

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Departamento de Química Fundamental
Programa de Pós-Graduação em Química

Tese de Doutorado

Desenvolvimento de Métodos Analíticos para
Monitoramento da Qualidade do Biodiesel e suas Misturas.

Liliana de Fátima Bezerra de Lira

VIRTUS IMPAVIDA

Recife – PE/ Brasil



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Departamento de Química Fundamental
Programa de Pós-Graduação em Química

Desenvolvimento de Métodos Analíticos para
Monitoramento da Qualidade do Biodiesel e suas Misturas

Liliana de Fátima Bezerra de Lira*

Tese apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Química
da UFPE como parte dos
requisitos para a obtenção do
título de Doutorado em Química.

Orientadora: Profa Dra Maria Fernanda Pimentel.

Co-Orientadora: Profa Dra Ana Paula Silveira Paim.

*Bolsista CAPES/FACEPE.

Abril/2010.

Lira, Liliana de Fátima Bezerra de.

Desenvolvimento de métodos analíticos para monitoramento de qualidade do Biodiesel e suas misturas / Liliana de Fátima Bezerra de Lira. - Recife: O Autor, 2010.

xx, 124 folhas. il. fig. tab.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química, 2010.

Inclui bibliografia e apêndice.

1. Espectroscopia de infravermelho. 2. Biodiesel. 3. Análise multivariada. 4. Injeção em fluxo – análise. I. Título.

543.57

(22.ed.)

FQ 2010-039

Tese submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Doutor em Química.

Aprovada:

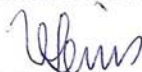


Profa. Maria Fernanda Pimentel
(Orientadora)

Departamento de Engenharia Química
Universidade Federal de Pernambuco



Profa. Maria das Graças Andrade Korn
Instituto de Química
Universidade Federal da Bahia



Profa. Valdinete Lins da Silva
Departamento de Engenharia Química
Universidade Federal de Pernambuco



Prof. Ricardo Saldanha Honorato
Departamento de Polícia Federal
Superintendência Regional em Pernambuco



Prof. Márcio Virgens Rebouças
Laboratório de Controle de Qualidade
Unidade de Insumos Básicos - Braskem

**"Desenvolvimento de Métodos Analíticos para Monitoramento da
Qualidade do Biodiesel e suas Misturas"**

por

Liliana de Fátima Bezerra de Lira

Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife-PE-Brasil
07 de abril de 2010

A minha mãe Luiza (in memoriam), uma mulher maravilhosa e única, que esteve sempre ao meu lado, dando-me carinho, cuidado e rezando sempre pelo meu sucesso. A você, mainha, que torceu para que eu chegasse até aqui,

Dedico

“Assim, implorei a inteligência e me foi dada; supliquei e o espírito de sabedoria veio a mim. Eu a preferi que aos cetros e tronos, e avaliei a riqueza como um nada perto da sabedoria. “Não comparei a ela a pedra preciosa, porque todo ouro ao lado dela é apenas um pouco de areia, e porque a prata diante dela será tida como lama.”

Bíblia Sagrada- Livro da sabedoria, capítulo7.

Agradecimentos

Um trabalho de doutorado nunca é desenvolvido por uma única pessoa, mas por várias pessoas que juntas formam uma equipe para atingir um objetivo comum. Portanto, tenho muito a agradecer a todos aqueles que contribuíram com a realização desse trabalho.

- *Começo agradecendo ao meu DEUS, por estar sempre presente em minha vida em todos os momentos, sem Ele eu nada seria;*
- *A minha querida e amada mãe Luiza (in memorian), meu porto seguro, com quem eu pude contar sempre. Obrigada mãe por seu amor incondicional; Todas as palavras aqui seriam insignificantes perto do que você representa pra mim;*
- *Aos meus irmãos Márcio e Bel, que sempre me incentivaram, apoiaram e torceram por mim;*
- *Ao Márcio Coelho, meu amado esposo, por toda cumplicidade, companheirismo, amor, carinho, paciência e ensinamentos;*
- *À Professora Maria Fernanda Pimentel, a quem eu muito devo pelos conhecimentos adquiridos nestes 4 anos de estudo. Obrigada por sua orientação, amizade, carinho, paciência e dedicação que dispôs ao meu trabalho;*
- *À professora Ana Paula Paim que em parceria com Fernanda Pimentel, me ajudou nessa caminhada, com uma discussão ali, aqui, esclarecendo pontos importantes durante a pesquisa;*
- *Aos meus amigos do LAC, em especial, Cláudio e Fernanda Honorato, por todos os momentos de discussão, de aprendizado, de trabalho, de companheirismo, alegria e de “armação”;*
- *Aos coordenadores do LAC, em especial prof. Luiz Stragevitch, por disponibilizar sempre recursos para o bom andamento das pesquisas;*

- *Ao pessoal do monitoramento do LAC, muito obrigada pelas análises realizadas;*
- *À Fernanda Vera Cruz, por ter me ajudado com as amostras e os experimentos no início do doutorado;*
- *À Claudete Fernandes e Simone Simões pela ajuda em alguns pontos do trabalho;*
- *Aos colegas do Laboratório de Química Analítica do DQF, em especial Fabíola e Marcelo, pela ajuda no sistema FIA;*
- *À Héliida e Flávia do LQA-ITEP, pelas medidas no ICP;*
- *À Lívia Gabriela, amiga, irmã, que sempre torce comigo em todos os momentos da vida;*
- *Às minhas amigas, Juliana Manso, Débora Anjos e Andréa Ferraz, grata pelos momentos de descontração e aprendizado;*
- *À Professora Maria das Graças Korn (UFBA), pelo apoio na realização de parte deste trabalho;*
- *Aos colegas do GPQA (UFBA), pela ajuda no trabalho e pelos momentos de diversão;*
- *Ao professor José Geraldo (DEQ-UFPE) pela contribuição no estudo da estabilidade do biodiesel;*
- *Ao Mateus Albuquerque (DEQ), pelos experimentos da degradação do biodiesel;*
- *Ao professor Eduardo Homem (Instituto Nacional de Tecnologia –RJ), pelos ensaios RANCIMAT;*
- *À Klécia, pela amizade;*
- *Aos professores do DQF;*
- *Aos funcionários do DQF, especialmente à Patrícia e ao Maurílio;*
- *À FACEPE, pela bolsa concedida;*
- *Ao BNB, FINEP, CNPQ e CAPES/PROCAD, pelos auxílios concedidos;*
- *De uma forma geral, a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a finalização deste trabalho.*

Sumário

LISTA DE FIGURAS	XII
LISTA DE TABELAS	XV
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XVII
RESUMO.....	XIX
ABSTRACT	XX
CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO	
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. ASPECTOS GERAIS	1
1.2. OBJETIVO GERAL.....	5
1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
CAPÍTULO II. DETERMINAÇÃO DE PROPRIEDADES DE BX E B100 UTILIZANDO INFRAVERMELHO E CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA	
2. INTRODUÇÃO	8
2.1. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (IR)	10
2.2. QUIMIOMETRIA.....	15
2.2.1. Calibração Multivariada.....	15
2.2.2. Pré-processamento dos dados.....	17
2.2.3. Técnicas de calibração multivariada.....	18
2.2.4. Seleção de variáveis.....	20
2.2.5. Seleção de amostras.....	22
2.2.6. Transferência de calibração.....	23
2.3. QUIMIOMETRIA E ESPECTROMETRIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO APLICADOS AO MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO BIODIESEL E SUAS MISTURAS.....	25
PARTE1-DETERMINAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS DAS MISTURAS DE BIODIESEL (BX)	

2.4. EXPERIMENTAL	29
2.4.1. Amostras.....	29
2.4.2. Mistura diesel/biodiesel.....	29
2.4.3. Métodos de referência.....	29
2.4.4. Aquisição dos espectros NIR e MIR.....	30
2.4.5. Modelos de calibração.....	31
2.4.6. Transferência de calibração.....	32
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
2.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46

PARTE 2 - MONITORAMENTO DE PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ESTABILIDADE DO BIODIESEL (B100)

2.7. EXPERIMENTAL	48
2.7.1. Amostras.....	48
2.7.2. métodos de referência.....	48
2.7.3. Aquisição dos espectros NIR e MIR.....	49
2.7.4. Modelos de calibração.....	49
2.8. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
2.8.1. Variáveis espectrais selecionadas.....	50
2.8.2 Estabilidade Oxidativa.....	53
2.8.3. Índice de acidez.....	55
2.8.4. Teor de água.....	57
2.9 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59

CAPÍTULO III. DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO EM BIODIESEL (B100) UTILIZANDO ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO COM DETECÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA

3.0 INTRODUÇÃO.....	62
3.1. METAIS E FÓSFORO	62
3.2. PREPARO DE AMOSTRA	66
3.2.1. Decomposição por via úmida.....	67

3.3. ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO- ICP OES.....	69
3.4. ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO.....	71
3.5. EXPERIMENTAL	75
3.5.1. Reagentes e soluções.....	76
3.5.2. Digestão Sistema Aberto.....	77
3.5.2.1. Bloco digestor.....	77
3.5.3. Digestão em Sistema Fechado.....	78
3.5.3.1. Microondas com cavidade.....	78
3.5.4. Acidez e carbono residual dos digeridos.....	79
3.5.5. Figuras de mérito.....	80
3.5.6. Parâmetros para medidas no ICP OES.....	80
3.5.7. Instrumentação do Sistema FIA.....	81
3.6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
3.6.1. Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado(ICP OES)	83
3.6.2. Análise por Injeção em Fluxo com Detecção Espectrofotométrica (FIA-SD).....	84
3.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86
 CAPÍTULO IV. CONCLUSÕES	
4. CONCLUSÕES	88
4.1. Propostas Futuras	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
APÊNDICE A.....	109
APBNDICE B.....	119

Lista de figuras

Figura 1. Reação de transesterificação de óleos vegetais.	2
Figura 2. Fluxograma do processo de produção de biodiesel.	3
Figura 3. Representação esquemática da absorção de radiação infravermelha por uma molécula diatômica polar..	12
Figura 4. Representação de matrizes de dados (X e y).	16
Figura 5. Espectrômetro de Infravermelho FT-IR (Spectrum Gx).	31
Figura 6. Espectro de amostras de diesel e mistura biodiesel/diesel mamona 5% na região NIR (espectrômetro convencional- Spectrum GX-IP).	33
Figura 7. Espectros de amostras de diesel e mistura biodiesel/diesel mamona 5% na região MIR empregando o espectrômetro convencional - ATR	34
Figura 8. Espectros de amostras de diesel e mistura biodiesel/diesel mamona 5% na região MIR empregando o espectrômetro portátil-Transmitância.....	35
Figura 9. Gráfico dos escores de todas as amostras de misturas diesel-biodiesel e diesel puro, nas três componentes da PCA, nas regiões (a) NIR (b) MIR.....	36
Figura 10. Gráfico da variância - Y versus número de PCs usadas nos modelos (misturas e globais) para a propriedade T85% (a) NIR – misturas (b) NIR - global e para massa específica (c) NIR- misturas (d) NIR - global.....	38
Figura 11. Gráfico da variância - Y versus número de PCs usadas nos modelos (misturas e globais) para a propriedade T85% (a) MIR – misturas (b) MIR - global e para massa específica (c) MIR- misturas (d) MIR – global.....	39
Figura 12. Gráfico dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para (a) massa específica (b) teor de enxofre, (c) T50%,(d) T85%, na região do NIR para o modelo global. ○(amostras de calibração) ● (amostras de validação externa).....	43

Figura 13. Gráfico dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para (a) massa específica, (b) teor de enxofre, (c) T50%, (d) T85%, na região do MIR para o modelo global. ○(amostras de calibração) ●(amostras de validação externa).	44
Figura 14. Espectro médio de amostras de biodiesel na região NIR. Variáveis selecionadas pelo APS (pontos pretos) e intervalos <i>i</i> PLS (área cinza) para (a) estabilidade oxidativa (APS-bruto and <i>i</i> PLS-derivativo 21 pontos) (b) índice de acidez(c) teor de água (APS-derivativo,11pontos e <i>i</i> PLS – derivativo, 21 pontos).....	51
Figura 15. Espectros de amostra de biodiesel na região MIR, (a) variáveis selecionadas pelo APS, intervalo <i>i</i> PLS para estabilidade oxidativa (APS-raw and <i>i</i> PLS-21)(b) índice de acidez (11 pontos) e (c) teor de água (APS-21 and <i>i</i> PLS-7).....	52
Figura 16. Gráfico dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para estabilidade oxidativa obtidos em (a) NIR e (b) MIR.....	55
Figura 17. Gráfico dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para índice de acidez em (a) NIR e (b) MIR.....	57
Figura 18. Gráfico dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para teor de água em (a) NIR e (b) MIR.....	59
Figura 19. Classificação dos métodos de análise em fluxo segundo a IUPAC.....	71
Figura 20. Fluxograma do procedimento de digestão de amostras de biodiesel em bloco digestor	78

Figura 21. Diagrama do sistema de análise em fluxo para determinação de P-PO_4^{3-} .

A: solução da amostra; L: alça de amostragem, 10 cm (50 μL); x: ponto de confluência; T: solução transportadora, H_2O ; R1: solução de molibdato de amônio com tartarato de potássio e antimônio (reagente colorido); R2: solução de ácido ascórbico; B1: reator de 150 cm; B2: reator de 200 cm; banho termostaticado, a 37 °C; λ : detector, 880 nm; D: resíduo a ser tratado. Os números entre parênteses indicam a vazão de bombeamento em mL min^{-1}82

Figura 22. Concentração de fósforo obtida, nas amostras digeridas no bloco digestor e no forno de microondas com cavidade usando ICP OES.....84

Lista de tabelas

Tabela 1. Regiões espectrais do Infravermelho.....	12
Tabela 2. Faixa de trabalho para as propriedades estudadas; e valores de reprodutibilidade dos métodos ASTM.....	30
Tabela 3. Número de amostras de calibração e previsão para os equipamentos convencional e portátil usados nos modelos de calibração.....	32
Tabela 4. Resultados para o conjunto de validação externo dos modelos (misturas e globais) construídos com os dados obtidos na região NIR. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP) e coeficiente de correlação (R) para valores preditos vs. referência. O número de fatores de PLS empregado em modelos construídos estão apresentados entre parênteses.	40
Tabela 5. Resultados para o conjunto de validação externo dos modelos (misturas e globais) construídos com os dados obtidos na região MIR, com instrumento convencional e portátil. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP) e coeficiente de correlação (R) para valores preditos vs. referência. O número de fatores de PLS, empregado em modelos construídos estão apresentados entre parênteses.....	41
Tabela 6. Teste F para os modelos globais construídos na Região NIR e MIR com nível de 95% de confiança.....	42
Tabela 7. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP) do conjunto de validação usando modelos construídos no instrumento primário (PI) e secundário (SI) e após aplicação do procedimento de transferência de calibração por DS.....	45
Tabela 8. Melhores resultados para calibração e validação externa para a estabilidade oxidativa. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP), calibração (RMSECV) e coeficiente de correlação (R) para valores de referência vs. Preditos. O número de fatores de PLS ou variáveis em modelos APS-MLR são apresentados em parênteses.....	54
Tabela 9. Melhores resultados para calibração e validação externa para índice de acidez. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP), calibração	

(RMSECV) e coeficiente de correlação (R) para valores de referência vs. Preditos. O número de fatores de PLS ou variáveis em modelos APS-MLR são apresentados em parênteses.....	56
Tabela 10. Melhores resultados para calibração e validação externa para teor de água. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP), calibração (RMSECV) e coeficiente de correlação (R) para valores de referência vs. Preditos. O número de fatores de PLS ou variáveis em modelos APS-MLR são apresentados em parênteses.....	58
Tabela 11. Programa de aquecimento para digestão de biodiesel em microondas com cavidade.....	79
Tabela 12. Condições experimentais utilizadas no ICP OES com configuração axial.....	81
Tabela 13. Concentração de fósforo (mg kg^{-1}) obtidas pelo procedimento do sistema em fluxo e o método ICP OES, para amostras de biodiesel.....	85
Tabela 14. Percentual de recuperação das amostras com adicionados de 3,0, 5,0 e 7,0 mg Kg^{-1} de biodiesel de Girassol, Mamona e Soja.....	86
Tabela 15. Figuras de mérito para o método FIA-SD.....	86

Lista de Abreviaturas e Siglas

AAS:	Espectroscopia de Absorção Atômica
ABNT:	Associação Brasileira de Normas e Técnicas
ANP:	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
APS:	Algoritmo das Projeções Sucessivas
APS-MLR:	Algoritmo das Projeções Sucessivas em Regressão Linear Múltipla
ASTM:	Associação Americana de Materiais e Testes
B100:	Biodiesel Puro
BEN:	Biodiesel nabo forrageiro
BES:	Biodiesel etílico de soja
BET:	Biodiesel sebo bovino
BHT:	Hidroxitolueno butilado
BX:	Mistura diesel/biodiesel
CV:	Validação Cruzada
DS:	Padronização Direta
FAAS:	Espectroscopia de Absorção Atômica com Chama
FIA:	Análise por Injeção em Fluxo
FIA-SD:	Análise por Injeção em Fluxo com Detecção Espectrofotométrica
FTIR:	Infravermelho com Transformada de Fourier
GC:	Cromatografia Gasosa
ICP AES:	Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado
ICP OES:	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado
IUPAC:	União Internacional de Química Pura e Aplicada
IP:	Instrumento Primário
iPLS:	Regressão pelos Mínimos Quadrados Parciais por intervalo
IR:	Infravermelho
IS:	Instrumento Secundário
LD:	Limite de Detecção
LIBS:	Espectroscopia de Emissão em Plasma Induzido por Laser
LQ:	Limite de Quantificação
MIR:	Infravermelho Médio
MLR:	Regressão Linear Múltipla
MSFA:	Análise em Fluxo Monossegmentado

