o controle automatizado em linha de produção. O método de FTIR mostra-se com potencial para atender as características definidas acima (WEI-BO, 2012).

No presente capítulo serão abordados os processos de tratamento de óleo, produção de biodiesel e tratamento de glicerina e os conceitos básicos sobre a técnica de FTIR, os principais pontos sobre a elaboração de curvas de calibração, procedimento para validação de método.

3.1 MONITORAMENTO DE PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BODIESEL

Atualmente, a rota de produção predominante do biodiesel é a transesterificação por catálise homogênea. Consiste em reagir óleo e/ou gordura com álcool, catalisada com metóxido de sódio. Durante o processo de reação, gliceróis intermediários são formados, monoacilgliceróis e diacilgliceróis, além dos triacilgliceróis que não reagiram, podem permanecer no produto final. Observa-se a presença de glicerol não separado da reação, ácidos graxos livres, resíduo de álcool e catalisador. A presença destes contaminantes deve ser controlada e apresentar os índices dentro da especificação regulamentar vigente para que o combustível possa ser comercializado sem agredir aos motores de ciclo diesel. Na Europa o controle de qualidade do biodiesel é regido pela norma EN 14214, nos Estados Unidos pela norma ASTM D 6751 e no Brasil pela Resolução ANP nº 45, de 25/08/2014 – DOU 28/08/2014,

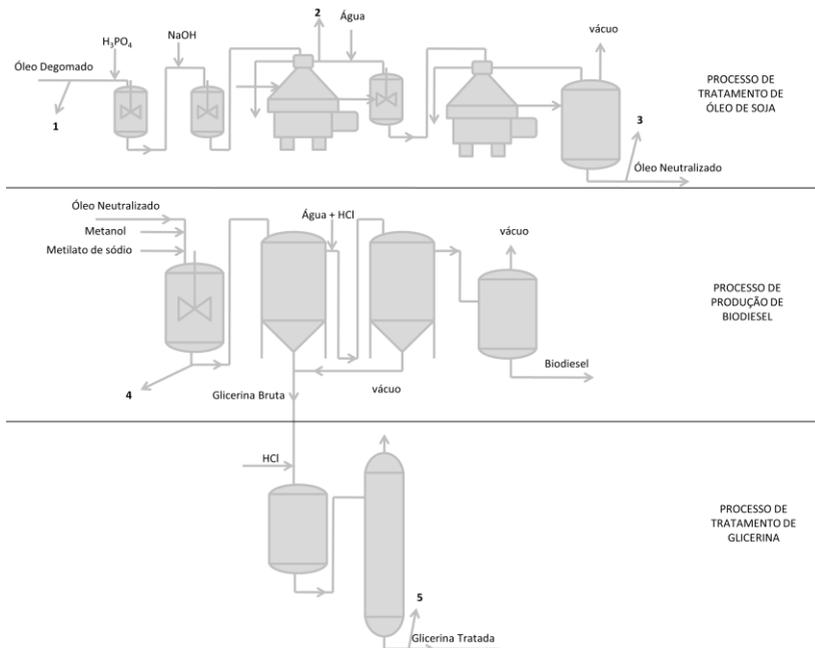
estes documentos visam garantir a qualidade do combustível e consequentemente o desempenho durante a aplicação prática (WEI-BO, 2012).

WEI-BO (2012) diz que a garantia da qualidade das propriedades físico-química do combustível é muito importante para o sucesso da comercialização do biodiesel. Nos últimos dez anos, o controle de qualidade de biodiesel atraiu uma grande quantidade de atenção de muitos pesquisadores. Como descreve Knothe (2006) o biodiesel é o produto do processo de transesterificação, reação que tem um grande efeito sobre a qualidade do produto final, por isso é importante monitorar esta etapa do processo, a fim de reconhecer e corrigir problemas na fase inicial da produção.

Segundo Knothe (2006) a análise de contaminantes é uma questão crítica do controle de qualidade do biodiesel. Os métodos de análise para determinação da qualidade do combustível são muito importantes para garantir a operacionalidade do biodiesel. Como descrito por WEI-BO (2012), o maior problema do biodiesel atualmente é o seu custo elevado, o que é principalmente dependente da matéria-prima utilizada. Hoje a maior parte do biodiesel é produzido a partir de óleos de alto custo, assim, encontrar outras matérias-primas de baixo custo é importante. A matéria-prima utilizada tem efeito óbvio sobre a qualidade do biodiesel, portanto, as seleções das matérias-primas e das análises de controle de qualidade são muito importantes para a viabilidade do combustível. Atualmente, a aquisição de matéria-prima é responsável por pelo menos 80 % dos custos associados à produção de biodiesel (BAPTISTA et al., 2008; AZIZIANA, KRAMER, 2005). Enquanto isso, as propriedades finais do biodiesel são gravemente afetadas pela qualidade do índice de iodo, teor de água, teor de ácido graxo livre, sabões e teor de fósforo da matéria prima de alimentação. Portanto, a matéria-prima utilizada para a produção de biodiesel deve ser analisada e controlada (WEI-BO, 2012).

A Figura 1 traz o diagrama esquemático de produção de biodiesel estudado nesta dissertação. Os detalhes operacionais não serão abordados no referido trabalho.

Figura 1 – Diagrama esquemático do processo de produção de biodiesel.



Fonte. Autor.

Os pontos identificados com os números de 1 a 5 são os locais utilizados para a coleta das amostras no controle de qualidade do processo de produção e para a elaboração dos métodos por FTIR. O número 1 é referente à amostra identificada como alimentação de óleo, 2 separação e 3 óleo neutralizado do processo de purificação de óleo, nestes três pontos se trabalhou com os parâmetros de teor de acidez e teor de fósforo. O número 4 representa o ponto de coleta da amostra da fase reacional (transesterificação) do processo de produção de biodiesel, neste ponto quantificou o teor de glicerol total, mono, di e triacilglicerol. O ponto 5 representa a amostra descrita como glicerina tratada do processo de tratamento de glicerina, neste ponto foi trabalhado com os parâmetros de teor de umidade, teor de glicerol e teor de cinzas sulfatadas.

3.2 MONITORAMENTO DO TEOR DE FÓSFORO NO PROCESSO DE TRATAMENTO DE ÓLEO

Como apresentado por Van et al. (2002), o controle do teor de fosfolipídios é essencial para o processo de produção de biodiesel. A presença destes compostos na etapa de transesterificação inibirá a separação dos sabões, diminuindo o rendimento da reação, prejudicando o processo de separação de fases, comprometendo a qualidade do produto, agregando custo ao processo.

Os fosfolipídios estão presentes no óleo bruto na faixa de concentração estimada entre 500 a 1000 mg/kg, teores estes que devem ser reduzidos através de processos de purificação que consiste em uma etapa de degomagem para remoção dos fosfolipídeos hidratáveis. Este processo utiliza água, aquecimento e centrifugação, para purificar o óleo originando óleo degomado, com teor de fósforo na faixa de 100 a 200 mg/kg. O óleo degomado ainda possui valores elevados para a reação de transesterificação, se fazendo necessário o uso de uma segunda etapa, denominada refino. O processo de refino consiste em hidratar os fosfolipídios complexados com os sais de cálcio e magnésio através do emprego de ácido (geralmente cítrico ou fosfórico), emulsificação pela adição de hidróxido de sódio, aquecimento e separação, geralmente por centrifugação. O óleo após a etapa de refino apresenta teores de fosfolipídios abaixo de 50 mg/kg sendo que o ideal para o processo de transesterificação sejam valores inferiores a 10 mg/kg (MERZ, ROUX, 1996).

Os métodos comumente utilizados para determinação de fósforo em meios orgânicos como óleo de soja e biodiesel utilizam técnicas dispendiosas, demoradas, caras, que geram resíduos, empregam solventes nocivos aos operadores e ao meio ambiente. Muitas vezes imprecisa se não executadas com todos os cuidados analíticos, devido ao grande número de etapas de preparação da amostra e padrões e por utilizarem em alguns casos calcinação para eliminação da matéria orgânica e diluição ácida das cinzas. São técnicas baseadas em espectrometria de emissão atômica, absorção atômica, colorimetria, cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa (ARRUDA, DIMICK, 1991; PRZYBYLSKI, ESKIN, 1991; TOUCHSTONE, 1980; CABONI, MENOTTA, GIOVANNI, 1996; BARTLETT, 1959).

As normas técnicas EN 14107, EN 16294, ASTM D 4951 e ABNT NBR 15553 descrevem os métodos padrão para análise de fósforo em biodiesel por espectrometria de emissão atômica (ICP),

técnica que pode ser adaptada para quantificação em óleo de soja. O método AOCS Ca 20-99 descreve a técnica para quantificação de fósforo em óleo bruto, degomado, desodorizado e refinado por ICP. Este consiste na diluição da amostra com solvente, padronização do equipamento com padrões de concentração variada e quantificação do analito na amostra.

A técnica AOCS Ca 12b-92 descreve o procedimento de análise do teor de fósforo em óleo bruto e refinado por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite acoplado. Esta técnica consiste em padronização do equipamento com padrões externos, e leitura direta de amostra sem necessidade de calcinação.

O método AOCS Ca 12-55 utiliza a técnica de espectrofotometria para a determinação do fósforo em óleos. A técnica é baseada na calcinação da amostra, diluição ácida das cinzas, padronização do equipamento com solução de concentração variada e quantificação da amostra.

O método AOCS Ca 12a-02 utiliza a técnica colorimétrica para quantificação de fósforo em óleos. Esta técnica é mais barata que as baseadas em espectrometria de absorção atômica e emissão atômica, mas necessita de preparação da amostra baseada em calcinação, solubilização ácida das cinzas, reação química para desenvolvimento de cor, padronização do equipamento com padrões de concentração variada e leitura da amostra.

Xianghe et al. (2014) realizaram estudo para a determinação do teor de fósforo no processo de refino de óleo utilizado na alimentação humana. O objetivo do artigo foi à substituição do método convencional, considerado dispendioso, por um método com idêntica precisão e exatidão, no entanto mais simples. A aposta do grupo de pesquisa foi pelo método de FTIR pelo uso de calibração externa com padrão de fósforo isolado e prévia diluição com éter de petróleo e hexano, dispensando o uso de calibração direta contra método de referência. Método este considerado mais simples na etapa de calibração, pois não se fez necessário a realização de um número elevado de amostras por método convencional para possibilitar a construção da curva de calibração. No entanto o método necessita de preparação prévia da amostra na rotina de trabalho.

Nzai e Proctor (1998) já haviam estudado a mesma estratégia que Xianghe et al. (2014) e estudaram a quantificação de fosfolípidios em óleo vegetal por FTIR como uma alternativa a análise convencional

que partia da incineração da amostra com posterior quantificação por análise colorimétrica baseada em uma curva de calibração. As bandas selecionadas para quantificação por FTIR foram entre 1200 e 950 cm^{-1} relacionada aos agrupamentos fosfato (PO_2 ; P-O-P; P-O-C + PO_2 ; PO_2) e a região de 1765 a 1720 cm^{-1} relacionada ao grupamento C=O. A região de 830 a 740 cm^{-1} não foi utilizada, pois os autores identificaram que a orientação do grupo fosfato (PO_2), sofria interferência da água presente no meio, se mostrando uma faixa instável e com baixa correlação. O método desenvolvido se mostrou reprodutível mesmo para concentrações baixas de fosfolipídios, em torno de 0,25 mg/mL. Os autores utilizaram padrões individuais de fosfolipídios preparados e purificados pela própria equipe de pesquisadores na elaboração da curva de calibração, determinação da reprodutibilidade e validação do método. O método utilizou os conceitos de calibração multivariada, contabilizando as contribuições dos contaminantes nos espectros de absorção. Os resultados de precisão do método desenvolvido não foram satisfatórios concluindo que mais estudos deveriam ser realizados para identificar e isolar vibrações de compostos não relacionados aos fosfolipídios.

A falta de precisão descrita pelos autores pode ter como agravante o fato da curva de calibração ter sido elaborada utilizando fosfolipídios isolados e purificados. Este procedimento utiliza um número menor de pontos de calibração, mas, no entanto, não considera as variações possíveis dos contaminantes presentes na matéria prima que podem sofrer alteração da composição com o passar do tempo. Vibrações estas que podem ser isoladas pela elaboração da curva de calibração com o conceito de correlação com método convencional. Procedimento este que se torna mais dispendioso na etapa da construção da curva de calibração, embora mais simples na rotina de trabalho, pois não necessita de preparação prévia da amostra e apresenta a condição de facilitar o isolamento da vibração dos contaminantes aumentando a precisão e exatidão do método, conceito abordado na referida dissertação.

3.3 MONITORAMENTO DO TEOR DE ACIDEZ EM ÓLEO

Conforme descrito por Van et al. (2004) catalisadores básicos são utilizados em praticamente todas as plantas de processamento de óleo vegetal para produção de biodiesel. O teor de ácidos graxos livres presente deve ser baixo. Caso contrário, o catalisador básico vai reagir com os ácidos graxos livres, formando sabão. A reação de formação de

sabão é muito rápida e se completa antes da reação de transesterificação. Justificativa esta que embasa o interesse em trabalhar no desenvolvimento de método rápido, barato e eficiente para o monitoramento do referido parâmetro do processo produtivo.

A titulometria é a técnica comumente utilizada para quantificação do teor de acidez em óleo, o método AOCS Cd 3d-63, se baseia na pesagem da amostra, diluição com solvente e titulação com solução básica empregando indicador de fenolftaleína para observação do ponto de viragem. Os métodos ASTM D 664, EN 14104 e ABNT NBR 14448 descrevem a utilização potenciometria para quantificação do teor de acidez em amostras orgânicas, técnicas com preparação da amostra similar a AOCS Cd 3d-63 com a vantagem de utilizar titulação automatizada através do monitoramento do pH. Ambas as técnicas utilizam solventes nocivos ao operador, com geração de resíduo, dispendiosas, demorada e custo superior a técnica de FTIR (AHMED, 2004).

Lanser et al. (1991) relataram a primeira aplicação da espectroscopia de FTIR para análise de acidez em óleo de soja bruto. O método desenvolvido estimava a acidez pela banda da carbonila (C=O), 1710 cm^{-1} , número de onda que apresentava interferência da carbonila de éster (1746 cm^{-1}). Para aumentar a resolução espectral matematicamente se utilizou a faixa de $2000\text{ a }1600\text{ cm}^{-1}$. A curva de calibração foi elaborada pela adição de ácido oléico na faixa de 0,1 a 5 % e os resultados obtidos baseados na leitura de amostras foram comparados com os resultados obtidos pelo método de titulação da AOCS. Estes expressaram baixa precisão devido à variabilidade dos espectros em função de alterações espectrais. O método não comportava mudanças na composição das amostras.

Voort (2004) elaborou padrões no intervalo de 0 a 4 % com óleo de soja enriquecido com ácido hexanóico e constatou variações lineares nas bandas de $1570\text{ e }1773\text{ cm}^{-1}$. Os resultados obtidos apresentaram boa exatidão quando comparado com o método da AOCS. No entanto era necessário a preparação da amostra pela diluição prévia e da saponificação dos ácidos graxos, com posterior quantificação da banda de COO' do sal formado. O método se apresentou preciso e exato, mas com preparação prévia o que acabava onerando a rotina de controle analítico, mesmo que a determinação por FTIR fosse automatizada pela utilização de injetor automático.

AHMED et al. (2011) pesquisaram um método rápido e sensível para a determinação de baixos teores de acidez em óleos comestíveis. O

método desenvolvido se baseou em misturar a amostra com metanol, adição de carbodiimida de sódio, agitação por 30 s para conversão dos ácidos graxos livres em seus sais, centrifugação e leitura do sobrenadante por FTIR na faixa de número de onda de 1573 cm^{-1} e 1820 cm^{-1} . A faixa de calibração abrangeu de 0 a 0,1 %, expressa como ácido oléico. A comparação com os resultados obtidos pela titulação das mesmas amostras em teste mostrou que o método foi mais preciso, reprodutível e sensível que o procedimento convencional. Os autores concluíram que o método é adequado para a determinação de baixas concentrações de acidez em óleos comestíveis e que o método apresenta condições de ser expandida para níveis mais elevados de acidez, chegando até 4 %. Como este método também incluía a preparação de amostra, a proposta da referida dissertação foi a elaboração de curvas baseadas em resultados obtidos por titulação para quantificação direta da amostra sem prévia preparação, contando apenas com a estabilização da temperatura da amostra as condições de operação do equipamento.

3.4 MONITORAMENTO DO TEOR DE MONO, DI E TRIACILGLICEROL NA TRANSESTERIFICAÇÃO

A produção de biodiesel possui especificação muito rígida para os teores de mono, di e triacilglicerol, (0,7; 0,2 e 0,2 % (m/m)). Devido à especificação rígida, e pelo fato de que é na etapa reacional que está concentrado grande parte do custo de produção devido ao fato da especificação destes parâmetros estarem diretamente relacionados à dosagem de catalisador (metóxido de sódio). Facilmente se presume o interesse no método de FTIR para o controle destes parâmetros com a possibilidade de expansão para controle em linha (CHANG et al., 2010; MONTEIRO et al., 2008; ANDREAS, 2011).

Os métodos comumente aplicados na quantificação de mono, di e triacilglicerol são a cromatografia gasosa (GC), que utiliza padronização interna, rotineiramente através do uso de tricaprina, silição da amostra com MSTFA diluição com n-heptano e padronização externa do equipamento através do uso de soluções padrão com concentrações variadas. Cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), utiliza padronização externa e interna da amostra e diluição com solvente, métodos complexos, caros, demorados com geração de resíduo e utilização solventes nocivos ao operador (ANDREAS, 2011).

Os métodos atuais de quantificação do teor de mono, di e triacilglicerol aceitos oficialmente pela ANP são os métodos EN 14105,

ASTM D 6584, ABNT NBR 15342, 15344 e 15908, todos baseadas na cromatografia gasosa.

Andreas (2011), em seu trabalho sobre sistemas multifásicos, cita a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e um estudo de viabilidade de um modelo quimiométrico baseado em componentes puros para a quantificação de mono, di e triacilglicerol. Os parâmetros foram simultaneamente analisados com erros aceitáveis de (1,8 a 12,5 %). Os autores relatam que a tecnologia tem potencial para a obtenção de resultados precisos, em sistema de emulsões instáveis que contêm gorduras, óleos ou emulsionantes.

Silvia et al. (2012) utilizaram a espectroscopia de FTIR para auxiliar na caracterização do biodiesel produzido através da transesterificação enzimática do sebo bovino com etanol. A técnica foi utilizada em conjunto com viscosimetria, termo gravimétrica e espectroscopia de RMN H^1 . A técnica foi utilizada na caracterização do biodiesel e não quantificação de contaminantes com a referida dissertação sugere, no entanto mostra que a técnica é seletiva ao composto em estudo, embasando as possibilidades citadas no trabalho.