NAS: Sinal Analítico Líquido
NIR: Infravermelho Próximo
OES: Espectrometria de Emissão Ótica
PCA: Análise por Componentes Principais
PCR: Regressão por Componentes Principais
PDS: Padronização Direta por Partes
PLS: Regressão por Mínimos Quadrados Parciais
R: Coeficiente de Correlação
RMN: Ressonância Magnética Nuclear
RMSECV: Raiz quadrada do Erro Médio Quadrático de Validação Cruzada
RMSEP: Raiz quadrada do Erro Médio Quadrático de Previsão
RMSEV: Raiz quadrada do Erro Médio Quadrático de Validação
SIA: Análise em Fluxo seqüencial
SPXY: Partição de amostra baseado na distância de **X-y**
UV-VIS: Ultravioleta – Visível

Resumo

O biodiesel, combustível originado de óleos vegetais ou gorduras animais, vem se consolidando como fonte de energia alternativa em substituição ao diesel mineral. Este trabalho reporta o desenvolvimento de métodos analíticos para monitorar a qualidade do biodiesel e de suas misturas com diesel mineral. As propriedades estudadas para o biodiesel puro (B100) foram estabilidade oxidativa, índice de acidez e teor de água. Para as misturas, as propriedades determinadas foram massa específica, temperaturas de destilação (T50% e T85%) e teor de enxofre. Em ambos os casos, foram desenvolvidos modelos de calibração multivariada, usando dados obtidos por espectroscopia na região do infravermelho (IR). As técnicas de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e a regressão linear múltipla (MLR) foram usadas para a modelagem. No desenvolvimento dos modelos para o controle de qualidade do B100, três técnicas de seleção de variáveis foram avaliadas: o algoritmo das projeções sucessivas (APS) associada à MLR, a regressão por mínimos quadrados parciais por intervalos (iPLS) e o Jack – Knifing (PLS). Os resultados obtidos para misturas mostraram que os modelos globais foram adequados para previsão das propriedades tanto das misturas diesel-biodiesel quanto para o diesel puro. Os modelos apresentaram boas correlações que variaram de 0,74 a 0,98, com erros médios quadráticos de previsão (RMSEP) menores que a reprodutibilidade dos métodos de referência, exceto para a massa específica no infravermelho médio (MIR). Em relação ao B100, correlações que variaram entre 0,83 a 0,99 foram obtidas para os modelos desenvolvidos. Os RMSEPs apresentaram-se menores que a reprodutibilidade dos métodos oficiais. De uma forma geral, a espectroscopia na região do infravermelho em ambas as regiões NIR e MIR, combinada com a calibração multivariada mostrou-se eficiente na previsão das propriedades, tanto da mistura diesel-biodiesel, quanto do B100. Foi proposto ainda, empregar um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA), usando detecção espectrofotométrica, para determinar fósforo em B100 com amostras digeridas. Uma avaliação sobre os procedimentos de digestão de amostras, em bloco digestor e forno de micro-ondas com cavidade, foi realizada, sendo o procedimento usando bloco digestor escolhido para digerir as amostras que foram usadas no método do FIA-SD. O procedimento com bloco digestor foi escolhido por apresentar menor acidez ($2,2 \text{ mol L}^{-1}$) e carbono residual (0,16%) comparando-se ao procedimento usando micro-ondas com cavidade. Para Validar o método, testes de recuperação foram realizados e os resultados mostraram valores entre 98 a 114,8%. O Limite de detecção (LD) foi de $1,4 \text{ mg Kg}^{-1}$ e o Limite de Quantificação (LQ) de $4,6 \text{ mg Kg}^{-1}$. As concentrações de fósforo em biodiesel apresentaram-se semelhantes às encontradas empregando a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) usando amostras digeridas e também amostras dissolvidas em querosene.

A espectroscopia IR e o sistema de análise em fluxo (FIA) acoplado a técnica UV-VIS apresentam-se vantajosos, quando comparados aos métodos oficiais, pois possuem custos reduzidos e trabalham com uma quantidade mínima de amostras. Além disso, a espectroscopia IR e o FIA são rápidos e geram pouco resíduo.

Palavras-Chave: Espectroscopia IR, NIR, MIR, biodiesel, fósforo, ICP OES, FIA, calibração multivariada

Abstract

Biodiesel fuel, obtained from vegetable oils or animal fats, has become an alternative energy source to replace diesel fuel. This work reports the development of analytical methods to monitor the quality of biodiesel and its blends with mineral diesel. The properties studied for pure biodiesel (B100) were oxidative stability index, acidity and water content. For mixtures, the properties determined were density, distillation temperature and sulfur content. In both cases, models were developed using partial least squares regression (PLS) and infrared spectrum (IR). The techniques of partial least squares regression (PLS) and multiple linear regression (MLR) were used for modeling. In the development of models for quality control of B100, three techniques for variable selection were studied: the successive projections algorithm (SPA), associated with multiple linear regression (MLR); interval partial least squares regression (iPLS); and Jack-knifing. The results obtained for mixtures showed that the global models were able to predict the properties of both the diesel-biodiesel blends and the pure diesel. The models showed correlations ranging from 0.74 and 0.98, with the mean squared errors of prediction (RMSEP) lower than the reproducibility of the reference methods, except for the density of mid-infrared (MIR). For the B100, correlations ranging from 0.83 to 0.99 were found for the models developed. The RMSEPs were lower than the reproducibility of the reference methods. In general, infrared spectroscopy in MIR and NIR regions, combined with multivariate calibration proved to be useful in predicting the properties of both diesel-biodiesel mixture, and B100. A flow injection analysis system (FIA) using UV detection was proposed for determining phosphorus in digested samples of B100. An evaluation of procedures for sample digestion using a heating block and a microwave oven was performed. The method using the block digester was selected due to the lower acidity (2.2 mol L^{-1}) and residual carbon (0.16%) in the digested samples, when compared with samples digested using the microwave oven. Recovery tests were performed and the results showed values between 98 and 114.8%. The limit of detection (LOD) was 1.4 mg kg^{-1} and limit of quantification (LOQ) of 4.6 mg kg^{-1} . The concentrations of phosphorus in biodiesel were similar to those found using the Optical Emission Spectrometry Inductively Coupled Plasma (ICP OES), using digested samples as well as samples dissolved in kerosene. Infrared spectroscopy and the flow analysis system (FIA) coupled with UV-VIS technique showed advantages when compared to the standard methods, as they are cheaper and need a fewer amount of samples. In addition, IR spectroscopy and FIA methods are fast and generate little waste.

Keywords: IR spectroscopy, NIR, MIR, biodiesel, phosphorus, ICP OES, FIA, multivariate calibration

Capítulo I - Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1. Biodiesel

Quando se fala em energia, quase sempre surge a idéia das seguintes fontes: petróleo, carvão mineral ou gás natural, sem contar com a energia nuclear. Todas essas fontes são finitas e a tendência é que, com a grande velocidade de consumo que temos hoje, elas acabem em um espaço de tempo cada vez menor ^[1].

Do ponto de vista econômico, há uma tendência no aumento do preço da gasolina, diesel e derivados de petróleo. A cada ano, o consumo aumenta e as reservas diminuem. O óleo diesel, por exemplo, é o derivado do petróleo mais consumido no Brasil e apesar da otimização da estrutura de fracionamento das refinarias no país, uma parte do produto ainda precisa ser importada. Alternativamente, com o intuito de superar os problemas de ordem política, econômica, social e ambiental, tem-se investido em pesquisas envolvendo fontes alternativas de energia renovável, dentre as quais estão os combustíveis originados de sementes de oleaginosas ^[2-3].

Antes mesmo do diesel de petróleo, os óleos vegetais já haviam sido testados e utilizados como combustíveis nos motores do ciclo diesel. Por razões econômicas e técnicas, estes deram lugar ao diesel de petróleo ^[2-3]. O baixo preço e a oferta dos derivados de petróleo, na época, influenciaram decisivamente na escolha pelo diesel mineral ^[4].

Nos dias atuais, o biodiesel é um exemplo da utilização de fontes renováveis para a produção de energia e vem sendo empregado com o intuito de suprir parte da demanda por diesel originado do petróleo.

O biodiesel é obtido a partir de fontes biológicas renováveis tais como óleos vegetais e gorduras animais. A maioria dos processos industriais emprega catálise alcalina e metanol, sendo os hidróxidos de sódio e potássio os catalisadores industriais mais comumente usados, já que são relativamente baratos e também muito ativos ^[5].

Algumas vantagens desse biocombustível são sua biodegradabilidade, não toxidez e baixa emissão de poluentes. O biodiesel reduz cerca de 90 % a emissão de fumaça e praticamente elimina a emissão de dióxido de enxofre, quando comparado aos combustíveis originados de petróleo ^[5]. Este combustível é

produzido, em geral, através de uma reação de transesterificação ^[6] (**Figura 1**), tendo a glicerina como um subproduto. A transesterificação é uma reação orgânica na qual um éster é transformado em outro através da troca dos grupos alcóxidos ^[2]. Neste processo, o óleo vegetal (triacilglicerol) reage com um álcool na presença de um catalisador, formando um éster (éster monoalquilado de ácidos graxos de cadeia longa) que é chamado de biodiesel ^[7]. Com características físico-químicas equivalentes ao petrodiesel, o biodiesel vem ganhando destaque no cenário energético mundial ^[8].

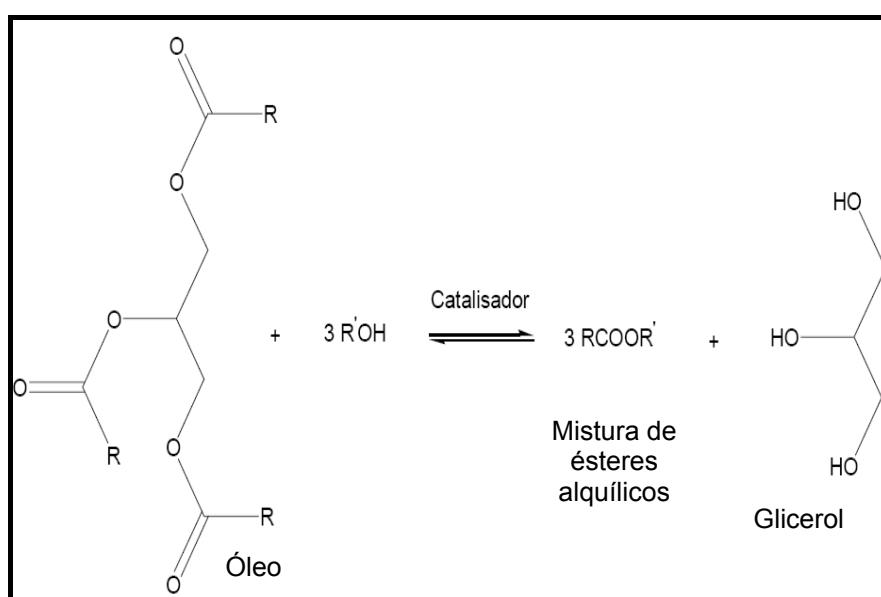


Figura 1. Esquema da reação de transesterificação de óleos vegetais ^[9]

Para a obtenção de biodiesel, a reação de transesterificação pode ser catalisada tanto em meio ácido quanto em meio básico, com o objetivo de quebrar as moléculas do óleo vegetal puro, produzindo o éster etílico ou metílico (biodiesel). A reação de síntese, geralmente empregada na indústria, utiliza uma razão molar óleo:álcool de 1:6 (m/m) na presença de 1 % (m/v) de hidróxido de sódio ou de potássio. A reação em meio básico apresenta melhor rendimento, pode ser realizada à temperatura ambiente e ainda assim, ocorre mais rapidamente em comparação com a reação em meio ácido a qual necessita ser realizada em temperaturas elevadas (ca. 170 °C) ^[10-11].

As principais matérias-primas utilizadas para a produção de biodiesel são: óleos de sementes de soja e as gorduras animais ^[12]. Em menor proporção, estão as sementes de algodão e demais materiais graxos. O óleo de fritura também tem se

mostrado atrativo na produção do biodiesel ^[13]. A matéria-prima para produção de biodiesel é escolhida, entre outros fatores, de acordo com a viabilidade em cada região ou país, percentagem de óleo em cada planta e com a produção de óleo por hectare. A **Figura 2** mostra o fluxograma da produção do biodiesel.

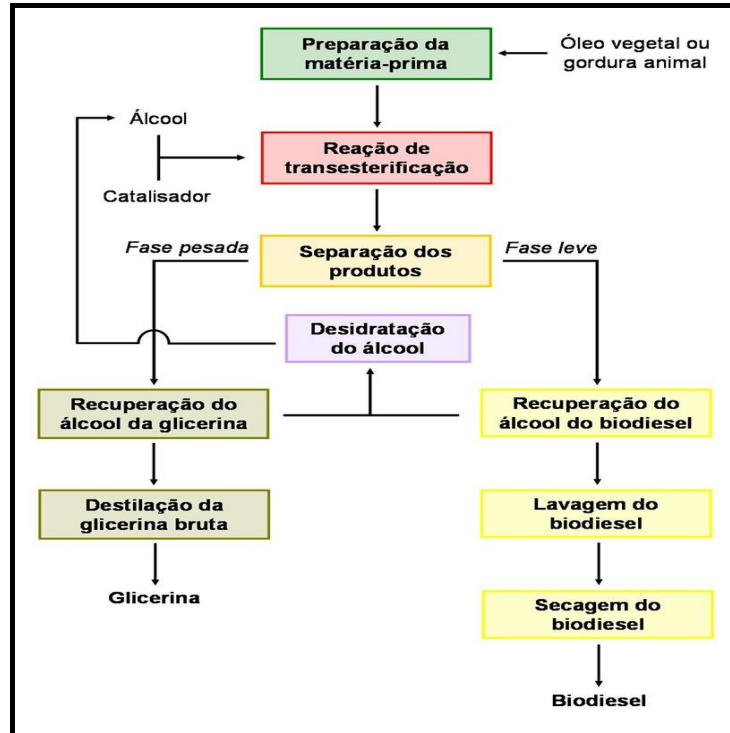


Figura 2. Fluxograma do processo de produção de biodiesel ^[10]

O uso de biocombustíveis, em particular, do biodiesel, vem crescendo atualmente em várias partes do mundo. O Brasil, entretanto, é um país em destaque no cenário mundial, devido a sua grande extensão territorial e às condições de clima e solo propícios para a produção de biomassa. De forma geral, projetos envolvendo a produção de biodiesel consistem na busca de uma nova matriz energética com duas vertentes fundamentais: inclusão social e ecológica, além da redução de custo ^[14].

Devido às semelhanças físicas entre o biodiesel e o diesel de petróleo, os desempenhos e os consumos, no que se refere principalmente a motores de ciclo diesel, são praticamente equivalentes. Não há, portanto, a necessidade de adaptação nos motores para funcionar regularmente com ambos os combustíveis ^[15]. O biodiesel é perfeitamente miscível ao óleo diesel de petróleo e quando adicionado melhora a lubrificação e reduz a emissão de poluentes.

A inserção do biodiesel na matriz energética brasileira ocorreu com a publicação da Lei Federal 11.097, de 13 de janeiro de 2005, que previa a obrigatoriedade da adição de 2% desse combustível ao diesel de petróleo até 2008, quando o biodiesel B2 (diesel mineral com adição de 2% de biodiesel) passou a ser obrigatório. Previa também que misturas de 5 a 20% (B5-B20) se tornem obrigatórias até 2013. Hoje esse percentual encontra-se em 5%.

A utilização do biodiesel como fonte de energia veicular tem levado ao surgimento de diferentes metodologias para determinação de sua qualidade. Nesse sentido, a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) estabeleceu diretrizes e especificações para a garantia da qualidade do biodiesel e suas misturas. Ficou estabelecido que as especificações para misturas diesel-biodiesel devem ser as mesmas do diesel mineral. Desse modo, os ensaios para avaliação da qualidade dessas misturas (teor de enxofre, temperaturas de destilação, massa específica, ponto de fulgor, entre outros) são praticamente os mesmos do diesel ^[16]. A determinação de teor de glicerina livre, mono- di- e tri-acilglicerídeos, índice de iodo, estabilidade à oxidação, acidez, teor de água, de éster e os teores de sódio, potássio, magnésio, cálcio, fósforo entre outros são específicos para o Biodiesel puro (B100) ^[17].

Em geral, os métodos de ensaios especificados pela ANP são demorados, exigem equipamentos específicos, de alto custo e necessitam de grandes quantidades de amostras, além de gerarem emissões de gases e elevado volume de resíduos. Todavia, metodologias analíticas eficientes e de menor custo têm sido desenvolvidas, para uma possível utilização no cumprimento desses padrões normativos e portarias estabelecidas pela agência reguladora de petróleo e seus derivados ^[4].

A espectroscopia na região do infravermelho (IR), em combinação com técnicas quimiométricas, surge como uma alternativa de substituição dos métodos recomendados pela ANP para determinação de propriedades como massa específica, teor de éster, teor de enxofre, ponto de fulgor, teor de água, teor de metanol e éster, entre outras. Por apresentar baixo custo operacional, ser uma técnica não destrutiva, rápida, além de não necessitar de pré-tratamento de amostras ^[18-20], a espectroscopia IR tem constituído uma ferramenta cada vez mais empregada no controle de qualidade de processos e produtos na indústria do petróleo ^[20].

Trabalhos recentes demonstram a aplicação desta técnica para monitoramento da qualidade do biodiesel puro (B100) ^[21-22] e suas misturas ^[23-24].

Com relação aos outros parâmetros de qualidade do biodiesel, tais como metais e fósforo, os métodos normatizados para o B100 recomendam o emprego das técnicas Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) e Espectrometria de Absorção Atômica (AAS), conforme descrição dos padrões normativos ABNT NBR 15553^[25] e 15556 ^[26], respectivamente. Segundo as recomendações desses padrões normativos, as amostras de biodiesel podem ser preparadas pela dissolução em xileno ou querosene. Entretanto, os métodos comentados apresentam algumas desvantagens, tais como a baixa estabilidade do analito nos solventes, necessidade de padrões organometálicos para a calibração e o uso de solventes orgânicos perigosos que requerem circunstâncias especiais para sua manipulação. Para superar estes inconvenientes, a digestão de amostras e preparação de microemulsão tem sido utilizada para as determinações empregando ICP OES e AAS, respectivamente ^[4].

Em face do exposto, este trabalho propõe a utilização da espectroscopia IR associada à calibração multivariada para determinar as propriedades do BX e do B100. Adicionalmente, uma metodologia baseada na análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção espectrofotométrica para determinar fósforo em amostras de biodiesel digeridas é também apresentada.