Beneti et. al. (2013) utilizaram a espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) em comparação com métodos analíticos convencionais com o intuito de prever o comportamento do equilíbrio líquido-líquido para os sistemas contendo ésteres metílicos e etílicos, água, glicerol e etanol em temperaturas variadas, conhecimento essencial para dimensionamento dos sistemas de remoção de catalisador, excesso de álcool e glicerol. A técnica apresentou resultados satisfatórios em comparação com as técnicas convencionais com a vantagem de não necessitar de preparação prévia de amostra, menor geração de resíduo e baixo custo, evidenciando a possibilidade de expansão da técnica.

3.5 PROCESSO DE PURIFICAÇÃO DE GLICERINA

Da produção de biodiesel é gerada a glicerina bruta, a qual deve ser purificada para atingir a qualidade necessária de 80 % para comercialização e posterior refino chegando a purezas superiores a 95 %. Como descrito por Kongjao et al. (2010) alguns dos principais parâmetros de caracterização da qualidade da glicerina são o pH, teor de glicerol, umidade, teor de cinzas, matéria orgânica não glicerínica (MONG), densidade a 20 °C, viscosidade a 40°C, 1,3-propanodiol e cor.

Conforme descrito por Chi et al. (2007), o glicerol é um subproduto do processo de produção de biodiesel, estequiometricamente cada 10 kg de biodiesel produzida se obtém 1 kg de glicerol bruto.

Como descrito por Johnson e Taconi (2007) o glicerol puro é uma importante matéria-prima industrial para aplicações em alimentos, cosméticos e farmacêuticos, bem como outros usos em menor escala. O processo de purificação do glicerol é caro e a qualidade da matéria prima interfere no custo de produção e na qualidade do produto final.

O controle do processo de tratamento de glicerina é indispensável, portanto se selecionou os principais parâmetros de controle para a industrialização da glicerina bruta, vislumbrando a purificação até obtenção de glicerina refinada. Os parâmetros tidos como básicos no controle do processo de purificação de glicerina bruta foram teor de glicerol, umidade e cinzas (SANGKORN et al, 2010; VAN et al., 2004).

Com o intuito de aumentar a eficiência analítica, reduzir custos e melhorar a qualidade do produto através de ações corretivas rápidas no processo de produção, essa dissertação aborda o desenvolvimento de curvas de calibração para a quantificação rápida através do método de FTIR para os parâmetros de teor de glicerol, teor de umidade e teor de cinzas. Optou-se em trabalhar com estes parâmetros, uma vez que a análise de glicerol e cinzas são dispendiosas, caras e demoradas, já a análise de umidade por Karl Fischer é uma análise rápida, mas de custo elevado.

As técnicas empregadas rotineiramente para o controle de qualidade da produção de glicerol na concentração de 80 % com residual elevado de MONG são métodos de titulação. Os métodos AOCS Ea 6-51, AOCS Ea 6-94, ISO 2871 e a farmacopeia americana, descrevem o procedimento baseado na oxidação do glicerol com periodato de sódio em meio ácido e titulação com base forte (HENSEN, 2009; HIDAWATI, 2011).

Os métodos para determinação do teor de cinzas consistem em calcinação da amostra e sulfatação com ácido sulfúrico. As técnicas rotineiramente empregadas são ilustradas pela AOCS Ca 11-55, ASTM D 2974-87 e ISO 6245 (HENSEN, 2009; HIDAWATI, 2011).

A determinação do teor de umidade na glicerina pode ser realizada pelo método AOCS Ea 8-58, e pelo uso de Karl Fisher titulométrico, pela farmacopeia americana método 921 Ic ou EN ISO 12937, empregando Karl Fischer coulométrico (HENSEN, 2009).

Hidawati (2011), em seu trabalho voltado ao estudo da purificação da glicerina, utilizou o método de FTIR para avaliar o comportamento do espectro de absorção de amostras de glicerina bruta, após tratamento em comparação com amostra comercial. Em seu artigo, o autor detalha o comportamento das bandas relacionadas ao teor de sabões (minerais) em 1610 cm^{-1} , água em 1553 cm^{-1} e demais picos relevantes dos espectros.

A tecnologia de infravermelho médio com transformada de Fourier é aplicada nas mais diversas áreas com o objetivo comum de ganhar velocidade de análise, possibilidade de automação de sistema e até mesmo precisão e exatidão. Helene (2004) utilizou a técnica de FTIR para determinação do teor de glicerol em vinhos. O autor cita a faixa de 1600 a 929 cm^{-1} como a faixa potencial para a determinação do glicerol em vinho. Embora a matriz seja diferente se observa que para o glicerol em estudo a faixa de 941 a 902 cm^{-1} foi identificada como proeminente para a quantificação do teor de glicerol na glicerina.

Andrew (2007) utilizou FTIR para avaliar a saturação de solução de cloreto de acetilcolina com glicerol na lavagem de biodiesel bruto com o passar do tempo. Tratou-se do monitoramento do aumento da fração molar de saturação da mistura com o passar do tempo.

A determinação do teor de cinzas por infravermelho próximo (NIR) é comum e muito utilizado para cereais e seus derivados. A referida dissertação busca os benefícios de se trabalhar com infravermelho médio e ART acoplado para quantificação de amostras líquidas sem prévia preparação na quantificação do teor de cinzas em glicerina.

3.6 ESPECTRO DE INFRAVERMELHO MÉDIO

A região do infravermelho médio corresponde à parte do espectro eletromagnético situada entre as regiões do visível e das micro-ondas (SILVERSTEIN, WEBSTER, 2000). O infravermelho médio utilizado no desenvolvimento deste trabalho compreende a faixa de comprimento de onda de 4000 a 650 cm^{-1} , a Figura 2 ilustra as faixas do espectro da luz infravermelho. As moléculas apresentam espectros de infravermelho diferentes, sendo pouco provável que duas moléculas que não são enantiômeros apresentem espectros similares. De posse destas informações os químicos orgânicos começaram a utilizar a técnica de infravermelho como suplemento para identificação de compostos orgânicos. Com a evolução da técnica e dos microprocessadores hoje é

comum a utilização de análises por infravermelho para quantificações rápidas através de equipamentos que operam na região do infravermelho (SILVERSTEIN, WEBSTER, 2000; KNOTHE, 2001).

Figura 2: Faixa espectral da luz infravermelho.

wavelength	0.78 - 2.5 μ m	2.5 - 25 μ m	25 - 300 μ m	
wavenumber	12500 - 4000 cm^{-1}	4000 - 400 cm^{-1}	400 - 33 cm^{-1}	
	near-IR	mid-IR	far-IR	
	visible	infrared		microwave

Fonte: Wei-Bo (2012)

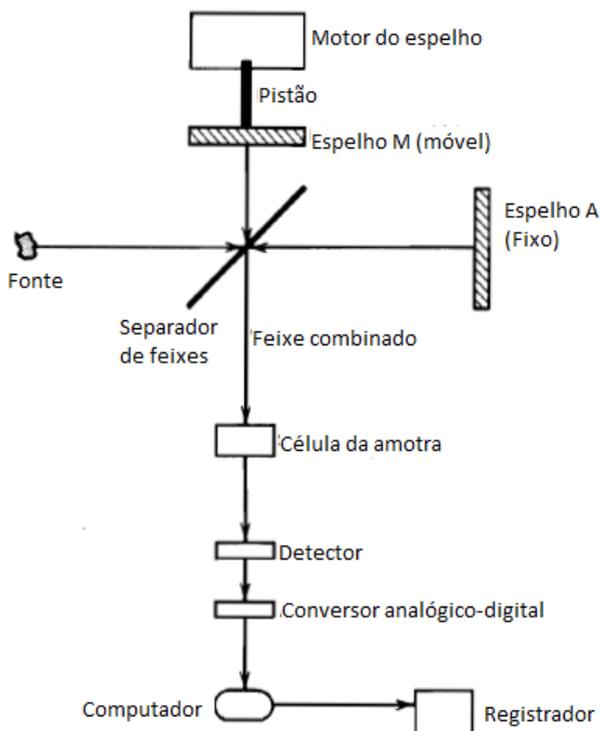
Wei-Bo (2012) relata a desvantagem em utilizar a técnica de infravermelho próximo, motivo o qual justifica o estudo na técnica de infravermelho médio. As desvantagens do infravermelho próximo são a baixa sensibilidade do sinal, enquanto comparado com o infravermelho médio, em que os componentes de baixa concentração não podem ser determinados com precisão. Outra desvantagem é a sobreposição de diferentes sobretons e combinações de bandas, que causam uma seletividade estrutural muito baixa. Estes sinais de sobreposição também originam um espectro com picos largos, fazendo com que o espectro se torne de difícil interpretação.

3.7 INFRAVERMELHO MÉDIO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

A espectrometria com transformações de Fourier (FTIR) possui a capacidade de analisar todos os comprimentos de onda de interesse na faixa de 5000 a 400 cm^{-1} , através do uso de um jogo de espelhos. Este jogo torna possível variar a distância percorrida por dois feixes de luz, sendo um estático e o outro móvel, causando uma série de interferências construtivas e destrutivas e consequentemente variações na intensidade da radiação recebida pelo detector, conhecido como interferograma. Uma transformação de Fourier converte o interferograma assim obtido, no domínio do tempo, para a forma de frequência. A amostra é submetida a uma larga faixa de energia, causando a vibração das moléculas cada qual com suas características, originando o espectro na região do infravermelho médio da amostra. Na Figura 3 está expresso

um esquema ilustrativo do funcionamento de um equipamento de FTIR. (SILVERSTEIN, WEBSTER, 2000).

Figura 3: Esquema ilustrativo de espectrômetro de FTIR.



Fonte: Silverstein e Webster (2000).

O espectro de infravermelho médio é composto por uma combinação de tons e sobretons de vibrações fundamentais dos grupos funcionais, tais como NH, OH e grupos CH. O FTIR é mais preciso para a análise quantitativa de misturas que contêm estes tipos de grupos funcionais. Vibrações de estiramento e dobramento são os dois tipos principais de vibrações moleculares que descrevem o movimento vibracional molecular (WEI-BO, 2012).

A análise de FTIR proporciona informações qualitativas de grupos funcionais e possibilita análises quantitativas. O procedimento de

análise quantitativa é relativamente simples quando for possível relacionar uma banda ou faixa espectral isolada com um determinado componente de interesse (HAKULI et al., 1995). A dificuldade pode surgir quando os picos se sobrepõem. Problema este que pode ser resolvido através do uso de modelos matemáticos de correlação como será apresentado posteriormente no item 3.11.

3.8 VANTAGENS DO MÉTODO DE FTIR

A espectroscopia de FTIR se mostra com potencial para atender aos parâmetros citados no Item 3 como condições ideais de técnica analítica para o controle do processo de produção de biodiesel, pois é uma análise rápida, simples, reprodutível, exata, com possibilidade de automação, podendo apresentar resultados qualitativos e quantitativos, não gera resíduos, utiliza baixas quantidades de amostras, e menor custo (STEINER, 1993; VAN DE VOORT et al., 1994; SEDMAN et al, 1997).

Knothe (2001) descreve que vários métodos analíticos foram estudados por apresentar condições de analisar contaminantes no monitoramento do processo de transesterificação e para identificação de adulterações no biodiesel. No entanto, nenhum método analítico atual atende a essas exigências com as características de idealidade descritas no primeiro parágrafo da revisão bibliográfica Item 3. Os métodos analíticos comumente usados para a análise de biodiesel como cromatografia possuem maior precisão na quantificação de analitos com concentrações reduzidas. No entanto estas análises são caras e demoradas. Em contrapartida, a espectroscopia no FTIR é uma técnica analítica alternativa bem estabelecida não destrutiva que permite uma determinação segura, direta e rápida de várias propriedades sem pré-tratamento da amostra.

Método mais barato e rápido, o FTIR tem mostrado potencialidade de ser utilizado em quase todos os aspectos do controle de qualidade do biodiesel. No entanto os estudos devem ser aprofundados para aprimorar a técnica (WEI-BO, 2012). O FTIR vem sendo utilizado no controle da mistura de biodiesel ao diesel, sendo que as normas EN 14078 e ASTM D 7371 descrevem o procedimento para a determinação do biodiesel no diesel para controle do atendimento a lei de mistura vigente (SUAREZ, 2014).

3.9 DESVANTAGENS DO MÉTODO DE FTIR

A técnica de FTIR é utilizada em conjunto com calibrações multivariadas a fim de determinar rapidamente possíveis alterações em uma vasta gama de produtos, como alimentos, combustíveis e diversas matérias primas e produtos industriais (GIUSTI et al., 2014). A técnica necessita de inúmeros pontos de calibração para a elaboração das curvas de calibração conforme descrito no item 3.10, constante manutenção em função das variáveis envolvidas e necessidade de mão de obra especializada e dedicada exclusivamente para a manutenção dos métodos como descrito no item 3.14 (BRUKER, 2011; BRUKER, 2006).

3.10 CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

A calibração multivariada possibilita o uso da vasta gama espectral e não somente de um único ponto ou banda. A vasta região do espectro será comparada com os valores de concentração informado pelo operador através do uso de uma regressão PLS. O método assume que as variações observadas nos espectros são consequência da alteração da concentração dos componentes. Infelizmente, a correlação entre a concentração e as mudanças no sinal do infravermelho não é um processo necessariamente linear, este fato torna necessário um grande número de espectros (centena ou até mesmo milhares) de amostras (BRUKER, 2011; MÁRCIA et al, 1999).

A quantidade de dados necessária para a validação de uma curva de calibração varia conforme a complexidade da amostra analisada, concentração dos analitos, dentre outras características típicas de cada amostra. A utilização de uma quantidade muito elevada de espectros pode agregar ruído à curva, prejudicando a calibração, já a utilização de poucos dados pode originar uma curva com grande variação, incapaz de correlacionar as alterações espectrais com a concentração do analito analisado com precisão e exatidão (BRUKER, 2011).

Um algoritmo de regressão (PLS) é utilizado para encontrar a melhor correlação em função da matriz de dados elaborada. A determinação da quantidade de espectro na curva de calibração é muito importante para o resultado final da curva de calibração. Os números de espectros será definido no decorrer da elaboração da curva de calibração através da realização da validação do método identificando as melhorias necessárias para atingir o erro aceitável para a quantificação do referido parâmetro em estudo (BRUKER, 2011; MÁRCIA et al, 1999).

3.11 MÉTODO DE AJUSTE MATEMÁTICO DOS MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS (PLS)

Para quantificar determinadas propriedades físico-químicas de um produto ou material por espectroscopia de infravermelho é necessário a elaboração de uma curva de calibração que relaciona as alterações espectrais com a concentração real determinado por método convencional. A calibração multivariada é um método estatístico bem-sucedido para o relacionamento destas variáveis. Os métodos de ajuste matemático mais utilizados para relacionar espectros com propriedades físico-químicas são regressão em componentes principais (PCR), mínimos quadrados parciais (PLS), algoritmos genéticos (GA), redes neurais artificiais (ANN) e mínimos quadrados parciais não lineares (N-PLS) (BRUNS et al., 2006).

Dois passos são necessários para correlacionar grandezas medidas (propriedades do sistema) e absorção de radiação infravermelha, a calibração do método e uma análise para determinar o valor de uma amostra desconhecida (BRUKER, 2011).

A fim de realizar uma regressão PLS para um dado sistema, a informação dos espectros de substância deve ser comparada com os valores de concentração correspondentes. As alterações devem ser reconhecidas e correlacionadas umas com as outras. Por este motivo, um grande número de amostras tem que ser medido. Para uma exposição matemática das mudanças em ambos os conjuntos de dados, eles são escritos em uma matriz e os seus vetores são gerados. Estes vetores são chamados fatores ou componentes primários, e são usados para a previsão das concentrações em vez dos espectros originais. A vantagem desta decomposição é que um grande conjunto de dados é comprimido em fatores podendo ser utilizados para calibração (KRAFFT et al., 2005; LI et al., 2009).

A seleção do número ótimo de fatores é importante para a qualidade do modelo PLS. Um conjunto com poucos fatores, as estruturas espectrais não são reconhecidas, apresentando erros de precisão e exatidão. A regressão correspondente pode, portanto, nunca levar a resultados de análise satisfatórios. Se o número de fatores é muito grande, o ruído espectral incorpora perturbações, agregando erro à análise (BRUKER, 2011).

Na regressão PLS as alterações dos espectros têm sua origem nas variações das concentrações do analito, isso significa que a variação no analito conduz a uma alteração no espectro, portanto os vetores de

concentração da matriz de dados devem ser idênticos. Para erros na preparação das amostras serão observados desvios no instrumento e ruídos espectrais, levando a diferentes vetores, resultando em erros (XIANGHE et al., 2014).

O algoritmo chamado PLS1 leva a valores de concentração de um analito, todos os outros dados são interpretados como perturbações. No algoritmo PLS2, as concentrações de todos os componentes do sistema são consideradas na calibração, para a predição de novas amostras, o modelo proporciona uma análise simultânea de todas as substâncias calibradas. Na calibração PLS1, todos os dados de concentração da matriz devem ser correlacionados com os dados da matriz espectral. Para realizar análise de múltiplos componentes, este algoritmo é aplicado sucessivamente para todos os componentes da calibração (HAALAND, THOMAS 1998; GELADI, 1986; BEEBE, 1987; MARTENS, NAES, 1989; BROWN, 1995; GELADI, 1988).

A desvantagem do modelo PLS é não ser intuitivo e, a menos que se tenha experiência em calibrações, desenvolvimento de métodos, conheça o produto e processo e tenha atenção na validação os métodos podem não apresentar confiabilidade prática (XIANGHE et al., 2014).

3.12 VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO DE FTIR

Como descrito por Ferreira et al. (1999) a evolução da computação possibilita que instrumentos como FTIR adquiram de uma única amostra um número de variáveis muito grandes, como a absorção em mil ou mais comprimentos de onda, registrado em um único espectro. De posse de tamanha quantidade de informações foi necessário o desenvolvimento de uma ferramenta para tratar e extrair as informações de interesse, tratamento este que deve ser rápido para possibilitar o uso da ferramenta na rotina diária de trabalho. Em função desta necessidade nasceu a quimiometria, que é a área destinada à análise de dados químicos de natureza multivariada.

Em modelos convencionais as curvas de calibração são construídas em cada comprimento de onda a partir de soluções padrão de cada analito a fim de estabelecer constantes de proporcionalidade individuais entre concentração e intensidade de absorção. No caso de misturas binárias simples, muitas vezes se obtém bons resultados, no entanto para as amostras reais complexas, podem surgir problemas devido a interferentes que alteram o espectro e conseqüentemente a dedução do resultado, obtendo valores imprecisos e com baixa exatidão.

Para resolver o problema se utilizou da calibração multivariada, onde foi analisado um número pré-determinado de amostras reais por um método normalizado e adquirido o espectro de infravermelho da mesma amostra. De posse destes dados é construída uma curva de calibração que tem como procedimento encontrar um algoritmo matemático que produza propriedade de interesse a partir dos resultados registrados pelo instrumento. Desta forma, as interferências espectrais causadas por contaminantes presentes na composição da amostra podem ser isolados reduzindo a interferência no método, podendo estabelecer um método preciso e exato (FERREIRA et al, 1999; KOWALISNK, SEASHOLTZ 1991).