1.2. Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo geral desenvolver métodos analíticos alternativos para determinação de parâmetros de qualidade de BX e B100, tendo em vista uma possível utilização no cumprimento dos padrões normativos recomendados pela ANP.

1.3 Objetivos Específicos

Capítulo II

Parte 1

- Desenvolver modelos PLS utilizando a espectroscopia IR para determinar as temperaturas de destilação (T50% e T85%), teor de enxofre e massa específica em misturas diesel – biodiesel (Bx);
- Comparar os resultados obtidos pelos modelos PLS construídos nas regiões NIR e MIR;
- Comparar o desempenho dos modelos desenvolvidos em dois equipamentos diferentes (convencional e portátil);
- Estudar a transferência de calibração a partir dos modelos construídos com informações espectroscópicas entre dois equipamentos distintos.

Parte 2

- Desenvolver modelos de calibração multivariada utilizando a espectroscopia IR e PLS para determinar os parâmetros de estabilidade oxidativa, o índice de acidez e o teor de água em B100.
- Comparar os resultados obtidos com as regiões do NIR e MIR.
- Avaliar o uso de seleção de regiões espectrais/variáveis pelo algoritmo *i*PLS, Jack-Knifing (em modelos PLS) e APS (modelos MLR);

Capítulo III

- Avaliar procedimentos para digestão de amostras de biodiesel (B100) utilizando sistema de digestão aberto e fechado, por via úmida (ácida) com bloco digestor e forno de micro-ondas com cavidade;
- Determinar fósforo em biodiesel utilizando ICP OES e análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica (FIA-SD) usando amostras digeridas.

Capítulo II

Determinação de propriedades de BX e B100 utilizando espectroscopia na região do infravermelho e calibração multivariada

2.0. INTRODUÇÃO

As Resoluções ANP 07/08 ^[17] e 15/06 ^[16] especificam os ensaios para monitorar parâmetros de qualidade do biodiesel e suas misturas, respectivamente. Os padrões normativos ASTM D 975-09 ^[27] e EN 590 ^[28] descrevem as especificações para misturas de biodiesel de até 5% e a EN 14214 ^[29] e ASTM D6751 ^[30], para o B100.

Uma vez produzido, o biodiesel é susceptível às reações de degradação causadas pela exposição ao ar, luz, metais, calor e umidade. A degradação do biodiesel pode ser causada, entre outros fatores, pelas reações oxidativas, hidrolíticas ou microbianas, tendo como consequência o aumento da capacidade de corrosão e redução na qualidade e estabilidade ao armazenamento. Os principais parâmetros de qualidade associados com a estabilidade do biodiesel são: teor de água, estabilidade oxidativa, índice de acidez, índice de iodo e viscosidade cinemática ^[31]. Diversos estudos têm sido reportados na literatura empregando estes parâmetros para monitorar a estabilidade do biodiesel produzido por diferentes matérias-primas, processos e sob várias condições de armazenamento ^[32-35].

A degradação oxidativa de biodiesel tem início, em geral, quando radicais livres produzidos pelo processo de auto-oxidação, combinados com o oxigênio da atmosfera, formam radicais hidroperóxidos não estáveis. As reações subsequentes são resultados da decomposição dos hidroperóxidos em aldeídos, cetonas e ácidos que podem gerar materiais poliméricos, que causam sérios danos aos motores veiculares e seus componentes ^[34].

Dependendo da matéria-prima com que foi produzido, o biodiesel pode conter mais ou menos ácidos graxos insaturados, que são susceptíveis às reações de oxidação aceleradas pela exposição ao oxigênio e altas temperaturas ^[36]. A adição de anti-oxidantes aumenta a estabilidade do biodiesel, mas o processo de degradação permanece, embora de forma lenta ^[37]. A taxa de oxidação aumenta com o número de insaturações nas moléculas do biodiesel: éster linolênico (três insaturações) > linoléico (duas) > oléico (uma) > esteárico (saturado).

O método de referência utilizado para medida da estabilidade oxidativa emprega, geralmente, o equipamento Rancimat, conforme descrito no padrão normativo EN 14112^[38]. Neste método, a amostra de biodiesel é exposta a um fluxo de ar de 10 L h⁻¹ a 110 °C e o tempo do período de indução é medido pelo aumento da

condutividade causada pela formação de compostos oxidados. A estabilidade oxidativa, determinada pelo método Rancimat, leva um tempo de aproximadamente 6 h para que a análise seja concluída, tornando o método bastante demorado. Este método é similar ao utilizado para a determinação do índice de estabilidade em óleos ^[31].

Pasquini e Gonzaga ^[39] propuseram um novo método para a determinação da estabilidade oxidativa em óleos comestíveis baseado na espectroscopia na região do Infravermelho (IR). O tempo de indução, relacionado com a estabilidade oxidativa, foi determinado por meio da banda do espectro de emissão em 2900 nm, e seu aumento durante o tempo de aquecimento. Neste trabalho, doze amostras de óleos comestíveis, de diferentes tipos e fabricantes, foram analisadas quanto à estabilidade oxidativa com repetitividade média de 3,7%.

Um estudo da oxidação do biodiesel metílico do óleo de soja foi realizado por Knothe ^[40]. A oxidação de biodiesel, assim como a viscosidade e acidez foram acompanhadas empregando Ressonância Magnética Nuclear de Próton (¹H-NMR). Segundo o autor, a taxa de oxidação do biodiesel aumenta com o tempo e com o grau de exposição ao ar. Os resultados obtidos por esta técnica mostraram que o decréscimo de metil-éster coincide com o aumento da concentração dos ácidos graxos de cadeia curta, com o valor de acidez e com o valor da viscosidade cinemática.

A acidez em biodiesel é outro parâmetro que está relacionado com a estabilidade. O método de referência para determinar a acidez, recomendado pela EN14214, é o EN14104, o qual usa uma solução alcoólica de KOH como titulante e fenolftaleína como indicador. A ASTM recomenda a titulação potenciométrica (ASTM D664). Alternativamente, Reda e colaboradores ^[41] desenvolveram um método alternativo para a determinação do índice de acidez de biodiesel baseado no emprego da técnica ¹H-NMR.

A água presente no biodiesel pode promover reações de hidrólises resultando em ácidos graxos livres, causando proliferação de microorganismos, deposição de sedimentos e corrosão em tanques de estocagem ^[4]. Os métodos de referência para a determinação de teor de água, descritos nas EN 12937 e ASTM 6304, empregam a Titulação Coulométrica Karl Fischer, como recomendando pela EN14214 e Resolução ANP 07/08, respectivamente.

Recentemente, o teor de água em óleos vegetais foi determinado pela titulação Karl Fischer automatizada (KFT), usando ambas as técnicas, coulométrica e volumétrica ^[42].

Depois de misturado ao diesel mineral, formando a mistura (BX), os ensaios para controle de qualidade são semelhantes aos realizados para o diesel puro ^[16]. Entre os ensaios utilizados para a caracterização dessas misturas, destacam-se a determinação da massa específica, temperatura de destilação e o teor de enxofre. A massa específica é determinada, geralmente, através de um densímetro digital segundo o padrão normativo ASTM D 4052 ^[43]. No caso das temperaturas de destilação, o ensaio é realizado com a ajuda de destiladores automáticos (ASTM D 86) ^[44] e é uma das análises mais demoradas, duram em torno de 45 min. Por fim, a ASTM D 4294 ^[45] especifica o ensaio para determinação do teor de enxofre utilizando Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia.

Em geral, os métodos preconizados pela ANP demandam tempo, consumo elevado de reagentes, empregam equipamentos específicos e geram elevados volumes de resíduos. Em contrapartida, a espectroscopia na região do IR tem sido aplicada para resolver os inconvenientes tais como o uso de padrões químicos para calibração e tempo elevado para realização das análises, apresentados pelos métodos de referência ^[22,24].

Nesse contexto, a ASTM publicou um guia, E1655^[46], para a calibração multivariada empregando a espectrometria na região do IR para determinação de propriedades físicas e químicas de materiais.

Os trabalhos descritos na literatura demonstram a viabilidade da espectroscopia na região do IR associada às técnicas de calibração multivariada para determinar parâmetros de qualidade do biodiesel e suas misturas. Sendo assim, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) publicou um padrão normativo (NBR 15568:2008) ^[47] recomendando a determinação do teor de éster em misturas de biodiesel usando espectroscopia na região do Infravermelho Médio (MIR) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLS).

2.1. Espectroscopia na Região do Infravermelho (IR)

Os estudos envolvendo a espectroscopia na região do IR iniciaram-se por volta de 1800 quando o cientista William Herschel se mostrou curioso em relação às

propriedades físicas da radiação eletromagnética na região do visível. Herschel desenvolveu um experimento que consistia na utilização de um prisma para separação das faixas espectrais associadas à região do visível. Ele observou que uma das cores decompostas pelo prisma apresentava quantidade de energia distinta e, para monitorar a quantidade de energia associada a cada cor, utilizou um termômetro, verificando que abaixo do vermelho, onde não havia mais luz visível, havia uma pequena variação de temperatura ^[48], que foi denominada de infravermelha (IR).

A partir dos experimentos de Herschel, a espectroscopia na região do IR passou a receber mais atenção devido às potencialidades que a técnica apresentou na caracterização e quantificação de diferentes espécies químicas ^[49]. Devido a limitações instrumentais, os trabalhos iniciais envolvendo química e espectroscopia eram restritos à identificação e quantificação de algumas poucas espécies químicas em casos bem específicos ^[49]. Posteriormente, com o desenvolvimento de equipamentos mecânicos e ópticos mais precisos, as aplicações foram ampliadas ^[50].

A radiação infravermelha não é suficientemente energética para causar transições eletrônicas e a absorção desta radiação está muito restrita a espécies moleculares que possuem pequenas diferenças de energia entre vários estados vibracionais e rotacionais. A condição para que haja absorção da radiação infravermelha é que a molécula apresente variação no momento de dipolo como consequência do movimento vibracional ou rotacional ^[51]. Apenas nessas circunstâncias o campo elétrico alternado da radiação pode interagir com a molécula e causar variações na amplitude de um de seus movimentos. A **Figura 3** mostra a variação na amplitude dos movimentos vibracionais da molécula quando há absorção da radiação.

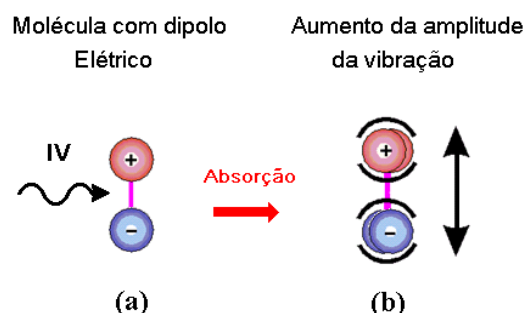


Figura 3. Representação esquemática da absorção de radiação infravermelha por uma molécula diatômica polar. A absorção da radiação infravermelha (a) provoca um aumento na amplitude da vibração (b)^[52].

A variação de momento dipolo com a vibração ocorre em moléculas heteronucleares, como exemplo, o HCl. No entanto, nenhuma variação no momento dipolo ocorre em moléculas homonucleares, tais como O₂, N₂ ou Cl₂, que dessa forma, não absorvem radiações no infravermelho ^[52].

Do ponto de vista tanto da aplicação como da instrumentação, o espectro infravermelho é dividido em radiação no infravermelho próximo (NIR), médio (MIR) e distante (FIR), sendo esta última pouco utilizada. A região espectral que corresponde ao infravermelho, de uma forma geral, compreende a radiação com números de onda no intervalo de aproximadamente 12800 a 10 cm⁻¹. A **Tabela 1** mostra o intervalo para cada região espectral.

Tabela 1. Regiões espectrais do Infravermelho ^[53].

Regiões	Comprimento de Onda (μm)	Número de Onda (cm ⁻¹)
Próximo	0,78 a 2,5	12800 a 4000
Médio	2,5 a 50	4000 a 400
Distante	50 a 1000	200 a 10

Embora a espectroscopia NIR tenha sido descoberta antes do MIR, a região NIR foi pouco explorada por questões instrumentais e dificuldade de interpretação dos resultados. Sendo assim, a região MIR ganhou ampla aceitação, após o trabalho iniciado em 1900 por Coblentz ^[19], uma vez que foi possível observar bandas de absorção de grupos orgânicos específicos, tais como N-H, C-H, O-H, C-C, entre outros.

Inicialmente, os principais compostos monitorados foram combustíveis, lubrificantes e polímeros e os equipamentos utilizados eram configurados somente para medidas de absorção na região MIR ^[54]. Esta região começou a ser utilizada na análise qualitativa de compostos orgânicos devido à grande quantidade de informação que pode ser utilizada para a caracterização funcional desses compostos.

A região do MIR compreende a faixa de 4000 a 400 cm^{-1} do espectro eletromagnético. Nessa região, os espectros apresentam picos nítidos e estreitos correspondentes às vibrações moleculares fundamentais. As bandas são intensas e os picos possuem absorbâncias bastante altas ^[55].

Até o início dos anos 1980, a maioria dos instrumentos para esta região do infravermelho era do tipo dispersivo, baseado em redes de difração. A partir daí, houve uma mudança drástica nos instrumentos de infravermelho de modo que agora a maior parte deles é do tipo de transformada de Fourier. O aparecimento desses espectrômetros, fez com que o número e o tipo de aplicações do MIR tivessem um crescimento notável nas últimas décadas ^[53].

No caso da região do NIR, esta não foi considerada inicialmente como uma técnica analítica com algum valor prático, sendo pouco utilizada até por volta de 1950 ^[55]. O trabalho pioneiro explorando a faixa espectral NIR foi desenvolvido antes de 1938 e envolvia a investigação de água em gelatina ^[56].

Barchewitz ^[19] foi o primeiro a aplicar a espectroscopia NIR à análise de combustível. Apenas em 1965, as primeiras publicações com NIR começaram a surgir, com o trabalho de Karl Norris ^[57], que pesquisou novos métodos para a determinação de umidade em produtos agrícolas.

As ocorrências espectrais na região NIR correspondem, quase que totalmente, a sobretons e combinações harmônicas de vibrações fundamentais de ligações N-H, C-H, O-H e S-H que aparecem normalmente na região do MIR ^[19].

Os espectros na região do NIR e MIR são originados da transferência de radiação das energias associadas ao movimento de átomos em uma molécula. Mas os espectros NIR são considerados mais complexos, quando comparados ao MIR. Esse fato está relacionado, em parte, com a presença de sobretons e bandas de combinações. Além disso, há a contribuição de dois tipos de ressonância que pode ocorrer na região do NIR, a *ressonância de Fermi* ^[19], que pode acontecer entre uma absorção fundamental e um sobreton quando a diferença de energia entre eles é

muito baixa, e outra ressonância chamada *Darling-Dennison* que pode promover a interação entre dois sobretons de nível mais alto de uma molécula e a combinação de bandas, resultando no surgimento de duas bandas ao invés de uma, na região de combinação.

As bandas de absorção na região do NIR são bem menos intensas (cerca de 10 a 1000 vezes) e mais sobrepostas que no MIR. Entretanto, isso não é uma desvantagem do NIR visto que, nessa região, podem ser realizadas medidas em amostras com alto teor de umidade. Além disso, bons resultados podem ser obtidos quando se usa refletância difusa em amostras sólidas devido à melhor penetração da radiação ^[19].

Devido ao fato de um espectrofotômetro NIR poder ser montado com sistemas ópticos semelhantes àqueles usados em equipamentos que operam na região do UV-Vis, instrumentos operados nessa região são mais vantajosos, quando comparados ao MIR. Além disso, os equipamentos são, em geral, mais robustos, devido a sua óptica não ser afetada pela umidade do ar. Os instrumentos MIR, têm características semelhantes e são também eficientes, mas possuem custo mais elevado ^[19].

Os instrumentos NIR podem ser classificados em instrumentos a base de filtros, dispersivos e interferométricos. As medidas podem ser feitas por absorbância/transmitância, transfectância e reflectância difusa ^[55].

Atualmente, ambas as regiões (NIR e MIR) estão sendo utilizadas para fins de determinação analítica. Informações qualitativas e quantitativas de espécies químicas ou propriedades de amostras podem ser determinadas nessas regiões. Entretanto, em geral, necessitam de tratamentos matemáticos, baseados em ferramentas quimiométricas ^[19], a fim de extrair informações contidas em matrizes complexas.

São inúmeras as aplicações envolvendo as regiões NIR e MIR descritas na literatura. A pesquisa no controle de qualidade de diversos produtos, utilizando a técnica do IR, vem crescendo a cada ano. Indústrias de produtos agrícolas ^[58], farmacêuticos ^[59] e a indústria de petróleo ^[60] vêm adotando essas técnicas como ferramenta essencial para o desenvolvimento de produtos com maior qualidade para benefício da sociedade.

2.2. Quimiometria

Nas últimas décadas, os computadores têm sido grandes aliados no tratamento de dados químicos. O grande número de informações, complexas e variadas, geradas por equipamentos com interfaces computadorizadas tem contribuído para esse acontecimento ^[61].

Os instrumentos modernos têm a capacidade de medir um elevado número de variáveis em uma única amostra, necessitando cada vez mais de ferramentas que ajudem a tratar e extrair informações relevantes.

Dentro desse contexto, surge a Quimiometria, palavra introduzida em 1972 por Swede Svante Wold e Bruce R. Kowalski. Atualmente, é definida como a área da química que usa métodos matemáticos e estatísticos para planejar ou selecionar experimentos ótimos e para fornecer máxima informação através da análise química de dados multivariados ^[62].

Tipicamente, as aplicações de métodos quimiométricos estão no desenvolvimento de relação quantitativa atividade-estrutura ou na avaliação de dados de análise química ^[62].

No cenário atual, técnicas quimiométricas têm sido muito utilizadas na extração de informações relevantes de dados multivariados, muitas vezes complexos e de difícil interpretação, obtidos por técnicas instrumentais como, por exemplo, a espectroscopia IR ^[21-24, 63-66] e espectroscopia de emissão em plasma induzido por laser (LIBS) ^[67].