3.13 MODELO QUIMIOMÉTRICO

No item 3.11 descreveu-se um modelo de calibração usando regressão PLS de dados espectroscópicos e os valores correspondentes. Modelo este que fornece um número limitado de pontos e vetores, usados para calcular a função de calibração “b”, possibilitando a quantificação de amostras desconhecidas através do emprego da equação 1 (BRUKER, 2011).

$$\vec{Y} = X x \vec{b} \quad (1)$$

Onde:

\vec{Y} = Vetor y consiste nos valores de componente de medições de referência.

X = Os vetores de linha da matriz X são formados a partir dos espectros de calibração.

\vec{b} = Função de calibração

A solução da Equação 1 é dada na Equação 2:

$$b = (X^T . X)^{-1} . X^T . Y \quad (2)$$

O resultado da análise está diretamente relacionado à função de calibração “b”. Uma curva com boa correlação apresenta resultados exatos e precisos, já uma correlação ruim pode inviabilizar a utilização

da curva de calibração por apresentar erros elevados. Por este motivo o modelo deve ser validado, o software (OPUS) utilizado na elaboração das curvas de calibração realiza a validação do método através de dois procedimentos, sendo que o operador pode escolher o modelo que melhor se adapta as necessidades de sua curva de calibração. Os modelos de calibração consistem em comparar os valores previstos pela curva de calibração e os valores conhecidos do analito. A comparação entre os valores previstos e reais mostram a precisão do modelo (BRUKER, 2011; MÁRCIA et al, 1999).

Os possíveis modelos de validação são a validação interna e a validação externa. O modelo quimiométrico de validação interna compara os espectros independentemente de cada amostra com o conjunto de espectros que compõem a curva de calibração, este procedimento é repetido individualmente para todos os pontos da curva, permitindo o cálculo do erro de predição do conjunto de dados da curva de calibração. O erro de precisão médio é calculado pela equação denominada “erro quadrático médio transversal da validação” expresso na equação 3. Quanto menor o erro melhor a qualidade do modelo. Na validação externa o usuário define as amostras que serão utilizadas no conjunto de validação e as amostras que serão utilizadas no conjunto de calibração, separando as em dois grupos. O modelo realiza a comparação entre os dois conjuntos e define o erro de predição para este modelo quimiométrico através da equação do “erro quadrático médio de predição” equação esta que não será abordada na referida dissertação (BRUKER, 2011; MÁRCIA et al, 1999).

3.14 MONITORAMENTO DE MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO POR FTIR

Bruker (2006) menciona que as tarefas mais importantes no desenvolvimento de um método são a compilação do conjunto de dados de calibração representativa da faixa de concentração da amostra e consideração de perturbações na medição ou equipamento. Para atender a estas tarefas tão importantes é necessário o conhecimento especializado na análise em questão, conhecer o processo a ser controlado, a amostra em análise e a técnica de medição e avaliação dos resultados.

Bruker (2006) descreve que normalmente as empresas têm especialistas que compilam e mantêm as calibrações ou terceirizam a empresas especializadas. Após a construção da curva e estimativa da

exatidão e precisão os especialistas devem periodicamente verificar a confiabilidade do método em períodos pré-estabelecidos. Períodos estes que variam dependendo do tipo de amostra, concentração de analito e importância da determinação. A confiabilidade do método é verificada realizando a análise de um conjunto de amostras independente das análises de rotina e do conjunto de amostras de calibração.

A qualidade da análise pode ser afetada por alterações no equipamento devido a condições externas e internas como variação da umidade, temperatura e desgastes de componentes. Outros fatores que interferem diretamente na análise são alterações na composição da matéria prima, mudanças no processo de produção ou método analítico (BRUKER, 2006).

A manutenção de um método deve ser um processo contínuo na rotina de análise. Se o desenvolvedor do método percebe que um número de amostras não foi analisado corretamente, em primeiro lugar, é importante analisar o erro, iniciando pela comparação dos espectros a base de calibração. Na maioria dos casos, a razão da obtenção de valores extremos pode ser encontrada de forma relativamente rápida. Estratégias adequadas podem ser desenvolvidas para aumentar o conjunto de amostras na curva de calibração. No entanto, não se pode adicionar espectros ao conjunto de dados de forma contínua sem prévio exame para identificação do motivo da alteração, o que pode aumentar o erro da curva de calibração. Deve-se identificar o problema e montar uma estratégia para correção do erro da curva de calibração (BRUKER, 2006).

As correções na curva podem ser realizadas por identificação e correção da interferência que agrega erro, acréscimo de espectros ao banco de dados da curva de calibração para ajuste de composição de matérias primas, e ainda existe a opção de ajuste de BIAS (item 3.15). O especialista deve avaliar as informações e traçar a estratégia para manutenção do método (BRUKER, 2006).

3.15 BIAS

“BIAS” é o desvio entre o conjunto de dados verdadeiro e preditos pelo método de FTIR. O ajuste de bias é muito utilizado na correção de desvios sistemáticos que ocorrem no método no decorrer do uso em função de variações nas características da amostra, no conjunto de análise e principalmente para utilização de curvas em diferentes

equipamentos e laboratórios baseadas na mesma base de calibração (BRUKER, 2006).

O ajuste de bias é baseado na correção da linha de regressão através da subtração da média de um conjunto de valores tidos como verdadeiros da média do conjunto de valores previstos, o resíduo então calculado é considerado ajustando a linha de regressão aproximando os resultados aumentando a exatidão do método (BRUKER, 2006).

3.16 CONSIDERAÇÕES A RESPEITO DO ESTADO DA ARTE

Com a evolução dos processos industriais e instrumentação está cada vez mais necessário o uso de técnicas rápidas, confiáveis e automatizadas para o controle de qualidade dos produtos em processamento. A técnica de infravermelho é utilizada como técnica alternativa as análises convencionais para inúmeros produtos, como processamento de grãos pelo uso de NIR, e na indústria farmacêutica para caracterização de fármacos. Esta técnica possui grande potencial para aplicação no controle de produção de biodiesel. Métodos oficiais são encontrados na literatura para análise do controle de misturas de diesel de origem fóssil e biodiesel e algumas pesquisas voltadas ao controle de qualidade para processo de produção de óleo para alimentação humana.

A referida dissertação foi elaborada com o intuito de desenvolver método rápido, com menor custo, leitura direta de amostra, sem uso de solventes nocivos ao operador e ao meio ambiente e sem geração de resíduos para o controle de qualidade de empresas produtoras de óleo de soja e biodiesel. Com isso pode-se aumentar a eficiência do sistema de controle de qualidade e reduziu os custos de operação. Este sistema tem a possibilidade de realizar análise em linha de produção, vislumbrando a automação completa da produção, ganhando-se estabilidade e reduzindo-se os custos operacionais.

A referida dissertação não possui por pretensão propor a técnica de FTIR como substituta dos métodos convencionais. O método depende das técnicas convencionais para se manter preciso e exato por meio de verificações diárias. Ainda, existem exigências regulamentares que determinam as técnicas a serem utilizadas para caracterização do produto final, garantindo a qualidade e eficiência operacional na utilização do combustível pelo consumidor. No entanto, os ganhos que a técnica de FTIR pode apresentar ao controle de qualidade do processo

de produção causam grande interesse no aprimoramento das pesquisas no assunto.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são abordados os métodos experimentais das análises normalizadas que forneceram os resultados para a elaboração das curvas de calibração e os métodos de análise no FTIR.

4.1 MÉTODOS DE ANÁLISE

É de fundamental importância para a elaboração de curvas de calibração o emprego de métodos precisos e exatos. As análises quantitativas realizadas para a construção das curvas de calibração foram executadas seguindo métodos oficiais, validados.

4.1.1 Teor de acidez em óleo

A determinação da acidez em óleo foi realizada seguindo os procedimentos descritos no método “AOCS Cd 3d-63-Acid Value”. Consistindo basicamente na pesagem de 10 g de amostra em um erlenmeyer de 250 mL, diluição da amostra com 125 mL de álcool isopropílico P.A. (Vetec) e tolueno P.A. (Vetec), adição de 2 mL de indicador (fenolftaleína 1 % (Vetec) diluído em álcool etílico P.A. (Vetec)) e titulação com hidróxido de potássio 0,1 mol/L (Vetec) previamente padronizado com biftalato de potássio 0,1 mol/L (Sigma). O resultado segundo o método foi expresso em mgKOH/g o qual foi convertido para % para manter o padrão comercial de quantificação de acidez em óleo. A conversão foi realizada alterando o fator da equação de 56,1 para 28,2. A Equação 3 traz o cálculo para obtenção do resultado da acidez em %.

$$A = \frac{Va \times M \times 28,2}{m} \quad (3)$$

Onde:

A = Acidez em %

Va= Volume de hidróxido de potássio gasto na titulação em mL

M = Concentração molar do hidróxido de potássio em mol/L

m= massa da amostra em gramas

4.1.2 Teor de fósforo em óleo

A determinação do teor de fósforo no óleo foi realizada segundo os procedimentos descritos no método “EN 14107– Determination of phosphorus content by inductively coupled plasma (ICP) emission spectrometry”. A análise consistia em pesar a amostra (0,5 g), diluir a amostra de dez a cem vezes com xileno P.A. (Vetec), analisar por espectroscopia de emissão atômica (Perkin Elmer; modelo Optima 7000 DV) com uso de curva de calibração externa preparada com padrão de 500 mg/kg (Spex). Os pontos da curva possuíam a concentração de 0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg/L de P. Os resultados foram expressos em mg/kg de P.

4.1.3 Teor monoacilglicerol, diacilglicerol e triacilglicerol em biodiesel

A quantificação do teor de mono, di e triacilglicerol em biodiesel seguiu o método “ASTM D 6584 - Standard test method for determination of total monoglycerides, total diglycerides, total triglycerides, and free and total glycerin in B-100 biodiesel methyl esters by gas chromatography”. A quantificação foi realizada pela pesagem de 0,1 g de amostra, adição de 100 µL de padrão interno tricaprina (Sigma) e de 100 µL do sililante MSTFA (Sigma), diluição com n-heptano P.A. (Vetec) e análise por cromatografia gasosa com calibração interna e externa. Os resultados foram expressos em % (m/m).

4.1.4 Teor de água em glicerina

A análise de teor de água na glicerina foi realizada pelo do método “EN ISO 12937 – Petroleum products – determination of water – coulometric Karl Fischer titration method”. A análise foi baseada na injeção de aproximadamente 50 mg de amostra em Karl Fischer coulométrico marca Metrohm modelo 831. O resultado foi expresso em % (m/m).

4.1.5 Teor de glicerol

A determinação do teor de glicerol foi realizada seguindo o método da “USP v. 37”. A análise foi realizada pela pesagem de 0,4 g de amostra, diluição com 50 mL de água ultrapura, adição de 2 gotas de azul de bromo cresol (Vetec), correção de pH, adição de 10 mL de uma

solução 50 % (v/v) de etilenoglicol P.A. (Vetec) em água e titulação com hidróxido de sódio 0,1 mol/L (Vetec). O resultado foi expresso em % (m/m).

4.1.6 Análise de cinzas em glicerina

A determinação do teor de cinzas foi realizada seguindo o método da “USP v. 37”. A análise foi baseada na dessecação de cadinho de porcelana em mufla a 600 °C, pesagem de 50 g de amostra, queima em bico de Bunsen, adição de 0,5 mL de ácido sulfúrico P.A. (Vetec), seguida de nova queima e calcinação em forno mufla a 600 °C, dessecação e pesagem. O resultado foi expresso em % (m/m).

4.1.7 Análise por FTIR

O conceito empregado na leitura das amostras foi de leitura direta sem prévia preparação, uma vez que um dos objetivos foi realizar análises de forma rápida e sem a geração de resíduo.

A análise no FTIR consistiu em coleta de amostra nos pontos de controle pré determinados do processo produtivo (Item 3.1), ambientação da amostra na temperatura de trabalho (20 ± 2 °C), da sala onde foi instalado o equipamento de FTIR (Bruker, modelo Tensor 27, equipado com o software OPUS (versão 7.2.139.1294)) e ATR da marca Smith, modelo DURASAMPL IR II, adição de 3 gotas de produto sobre o diamante do ATR com leitura imediata nas condições definidas no item 4.1.7.1.

A amostra de biodiesel da fase reacional necessitou de preparação devido à presença de glicerol em concentrações elevadas. A preparação de amostra consistiu em centrifugação para separação do glicerol presente no meio.

4.1.7.1 Condições do método de análise no FTIR

Para cada ponto de análise foram realizados experimentos prévios para determinar as condições ideais de leitura como espectros por leitura e resolução.

Os métodos de análise consistiam em faixa de comprimento de onda de 4000 a 650 cm^{-1} , 20 espectros por medição, e resolução de 2 cm^{-1} para os métodos de análise de biodiesel e óleo de soja, e 8 cm^{-1} para os métodos de análise de glicerina. Para os pontos de leitura os métodos que apresentaram a necessidade de maior precisão devido à

quantificação de traços de analito foram configuradas com uma maior resolução (2 cm^{-1}) o que torna o método de análise mais lento, preciso e exato. As resoluções de cada método estão definidas nas tabelas que descrevem a identidades das curvas de calibração no item 5.

Para as curvas de glicerol foi possível trabalhar com menos pontos por cm^{-1} , pois as concentrações de analito eram maiores facilitando a detecção. Para as demais curvas com analitos de concentrações mais baixas foi necessário aumentar o número de pontos, tornando o espectro mais sensível a pequenas variações das concentrações, resultando em leituras mais lentas.

4.2 CONSTRUÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO

As etapas para construção de curva de calibração no FTIR consistem em:

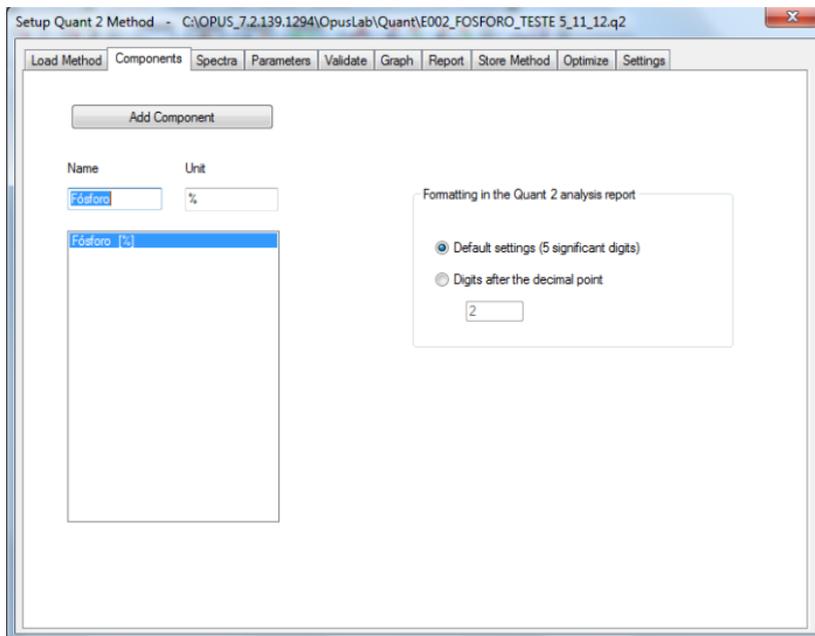
- Análise das amostras coletadas nos pontos pré estabelecidos de controle do processo produtivo por FTIR para aquisição dos espectros que foram utilizados na configuração das curvas de calibração.
- Análise simultânea por métodos convencionais das amostras que foram analisadas por FTIR.

Estas duas etapas iniciais devem ser simultâneas após a amostra ser ambientada a temperatura de trabalho do laboratório.

Com os espectros arquivados e com os resultados obtidos por análise normalizada, iniciou o procedimento de configuração da curva de calibração. Os passos para montagem das curvas foram:

- Configuração do nome dos analitos e das unidades de medida. A Figura 4 ilustra a tela do software OPUS utilizada para configuração do nome e unidade.

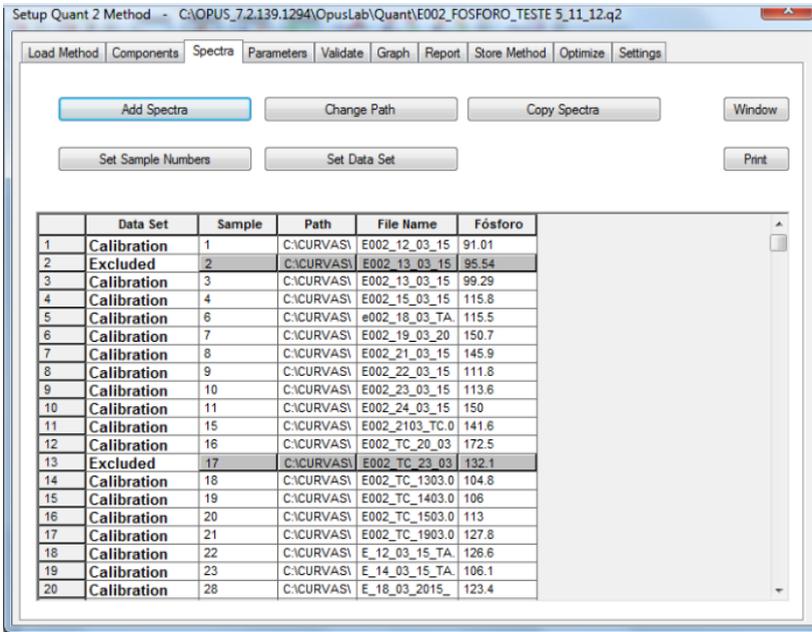
Figura 4: Tela do software OPUS para configuração do nome do analito e da unidade de medida.



Fonte: Software OPUS

- Inserção dos espectros no método e digitação dos valores obtidos na análise normalizada. A Figura 5 ilustra a tela do software OPUS para inclusão dos espectros no método e digitação dos valores tidos como reais.

Figura 5: Tela do software OPUS para inclusão dos espectros no método e digitação dos valores obtidos por análise normalizada tido como real.



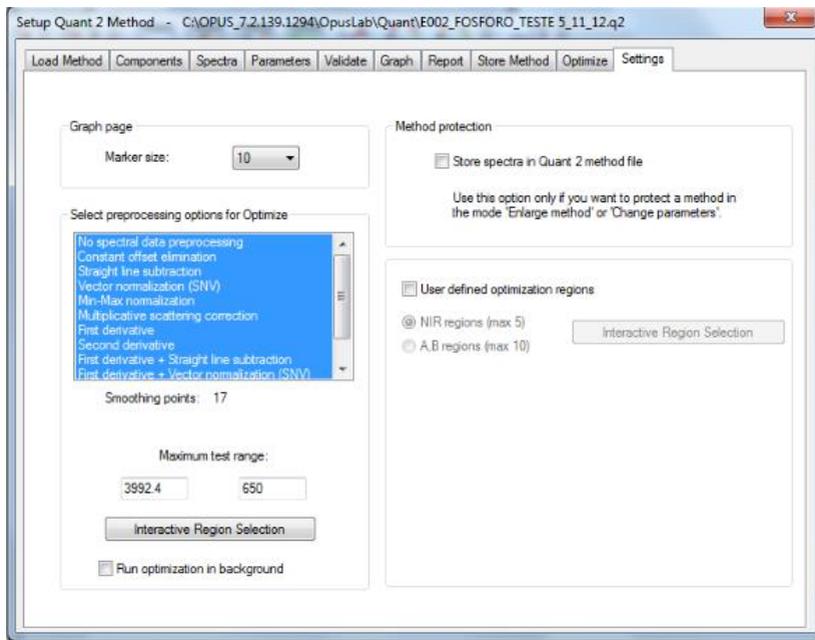
The screenshot shows the 'Spectra' tab of the OPUS software. At the top, there are several menu options: Load Method, Components, Spectra, Parameters, Validate, Graph, Report, Store Method, Optimize, and Settings. Below the menu are several buttons: Add Spectra, Change Path, Copy Spectra, Window, Set Sample Numbers, Set Data Set, and Print. The main area contains a table with the following columns: Data Set, Sample, Path, File Name, and Fósforo. The table lists 20 rows of data, including calibration and excluded samples, with their respective paths and phosphorus values.