Na quimiometria aplicada à Química Analítica, os métodos multivariados que mais se destacam são os de planejamento e otimização de experimentos, reconhecimento de padrões/classificação de objetos (amostras), assim como a calibração multivariada, sendo esta última, certamente uma das técnicas mais utilizadas ^[68].

2.2.1. Calibração Multivariada

A calibração multivariada ^[68] é provavelmente uma das áreas da quimiometria que tem atraído mais interesse. A calibração consiste em desenvolver, validar e usar um modelo para fazer previsões de determinados dados (em geral valiosos, demorados e difíceis de medir, **y**) a partir de outros dados, mais fáceis de obter (**X**).

Os dados espectrais de natureza multivariada são, geralmente, representados na forma de uma matriz $\mathbf{X}$, de dimensão $n \times m$, onde n representa o número de amostras cujos espectros foram registrados (linhas da matriz $\mathbf{X}$) e m representa o número de variáveis ou comprimento de onda, em que as absorbâncias foram medidas (colunas da matriz $\mathbf{X}$). O vetor $\mathbf{y}$ com dimensão n representa o parâmetro de interesse (**Figura 4**)^[61].

$$\mathbf{X} = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1m} \\ x_{21} & x_{22} & \dots & x_{2m} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{n1} & x_{n2} & \dots & x_{nm} \end{bmatrix} \quad \mathbf{y} = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix}$$

Variáveis independentes Variável dependente.

Figura 4. Representação de matrizes de dados ($\mathbf{X}$ e $\mathbf{y}$)

Um conjunto representativo de amostras de calibração é utilizado para estabelecer uma relação matemática entre a resposta instrumental (Matriz $\mathbf{X}$) e o parâmetro de interesse (vetor $\mathbf{y}$). Os modelos de calibração multivariada são geralmente construídos empregando a validação cruzada completa (*full cross-validation*) para estabelecer a dimensionalidade do modelo. Neste procedimento, uma amostra é removida do conjunto de calibração e um modelo é construído com os dados restantes. A amostra que foi removida tem seu valor predito pelo modelo e um erro de calibração é calculado. Este processo é repetido para cada amostra até que cada uma delas tenha sido excluída em algum momento. A raiz quadrada do erro médio quadrático de validação cruzada (RMSECV) é o parâmetro utilizado para avaliar a eficiência da calibração^[69].

$$\text{RMSECV} = \sqrt{\frac{1}{n_{\text{cal}}} \sum_{i=1}^{n_{\text{cal}}} (y_i^{\text{prev}} - y_i^{\text{ref}})^2} \quad (1)$$

Onde n_{cal} é o número de amostras de calibração e y^{prev} e y^{ref} são os valores dos parâmetros obtidos pelo modelo e pelo método de referência, respectivamente.

Depois de validados, a habilidade preditiva dos modelos poderá ser avaliada em amostras externas que não participaram do processo de construção dos modelos. Uma figura de mérito bastante utilizada para esse propósito é a raiz quadrada do erro médio quadrático de previsão (RMSEP), conforme descrita na **Equação 2**.

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_{\text{prev}}} (y_i^{\text{prev}} - y_i^{\text{ref}})^2}{n_{\text{prev}}}} \quad (2)$$

As principais técnicas de calibração multivariada são: Regressão por Componentes Principais (PCR) ^[61-62, 68], Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) ^[68-69] e Regressão Linear Múltipla (MLR) ^[68 -69]. Antes de aplicar tais técnicas, torna-se importante avaliar o uso de métodos de pré-processamento de dados.

2.2.2. Pré-processamento dos dados

Pré-processamento ^[69] é definido como uma manipulação matemática dos dados realizada antes do desenvolvimento dos modelos de calibração multivariada. É, em geral, usada para remover ou reduzir fontes de variação, sejam elas aleatórias ou sistemáticas, para o objeto de modelagem. Na espectrometria, por exemplo, o sinal analítico, representado pela matriz **X** (medidas de absorbância ou transmitância em cada comprimento ou número de onda), pode apresentar problemas como variações de intensidade, linha de base ou ainda ruídos instrumentais ^[70]. Tais inconvenientes podem ser minimizados através do uso de técnicas de pré-processamento de dados.

O pré-processamento pode ser aplicado tanto no conjunto das amostras, como nas variáveis. Entretanto a escolha dos métodos deve ser criteriosa, pois pode influenciar positivamente ou negativamente no desempenho dos modelos.

Estratégias como normalização, ponderação, suavização e correção de linha de base podem ser utilizadas no pré-tratamento de dados aplicado nas amostras ^[69].

A normalização é muito semelhante à ponderação, onde a remoção das variáveis é realizada pela divisão ou multiplicação, de cada variável de um vetor amostra por uma constante. As ferramentas de suavização são usadas para reduzir matematicamente os ruídos aleatórios de alta frequência, com o objetivo de aumentar a razão sinal/ruído ^[69].

A derivação ^[69] é uma das técnicas de pré-processamento de dados mais utilizada em espectros NIR e MIR. Geralmente, utiliza-se a primeira derivada que é indicada para remover deslocamentos de linha de base e ajudar na visualização dos picos relevantes nos sinais originais. Como a aplicação da derivada provoca, no caso de espectros, uma diminuição na relação sinal-ruído, é comum a utilização de métodos de suavização. Neste sentido, destaca-se o método de Savitzky-Golay ^[71], que ajusta um polinômio de baixa ordem aos pontos de uma janela pelos mínimos quadrados. O ponto central da janela é substituído pelo valor estimado pelo polinômio. A escolha do número de pontos da janela deve ser criteriosa, pois dependendo do número escolhido, pode-se perder informação ou não eliminar ruídos ^[70].

No contexto das técnicas de pré-processamento de dados aplicados às variáveis, utilizam-se, normalmente, dois métodos: centralização dos dados na média e escalonamento ^[70,72]. O primeiro é realizado através da subtração dos elementos de cada linha pela média da sua respectiva coluna. No escalonamento, cada elemento de uma linha é dividido pelo desvio padrão da sua respectiva variável, o que leva a cada variável ter a mesma importância nos modelos.

2.2.3. Técnicas de calibração multivariada

A Regressão Linear Múltipla (MLR) ^[68,69] é considerada a mais simples e de fácil interpretação entre as técnicas de calibração multivariada. As informações disponíveis contidas nas variáveis independentes (matriz **X**) são aplicadas diretamente na modelagem para prever o parâmetro de interesse, ou seja, as variáveis originais são utilizadas. Na construção dos modelos MLR, além das informações relevantes, os ruídos também são incluídos. Além disso, em MLR assume-se que o parâmetro a ser determinado (**y**) é função linear das respostas instrumentais (matriz **X**), o que pode ser escrita na forma de matriz (**Equação 3**):

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\mathbf{b} + \mathbf{e} \quad (3)$$

Onde **b** é o vetor dos coeficientes lineares de regressão e “**e**” é o vetor dos resíduos.

O modelo MLR utiliza o princípio dos mínimos quadrados, para estimar o vetor **b** (coeficientes de regressão). Geralmente a matriz das variáveis independentes **X** não é quadrada, então o parâmetro de regressão, **b**, deve ser estimado pela matriz inversa (**Equação 4**) para que o valor de **y** possa ser encontrado.

$$\mathbf{b} = (\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T \mathbf{y} \quad (4)$$

Apesar de sua simplicidade, seu uso pode ser comprometido pela presença de colinearidade entre as variáveis ^[73]. Além disso, o número de variáveis deve ser inferior ao número de amostras, caso contrário, o produto $\mathbf{X}^T \mathbf{X}$ da **Equação 4** não será inversível e informações não confiáveis poderão ser obtidas. Para contornar estes inconvenientes, torna-se necessário o uso de algoritmos matemáticos para reduzir e/ou selecionar variáveis que sejam relevantes para os parâmetros de interesse.

As técnicas Regressão por Componentes Principais (PCR) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) ^[74-76] surgem para superar os problemas apresentados quando se trabalha com MLR. Ambas as técnicas são mais eficientes quando se tem problemas de ruídos experimentais, colinearidade e não-linearidade.

O princípio dos métodos PCR e PLS é a análise por componentes principais (PCA) ^[69]. Este consiste numa manipulação matemática de dados com o intuito de representar as variações presentes em muitas variáveis, através de um número menor de fatores. Um novo sistema de eixos (ortogonal) é construído, comumente chamado de fatores, componentes principais (PC's) ou variáveis latentes (VLs), obtidos através da combinação linear das variáveis originais, o que possibilita trabalhar com os dados multivariados em poucas dimensões. As coordenadas das amostras no sistema de eixos das PC's são chamadas de *scores*. A contribuição de cada variável nas PC's é denominada pesos e é calculada como o cosseno do ângulo entre o eixo da variável original e o eixo da PC. As variáveis originais com maior peso na combinação linear das primeiras componentes principais serão as mais importantes do ponto de vista estatístico ^[61].

Especificamente, PCR ^[68] usa apenas a matriz **X** para encontrar a combinação linear das variáveis, sem levar em consideração as informações de **y**. PCR é a regressão das respostas de **y**, nos *scores*, obtidos através da PCA aplicada à

matriz $\mathbf{X}$ ^[55]. Diferentemente da PCR, a etapa de calibração na modelagem PLS ^[73-76] utiliza tanto a informação da matriz de dados $\mathbf{X}$ como a do vetor $\mathbf{y}$ (PLS1) ou da matriz $\mathbf{Y}$ (no caso do PLS2). O PLS2 é uma versão do método PLS, no qual as variáveis $\mathbf{Y}$ são modeladas simultaneamente. Cada matriz é decomposta na soma de “A” VLs do seguinte modo:

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E} = \sum_{a=1}^A \mathbf{t}_a \mathbf{p}_a^T + \mathbf{e}_a \quad (5)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}^T + \mathbf{F} = \sum_{a=1}^A \mathbf{u}_a \mathbf{q}_a^T + \mathbf{f}_a \quad (6)$$

Onde as matrizes dos escores, pesos e resíduos são, respectivamente, $\mathbf{T}$, $\mathbf{P}$ e $\mathbf{E}$ para a matriz $\mathbf{X}$, enquanto que $\mathbf{U}$, $\mathbf{Q}$ e $\mathbf{F}$ para a matriz $\mathbf{Y}$.

O número ótimo de VLs no PLS é geralmente encontrado utilizando a validação cruzada ^[46,69]. Apesar de a regressão PLS fornecer bons resultados em um número elevado de aplicações, a interpretação de modelos que utilizam VLs é algumas vezes difícil porque nem sempre as novas variáveis possuem um significado físico e/ou físico-químico apropriado. Além disso, após a transformação em VLs, não é possível excluir regiões do sinal com baixa relação sinal/ruído, pois todas as variáveis originais contribuem para cada PC.

Em face do exposto, torna-se necessário, em alguns casos, a aplicação de algoritmos de seleção de variáveis no contexto dos métodos de calibração multivariada.

2.2.4. Seleção de variáveis

Em dados espectroscópicos, onde a matriz $\mathbf{X}$ geralmente é composta de um número elevado de informações, é comum utilizar algoritmos para a seleção de variáveis, cuja função é escolher variáveis relevantes na construção dos modelos e descartar aquelas que não contêm informações de interesse para o parâmetro a ser estimado.

Para o desenvolvimento de modelos de calibração multivariada, muitos algoritmos de seleção de variáveis são conhecidos, entre os quais, destacam-se o algoritmo genético (GA) ^[77], o stepwise (SW) ^[78], o algoritmo Jack Knifing (JK) ^[68], o algoritmo das projeções sucessivas (APS)^[79] e a regressão por mínimos quadrados

parciais por intervalo (*i*PLS) ^[80]. Neste trabalho foram utilizados os algoritmos JK, *i*PLS e APS.

Em 2004, o APS foi proposto por Araújo e colaboradores ^[79] como método de seleção de variáveis no âmbito de calibração multivariada, especificamente em modelos MLR.

A versão inicial do APS adotava a série de teste como técnica de validação. Assim, os conjuntos de calibração e validação eram utilizados no procedimento de escolha de variáveis, com ênfase na minimização da colinearidade em modelos MLR.

O princípio do APS está em realizar operações de projeção na matriz de calibração **X** ($n \times m$), cujas linhas e colunas correspondem a n amostras de calibração e m variáveis espectrais, respectivamente ^[79]. Com estas variáveis disponíveis, o APS constrói uma cadeia de m variáveis onde cada elemento é selecionado de modo que exiba a menor colinearidade com o anterior ^[70]. Então, $n \times m$ subconjuntos de variáveis podem ser formados.

O melhor subconjunto escolhido é aquele que, após a construção do modelo MLR, apresentar menor valor do erro médio quadrático de validação (RMSEV), conforme descrito na **Equação 7**.

$$\text{RMSEV} = \sqrt{\frac{1}{n_{\text{val}}} \sum_{i=1}^{n_{\text{val}}} (y_i^{\text{prev}} - y_i^{\text{ref}})^2} \quad (7)$$

onde y^{prev} e y^{ref} são, respectivamente, valor previsto e o valor de referência para o conjunto de teste e n_{val} é o número de amostras do conjunto de validação.

Recentemente, Galvão e colaboradores ^[81] adaptaram o algoritmo APS para a validação cruzada, onde o subconjunto escolhido é, nesse caso, baseado no erro médio quadrático de validação cruzada (RMSECV) (**Equação 1**).

O APS tem sido aplicado com sucesso para selecionar variáveis em inúmeras aplicações, empregando as técnicas Espectrometria UV-VIS ^[79, 82], Espectroscopia na região NIR ^[83-84], LIBS ^[67], ICP OES ^[85], entre outros ^[81].

O algoritmo JK ^[68] é usado, em muitos casos, para selecionar variáveis quando se usa métodos de regressão, como exemplo, o PLS. Nesse algoritmo, os erros

padrão das estimativas dos coeficientes de regressão obtidos pelos modelos PLS são avaliados a partir de uma série de subconjuntos de dados. A partir daí, pode-se calcular intervalos de confiança para os coeficientes de regressão e avaliar a significância de cada variável utilizada no modelo ^[86].

Finalmente, o *i*PLS ^[80], definido como uma extensão desenvolvida para o PLS, é usado para selecionar, ao invés de variáveis isoladas, intervalos de regiões espectrais. A região espectral é escolhida através da realização de uma regressão PLS em cada intervalo eqüidistante, previamente definido, ao longo de toda a faixa espectral. O intervalo escolhido será aquele que apresentar o menor RMSECV.

A espectroscopia NIR em combinação com o *i*PLS e APS - MLR foi usada para a determinação de parâmetros de qualidade em óleos vegetais ^[87]. Na ocasião, três parâmetros de qualidade foram determinados: acidez, índice de refração e viscosidade. Segundo os autores, bons valores de RMSEP e correlação foram alcançados por esta metodologia para os três parâmetros estudados.

O uso da espectroscopia na região do infravermelho médio e a seleção da região espectral usando a estratégia do *i*PLS, para a quantificação de contaminantes em óleos lubrificantes foi reportado por Borin e Poppi ^[88]. Nesse trabalho, a região de 650-784 cm^{-1} , atribuída a aromáticos, foi selecionada para a determinação de gasolina. A região 918-1052 cm^{-1} , correspondente ao estiramento C-O de glicol, foi selecionado para a determinação de etilenoglicol. Finalmente, a região de 3598-3732 cm^{-1} , relacionado à absorção de hidrogênios ligados a grupos OH, foi escolhido para determinação de água. Os (RMSEPs) obtidos foram 0,34% para a gasolina, 0,037% de etileno glicol e 0,023% de água.

2.2.5. Seleção de amostras

Quando se trabalha com matrizes complexas, como biodiesel, gasolina, óleos vegetais, entre outras, torna-se difícil obter um conjunto representativo de amostras através de planejamentos experimentais. Assim, uma escolha adequada de subconjuntos de calibração e validação para a construção de modelos de calibração multivariada torna-se de grande importância.

Um algoritmo clássico para selecionar amostras é o Kennard-Stone ^[89] (KS). Nesse método, as distâncias euclidianas entre os vetores das respostas instrumentais (**X**) das amostras selecionadas são maximizadas. Essa distância é

descrita como $d_x(a,b)$ entre os **X**-vetores de cada par (a,b) de amostras selecionadas ^[89]. A **Equação 8** descreve o cálculo da distância euclidiana ($d_x(a,b)$) usada para a seleção de amostras no algoritmo KS.

$$d_x(a,b) = \sqrt{\sum_{j=1}^J [x_a(j) - x_b(j)]^2}; \quad a, b \in [1, N] \quad (8)$$

Um método de seleção de amostras de calibração/validação, chamado SPXY (Sample set Partitioning based on joint **X-y** distances) foi proposto por Galvão e colaboradores ^[90]. Esse algoritmo considera ambas as dimensões **X** e **y**, enquanto o KS, apenas **X**. O método é baseado em conjuntos que consideram a distância **X-y** e é, na verdade, uma extensão do algoritmo KS, pois engloba no cálculo das distâncias inter-amostra, as diferenças de **X** e **y**. A distância de **y** ($d_y(a,b)$) é mostrada na **Equação 9**.

$$d_y(a,b) = \sqrt{(y_a - y_b)^2} = |y_a - y_b|; \quad a, b \in [1, N] \quad (9)$$

No caso do SPXY, as distâncias d_x e d_y são normalizadas, conforme a **Equação 10**.

$$d_{xy}(a,b) = \frac{d_x(a,b)}{\max_{a,b \in [1, N]} d_x(a,b)} + \frac{d_y(a,b)}{\max_{a,b \in [1, N]} d_y(a,b)}; \quad a, b \in [1, N] \quad (10)$$

2.2.6. Transferência de calibração

A construção de modelos de calibração multivariada envolve várias etapas, que incluem planejamento do experimento, avaliação dos dados, pré-processamento, construção do modelo propriamente dito, validação e finalmente a aplicação do modelo selecionado para previsões ^[86].