	Data Set	Sample	Path	File Name	Fósforo
1	Calibration	1	C:\CURVAS\	E002_12_03_15	91.01
2	Excluded	2	C:\CURVAS\	E002_13_03_15	95.54
3	Calibration	3	C:\CURVAS\	E002_13_03_15	99.29
4	Calibration	4	C:\CURVAS\	E002_15_03_15	115.8
5	Calibration	6	C:\CURVAS\	e002_18_03_TA	115.5
6	Calibration	7	C:\CURVAS\	E002_19_03_20	150.7
7	Calibration	8	C:\CURVAS\	E002_21_03_15	145.9
8	Calibration	9	C:\CURVAS\	E002_22_03_15	111.8
9	Calibration	10	C:\CURVAS\	E002_23_03_15	113.6
10	Calibration	11	C:\CURVAS\	E002_24_03_15	150
11	Calibration	15	C:\CURVAS\	E002_2103_TC.0	141.6
12	Calibration	16	C:\CURVAS\	E002_TC_20_03	172.5
13	Excluded	17	C:\CURVAS\	E002_TC_23_03	132.1
14	Calibration	18	C:\CURVAS\	E002_TC_1303.0	104.8
15	Calibration	19	C:\CURVAS\	E002_TC_1403.0	106
16	Calibration	20	C:\CURVAS\	E002_TC_1503.0	113
17	Calibration	21	C:\CURVAS\	E002_TC_1903.0	127.8
18	Calibration	22	C:\CURVAS\	E_12_03_15_TA	126.6
19	Calibration	23	C:\CURVAS\	E_14_03_15_TA	106.1
20	Calibration	28	C:\CURVAS\	E_18_03_2015_	123.4

Fonte: Software OPUS

-Otimização: varredura dos espectros realizada pelo software OPUS, em busca da melhor faixa espectral para construção da curva de calibração e identificação do algoritmo matemático que melhor modela os dados correlacionando a absorvância aos resultados obtidos por metodologia convencional. A Figura 6 ilustra a tela do software OPUS para configuração dos dados para otimização do método.

Figura 6: Tela do software OPUS para configuração dos parâmetros de otimização do método.



Fonte: Software OPUS

Os algoritmos disponíveis no software OPUS para modelação dos métodos são: “No spectral data preprocessing”, “Constant offset elimination”, “Straight line subtraction”, “Vector normalization (SNV)”, “Min-Max normalization”, “Multiplicative scattering correction”, “First derivative”, “Second derivative”, “First derivative + Straight line subtraction”, “First derivative + vector normalization (SNV)”, “First derivative + MSC”.

4.3 VALIDAÇÃO DE CURVA DE CALIBRAÇÃO POR FTIR

Na etapa de validação foram realizados alguns cálculos para possibilitar a interpretação dos resultados obtidos pelas curvas de calibração em comparação com os métodos convencionais. Pelas informações estatísticas foi possível concluir se as curvas apresentavam condições estatísticas para quantificação dos analitos em estudo. Os dados considerados foram informações fornecidas pelo software Opus

como coeficiente de determinação (r^2) e RMSECV e informações obtidas através de cálculos manuais como precisão e exatidão.

4.3.1 Precisão entre métodos

A equação 4, denominada RMSECV (erro quadrático médio de validação cruzada), foi utilizada para o cálculo realizado automaticamente pelo sistema operacional OPUS. O resultado desta equação trata-se de uma medida quantitativa para a precisão com a qual as amostras foram previstas durante a validação do método de FTIR, considerando como referência os resultados tidos como reais obtidos através de determinações por métodos normalizadas (abordadas no item 4.1), validação esta denominada de validação cruzada com teoria abordada no item 3.12.

$$RMSECV = \sqrt{\frac{1}{M} \sum_{i=1}^M (Y_i^{meas} - Y_i^{pred})^2} \quad (4)$$

Sendo:

M = Amostras

Y_i^{meas} = Resultado da análise realizada pelo método convencional

Y_i^{pred} = Resultado obtido pela predição do método de análise por FTIR

4.3.2 Exatidão (Erro relativo %)

Exatidão é a aptidão de um instrumento em apresentar resultados próximos ao valor verdadeiro do mensurando, a Figura 7 trás a ilustração do conceito de exatidão (ROSSI, 2013).

A exatidão foi avaliada pelo estudo do erro relativo (ER), expresso em percentagem por meio da equação 5:

$$ER (\%) = \frac{X_{lab} - X_v}{X_v} . 100 \quad (5)$$

Sendo:

X_{lab} = valor obtido através de leitura no FTIR

X_v = valor aceito como verdadeiro obtido pela análise das mesmas amostras por métodos convencionais.

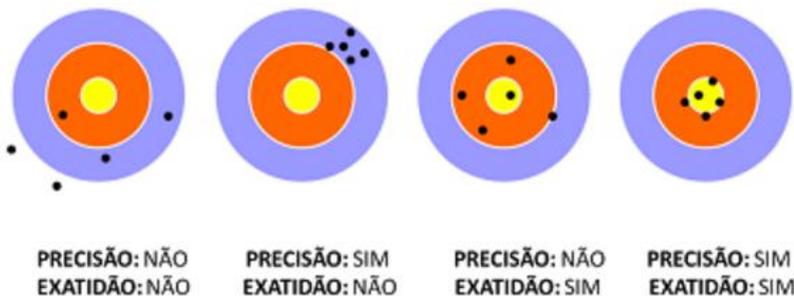
Para o cálculo do erro relativo considerou-se as análises realizadas pelos métodos convencionais como valores aceitos como verdadeiros e as predições obtidas pela análise de FTIR como resultados do laboratório.

É responsabilidade do desenvolvedor dos métodos conhecerem o processo de produção em estudo e definir os limites de erro aceitáveis para que haja a menor interferência possível da metodologia sobre os ajustes realizados no processo de produção. A exatidão é uma ferramenta muito útil para o conhecimento do erro dos métodos, no entanto o limite para o erro deve ser definido em função da aplicação e da exatidão necessária para possibilitar o controle do parâmetro em estudo. Na referida dissertação o limite máximo adotado para a exatidão foi de 10 %.

4.3.3 Precisão (DPR %)

A precisão é a aptidão de um instrumento de medição fornecer indicações muito próximas quando se medem o mesmo mensurando nas mesmas condições com o mesmo operador, a Figura 7 ilustra o conceito de precisão (ROSSI 2013).

Figura 7: Ilustração dos conceitos de exatidão e precisão.



Fonte: Oswaldo Rossi Jr

A precisão do método de FTIR foi calculado através da leitura em duplicada de cada uma das dez amostras utilizadas na validação dos métodos. O procedimento de análise descrito no item 4.1.7 foi realizado duas vezes para cada amostra, obtendo dois resultados de predição por FTIR para cada uma das dez amostras de validação possibilitando a realização do cálculo do desvio padrão relativo (equação 6).

$$DPR (\%) = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100 \quad (6)$$

Sendo:

\bar{X} = Média

E:

$$S = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{X})^2}{n-1}} \quad (7)$$

Sendo:

n = número de análises realizadas

X = valor

É responsabilidade do desenvolvedor dos métodos conhecerem o processo de produção em estudo e definir os limites de erro aceitáveis para que haja a menor interferência possível da metodologia sobre os ajuste realizados no processo de produção. A precisão é uma ferramenta muito útil para o conhecimento do erro dos métodos, no entanto o limite para o erro deve ser definido em função da aplicação e da precisão necessária para possibilitar o controle do parâmetro em estudo.

4.3.4 Faixa de trabalho

A faixa de trabalho foi obtida através da inspeção da curva de calibração considerando o primeiro ponto e o último ponto da faixa linear. O desenvolvedor dos métodos para quantificação de parâmetros por FTIR devem conhecer o processo produtivo em estudo e seus parâmetros de trabalho, com isso é possível manter a média dos resultados de trabalho centralizados na faixa linear saindo quando possível das regiões extrema, menos sensíveis ganhando em precisão e exatidão.

4.3.5 Bias

O Bias foi calculado através da realização de dez experimentos distintos dos utilizados na curva de calibração e validação através do emprego da mesma metodologia de coleta de amostra e realização dos experimentos. A equação 8 descreve o cálculo para obtenção do Bias.

$$Bias = (\bar{X}_{lab} - \bar{X}_{FTIR}) + Bias_2 \quad (8)$$

Sendo:

Bias = Correção a ser aplicada no método de predição por FTIR

\bar{X}_{lab} = Médias dos dez experimentos realizados por método convencional. Resultados de referência.

\bar{X}_{FTIR} = Médias dos resultados previstos por FTIR.

Bias₂ = Resultado atual de Bias em uso no método em estudo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção do trabalho será apresentada em subitens que abrangem as curvas de calibração por parâmetros analíticos, discutindo cada curva de calibração elaborada para controlar as etapas de processamento de modo a facilitar a compreensão dos resultados obtidos.

5.1 CURVAS DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ NO TRATAMENTO DE ÓLEO

Para possibilitar a quantificação direta da acidez na amostra obtidas nos pontos pré determinados do processo produtivo sem preparação prévia, foi necessário considerar as peculiaridades de cada etapa do processo de produção, devido às variações da composição do produto em processamento. As etapas de interesse para o controle da acidez no tratamento do óleo foram: Alimentação de óleo (matéria prima, óleo degomado), processo de purificação (centrifugação) e óleo neutralizado (produto final).

Na Tabela 1 apresentam-se as informações de identidade das curvas de calibração para a determinação da acidez no processo de tratamento de óleo.

Tabela 1- Características de identidade das curvas de calibração para determinação do teor de acidez no processo de purificação do óleo.

Informações das curvas de calibração	Alimentação de óleo	Purificação do óleo	Óleo neutralizado
Análises de calibração (n°)	354	471	250
Coefficiente de determinação (r ²)	97,53	99,09	99,65
Faixa de trabalho (%)	0,01 a 5,04	0,01 a 3,97	0,04 a 2,13
Bias	0,100	-0,107	0,011
RMSECV	0,120	0,065	0,028

Fonte: Autor.

Analisando as informações apresentadas na Tabela 1, em especial o coeficiente de determinação e o RMSECV, é possível concluir que as curvas apresentaram boa correlação, possibilitando a utilização na determinação do referido parâmetro analítico para controle do processo produtivo. Como a análise de FTIR possui uma série de variáveis como

apresentado no Item 3.9 é necessário conhecer com maior propriedade o comportamento da curva no decorrer do uso, expondo o método ao maior número de variáveis possíveis, possibilitando a identificação de erros e melhorias visando à obtenção de um método eficaz para o controle do referido parâmetro nos pontos pré determinados de coleta de amostra. Para os métodos de acidez serem considerados eficazes os resultados de precisão e exatidão devem ser inferior a 10 %.

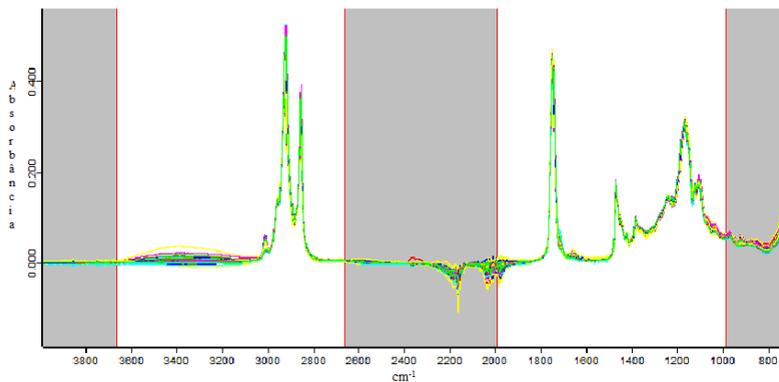
O número de amostra de calibração é definido no decorrer do procedimento de calibração. Na medida em que os métodos são testados e no decorrer dos procedimentos de validação. Não existe uma regra que defina a quantidade de pontos de calibração é o operador quem define em função dos erros de precisão e exatidão obtidos. Para as curva de acidez é possível observar que as curvas apresentam boa correlação com os pontos trabalhados.

Para os três métodos em estudo foi necessário realizar ajustes dos resultados através da correção do bias, corrigindo os erros agregados aos métodos. No período de aquisição de dados para a realização dos cálculos de precisão e exatidão os bias utilizados nos métodos estão descritos na Tabela 1.

Os dados foram submetidos a testes matemáticos para identificação do modelo matemático que melhor se adapta aos dados informados ao software Opus. O software testou todos os algoritmo descritos no item 4.2 e identificou a “First derivative + MSE” como o modelo mais adequado para os referidos métodos.

A Figura 8 ilustra as faixas espectrais utilizadas nas curvas de calibração para a determinação da acidez nos processos de alimentação de óleo, purificação de óleo e óleo neutralizado. As faixas destacadas em branco foram utilizadas na elaboração das curvas de calibração. Faixas identificadas com maior correlação com relação aos resultados obtidos por metodologia convencional.

Figura 8- Faixas espectrais utilizadas na elaboração das curvas de calibração para a determinação do teor de acidez no processo de tratamento de óleo.

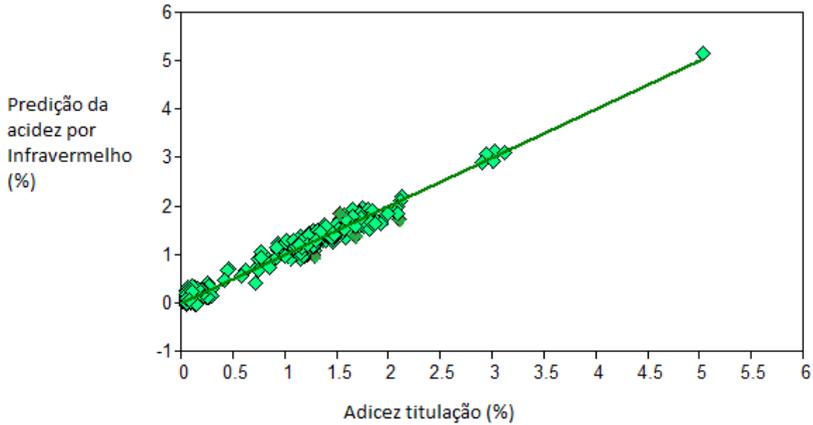


Fonte: Autor.

As faixas de absorvância identificadas como ideais para a quantificação da acidez identificadas na Figura 8 foram 3663,6 a 2656,8 cm^{-1} e 1990,4 a 982,7 cm^{-1} .

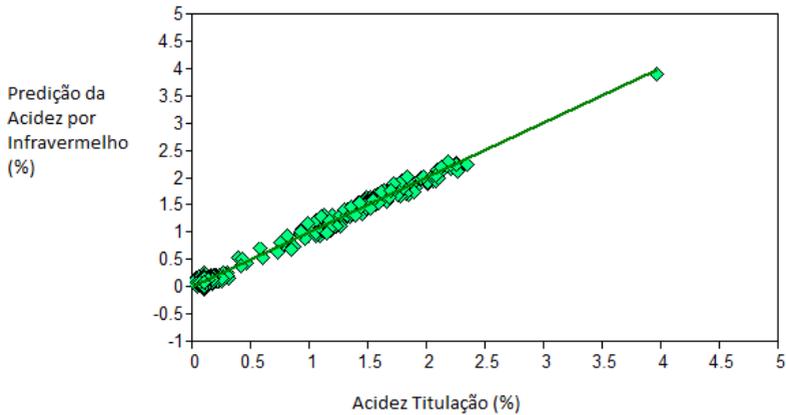
Nas Figuras 9, 10 e 11 é possível verificar o comportamento dos pontos das curvas de calibração em toda a faixa de trabalho para os três pontos de controle, evidenciando a boa correlação das curvas aos modelos propostos.

Figura 9 – Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de acidez no processo de tratamento do óleo, etapa alimentação de óleo (matéria prima).



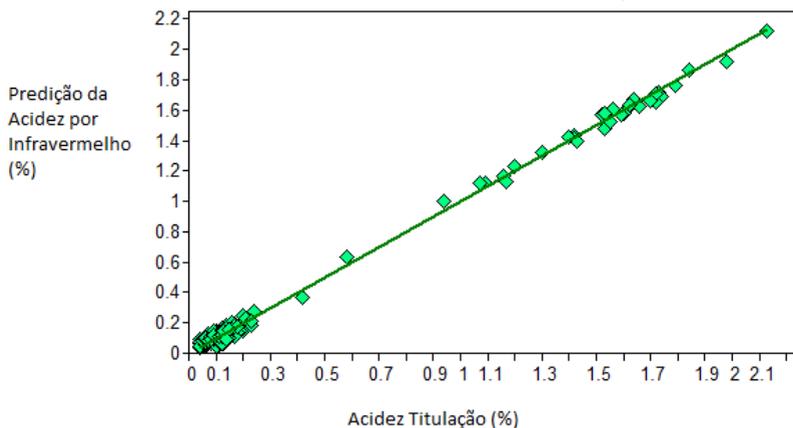
Fonte: Autor.

Figura 10 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de acidez no processo de tratamento do óleo na etapa de purificação do óleo (centrifugação)



Fonte: Autor.

Figura 11 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de acidez no processo de tratamento do óleo na etapa óleo neutralizado (produto final).



Fonte: Autor.

Para avaliar com maior propriedade as curvas de calibração foram realizadas as análises comparativas apresentadas nas Tabela 2, 3 e 4 possibilitando a realização dos cálculos definidos nos itens 4.3.2 e 4.3.3 (exatidão e precisão). As amostras utilizadas nos cálculos de precisão e exatidão não foram utilizadas na elaboração da curva de calibração e ajuste de bias.

Realizou-se os cálculos de exatidão entre o método de FTIR e o método “AOCS Cd 3d-63 – Acid Value”.

Tabela 2– Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de acidez na etapa denominada alimentação de óleo (matéria prima).

Amostra	Resultado titulação (%)	Resultados obtidos na análise de FTIR (%)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença (reais – preditos %)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	2,45	2,47	2,47	2,47	0,00	0,82	-0,02
2	2,05	2,25	2,15	2,20	3,21	7,32	-0,15
3	2,96	2,97	2,98	2,98	0,24	0,51	-0,02
4	2,27	2,27	2,29	2,28	0,62	0,44	-0,01
5	2,57	2,55	2,62	2,59	1,91	0,58	-0,02
6	2,00	2,12	2,10	2,11	0,67	5,50	-0,11
7	2,17	2,21	2,18	2,20	0,97	1,15	-0,03
8	1,45	1,47	1,47	1,47	0,00	1,38	-0,02
9	1,58	1,63	1,65	1,64	0,86	3,80	-0,06
10	2,05	2,15	2,16	2,16	0,33	5,12	-0,11
Médias	2,16	-	-	2,21	0,88	2,66	-0,05

Fonte: Autor.

Tabela 3- Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de acidez na etapa denominada purificação de óleo (centrifugação).

Amostra	Resultado titulação (%)	Resultados obtidos na análise de FTIR (%)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença (reais – preditos %)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	0,04	0,03	0,03	0,03	0,00	-25,00	0,01
2	0,10	0,11	0,12	0,12	6,15	15,00	-0,02
3	0,11	0,12	0,12	0,12	0,00	9,09	-0,01
4	0,06	0,08	0,08	0,08	0,00	33,33	-0,02
5	0,05	0,05	0,04	0,05	15,71	-10,00	0,01
6	0,08	0,07	0,08	0,08	9,43	-6,25	0,00
7	0,09	0,10	0,09	0,10	7,44	5,56	-0,01
8	0,09	0,09	0,09	0,09	0,00	0,00	0,00
9	0,10	0,12	0,10	0,11	12,86	10,00	-0,01
10	0,11	0,13	0,11	0,12	11,79	9,09	-0,01
Médias	0,08	-	-	0,09	6,34	4,08	-0,01

Fonte: Autor.

Tabela 4 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de acidez na etapa denominada óleo neutralizado (produto final).

Amostra	Resultado (titulação - %)	Resultados obtidos na análise de FTIR (%)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença (reais - preditos %)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	0,16	0,18	0,17	0,18	4,04	9,37	-0,02
2	0,15	0,14	0,16	0,15	9,43	0,00	0,00
3	0,16	0,15	0,17	0,16	8,84	0,00	0,00
4	0,20	0,19	0,19	0,19	0,00	-5,00	0,01
5	0,17	0,17	0,16	0,17	4,29	-2,94	0,01
6	0,19	0,19	0,19	0,19	0,00	0,00	0,00
7	0,13	0,14	0,14	0,14	0,00	7,69	-0,01
8	0,20	0,21	0,20	0,21	3,45	2,50	-0,01
9	2,15	2,22	2,24	2,23	0,63	3,72	-0,08
10	0,13	0,13	0,14	0,14	5,24	3,85	-0,01
Médias	0,36	-	-	0,37	3,59	1,92	-0,01

Fonte: Autor.

Avaliando as precisões dos métodos se observam variações pontuais maiores que 10 % para a curva destinada ao controle da etapa de purificação do óleo, no entanto o erro médio de precisão para 10 determinações é inferior a 10 %, valor interpretado como aceitável para a referida etapa de produção. Avaliando a exatidão dos métodos se observam variações não lineares e pontualmente elevadas, em média o erro se apresenta inferior a 10 %. Na etapa de produção denominada de purificação de óleo a amostras apresentam uma quantidade elevada de umidade, conforme demonstrado por Silverstein e Webster (2000), a ligação O-H da água possuindo absorção em 3652, 3756 e 1596 cm^{-1} faixa esta identificada como eficiente também para a acidez, este é um dos motivos que auxilia a justificar a causa da maior variação analítica para a análise da acidez na referida etapa de produção.

Avaliando os resultados obtidos e os cálculos expostos nas Tabela se conclui que as curvas apresentam condições estatísticas e confiabilidade necessária para o controle de produção da qualidade do óleo no processo de purificação. Avaliando as informações detalhadamente e separadamente é possível constatar que a diferença

entre o método normatizado (titulação) e o método de FTIR é relativamente baixo (-0,01 a 0,05 %), erros estes que não afeta o processo seguinte de transesterificação. Avaliando o desvio padrão relativo se observa que o método destinado ao controle da etapa de purificação do óleo apresenta certa variação de repetitividade, no entanto abaixo de 10 %, parâmetro este que demonstra a necessidade da realização da análise em no mínimo duplicata para acompanhamento do erro médio, com a finalidade de evitar a utilização de resultados que não representam a realidade.

Em relação ao erro relativo (exatidão) o valor obtido é considerado bom muito abaixo de 10 %, demonstrando que a curva é confiável e pode ser utilizada no controle de qualidade do processo produtivo.

Os resultados avaliados estão dentro da faixa de trabalho do processo produtivo e principalmente dentro do limite máximo definido, onde os resultados devem apresentar maior confiabilidade.

Em linhas gerais se conclui que para a análise de acidez em níveis de % o método de FTIR com ATR, calibração multivariada e leitura direta de amostra sem preparação prévia os métodos apresentam precisão e exatidão suficiente para utilização no controle de qualidade do processo de tratamento do óleo para posterior utilização no processo de produção de biodiesel. As curvas apresentaram erros aceitáveis aos parâmetros de trabalho do processo estudado. As verificações estatísticas do método definidas no Item 3.14 devem ser realizadas rotineiramente, possibilitando a identificação de erros, propiciando a realização dos ajustes necessários para manter a qualidade estatística dos resultados preditos pelos métodos desenvolvidos.

5.2 CURVAS DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FÓSFORO NO TRATAMENTO DE ÓLEO

Como para os métodos para predição da acidez, foi necessário a elaboração de três curvas de calibração para possibilitar a determinação do teor de fósforo no processo de tratamento do óleo. A separação por etapa de processamento se fez necessária para obter curvas mais precisas para a faixa de concentração de interesse para a etapa de processamento em estudo considerando suas peculiaridades de composição. As etapas de interesse para o controle de produção forma: Alimentação de óleo (matéria prima), processo de separação (centrifugação) e óleo neutralizado (produto final).

Na Tabela 5 são apresentadas as informações da identidade da curva de calibração para a determinação do teor de fósforo no processo de tratamento de óleo.

Tabela 5 – Características de identidade da curva de calibração para determinação do teor de fósforo no processo de purificação do óleo.

Informações das curvas de calibração	Alimentação de óleo	Purificação do óleo	Óleo neutralizado
Análises de calibração (n°)	382	242	239
Coefficiente de determinação (r ²)	91,12	73,65	47,15
Faixa de trabalho (%)	0,5 a 829	0,6 a 40,8	0,276 a 17,8
Bias	65,02	7,59	-0,340
RMSECV	36	4,89	2,85

Fonte: Autor.

Analisando as informações apresentadas na Tabela 5, em especial o coeficiente de determinação e o RMSECV, é possível concluir que a curva para quantificação do fósforo na etapa denominada de alimentação de óleo apresentou correlação abaixo do esperado. Contudo, o coeficiente de determinação apresenta valor acima de 90 e o RMSECV em 36 mg/kg. O resultado de RMSECV é considerado elevado, portanto foi calculado os dados estatísticos de precisão e exatidão, abordados na Tabela 6, possibilitando o conhecimento mais detalhado do erro do método e identificando pontos de melhoria.

Analisando as informações do método para predição do fósforo na etapa de purificação de óleo em especial o coeficiente de determinação e o RMSECV, é possível concluir que a curva apresentou correlação baixa. O coeficiente de determinação apresenta valor abaixo de 90 (73) e o RMSECV apresenta erro médio em 4,89 mg/kg, informação que evidenciam um método insatisfatório para a predição do fósforo na referida etapa de processamento. A precisão e exatidão do método poderão ser observados na Tabela 7.

Analisando as informações apresentadas na Tabela 5, em especial o coeficiente de determinação e o RMSECV, é possível concluir que a curva para a etapa de óleo neutralizado apresentou correlação baixa. O coeficiente de determinação apresenta valor abaixo de 90 (47) e o RMSECV apresenta erro médio em 2,8 mg/kg, em uma etapa do processo que o teor médio de analito determinado é de 8 mg/kg,

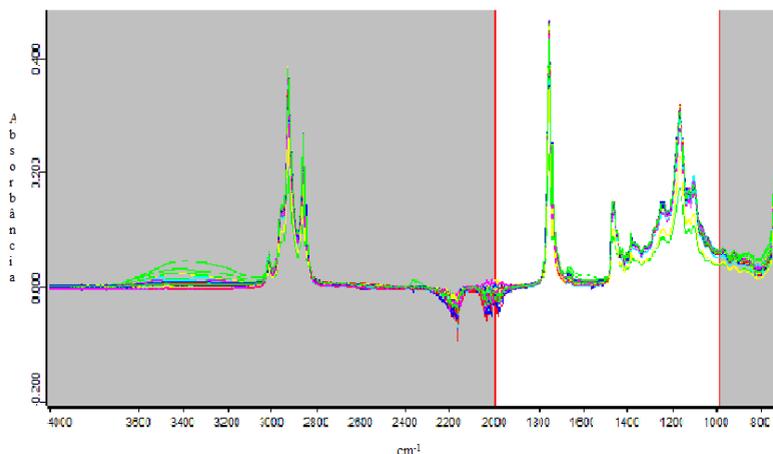
resultado que se considerou ruim para o controle de qualidade desta etapa de produção.

Para os três métodos em estudo foram necessários realizar ajustes dos resultados através da correção do bias, corrigindo os erros agregados aos métodos. No período de aquisição de dados para a realização dos cálculos de precisão e exatidão os bias utilizados nos métodos estão descritos na Tabela 5.

Os dados foram submetidos a testes matemáticos para identificação do modelo matemático que melhor se adapta aos dados informados ao software Opus. O software testou todos os algoritmo descritos no item 4.2 e identificou a “Firt derivative + vector normalization (SNV)” como o modelo mais adequado para os referidos métodos.

A Figura 12 ilustra a faixa espectral utilizada na curva de calibração para a determinação do teor de fósforo nos processos de alimentação de óleo, purificação de óleo e óleo neutralizado. A faixa destacada em branco representa a faixa utilizada na elaboração da curva de calibração.

Figura 12 – Faixa espectral utilizada na elaboração das curvas de calibração para a determinação do teor de fósforo no processo de tratamento de óleo.

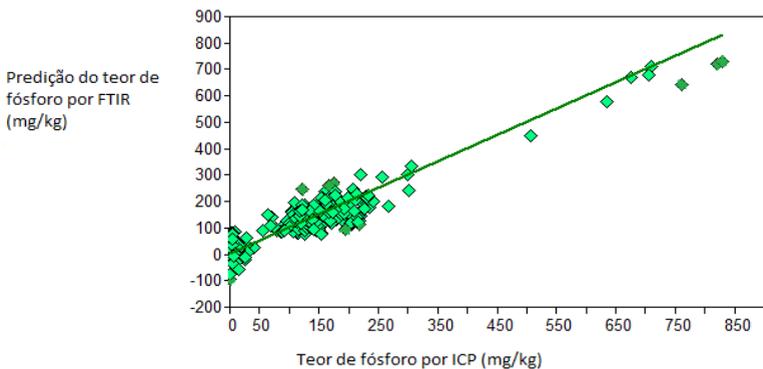


Fonte: Autor.

A faixa de absorvância identificada como ideal para a quantificação do teor de fósforo apresentada na Figura 12 foi 1989,5 a 982,7 cm^{-1} .

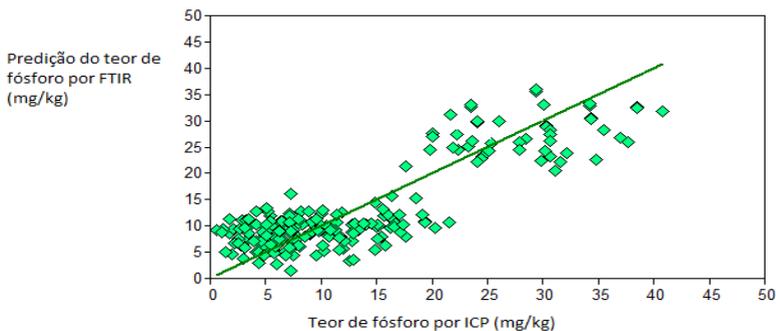
Nas Figuras 13, 14 e 15 é possível verificar os pontos da curva de calibração, ilustrando o comportamento dos pontos da curva de calibração em toda a faixa e trabalho.

Figura 13 – Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de fósforo no processo de tratamento do óleo na etapa alimentação de óleo.



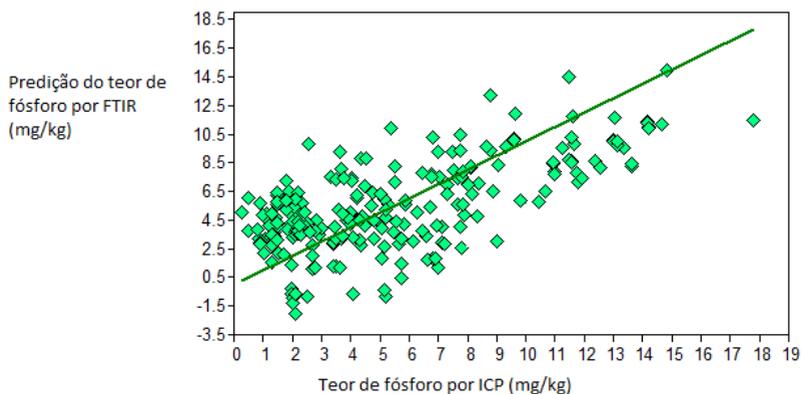
Fonte: Autor.

Figura 14 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de fósforo no processo de tratamento do óleo na etapa purificação de óleo.



Fonte: Autor.

Figura 15 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de fósforo no processo de tratamento do óleo na etapa óleo neutralizado.



Fonte: Autor.

Fica claro com os dados apresentados que as referidas curvas não apresentam as melhores condições analíticas, no entanto se optou em realizar os experimentos e cálculos de precisão e exatidão apresentados nas Tabelas 6, 7 e 8 para identificação dos pontos a serem melhorados e para obtenção de uma conclusão sobre as condições estatísticas dos métodos.

Tabela 6 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de fósforo na etapa denominada alimentação de óleo.

Amostra	Resultado ICP (mg/kg)	Resultados obtidos na análise de FTIR (mg/kg)			DPR (%)	ER (%)	Diferença reais – preditos (mg/kg)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	152	158	158	158	0,00	3,95	-6,00
2	190	195	197	196	0,72	3,16	-6,00
3	205	206	210	208	1,36	1,46	-3,00
4	235	240	245	242	1,46	3,19	-7,50
5	187	197	184	190	4,83	1,87	-3,50
6	190	192	193	192	0,37	1,32	-2,50
7	220	225	230	227	1,55	3,41	-7,50
8	215	219	217	218	0,65	1,40	-3,00
9	192	194	195	194	0,36	1,30	-2,50
10	201	203	205	204	0,69	1,49	-3,00
Médias	199	-	-	203	1,20	2,25	-4,45

Fonte: Autor.

Realizando os cálculos de exatidão entre o método de FTIR e o método convencional se observa 2 % de erro relativo para o método de predição de fósforo na etapa de alimentação de óleo. O resultado de exatidão permite concluir que o método se apresenta exata o suficiente para controlar o processo de produção.

Calculando a precisão através das dez determinações realizadas em duplicata pelo método de FTIR observa o resultado médio em 1 %. Interpretando o resultado médio da precisão pode-se concluir que o método é preciso o suficiente para o controle do processo de produção na referida etapa de processamento.

Analisando criticamente os dados de identidade da curva de calibração e os cálculos de precisão e exatidão, pode-se concluir que o método apresenta confiabilidade suficiente para monitorar a referida etapa de produção.

A Tabela 7 trás os resultados de validação para o método de predição do teor de fósforo para a etapa de purificação de óleo.

Tabela 7 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de fósforo na etapa denominada purificação de óleo.

Amostra	Resultado ICP (mg/kg)	Resultados obtidos na análise de FTIR (mg/kg)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença reais - predito (mg/kg)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	14	13	15	14	10,10	0,00	0,00
2	16	14	13	14	5,24	-15,63	2,50
3	24	13	13	13	2,77	-8,93	1,25
4	20	16	16	16	0,00	-20,00	4,00
5	12	14	13	14	5,24	12,50	-1,50
6	11	12	15	14	13,05	19,91	-2,25
7	16	12	13	12	0,57	-23,15	3,75
8	13	13	15	14	9,29	8,73	-1,10
9	15	15	15	15	2,36	-2,29	0,35
10	14	14	14	14	0,00	-2,11	0,30
Médias	15	-	-	14	4,86	-3,10	0,73

Fonte: Autor.

Analisando os resultados de precisão se observa erro médio em 4,86 %, e precisão média de -3,10 % resultados médios dentro do limite de 10 %, no entanto observa-se resultados acima de 10 %, principalmente para a exatidão inviabilizando o monitoramento do fósforo por FTIR na referida etapa de processamento nas condições descritas do método.

Este comportamento pode ser considerado esperado uma vez que a faixa de quantificação esteja na casa de 14 mg/kg, diferenças pequenas como 4 mg/kg resultam em um erro relativo elevado -23 %.

Um motivo pelo qual a curva não apresenta correlação suficientemente boa para utilização plena no controle de qualidade pode ser relacionado à necessidade de a curva de calibração necessitar de uma maior quantidade de espectros de calibração. Bruker (2011) descreve que a curva deve apresentar tantos pontos quanto necessário para obter boa correlação e esta quantidade não deve ser elevada, ao ponto do ruído espectral (resultando de elevado número de espectros de calibração), atrapalhar na precisão e exatidão da curva de calibração. Não existe um número ou equação que defina a quantidade de espectros necessários para compor uma curva de calibração o mesmo deve ser descoberto pelo

operador através de suas experiências. Para a referida curva de calibração o número de pontos da curva de calibração se mostrou pequeno, sendo que a correlação pode ser melhorada através do aumento de pontos de calibração.

A Tabela 8 trás os resultados de validação para o método de predição do teor de fósforo para a etapa denominada óleo neutralizado.

Tabela 8–Tabela de resultados de validação da curva de calibração para quantificação do teor de fósforo na etapa denominada óleo neutralizado.

Amostra	Resultado ICP (mg/kg)	Resultados obtidos na análise de FTIR (mg/kg)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença reais – predito (mg/kg)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	6	4	5	5	15,71	-25,00	1,50
2	5	4	4	4	0,00	-20,00	1,00
3	3	3	3	3	0,00	0,00	0,00
4	9	5	6	6	12,86	-38,89	3,50
5	7	5	5	5	0,00	-28,57	2,00
6	7	7	6	7	10,88	-7,14	0,50
7	5	3	4	4	20,20	-30,00	1,50
8	6	5	5	5	0,00	-16,67	1,00
9	7	6	6	6	0,00	-14,29	1,00
10	7	5	5	5	0,00	-28,57	2,00
Médias	6	-	-	5	5,97	-20,91	1,40

Fonte: Autor.