Uma vez que o modelo de calibração tenha sido obtido, espera-se que ele seja capaz de fazer previsões confiáveis por um longo período de tempo. Além disso,

seria interessante que ele pudesse ser aplicado também em conjunto com instrumentos diferentes daquele utilizado na etapa de modelagem, usando apenas um subconjunto das amostras de calibração, chamadas de amostras de transferência. Essa estratégia reduziria o custo e o tempo envolvidos, quando fosse necessário prever as mesmas propriedades para as quais o modelo foi desenvolvido. Através dessa estratégia, as diferenças espectrais (as respostas entre os equipamentos) são contornadas, tornando o modelo transferível e evitando a recalibração completa ^[86,91]. Também é importante que o modelo desenvolvido em um instrumento de laboratório de alta qualidade (em termos de resolução e relação sinal-ruído, por exemplo) possa ser empregado com espectros obtidos por instrumentos de menor eficiência.

Os métodos de padronização ^[92] utilizam medidas espectrais de amostras de transferência obtidas nos equipamentos envolvidos sem necessitar de seus valores de referência. Se dois equipamentos estão envolvidos na transferência, os mesmos podem ser denominados de P (primário) e S (secundário). Então, Se $\mathbf{X}_P$ ($n_{trans} \times q$) e $\mathbf{X}_S$ ($n_{trans} \times p$) são as matrizes de resposta de equipamentos chamados primário e secundário, respectivamente, contendo os espectros de n_{trans} amostras de transferência, a padronização das respostas espectrais é feita por meio de uma transformação linear (**Equação 11**).

$$\mathbf{X}_P = \mathbf{X}_S \mathbf{F} \quad (11)$$

Onde $\mathbf{F}$ é uma matriz de dimensão ($p \times q$) e q e p o número de comprimentos de onda para os espectros registrados nos equipamentos primário e secundário, respectivamente ^[86].

Existem vários métodos para transferência de calibração na literatura ^[93], dentre esses, os mais empregados são os métodos Padronização Direta (DS) e Padronização Direta em Etapas (PDS) ^[86].

O método da Padronização Direta, proposto por Wang e colaboradores ^[94] faz com que o espectro registrado no equipamento secundário se torne parecido com o que teria sido medido no equipamento primário. Se for possível inverter a matriz de espectros ($\mathbf{X}_S$), uma matriz $\mathbf{F}$ de dimensão ($p \times q$) pode ser obtida diretamente através da multiplicação da matriz $(\mathbf{X}_S)^{-1}$ (**Equação 12**). Entretanto, isso geralmente

não acontece porque se tem, na maioria dos casos, mais variáveis que amostras, ou seja, X_s é retangular. Nesse caso a matriz F é calculada utilizando métodos de regressão como PCR e PLS.

$$F = (X_s)^{-1} \cdot X_p \quad (12)$$

A padronização direta por partes admite que as correlações espectrais possam ser limitadas a pequenas regiões. Na padronização DS ^[86] todo o espectro do equipamento secundário é, em princípio, utilizado para reproduzir cada comprimento de onda do equipamento primário. Enquanto na padronização por partes, cada comprimento de onda no primário é relacionado apenas com comprimentos de onda de uma pequena região do espectro obtido no equipamento secundário.

Honorato e colaboradores ^[86] reportaram uma revisão sobre transferência de calibração em dados multivariados. Neste, são mostrados diferentes técnicas de transferência além dos métodos de padronização e pré-processamento para os espectros envolvidos na transferência.

Pereira e colaboradores ^[92] realizaram um estudo comparativo de métodos de transferência de calibração entre três espectrômetros NIR para determinação de parâmetros de qualidade em gasolina. Os resultados mostraram que o uso da transferência de calibração apresentou erros de previsão de transferência comparáveis aos obtidos com a recalibração completa do instrumento secundário. De forma geral, os resultados apontaram para padronização reversa ^[89] como o melhor método para o problema em questão.

2.3. Quimiometria e espectrometria na região do infravermelho aplicada ao monitoramento da qualidade do biodiesel e suas misturas.

Um método empregando a espectroscopia NIR para determinação de teor de biodiesel de soja em diesel convencional foi reportado por Knothe ^[95]. Felizardo e colaboradores ^[22] desenvolveram modelos de calibração multivariada utilizando informações espectroscópicas para prever o teor de metanol e água no biodiesel. Neste trabalho, foram utilizados os métodos de referência Karl Fisher para

determinação de água e cromatografia gasosa, para a determinação de metanol. Os espectros do biodiesel foram obtidos por transflectância difusa e utilizaram-se as técnicas quimiométricas PCR e PLS para o desenvolvimento dos modelos. Os resultados mostraram a importância dos vários testes acerca das técnicas de pré-processamento. Os melhores resultados foram obtidos com a aplicação da derivada de primeira ou segunda ordem de Savitzky-Golay seguida da estratégia de centrar os dados na média e correção de sinal ortogonal (OSC) antes da regressão por PCR e PLS.

Pimentel e colaboradores ^[23] desenvolveram modelos de calibração multivariada nas regiões NIR e MIR, para previsão do teor de biodiesel (mamona, soja e óleo residual) em misturas com diesel mineral na presença de óleo vegetal *in natura*. Neste trabalho as misturas diesel/biodiesel foram preparadas levando-se em consideração a concentração de éster e óleo. Um planejamento fatorial, incluindo ponto central, foi realizado, com nível máximo e mínimo de 0,0% e 5,0% (v/v) de biodiesel e óleo nas misturas. As técnicas quimiométricas Análise por Componentes Principais (PCA) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) foram utilizados, juntos com informações espectroscópicas, obtidas na região do MIR e NIR, para previsão dos teores de biodiesel e para identificar contaminação por óleo *in natura*. RMSEPs obtidos para os modelos de calibração foram estimados em 0,25 e 0,18 (% v/v) para a região do MIR e NIR, respectivamente.

A qualidade de óleos para a produção de biodiesel, usando infravermelho e a calibração multivariada também foi monitorada por Baptista e colaboradores ^[21]. No estudo, a PCA foi usada para explorar o percentual (% m/m) de óleos de palma, soja e colza em misturas diesel-biodiesel. Para o desenvolvimento dos modelos de calibração multivariada a técnica utilizada foi a PLS. As características analisadas foram teor de água, acidez e teor de iodo. As faixas de calibração foram 60 a 126 g de I₂ 100 g⁻¹ para teor de iodo, 458 a 2500 mg kg⁻¹ para teor de água e 0,13 a 6,56 mg de KOH g⁻¹ para índice de acidez. Os erros de validação (RMSEPs) foram 3,1 g I₂ 100 g⁻¹, 111 mg kg⁻¹ e 0,22 mg KOH g⁻¹, respectivamente.

Similarmente, Cantarelli e colaboradores ^[96] propuseram um método utilizando espectroscopia IR por reflectância difusa e PLS para determinar ácido oléico em sementes de girassol utilizadas como matéria-prima na produção de biodiesel. Os modelos de calibração multivariada PLS foram obtidos utilizando valores da primeira

derivada dos dados espectrais. Os valores de referência para o ácido oléico foram obtidos analisando as amostras de sementes por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID). Os modelos PLS foram validados utilizando amostras externas desconhecidas de sementes de girassol.

Adicionalmente, a espectroscopia NIR foi usada para determinar índice de iodo, ponto de entupimento a frio e viscosidade cinemática em amostras de biodiesel ^[97]. A PCA foi usada para a análise qualitativa e o PLS para desenvolver os modelos de calibração multivariada. Os resultados mostraram que a espectroscopia NIR em combinação com a calibração multivariada é adequada para a determinação destas propriedades, em amostras na escala laboratorial e industrial.

Oliveira e colaboradores ^[63] empregaram a espectroscopia NIR e MIR para quantificação dos ésteres metílicos de soja, dendê e babaçu em misturas com diesel mineral.

O monitoramento de reações de transesterificação tem sido realizado empregando a espectroscopia NIR ^[98-99] e MIR ^[100].

De Oliveira e colaboradores ^[101] usaram a espectroscopia IR e cartas de controle multivariado no monitoramento da qualidade de B2. A estratégia foi desenvolvida utilizando o método de sinal analítico líquido (NAS), gerando três gráficos: o gráfico NAS, que corresponde ao analito de interesse (biodiesel), o gráfico de interferentes, que corresponde à contribuição de outros compostos na amostra de diesel e, finalmente, o gráfico de resíduos, que corresponde a variações não sistemáticas. Para cada carta, os limites estatísticos foram desenvolvidos utilizando amostras dentro das especificações de qualidade. Foi possível identificar amostras de mistura de biodiesel que estavam fora das especificações em relação ao seu teor, biodiesel contaminado com óleo vegetal e diesel contaminado com nafta.

Um novo sistema de fibra óptica NIR baseado no fenômeno reflexão-absorção para a previsão do teor de água em bio-óleo foi desenvolvido por Tripathi e colaboradores ^[102]. A viabilidade do sistema foi testada através da aplicação dos métodos PCR e PLS para os dados espectrais. O resultado da calibração apresentou erros em torno de 2% com coeficiente de determinação (R^2) de 0,85.

Parte I

Determinação de propriedades de Bx

2.4. EXPERIMENTAL

2.4.1. Amostras

Foram produzidas amostras de biodiesel (B100) a partir do óleo de diferentes oleaginosas (soja, canola, algodão, mamona e girassol) em quantidade suficiente para preparar, inicialmente, 100 misturas com diesel mineral.

O processo de produção de biodiesel ocorreu a partir da reação de transesterificação de óleo vegetal, usando álcool metílico, na presença do NaOH, como catalisador.

Utilizou-se 0,4 g de NaOH dissolvido em 20 g de álcool metílico. Em seguida, misturou-se com 100 g do óleo, em erlenmeyer de 250 ml. O sistema permaneceu sob agitação à temperatura de 60 °C por 1 h. Decorrido esse intervalo de tempo, transferiu-se a mistura para um funil de separação de 250 ml para que ocorresse a separação das fases, quando então se recolheu a fase inferior (glicerina) e a fase superior (biodiesel). Aqueceu-se o biodiesel a 70 °C por 40 minutos para evaporar o excesso de álcool. Levou-se novamente o biodiesel para o funil de separação e, cuidadosamente e sem agitação, adicionou-se água destilada aquecida a 100 °C, para retirar o excesso de catalisador. Deixou-se separar as fases e recolheu-se a água de lavagem (fase inferior) em um béquer. O biodiesel foi aquecido novamente a 90 °C para retirar o excesso de água. Finalmente, secou-se o biodiesel com Na₂SO₄ e realizou-se a filtração. O filtrado (biodiesel) apresentou-se límpido.

2.4.2. Misturas diesel/biodiesel

O biodiesel produzido em laboratório foi usado na preparação das misturas para compor o conjunto de dados. Foram utilizadas amostras de diesel de diferentes procedências, coletadas dos estados de Alagoas, Pernambuco e Sergipe. O teor de éster (biodiesel) nessas misturas variou de 1 a 5 % (m/m), com incrementos de 0,5 % (m/m). O total de 161 amostras foi usado neste estudo.

2.4.3. Métodos de Referência

As propriedades estudadas foram densidade (ρ), teor de enxofre (S) e temperaturas de destilação (T50%, T85%). Estes parâmetros foram determinados pelos métodos de referência ASTM D 4052 ^[43], D 4294 ^[45] e D 86 ^[44], respectivamente, como recomenda a ASTM D 975. Os valores de reprodutibilidade

estabelecidos pelo padrão normativo como a faixa de trabalho para as propriedades estudadas estão descritas na **Tabela 2**.

Tabela 2. Faixa de trabalho para as propriedades estudadas e valores de reprodutibilidade dos métodos ASTM.

Propriedade	Faixa	Reprodutibilidade dos métodos ASTM
ρ (kg/m ³)	836-860	0,5
S (% m/m)	0,03-0,21	0,08
T50% (°C)	270-300	7,4
T85% (°C)	300-360	9,7

2.4.4. Aquisição dos espectros NIR e MIR

Os espectros NIR (12000 a 4000 cm⁻¹) e MIR (4000 a 600 cm⁻¹) foram obtidos com o espectrômetro Spectrum GX da Perkin Elmer (**Figura 5**) que utiliza a transformada de Fourier. Esse equipamento é equipado com um interferômetro de Michelson e um detector de DTGS (Deuterated Triglycine Sulfate).

Para a região NIR, os espectros foram adquiridos usando uma cela de fluxo de quartzo com 1,0 mm de espessura. Os espectros foram obtidos por transmitância. Na região MIR, os espectros foram adquiridos usando uma sonda de reflectância total atenuada (ATR). Em todos os casos, a temperatura ambiente foi de 22 °C ± 1, com resolução espectral de 8 cm⁻¹ e 16 varreduras. Os espectros MIR (1789,4 a 650 cm⁻¹) foram também obtidos com um instrumento portátil (Espectrômetro na região do Infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR) da Grabner Instruments (*Analyzer Irox Diesel*) usando uma cela de 0,1 mm, com interferômetro de Michelson e resolução de 4 cm⁻¹.

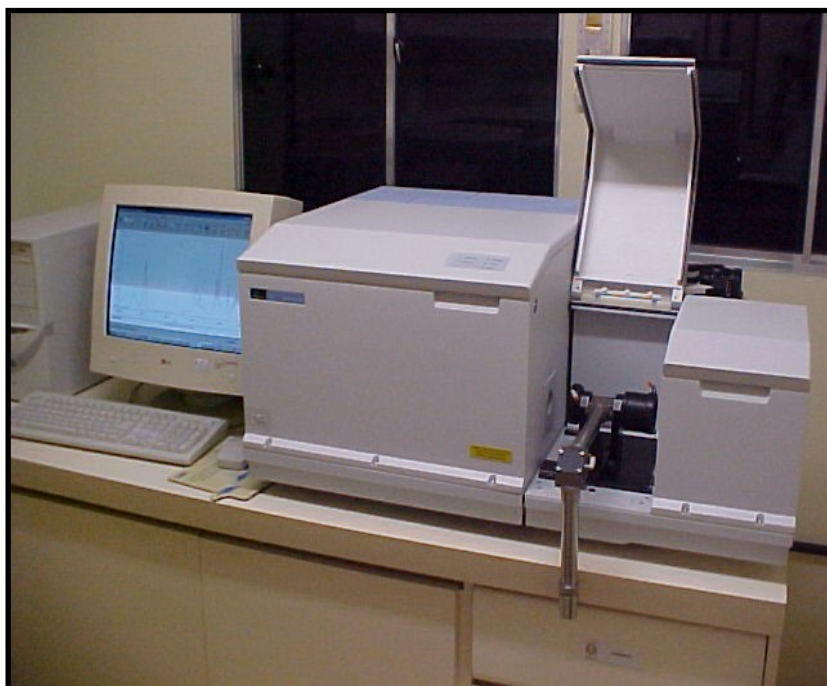


Figura 5. Espectrômetro de Infravermelho FT-IR (Spectrum Gx) da Perkin Elmer

2.4.5. Modelos de Calibração

Dois tipos de conjunto de calibração (e validação) foram empregados: (1) contendo apenas misturas diesel/biodiesel e (2) contendo as misturas e amostras de diesel mineral puro. O modelo construído usando o segundo conjunto de calibração foi denominado de modelo global. Esse modelo pode ser usado para prever as propriedades tanto do diesel mineral, quanto das misturas.

Antes da construção desses modelos, adotou-se como pré-processamento a primeira derivada pelo método de Savitzky-Golay, com um polinômio de segunda ordem e janela de 11 pontos.

Todos os modelos foram obtidos usando PLS e validação cruzada completa para determinar o número de fatores PLS.

A capacidade preditiva dos modelos foi avaliada através do RMSEP, obtido pelo conjunto de validação externo. Este conjunto foi composto por aproximadamente 30 % do número total de amostras. O teste-*F* com nível de confiança de 95% foi usado para comparar os valores de RMSEP dos modelos construídos.

O programa Unscrambler® 9.7 (CAMO S.A) ^[103] foi utilizado para a realização do pré-processamento, escolha do número de fatores em modelos PLS, cálculo dos coeficientes de regressão (algoritmo JK) significativos na regressão PLS.

2.4.6. Transferência de Calibração

Para o estudo da transferência de calibração, o espectrômetro Perkin Elmer foi denominado como o instrumento Primário (IP) e o portátil *Analyzer Irox Diesel*, da Grabner, foi denominado Secundário (IS). Este último, por ser portátil e de fácil operação, é freqüentemente encontrado nos laboratórios que monitoram a qualidade de óleo diesel.

A faixa espectral empregada foi limitada pela faixa do *Analyzer Irox Diesel* (1789,4 a 650 cm^{-1}). Neste equipamento, os espectros foram adquiridos em intervalos de 0,7 cm^{-1} na faixa de 1789,4 -1351,5 cm^{-1} e a cada 0,8 cm^{-1} na faixa entre 1351,5 - 650 cm^{-1} . É importante ressaltar que os modelos foram novamente construídos em ambos os equipamentos apenas para efeito de comparação. Na prática, uma recalibração completa no instrumento secundário não é necessária. O conjunto de calibração e de validação foi composto de 86 e 30 amostras, respectivamente. O algoritmo KS foi usado para selecionar as amostras de transferência (10 amostras) a partir do conjunto de calibração. Todos os cálculos foram realizados utilizando os programas Unscrambler® 9.7 (CAMO S.A) e PLS-Toolbox - Matlab 6.5 (*Mathworks*). O método da padronização direta (DS) foi aplicado. Os números de amostras de calibração e previsão para o estudo da transferência de calibração encontram-se descritos na **Tabela 3**.

Tabela 3. Número de amostras de calibração e previsão para os equipamentos convencional e portátil usados nos modelos de calibração

Propriedade	Número de amostras de calibração (convencional/portátil)	Número de amostras de previsão (convencional/portátil)
ρ (kg/m^3)	134/128	27/27
S (% m/m)	133/128	28/28
T50% ($^{\circ}\text{C}$)	130/126	31/31
T85% ($^{\circ}\text{C}$)	134/130	27/27

2.5. Resultados e Discussão

A **Figura 6** mostra o espectro NIR do diesel e da mistura diesel-biodiesel mamona a 5 % (m/m) empregados nesse estudo. Os espectros mostram bandas de primeiro sobretom ($5000 - 6000 \text{ cm}^{-1}$), segundo sobretom entre $8000 - 8700 \text{ cm}^{-1}$ e regiões de combinação ($6600 - 7700 \text{ cm}^{-1}$ e $6000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$) de estiramento C-H. Em adição, o segundo sobretom de C=O aparece em torno de 5500 cm^{-1} . Bandas de combinações envolvendo C=O e C-H ocorrem na região de 4760 a 4450 cm^{-1} ^[24].