Analisando os resultados de precisão se observa erro médio em 5,97 %, resultado considerado dentro do limite definido de 10 % no entanto observam-se resultados acima de 10 %, chegando em 20 %. O erro relativo médio foi elevado (-21) para a utilização da curva de calibração no controle de qualidade do fósforo para a referida etapa de processamento. As diferenças entre os métodos são baixas (diferença máxima obtida de 4 mg/kg), no entanto a faixa de trabalho é muito pequena 6 mg/kg, o que exige maior precisão do método para possibilitar as correções no processo industrial. A curva deve ser melhorada e os erros reduzidos para possibilitar a utilização do método.

Em linhas gerais, pode-se concluir que para a análise de fósforo em níveis de mg/kg no método de FTIR com ART, calibração

multivariada e leitura direta de amostra na etapa de alimentação de óleo apresentou precisão e exatidão suficientes para utilização no monitoramento da qualidade do processo produtivo. Os métodos para predição nas etapas de processamento denominadas de purificação e óleo neutralizado apresentaram erros elevados, não apresentando confiabilidade suficiente para propiciar o controle pleno do processo produtivo.

O método se mostra confiável para valores na faixa de 200 mg/kg, no entanto para valores inferiores a 30 mg/kg se observa maior dificuldade, tanto para a precisão como para a exatidão do método, maiores esforços são necessários para aumentar a confiança dos resultados, os quais consistem em aumentar o número de espectros na curva de calibração, melhorar o coeficiente de determinação e o RMSECV da curva de calibração.

5.3 CURVAS DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GLICERÍDEO TOTAL, MONO, DI E TRIACILGLICEROL NO PROCESSO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

A referida dissertação trás neste capítulo o uso do método de FTIR com ATR acoplado para leitura direta de amostras de biodiesel para monitoramento da qualidade da fase reacional.

Para quantificar o teor de monoacilglicerol, diacilglicerol, triacilglicerol e glicerol total na fase de transesterificação da produção de biodiesel foi necessária a elaboração de quatro curvas de calibração. Estes parâmetros analíticos apresentam extrema importância para o ajuste da dosagem de catalisador, visando à redução do custo do processo de produção de biodiesel e o atendimento a especificação do produto final.

Na Tabela 9 se apresentam as informações da identidade das curvas de calibração para a determinação do teor de mono, di, triacilglicerol e glicerol total no processo de produção do biodiesel na etapa de produção denominada transesterificação.

Tabela 9 - Características de identidade das curvas de calibração para determinação do teor mono, di, triacilglicerol e glicerol total na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.

Informações das curvas de calibração	mono	di	tri	glicerol total
Análises de calibração (n°)	186	180	165	166
Coefficiente de determinação (r ²)	78,62	97,26	86,62	88,77
Faixa de trabalho (%)	0,363 a 1,422	0,032 a 4,952	0,029 a 4,919	0,096 a 2,653
Bias	0	0	0	0
RMSECV	0,074	0,082	0,241	0,098

Fonte: Autor.

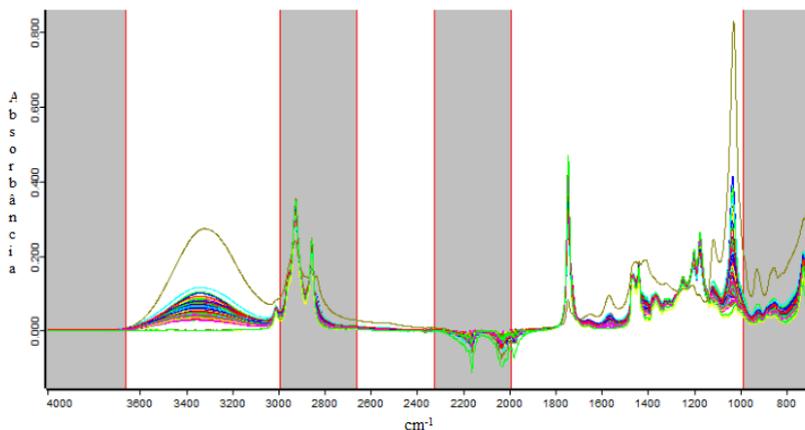
Analisando as informações apresentadas na Tabela 9, em especial o coeficiente de determinação e o RMSECV, é possível concluir que as curvas para predição de mono, tri e glicerol total apresentaram correlação baixa, inferior a 95% valor considerado como mínimo para o monitoramento dos parâmetros em estudo na referida etapa de processamento e erros elevados. Para o método de predição do teor de diacilglicerol se observa bom resultado de correlação, no entanto o erro RMSECV elevado. Os limites máximos de especificação da ANP para a comercialização do biodiesel é de 0,7 % (m/m) para o monoacilglicerol, 0,2 % para o di e triacilglicerol e 0,25 % para o glicerol total.

Estes erros reduzem a confiança na curva de calibração impossibilitando a realização de ajustes na dosagem de catalisador através dos resultados expressos pela predição realizada pelo método de FTIR. Com o intuito de avaliar as melhorias necessárias na curva de calibração se realizou 10 experimentos, possibilitando os cálculos de exatidão e precisão.

Os dados foram submetidos a testes matemáticos para identificação do modelo matemático que melhor se adapta aos dados informados ao software Opus. O software testou todos os algoritmos descritos no item 4.2 e identificou a “Multiplicative scattering correction” como o modelo mais adequado para o método de quantificação do monoacilglicerol, o “First derivative + MSC” para o diacilglicerol, o “First derivative + vector normalization (SNV)” para o triacilglicerol, e “Min-max normalization” para o método de quantificação do teor de glicerol total.

As Figuras 16, 17, 18 e 19 ilustram as faixas espectrais utilizadas nos métodos para a predição do teor de glicerol total, mono, di e triacilglicerol. As faixas destacadas em branco representam as absorvâncias utilizadas na elaboração dos métodos.

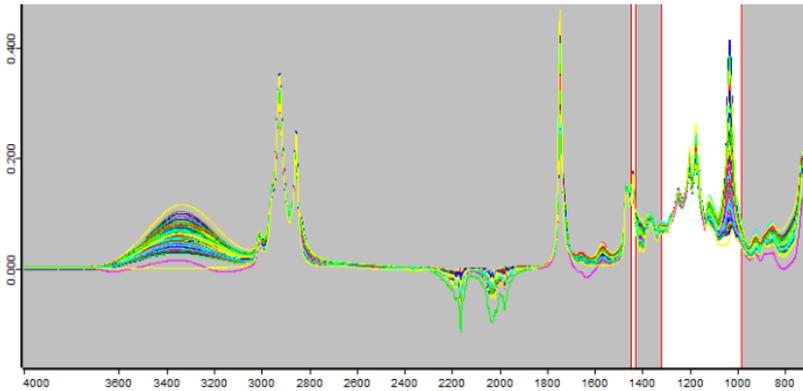
Figura 16 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração da curva de calibração para a determinação do teor de glicerol total na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.



Fonte: Autor.

Como o método de predição do teor de glicerol total se trata de um somatório dos teores de mono, di e triacilglicerol, os comprimentos de onda utilizados na composição deste método são os utilizados na predição de cada componente individual. As faixas são de 3663,6 a 2993,4; 2659,7 a 2323,1 e 1989,5 a 984,6. Andreas (2011) utilizou em seu trabalho a faixa espectral de 1900 a 600 cm⁻¹ para a quantificação de 1-monolaurina, 1,3-dilaurina e trilaurina, regiões que se mostraram muito prósperas para a predição direta de mono, di e triacilglicerol através da leitura direta de amostra. O espectro foi otimizado pelo software OPUS e as regiões identificadas como ideais para a construção das curvas de calibração se enquadraram na faixa relatada no artigo de Andreas.

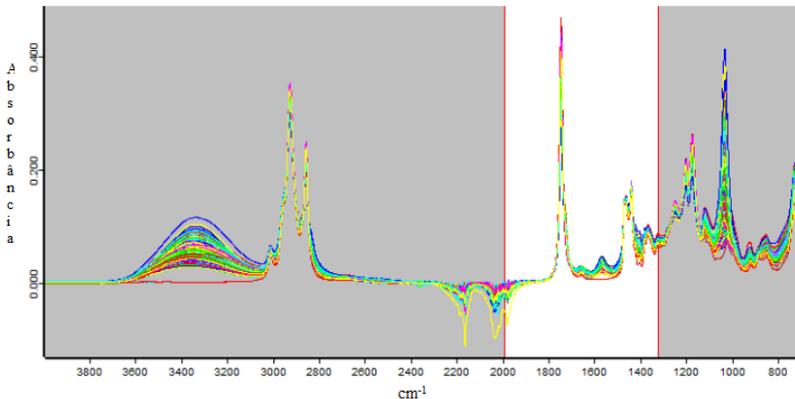
Figura 17 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração da curva de calibração para a determinação do teor de monoacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.



Fonte: Autor.

As faixas utilizadas para a predição do mono são de 1447,5 a 1424,36 e 1319,2 a 978,8.

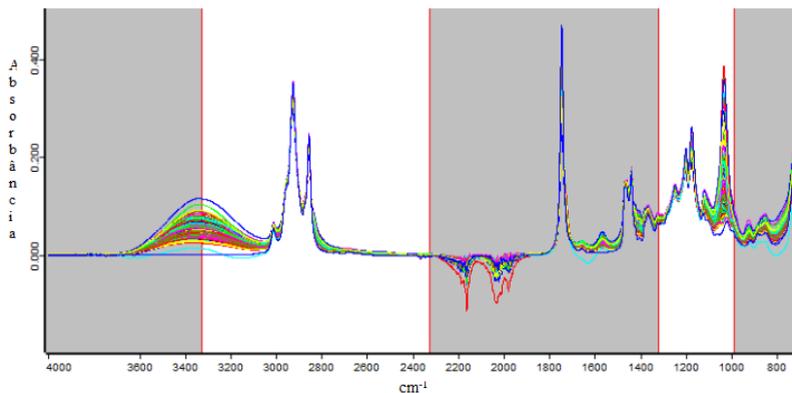
Figura 28 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração da curva de calibração para a determinação do teor de diacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.



Fonte: Autor.

A faixa espectral identificada como ideal para a construção do método de predição por FTIR para a quantificação de diacilglicerol vai 1989,5 a 1319,2 cm^{-1} .

Figura 19 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração da curva de calibração para a determinação do teor de triacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.

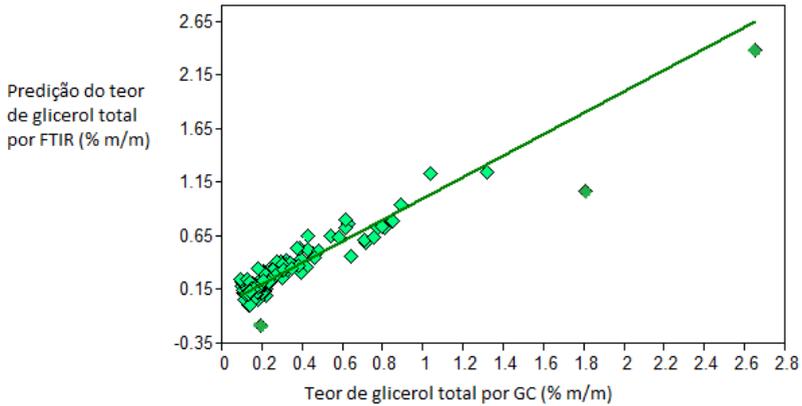


Fonte: Autor.

As faixas de absorbância destacadas na Figura 19 são de 3329,0 a 2323,1 e 1320,2 a 984,6 cm^{-1} .

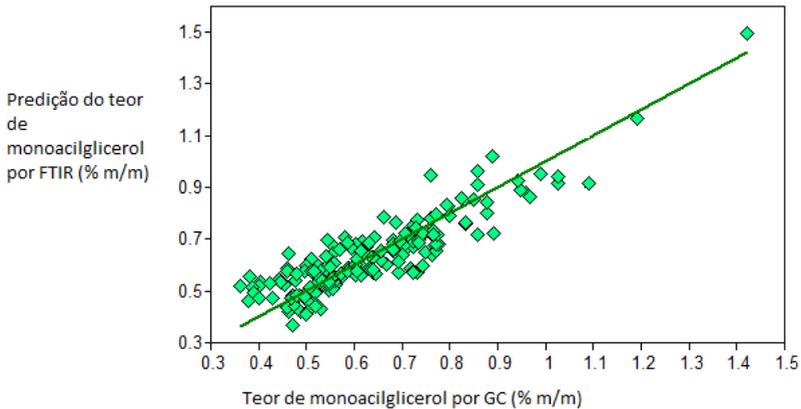
Para facilitar a visualização da correlação dos métodos de predição por FTIR com os resultados obtidos por metodologia convencional foi elaborado as Figuras 20, 21, 22 e 23.

Figura 20 – Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de glicerol total na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.



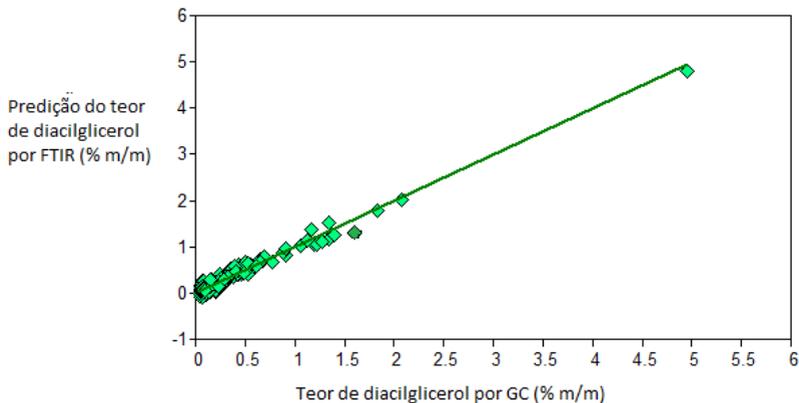
Fonte: Autor.

Figura 21 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de monoacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.



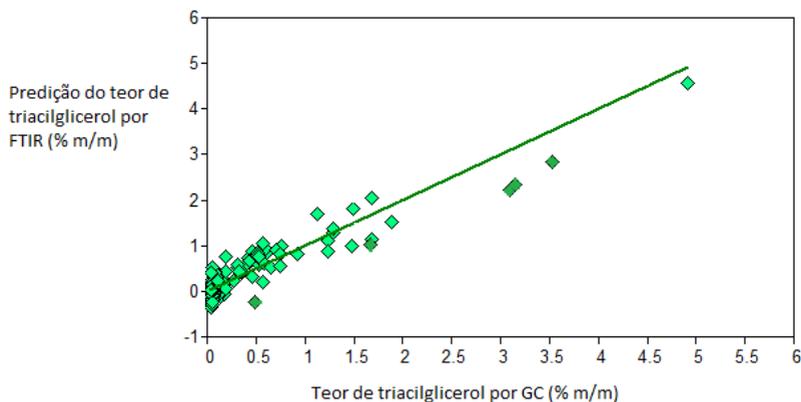
Fonte: Autor.

Figura 22 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de diacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.



Fonte: Autor.

Figura 23— Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de triacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.



Fonte: Autor.

Com o objetivo de avaliar o comportamento dos métodos foram realizados 10 experimentos e os cálculos de precisão e exatidão, para

cada um dos quatro métodos desenvolvido para quantificar por FTIR o teor de glicerol total, mono, di e triacilglicerol os quais estão expostos nas Tabelas 10, 11, 12 e 13.

Tabela 10– Tabela de resultados de validação da curva de calibração para o teor de glicerol total na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.

Amostra	Resultado GC (%)	Resultados obtidos na análise de FTIR (%)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença reais - preditos (%)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	0,226	0,303	0,225	0,264	20,892	16,814	-0,038
2	0,140	0,180	0,220	0,200	14,142	42,857	-0,060
3	0,240	0,260	0,270	0,265	2,668	10,417	-0,025
4	0,245	0,302	0,232	0,267	18,538	8,980	-0,022
5	0,292	0,338	0,345	0,342	1,449	16,952	-0,050
6	0,128	0,128	0,138	0,133	5,317	3,906	-0,005
7	0,179	0,222	0,211	0,217	3,593	20,950	-0,038
8	0,179	0,216	0,224	0,220	2,571	22,905	-0,041
9	0,108	0,169	0,053	0,111	73,896	2,778	-0,003
10	0,118	0,145	0,109	0,127	20,044	7,627	-0,009
Médias	0,186	-	-	0,215	16,311	15,419	-0,029

Fonte: Autor.

Analisando os dados se observa que os erros de precisão e exatidão são elevados para a curva de glicerol total, confirmando as conclusões obtidas através da interpretação dos dados de identidade da curva de calibração. A falta de linearidade para o erro relativo dificulta a utilização do ajuste de bias.

Tabela 11–Tabela de resultados de validação da curva de calibração para o teor de monoacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.

Amostra	Resultado GC (%)	Resultados obtidos na análise de FTIR (%)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença reais – preditos (%)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	0,715	0,672	0,660	0,666	1,274	-6,853	0,049
2	0,808	0,769	0,732	0,751	3,486	-7,116	0,058
3	0,809	0,816	0,814	0,815	0,174	0,742	-0,006
4	1,058	0,992	1,045	1,019	3,680	-3,733	0,040
5	0,982	1,025	1,060	1,043	2,374	6,161	-0,061
6	0,783	0,735	0,718	0,727	1,655	-7,216	0,057
7	0,602	0,648	0,637	0,643	1,211	6,728	-0,041
8	0,733	0,749	0,704	0,727	4,380	-0,887	0,007
9	0,648	0,671	0,706	0,689	3,595	6,250	-0,041
10	0,387	0,434	0,356	0,395	13,963	2,067	-0,008
Médias	0,753	-	-	0,747	3,579	-0,386	0,005

Fonte: Autor.

Analisando os dados se observa que os erros médios de precisão e exatidão estão dentro de uma faixa de tolerância aceitável (10 %). Embora o método mostra-se com boa correlação e com erros inferiores a 10 %, só pode ser utilizado no controle da dosagem de catalisador em conjunto com os outros três métodos desenvolvidos para predizer os teores de glicerol total, mono e triacilglicerol.

O método se apresenta com potencial para o monitoramento do referido parâmetro, no entanto necessita de maior linearidade nos resultados de exatidão, possibilitando o emprego ajuste de bias, ganhando qualidade nos resultados.

Tabela 12 – Tabela de resultados de validação da curva de calibração para o teor de diacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.

Amostra	Resultado GC (%)	Resultados obtidos na análise de FTIR (%)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença reais – preditos (%)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	0,190	0,280	0,120	0,200	56,569	5,263	-0,010
2	0,133	0,066	0,189	0,128	68,215	-4,135	0,006
3	0,720	0,818	0,829	0,824	0,945	14,375	-0,104
4	1,032	0,930	0,955	0,943	1,876	-8,672	0,090
5	1,259	1,360	1,410	1,385	2,553	10,008	-0,126
6	0,117	0,207	0,165	0,186	15,967	58,974	-0,069
7	0,369	0,433	0,355	0,394	13,999	6,775	-0,025
8	0,077	0,039	0,068	0,054	38,329	-30,519	0,024
9	0,225	0,193	0,278	0,236	25,522	4,667	-0,011
10	0,172	0,057	0,169	0,113	70,085	-34,302	0,059
Médias	0,429	-	-	0,446	29,406	2,243	-0,017

Fonte: Autor.