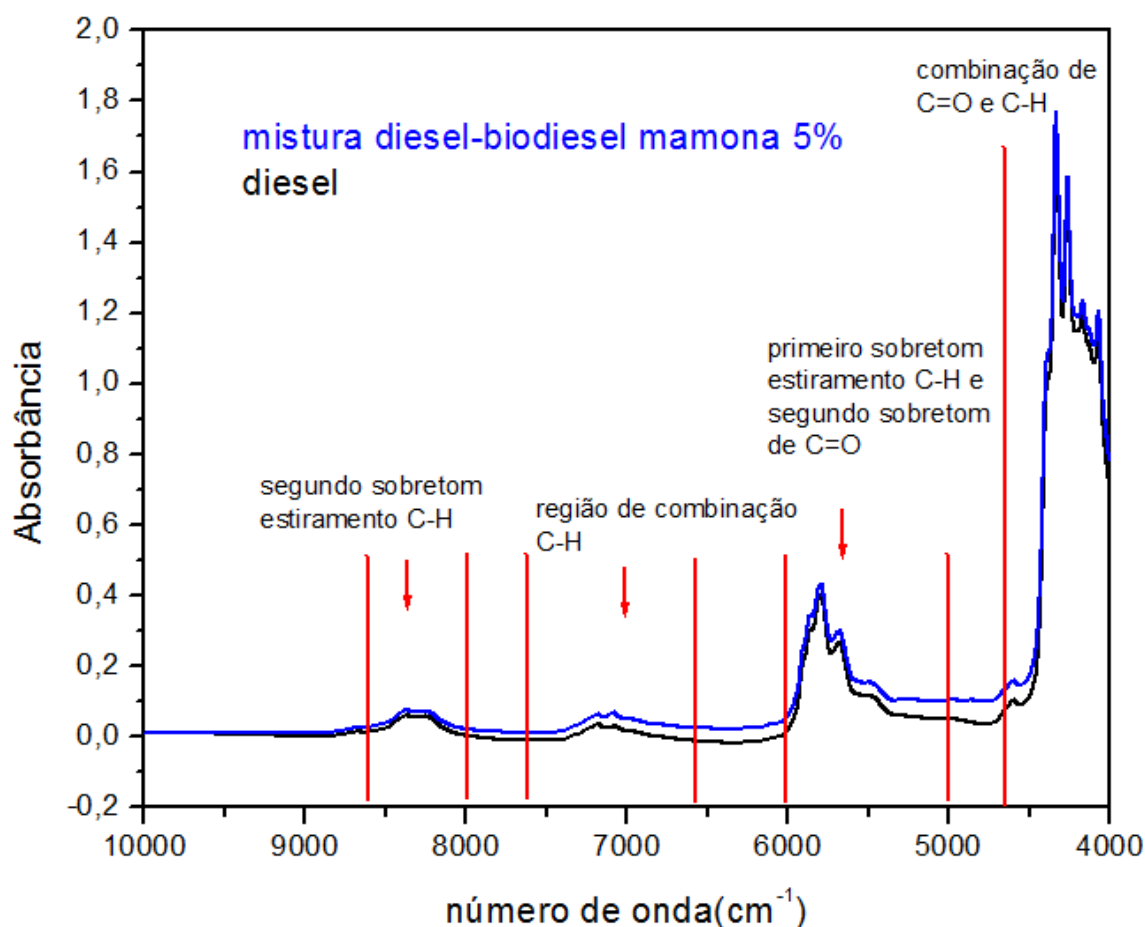


Figura 6. Espectro de amostras de diesel e mistura biodiesel/diesel mamona 5% na região NIR (espectrômetro convencional- Spectrum GX-IP).

Similarmente, os espectros MIR estão apresentados nas **Figuras 7 e 8** para o espectrômetro Perkin Elmer e espectrômetro Irox diesel, respectivamente. Picos em torno de 1200 cm^{-1} podem ser atribuídos a deformação axial de ligações $\text{CC}(=\text{O})-\text{O}$ do éster, ao mesmo tempo que picos em torno de 1183 cm^{-1} podem ser resultantes

da deformação axial assimétrica de ligação O-C-C ^[23]. Uma diferença espectral significativa pode ser observada entre 1735 e 1750 cm^{-1} , onde os picos de absorção correspondem à vibração do grupo carbonila, presente nas misturas de biodiesel. A faixa espectral de 1400 a 1200 cm^{-1} também exibe algumas diferenças espectrais. Em adição, os picos exibidos no espectro na região (1000 a 900) cm^{-1} assinalam a deformação angular simétrica fora do plano de ligações C-H de olefinas.

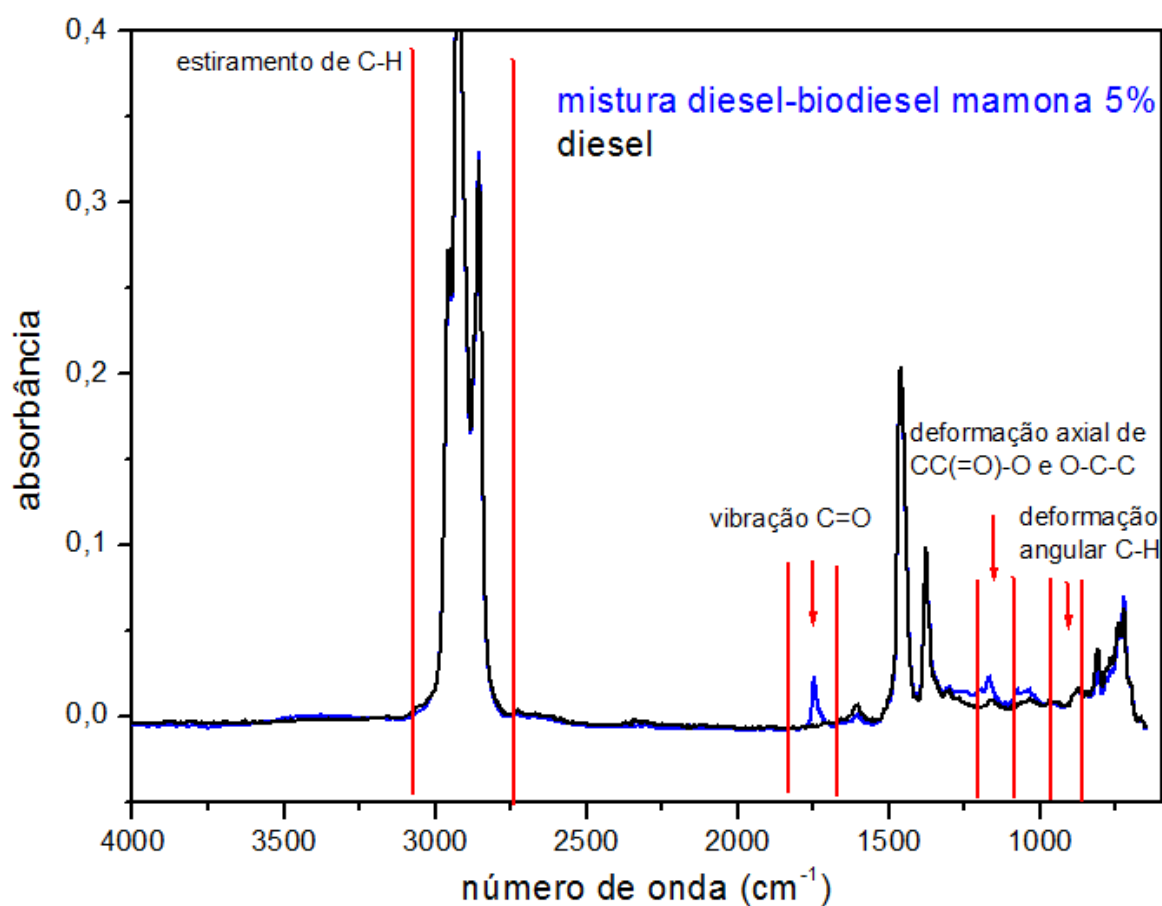


Figura 7. Espectros de amostras de diesel e mistura biodiesel/diesel mamona 5% na região MIR empregando o espectrômetro convencional - ATR

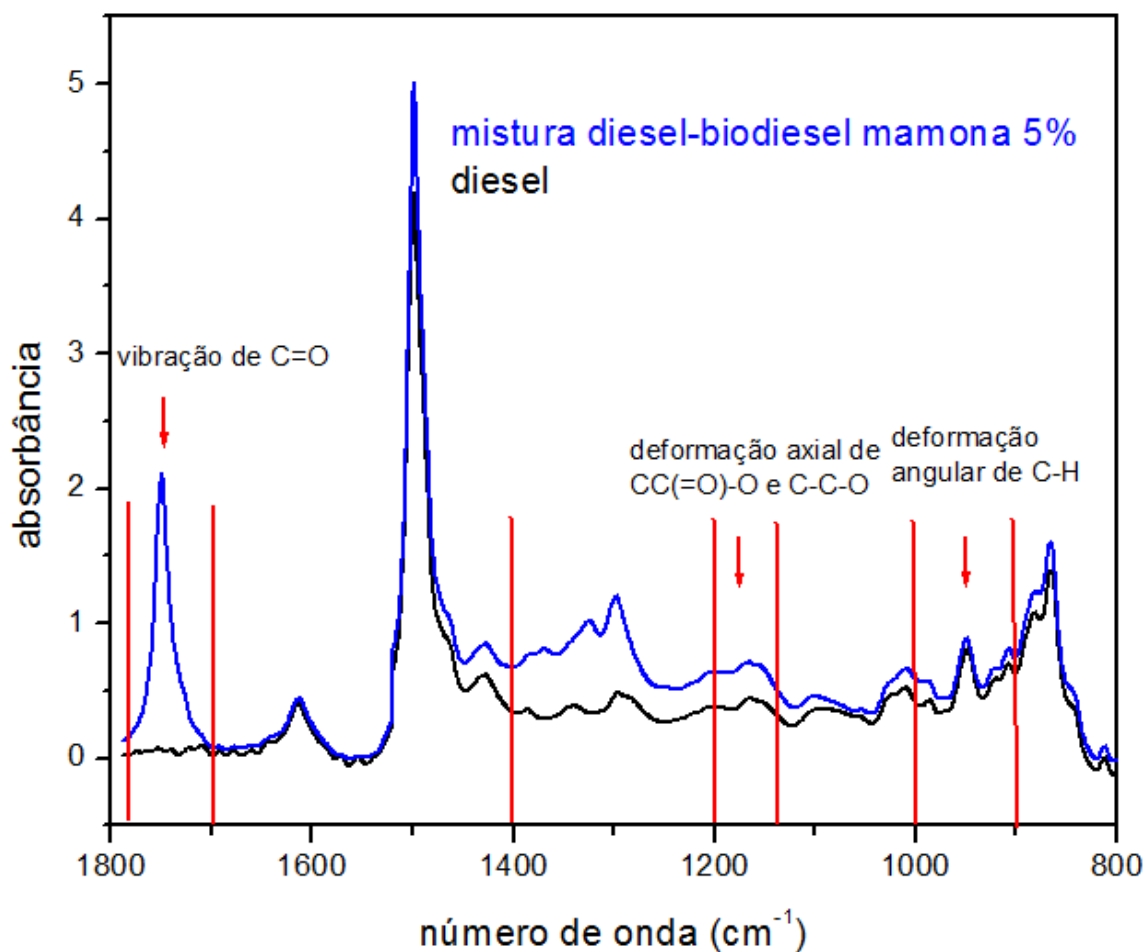
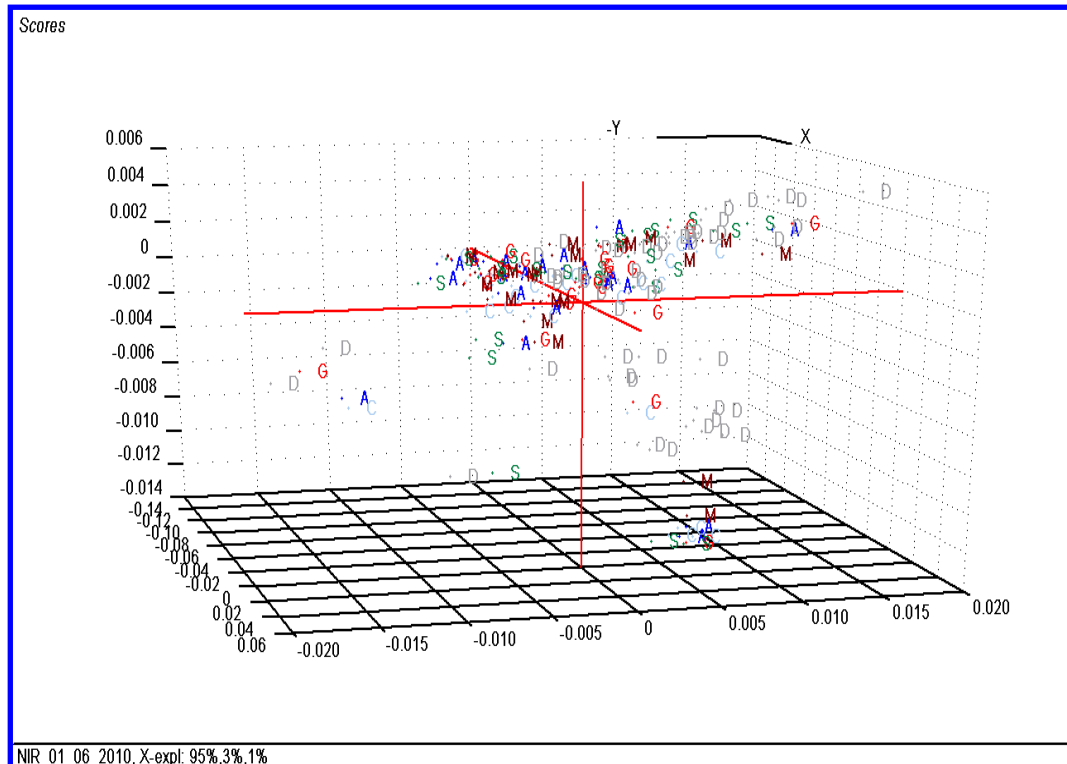
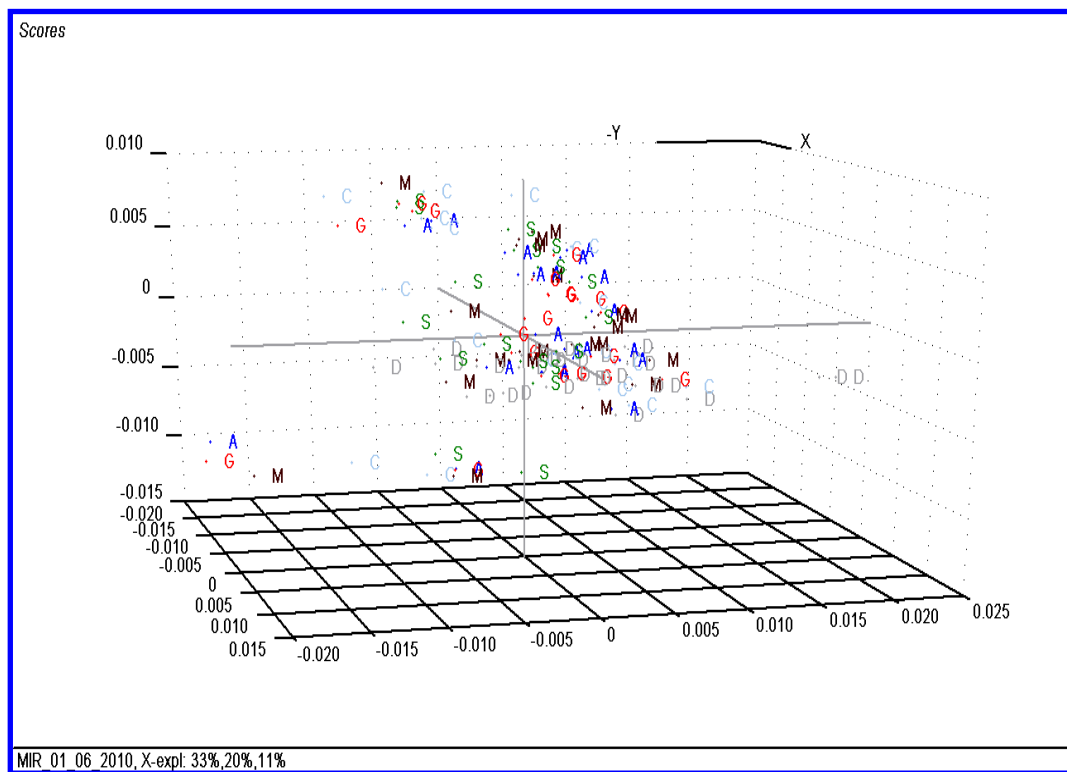


Figura 8. Espectros de amostras de diesel e mistura biodiesel/diesel mamona 5% na região MIR empregando o espectrômetro portátil-Transmitância.

Uma análise de componentes principais foi realizada com os espectros derivativos. Os gráficos dos escores para ambas as regiões (NIR e MIR- instrumento convencional) são mostrados na Figura 9. A letra D corresponde as amostras de diesel puro, similarmente as letras A, C, G, S e M são as misturas diesel–biodiesel de algodão, canola, girassol, soja e mamona, respectivamente.



(a)



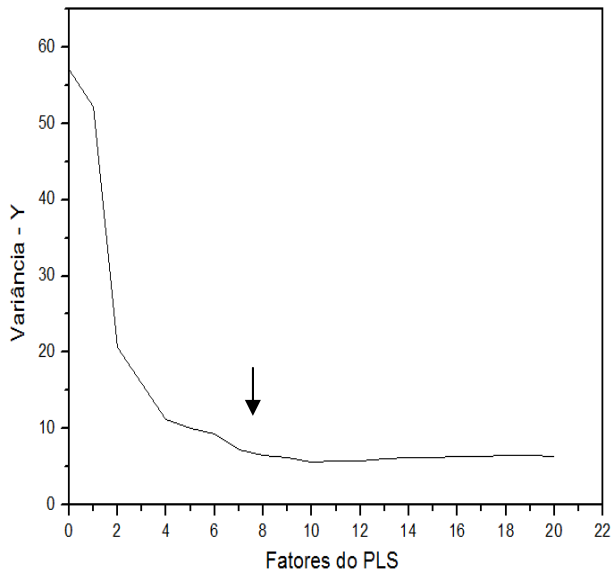
(b)

Figura 9. Gráfico dos escores de todas as amostras de misturas diesel-biodiesel e diesel puro, nas três componentes da PCA, nas regiões (a) NIR (b) MIR.