Embora o método para predição do teor de diacilglicerol apresente melhor coeficiente de correlação que os métodos elaborados para quantificação dos teores de mono, triacilglicerol e glicerol total se observam variações elevadas de precisão e exatidão, quando analisados os experimentos individualmente.

Tabela 13 – Tabela de resultados de validação da curva de calibração para o teor de triacilglicerol na etapa de transesterificação do processo de produção de biodiesel.

Amostra	Resultado GC (%)	Resultados obtidos na análise de FTIR (%)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença reais – preditos (%)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	0,029	0,038	0,041	0,040	5,370	36,207	-0,011
2	0,042	0,047	0,050	0,049	4,374	15,476	-0,007
3	0,101	0,154	0,157	0,156	1,364	53,960	-0,055
4	0,073	0,085	0,095	0,090	7,857	23,288	-0,017
5	2,246	2,650	2,610	2,630	1,075	17,097	-0,384
6	0,199	0,377	0,088	0,233	87,894	16,834	-0,034
7	0,497	0,494	0,570	0,532	10,102	7,042	-0,035
8	0,074	0,088	0,092	0,090	3,143	21,622	-0,016
9	0,041	0,055	0,056	0,056	1,274	35,366	-0,015
10	0,054	0,082	0,037	0,060	53,479	10,185	-0,006
Médias	0,336	-	-	0,393	17,593	23,708	-0,058

Fonte: Autor.

Analisando os resultados dos experimentos se observa que os erros de precisão e exatidão estão elevados e não é possível controlar a dosagem de catalisador pelo método de predição por FTIR.

Um dos motivos pelo qual a curva do teor de triacilglicerol não apresentou boa correção pode ser relacionado com a faixa espectral adicional inserida no método entre 3329 a 2323,1 cm^{-1} que pode agregar ruído à curva. Mais estudos devem ser realizados para isolar esta possibilidade.

Em linhas gerais, os métodos de análise para a predição de glicerídeo total, monoacilglicerol, diacilglicerol e triacilglicerol deve ser melhorada através do acréscimo de mais pontos de calibração com o objetivo de reduzir os erros. O objetivo da realização de análises rápidas para ajustes imediatos da dosagem de catalisador, reduzindo o custo operacional e a produção de produto fora de especificação, ganhando estabilidade no processo de produção e qualidade do produto não foi viável nas atuais condições dos métodos descritos nesta dissertação, mas os métodos mostram potencialidade e os esforços devem ser voltados para a redução dos erros de precisão e exatidão.

5.4 CURVAS DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE, GLICEROL E CINZAS NA GLICERINA

O método de FTIR é muito utilizado na indústria farmacêutica para auxiliar na validação de fármaco e no meio acadêmico na identificação de moléculas. A referida dissertação fez uso deste conhecimento espectral da glicerina, combinada com as técnicas quimiométricas desenvolvendo métodos eficazes para a quantificação do teor de glicerol, e dos contaminantes, água e cinzas na glicerina oriunda da produção de biodiesel com a concentração média de 80 %. Matéria prima utilizada em planta de refino de glicerina (processo que não será abordado nesta dissertação), com o objetivo de atender a pureza mínima de 99,7 % produto com alto valor agregado utilizado com insumo farmacêutico, alimentício e industrial.

Na Tabela 14 se apresentam as informações da identidade dos métodos para a determinação do teor de umidade, cinzas e glicerol na glicerina após hidrólise, separação e remoção de compostos voláteis.

Tabela 14 - Características de identidade dos métodos de calibração para determinação do teor de umidade, cinza e glicerol na glicerina.

Informações das curvas de calibração	Umidade (% m/m)	Cinzas (% m/m)	Glicerol (% m/m)
Análises de calibração (n°)	166	161	162
Coefficiente de determinação (r ²)	99,3	95,29	97,44
Faixa de trabalho (%)	0,3 a 40,8	1,0 a 4,1	56,3 a 92,5
Bias	0	0	0
RMSECV	0,546	0,116	1,250

Fonte: Autor.

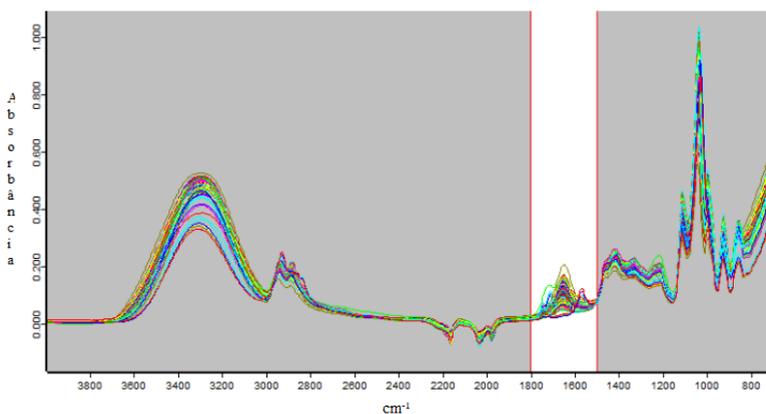
Analisando as informações apresentadas na Tabela 14, em especial o coeficiente de determinação e o RMSECV, é possível concluir que os métodos apresentaram boa correlação possibilitando a utilização na predição dos referidos parâmetros analíticos para monitoramento do processo produtivo.

Os dados foram submetidos a testes matemáticos para identificação do modelo matemático que melhor se adapta aos dados informados ao software Opus. O software testou todos os algoritmo descritos no item 4.2 e identificou a “First derivative + straight line

subtraction” como o modelo mais adequado para os métodos de umidade e cinzas e “No spectral data preprocessing” para o método de quantificação do teor de glicerol.

As Figuras 24, 25 e 26 ilustram as faixas espectrais utilizadas nos métodos. As faixas destacadas em branco foram utilizadas na elaboração dos métodos de predição.

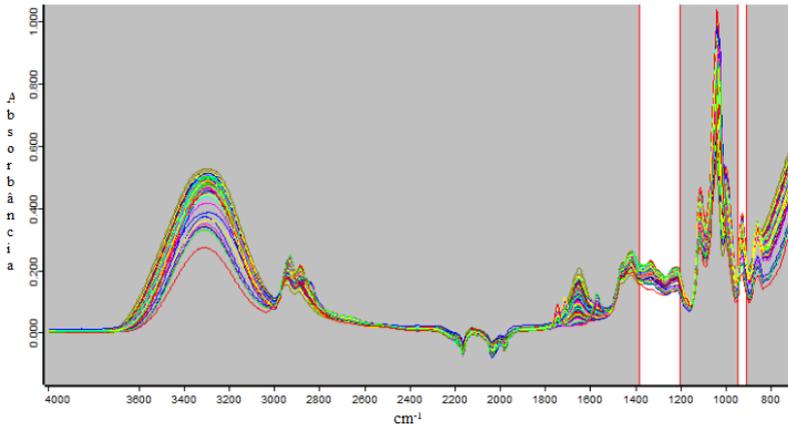
Figura 24 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração do método de predição do teor de umidade no processo de purificação de glicerina.



Fonte: Autor.

A faixa corresponde a 1801,4 a 1496,7 cm^{-1} . Conforme descrito por Hidawati (2011), a água presente no glicerol pode ser identificada na região de 1553 cm^{-1} , região esta que foi comprovada como mais eficiente na referida dissertação. Pavia et al. (2001) descrevem a banda de 3750 a 3000 cm^{-1} com região de absorção do grupamento $-\text{OH}$, faixa que seria viável na quantificação do teor de água, no entanto esta região sofre interferência dos grupamentos $-\text{OH}$ da glicerina e na referida dissertação não se mostrou uma região com absorção linear.

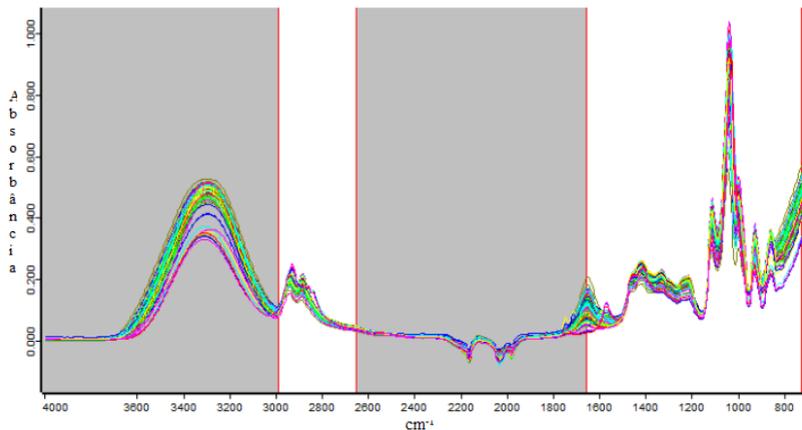
Figura 25 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração do método de predição do teor de glicerol no processo de purificação de glicerina.



Fonte: Autor.

Faixas correspondentes a 1381,0 a 1199,7 e 941,22 a 902,64 cm^{-1} . Pavia et al. (2001) citam as regiões de 1462 a 1458 cm^{-1} (referente à ligação C-H), 1100 a 1075 cm^{-1} (referente à ligação C-O), e a banda de 3750 a 3000 cm^{-1} (referente à ligação -OH) como relevantes para caracterização de glicerol em soluções aquosas. Estas bandas não foram utilizadas em sua totalidade na referida dissertação, pois a matriz possui muitos contaminantes orgânicos que interferem nestas regiões sendo necessário filtrar com exatidão, as melhores intensidades para a construção da curva de calibração. Em especial a banda de 3750 a 3000 cm^{-1} não foi utilizada devido à grande interferência da umidade presente na amostra.

Figura 26 - Faixas espectrais utilizadas na elaboração do método de predição do teor de cinzas no processo de purificação de glicerina.

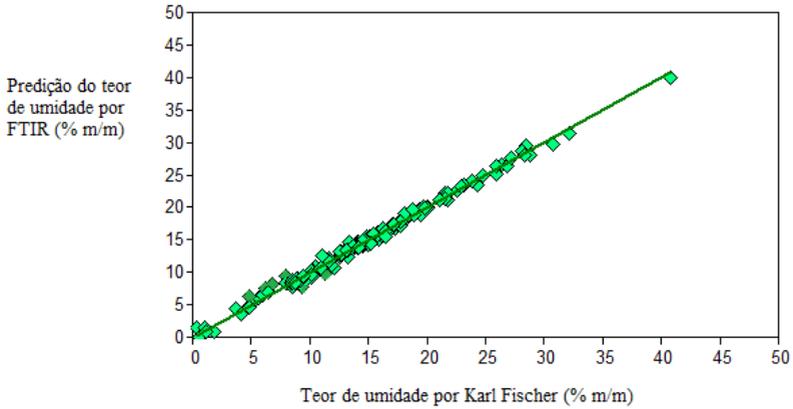


Fonte: Autor.

Faixas correspondentes a 2989,5 a 2653,9 e 1654,8 a 725,2 cm^{-1} . Hidawati (2011) apresenta em seu trabalho o pico em 1610 cm^{-1} como característico do grupamento $-\text{COO}-$ ligado com metais como Na, K, Ca dentre outros. Compostos estes que representam os sabões presente no produto e conseqüentemente a composição mineral da glicerina. Na referida dissertação além da região descrita por Hidawati (2011), se utilizou a região espectral de 2989,5 a 2653,9 cm^{-1} e os resultados obtidos foram eficazes e os dados estatísticos de validação dos referidos métodos estão representados nas Tabelas 15, 16 e 17.

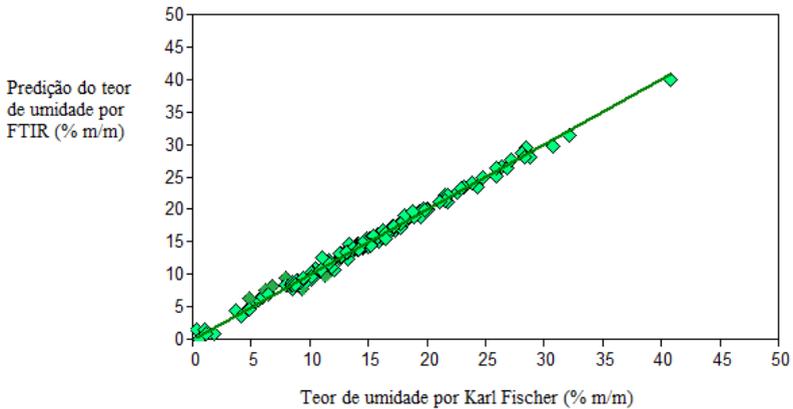
Para facilitar a visualização da correlação dos métodos de predição por FTIR com os resultados obtidos por metodologia convencional foram elaboradas as Figuras 27, 28 e 29.

Figura 27 – Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de umidade no processo de purificação de glicerina.



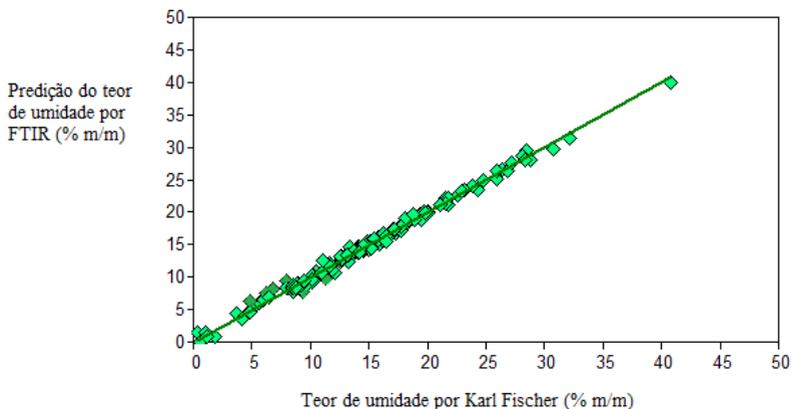
Fonte: Autor.

Figura 28 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de glicerol no processo de purificação de glicerina.



Fonte: Autor.

Figura 39 - Valores preditos correlacionados aos valores reais para quantificação do teor de cinzas no processo de purificação de glicerina.



Fonte: Autor.

Observando as Figuras 27, 28 e 29, fica evidente a boa correlação dos métodos. Para melhor avaliar o comportamento dos métodos no uso rotineiro do controle de qualidade se realizou 10 experimentos independentes dos pontos de calibração, possibilitando os cálculos de precisão e exatidão que estão demonstrados nas Tabelas 15, 16 e 17.

Tabela 15 – Tabela de resultados de validação da curva de calibração para a determinação do teor de umidade no processo de tratamento de glicerina.

Amostra	Resultado Karl Fischer (%)	Resultados obtidos na análise de FTIR (%)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença reais – preditos (%)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	15,0	15,4	15,4	15,4	0,0	2,8	-0,4
2	14,3	14,6	14,6	14,6	0,1	2,1	-0,3
3	10,4	10,5	10,8	10,7	2,0	2,8	-0,3
4	12,8	12,9	12,7	12,8	1,2	0,2	0,0
5	13,6	13,6	13,5	13,5	0,1	-0,4	0,1
6	13,0	13,1	13,0	13,0	0,7	0,1	0,0
7	12,8	12,9	13,1	13,0	1,0	1,4	-0,2
8	12,8	13,1	12,9	13,0	1,1	1,2	-0,1
9	13,4	13,2	13,9	13,6	3,7	1,1	-0,2
10	14,5	14,5	14,6	14,6	0,5	0,6	-0,1
Médias	13,3	-	-	13,4	1,0	1,2	-0,2

Fonte: Autor.

Tabela 16 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para a determinação do teor de glicerol no processo de tratamento de glicerina.

Amostra	Resultado titulação (%)	Resultados obtidos na análise de FTIR (%)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença reais – preditos (%)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	81,0	80,2	80,2	80,2	0,0	-1,0	0,8
2	81,3	80,7	80,6	80,7	0,1	-0,8	0,6
3	86,0	87,2	85,7	86,5	1,2	0,5	-0,5
4	84,0	84,7	84,7	84,7	0,0	0,8	-0,7
5	82,7	81,9	81,8	81,9	0,1	-1,0	0,9
6	84,1	84,4	84,1	84,3	0,3	0,2	-0,2
7	81,4	82,1	82,0	82,1	0,1	0,8	-0,6
8	82,0	81,0	81,2	81,1	0,2	-1,1	0,9
9	84,0	85,4	84,7	85,1	0,6	1,3	-1,1
10	81,2	82,0	82,5	82,3	0,4	1,3	-1,1
Médias	82,8	-	-	82,9	0,3	0,1	-0,1

Fonte: Autor.

Tabela 17 - Tabela de resultados de validação da curva de calibração para a determinação do teor de cinzas no processo de tratamento de glicerina.

Amostra	Resultado calcinação (%)	Resultados obtidos na análise de FTIR (%)			DPR (%)	Erro relativo (%)	Diferença reais – preditos (%)
		1 ^a	2 ^a	Média			
1	3,7	3,7	3,7	3,7	0,0	0,5	0,0
2	3,5	3,6	3,6	3,6	0,0	2,9	-0,1
3	4,1	4,1	4,2	4,2	1,7	1,2	-0,1
4	4,4	4,4	4,4	4,4	0,0	0,0	0,0
5	4,0	4,0	4,1	4,1	1,7	1,3	0,0
6	4,6	4,5	4,6	4,6	1,6	-1,1	0,0
7	4,0	4,8	4,8	4,8	0,0	2,1	-0,1
8	4,0	4,0	3,9	4,0	1,8	-1,3	0,0
9	4,2	4,2	4,2	4,2	0,0	0,0	0,0
10	3,8	3,9	3,9	3,9	0,0	2,6	-0,1
Médias	4,0	-	-	4,1	0,8	0,8	0,0

Fonte: Autor.

Analisando os resultados de precisão, exatidão e diferenças, conclui-se que os métodos apresentam erro aceitável (menor que 10 %) e se confirmam as conclusões obtidas através da interpretação das características de identidade de cada método.

Em linhas gerais as curvas para quantificação do teor de umidade, teor de glicerol e teor de cinzas na glicerina apresentaram bons resultados de precisão e exatidão possibilitando a quantificação dos referidos parâmetros por FTIR.

6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

6.1 CONCLUSÕES

O método para análise rápida de parâmetros crítico na produção de biodiesel e purificação de glicerol foi elaborada através do uso do método de infravermelho médio com transformada de Fourier com ATR acoplado e emprego dos conceitos de calibrações multivariadas, extraídas da quimiometria. Comprovou-se que a quantificação direta das amostras é viável, tendo como resultados paralelos o ganho de tempo de resposta uma vez que a análise de FTIR é rápida, redução do custo produtivo devido ao menor custo analítico, baixa geração de resíduo e principalmente com o aumento na estabilidade do processo produtivo.

As curvas de calibração desenvolvidas para a quantificação da acidez nas etapas de processamento de óleo, denominadas de alimentação do óleo, separação e óleo neutralizado, apresentaram boa correlação, precisão e exatidão possibilitando o monitoramento do processo produtivo por FTIR.