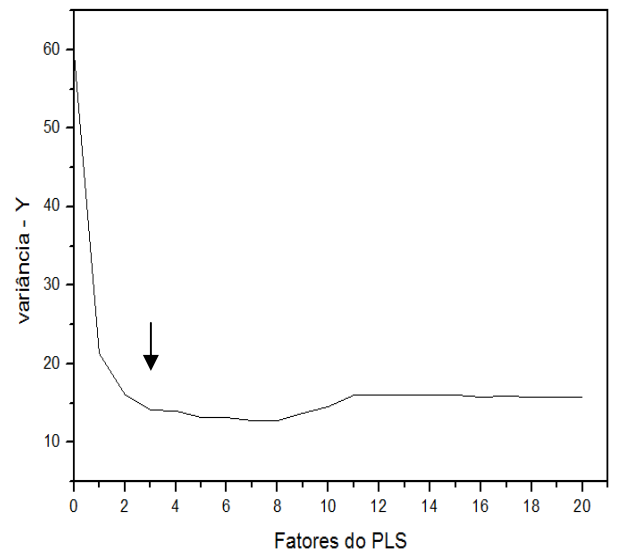
A Figura 9a apresenta o gráfico dos escores obtidos pela PCA realizada nos espectros NIR, com os dados derivativos. Como pode ser observado, não é possível obter uma discriminação efetiva das amostras de diesel puro das demais amostras (BX de diferentes oleaginosas). A PC1 e PC2 explicam 95% e 3% da variância dos dados, respectivamente, enquanto a PC3 apenas 1%. Há uma sobreposição entre as amostras. Com o gráfico dos escores obtidos pela PCA aplicada aos espectros MIR (Figura 9b) também não são evidenciados agrupamentos em relação ao tipo de oleaginosa ou se em amostras de diesel sem adição de biodiesel. Um total de 64% da variância dos dados é explicada por PC1 (33%), PC2 (20%) e PC3 (11%).

Uma avaliação sobre amostras anômalas (outliers) foi realizada observando os gráficos dos *leverage* versus resíduos em **X** e em **y**. As amostras que apresentaram elevada influência e resíduo em relação a **X** e **y** eram retiradas, antes da construção do modelo.

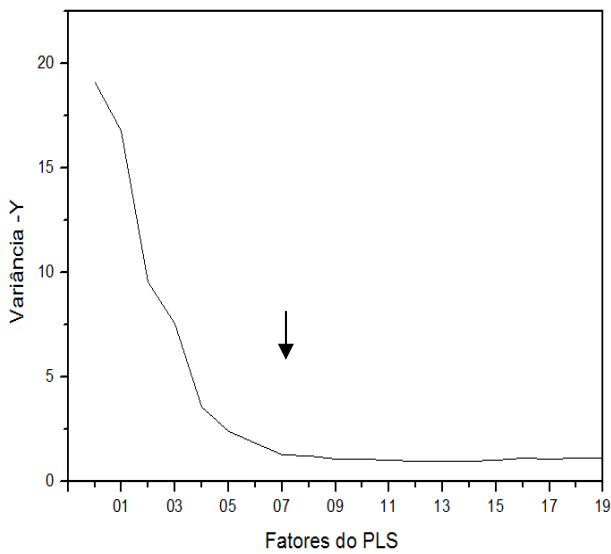
O número de fatores PLS escolhidos para os modelos foram obtidos através do procedimento da validação cruzada do programa The Unscrambler. As Figuras 10 e 11 mostram, como exemplo, os gráficos da variância explicada em **y** versus os fatores de PLS para as propriedades massa específica e temperatura de destilação T85%, na região NIR e MIR.



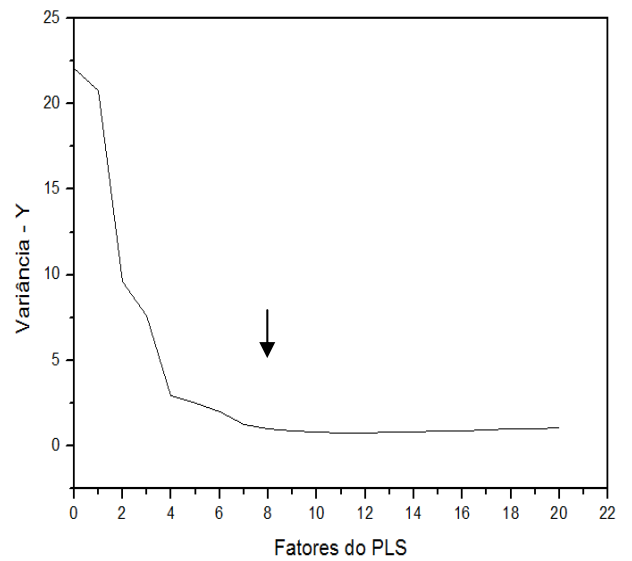
(a)



(b)

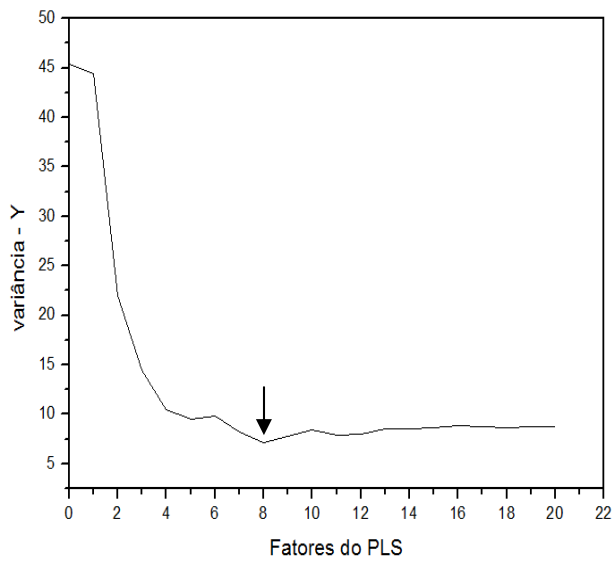


(c)

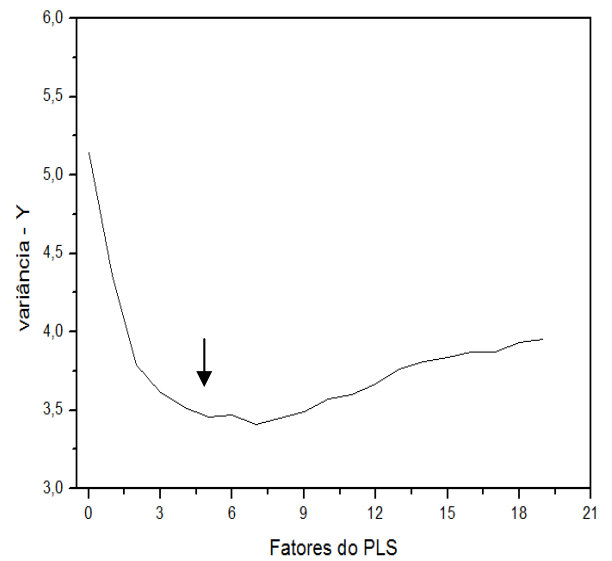


(d)

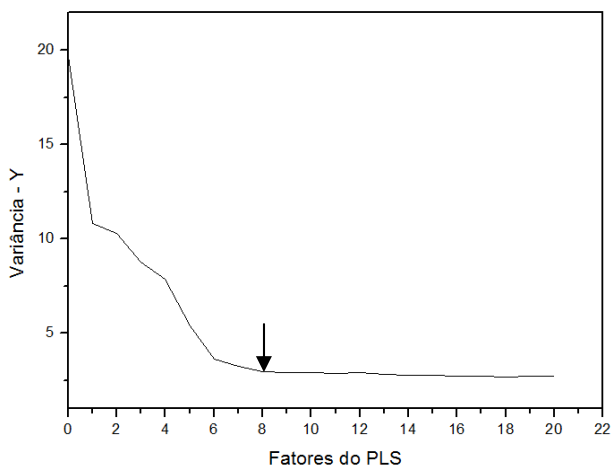
Figura 10 – Gráfico da variância em y versus número de fatores do PLS nos modelos (misturas e globais) para a propriedade T85% (a) NIR – misturas (b) NIR - global e para massa específica (c) NIR- misturas (d) NIR - global.



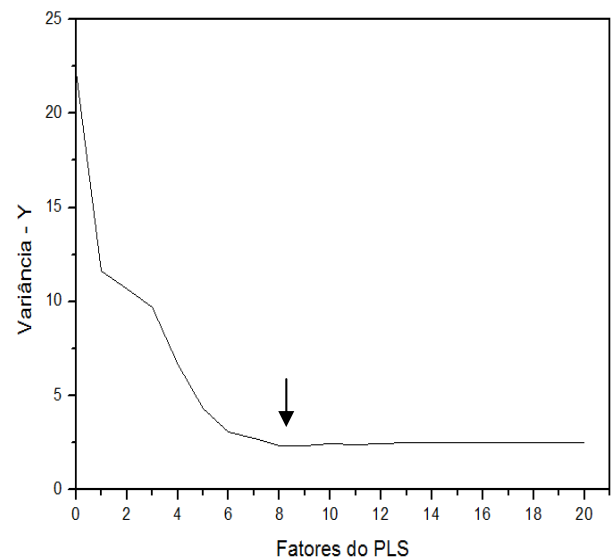
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 11—Gráfico da variância em y versus número de fatores do PLS nos modelos (misturas e globais) para a propriedade T85% (a) MIR – misturas (b) MIR - global e para massa específica (c) MIR- misturas (d) MIR - global.

A **Tabela 4** mostra os resultados obtidos para os modelos de calibração globais (contendo misturas de biodiesel e amostras de diesel puro) e modelos contendo apenas misturas, usando o instrumento Perkin-Elmer (convencional) para região NIR.

Tabela 4. Resultados para o conjunto de validação externo dos modelos (misturas e globais) construídos com os dados obtidos na região NIR. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP) e coeficiente de correlação (R) para valores preditos vs. referência. O número de fatores de PLS empregado nos modelos estão apresentados entre parênteses.

	Misturas		Global	
Parâmetro	R	RMSEP	R	RMSEP
$\rho(\text{kg/m}^3)$	0,98	0,60 (7)	0,99	0,56 (8)
S (%m/m)	0,91	0,02 (6)	0,93	0,02 (2)
T50% (°C)	0,82	2,35 (5)	0,88	2,12 (5)
T85% (°C)	0,96	2,01 (8)	0,94	3,37 (3)

Os modelos PLS foram desenvolvidos usando as variáveis que correspondem aos coeficientes significativos na regressão (algoritmo Jack-Knifing). Os valores de RMSEP, para a validação externa, na região espectral NIR (**Tabela 4**), foram comparáveis com a reprodutibilidade dos métodos padrões correspondentes, exceto para a densidade (ρ). Para esta propriedade apenas o modelo global apresentou valores de RMSEP comparáveis com a reprodutibilidade ASTM. Modelos de calibração multivariada foram também desenvolvidos usando apenas misturas nos conjuntos de calibração e previsão. Os resultados desses modelos estão mostrados também na **Tabela 4**. Dessa forma, pode ser observado que os resultados são

comparáveis com aqueles obtidos com o modelo global, exceto para a temperatura de destilação (T85%).

Para a região MIR, os resultados obtidos para os modelos de calibração globais contendo misturas de biodiesel e amostras de diesel puro e misturas, usando o instrumento Perkin-Elmer (convencional) e o instrumento portátil estão mostrados na **Tabela 5**.

Tabela 5. Resultados para o conjunto de validação externo dos modelos (misturas e globais) construídos com os dados obtidos na região MIR, com instrumento convencional e portátil. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP) e coeficiente de correlação (R) para valores preditos vs. referência. O número de fatores de PLS, empregado nos modelos estão apresentados entre parênteses.

Instrumento convencional			Instrumento portátil			
Misturas			Modelo Global		Modelo Global	
Parâmetro	R	RMSEP	R	RMSEP	R	RMSEP
$\rho(\text{kg/m}^3)$	0,90	1,58 (8)	0,97	1,60 (8)	0,97	1,45 (10)
S (%m/m)	0,93	0,02 (8)	0,95	0,01 (2)	0,92	0,02 (10)
T50% (°C)	0,74	2,79 (10)	0,89	2,28 (5)	0,85	2,64 (5)
T85% (°C)	0,89	3,28 (8)	0,90	4,38 (5)	0,90	4,18 (9)

Similarmente a região NIR, os modelos contendo apenas misturas e os modelos globais, desenvolvidos com os dados espectrais na região MIR, apresentaram valores de RMSEPs semelhantes (**Tabela 5**). O uso do modelo global

é vantajoso porque pode ser usado para prever propriedades do diesel bem como das misturas de biodiesel.

As duas últimas colunas na **Tabela 5** resumizam os resultados dos modelos de calibração para o equipamento portátil. Todos os valores de RMSEP foram menores que a reprodutibilidade dos métodos padrões correspondentes, exceto para a densidade. Assim, os resultados são similares aqueles obtidos com o espectrômetro convencional. Ambos os instrumentos, portanto, são eficientes para a previsão das propriedades estudadas. Esses resultados são de interesse prático, particularmente porque demonstram que o uso do instrumento portátil, o qual emprega uma região espectral reduzida (1789,4 a 650 cm^{-1}) e pode realizar medidas em campo, gera resultados similares aos obtidos com o equipamento convencional. Em geral, os números de fatores obtidos usando os diferentes modelos foram similares exceto para T85% e T50%.

De acordo com o teste-*F* (**Tabela 6**), as propriedades estudadas, em geral, não apresentaram diferença significativa, com nível de confiança de 95%, entre as duas regiões espectrais, com exceção da densidade e T50%.

Tabela 6 – Teste F para os modelos globais construídos na Região NIR e MIR com nível de 95% de confiança.

Propriedade	F _{calculado}	F _{crítico}
ρ (kg/m^3)	27,61	1,95
S (%m/m)	1,00	1,93
T50%	1,89	1,84
T85%(°C)	1,38	1,95

Os gráficos dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para os conjuntos de calibração e para o conjunto externo de validação das propriedades de massa específica (densidade), teor de enxofre e

temperaturas de destilação (T50% e T85%) na região do NIR e MIR (modelo global) são apresentados nas **Figuras 12 e 13**.

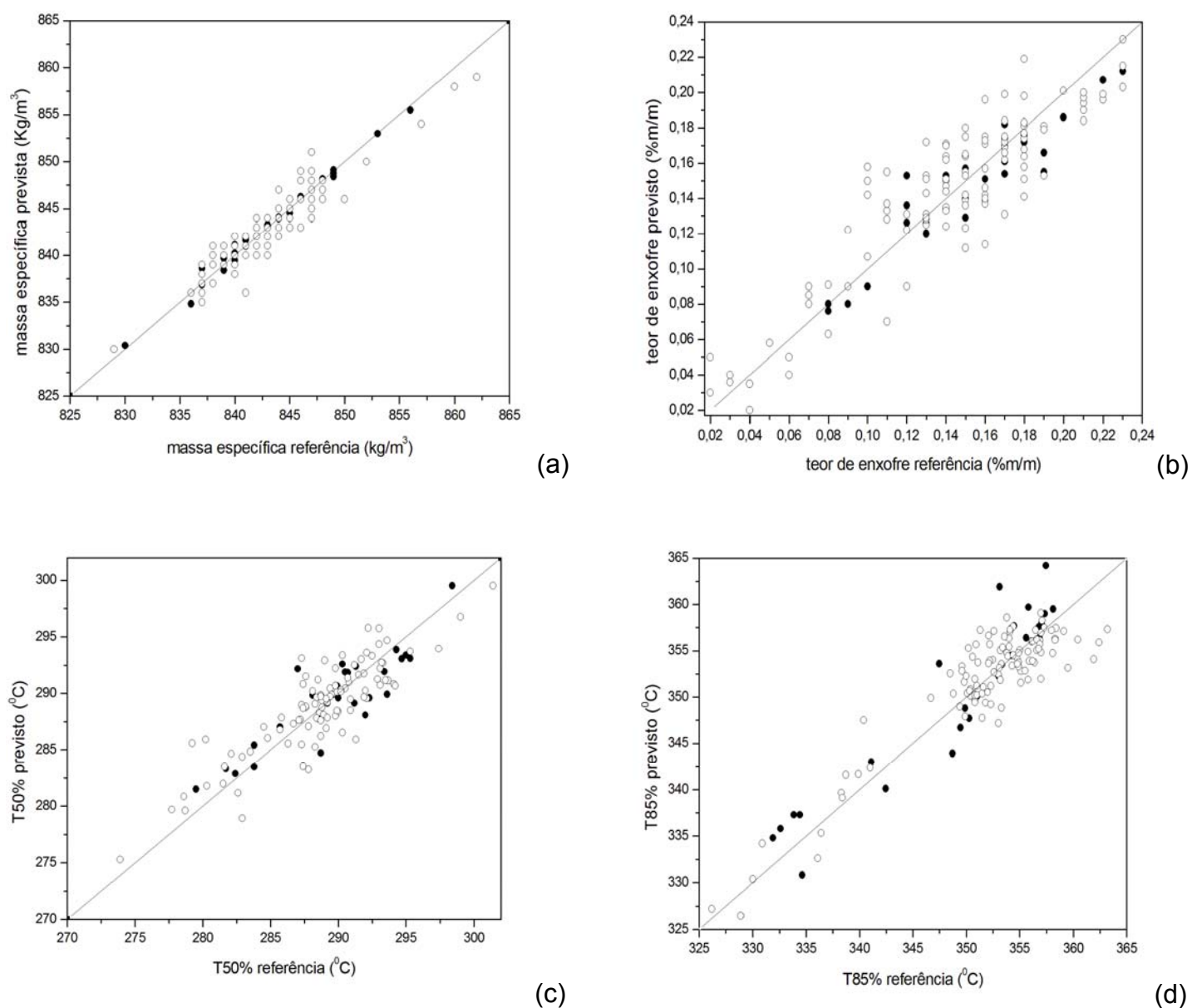


Figura 12. Gráfico dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para (a) massa específica (b) teor de enxofre, (c) T50%, (d) T85%, na região do NIR para o modelo global. ○ (amostras de calibração) ● (amostras de validação externa)