Para a quantificação do teor de fósforo no processo de tratamento do óleo a curva desenvolvida para a etapa de alimentação de óleo apresentou boa correlação, precisão e exatidão possibilitando o monitoramento do parâmetro. Nesta etapa do processamento o teor de fósforo fica em torno de 150 a 250 mg/kg, para as etapas de separação e óleo neutralizado os teores de fósforo são inferiores a 20 mg/kg níveis que os métodos não apresentaram correlação, precisão e exatidão suficiente para o monitoramento do processo de produção. Os métodos para estas duas etapas (separação e óleo neutralizado) devem ser melhoradas e não apresentam condições estatísticas de serem utilizadas no monitoramento do processo produtivo nas condições descritas nesta dissertação.

Os métodos de predição dos teores de mono, triacilglicerol e glicerol total apresentaram resultados ruins de correlação exatidão e precisão. O método de predição do teor de diacilglicerol apresentou boa correlação, mas resultados de precisão e exatidão com muita variação extrapolando o limite de aceitação estabelecido em 10 %. Estes métodos não apresentam condições estatísticas de serem utilizados no monitoramento do processo produtivo nas condições expressas nesta dissertação. Os métodos se mostram com potencial para o

monitoramento dos referidos parâmetros após melhorar as características estatísticas dos métodos.

Para os métodos de predição de umidade, cinzas e glicerol na glicerina os resultados de correlação, exatidão e precisão foram muito bons possibilitando o uso no monitoramento do processo produtivo.

O método de FTIR se mostra eficiente para a quantificação de parâmetros com concentrações mais elevadas acima das faixas consideradas traços, e regiões bem definidas de absorção no espectro de infravermelho médio como para o teor de umidade e glicerol na glicerina. Para concentrações baixas de analito se faz necessário método convencionais precisos e de um bom trabalho quimiométrico, possibilitando predições com os níveis de confiança necessário para o monitoramento do processo produtivo.

O método possui muitos recursos a serem explorados e a referida dissertação traz o princípio de um trabalho que pode ser aplicado para inúmeros fins industriais nas mais diversas áreas de atuação, com o mesmo objetivo comum de trabalhar com análises rápidas, simples, com baixa geração de resíduos, com possibilidade expansão para quantificação na linha de produção, obtendo como resultado final a redução dos custos de operação.

6.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Melhorar a correlação das curvas para determinação do teor de fósforo em óleos.
- Melhorar a correlação das curvas para determinação de mono, di e triacilgliceróis.
- Desenvolver sistema para o controle de mono, di e triacilglicerol em linha, possibilitando o controle automático e em tempo real da dosagem de catalisador no processo de produção de biodiesel, garantindo a especificação do produto, reduzindo custo de produção.
- Elaborar novas curvas de calibração para quantificação de parâmetros importantes para o processo de produção de biodiesel como glicerol livre, massa específica, estabilidade a oxidação, ponto de entupimento de filtro a frio dentre outros parâmetros que se mostram com potencial para quantificação por método de FTIR.

REFERÊNCIAS

AHMED AL-ALAWI, FREDERICK R. VAN DE VOORT, JACQUELINE SEDMAN. New FTIR Method for the Determination of FFA in Oils. **J. Am. Oil Chem. Soc.** v. 81(5), p 441-446, 2004.

AHMED AL-ALAWI; FREDERIK R. VAN DE VOORT; JACQUELINE S. A New FTIR Method for the Analysis of Low Levels of FFA in Refined Edible Oils. **Spectroscopy Letters.** v. 38 (4), p. 389 – 403, 2011.

AL-ALAWI, A., VAN DE VOORT, F. R., SEDMAN, J., & GHETLER, A. Automated FTIR analysis of free fatty acid sor moisture in edible oils. **Journal of the Association for Laboratory Automation.**v. 11(1), p. 23–29, 2006.

ANDREW P. A., PAUL M. C., MANDA J. G., ROBERT C. H., EMMA R. Extraction of glycerol from biodiesel into a eutectic based ionic liquid. **Green Chem.** v. 9, p. 868-872, 2007.

AOCS (2009). Of ficial method sandre com mended practices of the American Oil Chemists’ Society. Method Cd 3d-63.

ASTM D 6584 13e¹- Standard test method for determination of total monoglycerides, total diglycerides, total triglycerides, and free and total glycerin in B-100 biodiesel methyl esters by gas chromatography.

ASTM D6751-15ce¹, Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2015.

ASTM D664-11a, Standard Test Method for Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2011.

ASTM D 2974-87. Standard Test Methods for Moisture, Ash, and Organic Matter of Peatand Other Organic Soils.

AOCS (2009). Official method sandre com mended practices of the American Oil Chemists’ Society. Method Ea 6-51.

AOCS (2009a). Official method sandre com mended practices of the American Oil Chemists' Society. Method Ea 6-94. Champaign, IL: AOCS Press.

AOCS (2009). Official method sandre com mended practices of the American Oil Chemists' Society. Method Ca 11-55.

AOCS (2009). Official method sandre com mended practices of the American Oil Chemists' Society. Method Ea 8-58.

ARRUDA, D.H., P.S. DIMICK. Phospholipid Composition of Lipid Seed Crystal Isolates from Ivory Coast Cocoa Butter. **Ibid**, v. 68, p. 385–390, 1991.

AZIZIANA H., KRAMER J.K.G.. A rapid method for the quantification of fatty acids in fats and oils with Emphasis on trans fatty acids using Fourier Transform Near Infrared Spectroscopy (FT-NIR). **Lipids**. v.40 (8), p. 855–67, 2005.

BAPTISTA P., FELIZARDO P., MENEZES J.C., CORREIA M.J.N..Multivariate near infrared spectroscopy models for predicting the methyl esters content in biodiesel. **Analytica Chimica Acta**. v. 607(2), p.153–9, 2008.

BARTLETT, G.R., Phosphorus Assay in Column Chromatography. **J. Biol. Chem.**v. 234, p. 466-468, 1959.

BEEBE K. R., KOWALSKI, B. R..An introduction to multivariate calibration and analysis. **Analytical Chemistry**. v. 59, p. 1007A-1017A, 1987.

BENETI S. C., PRIAMO W. L., LANZA M., KUNITA M. H., MAZUTTI M. A., CARDOZO F. L., VLADIMIR O. J. Determination of liquid-liquid equilibrium data for biodiesel containing ternary systems using near infrared technique. **Journal of Chemical Engineering**. v. 30 (1), p. 23-31, 2013.

BROWN, S.D. Chemical systems under indirect observation: Latent properties and chemometrics. **Appl. Spectrosc.** v.49 (12), p. 14^a-31^a, 1995.

BRUKER, *Opus: spectroscopy software*. Germany: BRUKEROPTIK GmbH, 2011. 154p. www.brukeroptics.com. Data de acesso: 20/12/2015.

BRUKER, *Multivariate calibration :A Practical Guide for the Method Development in the Analytical Chemistry*. Germany: BRUKEROPTIK GmbH, 2006. 116p.

BS EN 14107:2003. Fat and oil derivatives. Fatty acid methyl esters (FAME). Determination of phosphorous content by inductively coupled plasma (ICP) emission spectrometry.

BS EN 14104 (2003). Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of acid value

BS EN 14105 (2011). Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of free and total glycerol and mono-, di-, triglyceride contents.

BS EN 14214 (2013). Liquid petroleum products - Fatty acid methyl esters (FAME) for use in diesel engines and heating applications - Requirements and test methods.

CABONI, M.F., S. MENOTTA, L. GIOVANNI. Separation and Analysis of Phospholipids in Different Foods with a Light-Scattering Detector, **Ibid.** v. 73, p. 1561–1565, 1996.

CESA, S., CASADEI, M. A., CERRETO, F., PAOLICELLI, P. Influence of fat extraction method on the peroxide value in infant formulas. **Food Research International**. v. 48(2), p. 584–591, 2012.

CHANG, H. N.; KIM, N. J.; KANG, J.; JEONG, C. M. Biomass-derived volatile fatty acid platform for fuel and chemicals. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**. v.15(1), p. 1–10, (2010).

CHI Z., PYLE D., WEN Z., FREAR C., CHEN S. A laboratory study of producing do cosa hexaenoic acid form biodiesel-waste glycerol by microalgal fermentation. **Process Biochemistry**. v.42, p. 1537, 2007.

EN ISO 12937:2000. Petroleum products – Determination of water - Coulometric Karl Fischer titration method.

FERREIRA, M. M. C., SARMENTO S. B. S., DOS REIS M. M., CEREDA, M. P., PENTEADO M. V. C., DOS ANJOS C. B., “Análise Quimiométrica de Propriedades Físicas, Físico-químicas e Funcionais de Féculas de Mandioca”. **Braz. J. Food. Technol.** v. 2, p. 131-137,1999.

GELADI, P.; KOWALSKI, B.R.. Partial least squares regression: A tutorial. **Analytical Chemistry Acta**. v. 185, p. 1-17, 1986.

GELADI, P. Notes on the history and nature of partial least squares (PLS) modelling. **Journalof Chemometrics**. v. 2, p. 231-246, 1988.

GIUSTI M., ABIGAIL B. SNYDER, CHRISTIAN F. SWEENEY, LUIS E. Rodriguez-Saona, M. Rapid authentication of concord juice concentration in a grape juice blend using Fourier-Transform infrared spectroscopy and chemometric analysis. **Food Chemistry**. V. 147, p. 295–301, 2014.

HAALAND, D.M., THOMAS, E.V. Comparison of multivariate calibration methods for quantitative spectral analysis. **Analytical Chemistry**, v.62, p. 1091–1099, 1990.

HAKULI, A., A. KYTOKIVI, E.-L.LAKOMAA, O. KRAUSE. FT-IR in the Quantitative Analysis of Gaseous Hydrocarbon Mixtures. **Anal. Chem.** v. 67, p. 1881–1886, 1995.

HELENE H. NIEUWOUTD, BERNARD A. PRIOR, ISAK S. PRETORIUS, MARENA MANLEY, AND FLORIAN F. BAUER. Principal Component Analysis Applied to Fourier Transform Infrared Spectroscopy for the Design of Calibration Sets for Glycerol Prediction Models in Wine and for the Detection and Classification of Outlier Samples. **J. Agric. Food Chem.** v.52, p. 3726-3735, 2004.

HENDL, O., HOWELL, J. A., LOWERY, J., JONES, W. (2001). A rapid and simple method for the determination of iodine values using derivative Fourier transform infrared measurements. **Analytica Chimica Acta**. v. 427(1), p. 75–81, 2001.

HENSEN, C. F., HEMANDEZ, A. MULLAN, B.P., MOORE, K., TREZONA- MURRAY, M., KING, R.H., PLUSKE, R. A chemical analysis of samples of crude glycerol from the production of biodiesel in Australia, and the effects of feeding crude glycerol to growing-finishing pig son performance, plasma metabolites and meat quality at slaughter. **Animal Production Science**. v. 49, p. 154-161, 2009.

HERNANDO J, LETON MP, NOVELLA J, BUILLA A. Biodiesel and FAME synthesis assisted by microwaves: homogenous batch and flow processes. **Fuel**. v. 86, p. 1641–1644, 2007.

HIDAWATI E. N., MIMI S. A. M. Treatment of Glycerin Pitch from Biodiesel Production. **Journal of Chemical and Environmental Engineering**. v.2 (5), p. 309-313 , 2011.

ISO 6245:2001. Petroleum products – Determination of ash.

JAKOB J. M., SOEREN B., LUTZ H., MARRIT E., OLIVER T., ANDREAS L. Simultaneous Determination of Mono-, Di-, and Triglycerides in Multiphase Systems by Online Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Analytical Chemistry**. v. 83, p. 9321–9327, 2011.

JOHNSON D. T., TACONI K. A. The glycerin glut: Options for the value-added conversion of crude glycerol resulting from biodiesel production. **Environmental progress**. v. 26, p. 338-348, 2007.

KNOTHE G, MATHEAUS C, THOMAS W. Cetane numbers of branched and straight-chain fatty esters determined in an ignition quality tester. **Fuel**. v. 82, n. 8, p. 971–975, 2003.

KNOTHE G. Analytical methods used in the production and fuel quality assessment of biodiesel. **Transactions of the ASAE**. v. 44, n. 2, p. 193–200, 2001.

KNOTHE G. Analytical methods used in the production and fuel quality assessment of biodiesel. **Transactions of the ASAE**, v. 44(2), p. 193–200, 2001.

KNOTHE G. Analyzing biodiesel: standards and other methods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v. 83(10), p. 823–33, 2006.

KONGJAO, S., DAMRONGLERD, S., HUNSOM, M.
Purification of crude glycerol derived from waste used-oil methyl ester plant. **Ko-rean J. Chem. Eng.**, v. 27(3), p. 944-949, 2010.

KRAFFT, C., NEUDERT, L., SIMAT, T., SALZER, R. Near infrared Raman spectra of human brain lipids. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v.61(7), p.1529–1535, 2005.

KOWALINSKI, B. R.; SEASHOLTZ, M. B. Recent developments in multivariate calibration. **Journal of Chemometrics**. v. 5(3), p. 129-145, 1991.

LANSER, A.C., LIST G.R., HOLLOWAY R.K., MOUNTS T.L. FTIR Estimation of Free Fatty Acid Content in Crude Oils Extracted from Damaged Soybeans. **J. Am. Oil Chem. Soc.** v. 68, p. 448–449, 1991.

LI, H., GOULDEN, M., COCCIARDI, R., HUGHES, J. Fourier transform near infrared spectroscopy as a quality control tool for the analysis of lecithin and byproducts during soybean oil processing. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.86(9), p. 835–841, 2009.

MARTENS, H., NAES, T.. **Multivariate Calibration**, New York: J. Wiley & Sons: 1989. 436 p.

MÁRCIA . C. F., ALEXANDRE M. A., MARISA S. M., PEDRO L. O. V. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**. v. 22(5), 1999.

MCKELVY M.L., BRITT T.R., DAVIS B.L., GILLIE J.K., GRAVES F.B., LENTZ L.A. Infrared spectroscopy. **Analytical Chemistry**.v. 70(12), p.119–177, 1998.

MERZ K.M., ROUX, B. **Biological Membranes: A Molecular Perspective from Computation and Experiment**. Boston: Birkhauser. v. 27, p. 555-587, 1996.

MONTEIRO, M. R.; AMBROZIN, A. R. P.; LIAO, L. M.; FERREIRA, A. G. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. **Journal Talanta**. v. 77(2), p. 593–605, 2008.

NZAI J.M., PROCTOR A. Determination of Phospholipids in Vegetable Oil by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **JAOCS**. v. 75 (10), p. 1281-1289, 1998.

OUSSAMAA, A., ELABADIA, F., DEVOSB, O. Analysis of argan oil adulteration using infrared spectroscopy. **Spectroscopy Letters**.v. 45(6), p. 458–463, 2012.

OSWALDO ROSSI JR. **Você conhece a diferença entre Precisão e Exatidão?**. Inter-Metro Confiabilidade Metrológica. 2013. Disponível em: <http://calibraend.blogspot.com.br/2013/02/voce-conhece-diferenca-entre-precisao-e.html>. Acessado em 17 out. 2016.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to Spectroscopy**, ed. 3; Philadelphia, Australia:Brooks/cole, 2001.

PRZYBYLSKI, R., AND N.A.M. ESKIN. Phospholipid Composition of Canola Oils During the Early Stages of Processing as Measured by TLC with Flame Ionization Detector, **Ibid**. v. 68, p. 241–245, 1991.

BRUNS R. E., SCARMINIO I. S., NETO B. DE B., 25 anos de quimiometria no Brasil, **Quim. Nova**, v. 29 (6), p. 1401-1406, 2006

ROHMAN, A., CHE MAN, Y. B. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin oli veoil adulterated with palmoil. **Food Research International**.v.43(3), p. 886–892, 2010.

SANGKORN K., SOMSAK D., MALI H. Purification of crude glycerol derived from waste used-oil methyl ester plant. **Korean Journal of Chemical Engineering**. v.27(3), p. 944-949, 2010.

SEDMAN, J., F.R. VAN DE VOORT, AND A.A. ISMAIL, Application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Edible Oil Analysis, in *New Techniques and Applications in Lipid Analysis*, edited by R.E. McDonald and M.M. Mossoba, **AOCS Press**, p. 283-324, 1997.

SILVA G. A. M., DA RÓS P. C. M., SOUZA L. T. A., COSTA, A. P. O., DE CASTRO, H. F., Physico-chemical, spectroscopical and thermal characterization of biodiesel obtained by enzymatic route as a tool to select the most efficient immobilized lipase. **Journal of Chemical Engineering**. v. 29, p. 39-47, 2012.

SILVERSTEIN, R. M. WEBSTER, F. X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6^a. ed. Rio de Janeiro: LTC Livros Técnicos e Científicos, 2000. 67 – 133 p.

SRIVASTAVA A, PRASAD R. Triglycerides-based diesel fuels. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**.v. 4, n.2,p.111–133, 2000.

STEINER, J. Efforts to Eliminate Toxic Solvents, **INFORM**. v. 4, p.955, 1993.

SUAREZ P. A.Z., DAVID M.M. PINHO, VIANEY O. SANTOS JR. , VITOR M.L. DOS SANTOS , MARIA C.S. OLIVEIRA, MONICA T. DA SILVA, PATRÍCIA G.T. PIZA, ANGELO C. PINTO, MICHELLE J.C. REZENDE. Evaluating the use of EN 14078 for determination of biodiesel in diesel blends sold in the Brazilian market. **Fuel**, v. 136, p. 136–142, 2014.

The United States Pharmacopeia. Pharmacopeia Forum 37, 2014, p. 3167-3169

- TOUCHSTONE, J.C., J.C. CHEN, K.M. BEAVER, Improved Separation of Phospholipids in Thin Layer Chromatography. **Lipids**, v.15, p. 61–62, 1980.
- VALDERRAMA, P., BRAGA, J. W. B., POPPI, R., Validation of multivariate calibration models in the determination of sugar cane quality parameters by near infrared spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**.v.18, p. 259-266,2007.
- VAN GERPEN, J.H., DVORAK, B. The Effect of Phosphorus Level on the Total Glycerol and Reaction Yield of Biodiesel. **Biennial Bioenergy Conference**, ed.10. 2002.
- VAN GERPEN J.H. SHANKS B. PRUSZKO R. **Biodiesel Production Technology**. Report from Iowa State University for the National Renewable Energy Laboratory. NREL/SR-510-36244, July 2004.
- VAN DE VOORT, F.R., A.A. ISMAIL, J. SEDMAN, AND G. EMO, Monitoring the Oxidation of Edible Oils by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, **JAACS**, v. 71, p. 243–253, 1994.
- VAN DE VOORT, SEDMAN F.R. J., RUSSIN T. Lipid Analysis by Vibrational Spectroscopy. **European Federation for the Science and Tecnology of Lipids**. v. 103, p. 815–826, 2001.
- WEI-BO Z. Review on analysis of biodiesel with infrared spectroscopy. **Elsevier**.v. 16, p. 6048–6058, 2012.
- XIANGHE M., QIUYUE P., YANG D., LIANZHOU J., Rapid determination of phospholipid content of vegetable oils by FTIR spectroscopy combined with partial least-square regression, **Food Chemistry**.v.147, p. 272–278, 2014.