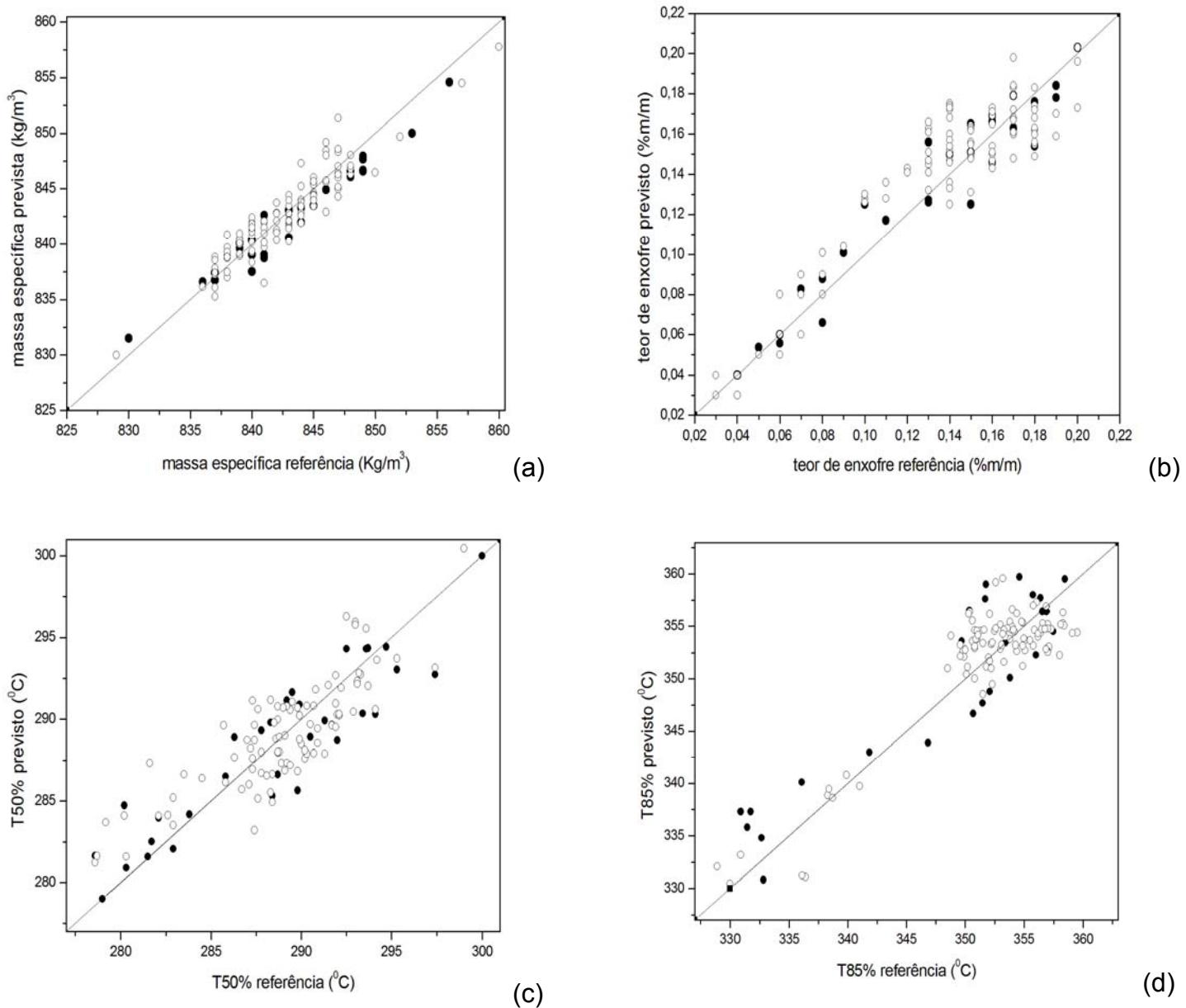


Figura 13. Gráfico dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para (a) massa específica, (b) teor de enxofre, (c) T50%, (d) T85%, na região do MIR para o modelo global. ○(amostras de calibração) ●(amostras de validação externa).

Em relação à transferência de calibração, as **Figuras 7a e 7b** mostram que o espectro medido nos dois equipamentos (IP e IS) para as mesmas misturas na região espectral MIR apresentam diferenças. Essas diferenças espectrais podem ser resultado da maneira pela qual os espectros são adquiridos: ATR no IP e transmitância no IS.

A **Tabela 7** mostra os valores de RMSEP (da validação externa) para os novos modelos desenvolvidos no IP e IS para a transferência de calibração. Os RMSEPs obtidos após a transferência estão descritos na última coluna da **Tabela 7**.

Tabela 7. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP) do conjunto de validação usando modelos construídos no instrumento primário (IP) e secundário (IS) e após aplicação do procedimento de transferência de calibração por DS.

Propriedade	RMSEP (IP)	RMSEP (IS)	RMSEP (DS)
% biodiesel	0,28	0,12	0,17
ρ (kg/m ³)	1,5	0,90	2,4
S (%m/m)	0,03	0,02	0,03
T85%(°C)	3,5	3,7	4,6
T50% (°C)	2,84	2,39	6,28

Em geral, os resultados para os modelos desenvolvidos no instrumento IP foram um pouco piores que para o instrumento secundário (IS). Provavelmente, esses resultados para o (IP) foi devido à diferença do modo como os espectros foram obtidos, reflectância no IP e transmitância no IS. Os valores de RMSEP, porém, foram menores que a reprodutibilidade dos métodos ASTM (exceto para densidade e para T50%).

Como o número de variáveis espectrais entre os dois instrumentos são diferentes, a transferência de calibração direta, não foi possível. Por essa razão, os métodos de padronização de resposta espectral foram usados. No caso o

procedimento DS foi aplicado. Os resultados da transferência de calibração estão sumarizados na quarta coluna da **Tabela 7**. Após o uso do procedimento de transferência de calibração (DS) os valores de RMSEP foram também menores que a reprodutibilidade dos métodos de referência, com exceção da densidade (ρ) e T50%, como mencionado anteriormente. Esses resultados mostram a eficiência do método de transferência escolhido quando apenas 10 amostras de transferência são usadas. Este número corresponde a 12% do conjunto de calibração, e é representativo da variação dos dados.

2.6. Considerações Finais

Os resultados demonstram que os modelos PLS global empregando regiões MIR e NIR podem ser usados para prever as temperaturas de destilação e teor de enxofre na mistura diesel-biodiesel e no diesel puro. A região NIR é preferível para prever a densidade.

No intervalo de MIR, os modelos desenvolvidos usando os espectros adquiridos com espectrômetro portátil (Irox diesel) e convencional (Perkin Elmer) apresentaram desempenho semelhante.

A viabilidade da transferência de calibração do convencional para o instrumento portátil, utilizando uma estratégia simples, como a padronização (DS), também foi demonstrada.

Parte II

**Monitoramento da estabilidade do
biodiesel (B100)**

2.7 EXPERIMENTAL

2.7.1. Amostras

Considerando a larga variedade de óleos e matéria-prima avaliados no Brasil, amostras de biodiesel certificados de diferentes origens foram usados para experimentos de estabilidade. Também com o intuito de incluir variabilidade no conjunto de amostras, antioxidante foi adicionado em algumas amostras e as mesmas foram submetidas à degradação acelerada. O conjunto de dados consistiu de amostras de misturas de biodiesel etílico de soja (BES), nabo forrageiro (BEN) e sebo bovino (BET) aditivados com 3000 mg Kg⁻¹ de antioxidante hidroxitolueno butilado (BHT) e biodiesel metílico de soja com aditivo BHT (BMS) e sem aditivo (BMSpuro). As amostras foram degradadas, ao longo de aproximadamente 6 semanas, em um frasco de vidro de capacidade de 1000 mL com uma saída na parte superior contendo um tubo de plástico para a entrada de ar, e mantido a uma atmosfera de 43 °C numa estufa, conforme método ASTM D 4625^[104]. Em seguida amostras foram coletadas, 60 mL cada, em intervalos de 3-4 dias, correspondendo a duas amostras por semana. O conjunto total foi de 72 amostras (para o teor de água 50 amostras). Os ensaios de estabilidade oxidativa através do equipamento RANCIMAT foram realizados no Instituto Nacional de Tecnologia - INT do Rio de Janeiro. As determinações do teor de água e do índice de acidez foram realizadas no Laboratório de Combustíveis da UFPE.

2.7.2. Método de Referência

A Estabilidade à Oxidação foi realizada pelo teste de oxidação acelerada utilizando um equipamento Rancimat modelo 743, da Mettler, conforme o padrão normativo EN 14112^[38]. A quantidade de 3 g de cada amostra foi submetida à temperatura de 110 °C e ao fluxo de ar de 10 L h⁻¹.

O Índice de Acidez foi determinado empregando um titulador potenciométrico tipo Metrohm-Titrino. Pesou-se 20 g de amostra e adicionou-se 20 mL de solvente IAT (50 %v/v de tolueno + 49,5 %v/v de isopropanol + 0,5 %v/v de água). Titulou-se com hidróxido de potássio (KOH) 0,01 mol L⁻¹ em meio alcoólico utilizando um eletrodo

combinado de vidro com prata / cloreto de prata (Ag/AgCl) segundo o método ASTM D 664 ^[105].

O teor de água foi medido usando um instrumento de titulação coulométrica Karl Fisher de acordo com o método ASTM D 6304 ^[106], a reação é baseado na redução de iodo pelo dióxido de enxofre na presença de água.

Os valores de reprodutibilidade/repetitividade estabelecidos pelos métodos normatizados são 1,40/0,56 h (oxidação); 0,09/0,008 %m/m (teor de água) e 0,21/0,065 mg KOH g⁻¹ (índice de acidez). As faixas de variação observadas no conjunto de dados sob consideração foram 1,5 a 8,7 h (oxidação); 0,05 a 0,1 % m /m (teor de água) e 0,14 a 0,82 mg KOH g⁻¹ (índice de acidez).

2.7.3. Aquisição dos espectros NIR e MIR

Os espectros NIR e MIR foram obtidos usando um espectrômetro Spectrum GX Perkin Elmer com transformada de Fourier, **Figura 5**, conforme item 2.4.4 descrito na parte I deste capítulo.

2.7.4. Modelos de calibração

Os métodos de calibração empregados foram PLS e MLR. Todos os modelos foram obtidos usando validação cruzada completa (CV) para definir o número de fatores do PLS ou número de variáveis no caso do MLR.

Foram avaliados diferentes pré-processamentos (derivadas Savitzky-Golay, variando o número de pontos das janelas em 7, 11, 15 e 21 pontos) e faixas espectrais para todos os modelos. A capacidade preditiva dos modelos foi avaliada pelo RMSEP, obtidos pelo conjunto de validação externa, composto por aproximadamente 30 % do total de amostras.

Modelos PLS foram construídos usando apenas as variáveis as quais correspondem aos coeficientes de regressão significativos escolhidos pelo algoritmo Jack-Knifing ^[68]. Finalmente, a relevância da informação, nas diferentes subdivisões espectrais, foi avaliada utilizando *i*PLS. O algoritmo SPXY ^[90] foi empregado para dividir as amostras de calibração e previsão. No caso do MLR, as variáveis foram selecionadas através do algoritmo APS.

2.8. Resultados e Discussão

2.8.1. Variáveis e regiões espectrais selecionadas

A **Figura 14** mostra o espectro bruto médio de amostras de biodiesel empregados neste estudo. A estabilidade oxidativa do biodiesel está diretamente relacionada com o grau de insaturação dos alquilésteres presentes ^[31], como também, com a posição das duplas ligações na cadeia carbônica ^[35]. As posições CH₂-alílicas, em relação às duplas ligações presentes nas cadeias dos ácidos graxos, são aquelas efetivamente susceptíveis a oxidação ^[31]. Quanto maior o número de insaturações, mais susceptível está a molécula à degradação tanto térmica quanto oxidativa. Em adição, grupos carbonila (C = O) e (C-O), presentes na estrutura dos ésteres, estão naturalmente envolvidos nas reações, causadas pela água ou ar, quando na estocagem. A complexa variedade de produtos de degradação pode ser categorizada como monomérica (produtos com o comprimento da cadeia igual ao material original, mas com diferentes grupos funcionais), oligomérica (produtos de maior peso molecular) e de cadeia curta. Vários tipos de reações podem ocorrer durante o processo de decomposição incluindo desidratação, ciclização, rearranjo, substituição de radical, clivagem da cadeia e dimerização ^[31].

As variáveis selecionadas pelo APS para a estabilidade oxidativa na região NIR são representados por pontos pretos na **Figura 14a**. Os picos selecionados pelo APS em 4334 cm⁻¹ e 4262 cm⁻¹ estão associados ao segundo sobretom de ligações -CH- e à combinação de estiramento -CH- e -C=C-, respectivamente ^[49, 87,107]. Bandas de combinação envolvendo C = O e C-H (4760-4400 cm⁻¹) foram também selecionados por ambos APS e iPLS. Espectros NIR mostram bandas assinaladas como primeiro sobretom (5000-6000 cm⁻¹) de ligações C-H. Uma variável, em 5867 cm⁻¹ (grupo metil - CH₂) foi selecionada pelo APS nesta região. Outros grupos C-H alifáticos ^[108] de metila (CH₃) e metileno (CH₂), encontram-se na faixa espectral entre 10700 cm⁻¹ para 12500 cm⁻¹ selecionados pelo APS. As variáveis que correspondem aos coeficientes significativos no modelo PLS, determinados pelo algoritmo Jack-Knifing (JK), foram distribuídas em todo o espectro, de modo que nenhuma região específica foi selecionada.

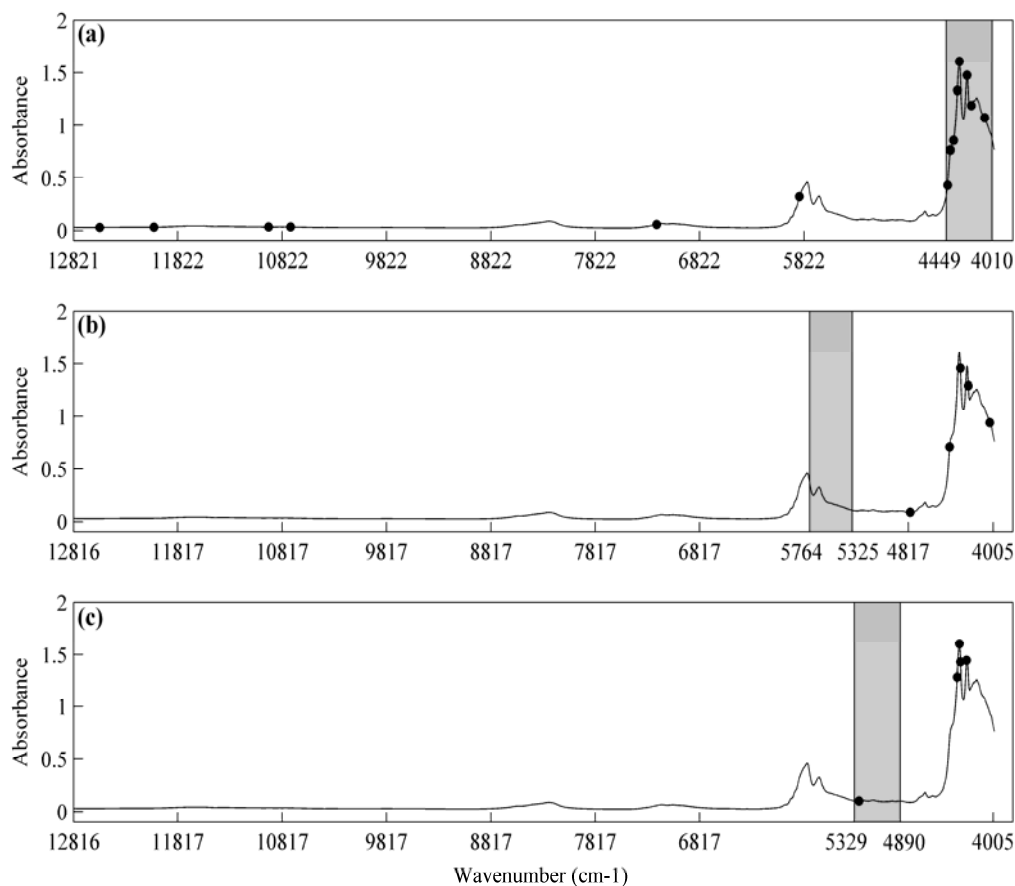


Figura 14. Espectro médio de amostras de biodiesel na região NIR. Variáveis selecionadas pelo APS (pontos pretos) e intervalos *i*PLS (área cinza) para (a) estabilidade oxidativa (APS-bruto and *i*PLS - derivativo 21 pontos) (b) índice de acidez (derivativo – 11 pontos) e (c) teor de água (APS-derivativo, 11 pontos e *i*PLS - derivativo, 21 pontos) .

No caso do índice de acidez, bandas de combinação envolvendo C = O e CH mostradas em 4760-4450 cm⁻¹ foram selecionados pelo algoritmo APS, o que pode ser visto na **Figura 14b**. Em contrapartida, a faixa escolhida pelo *i*PLS mostra bandas atribuídas ao primeiro sobretom (5000 - 6000 cm⁻¹) e segundo sobretom de C = O em torno de 5500 cm⁻¹ [19]. Além disso, bandas em 5587 e 5495 cm⁻¹ referentes ligação O-H de água, também são encontradas nesta região e foram selecionadas por *i*PLS. As variáveis que correspondem aos coeficientes significativos (JK) também foram distribuídas em toda faixa espectral, e não foram destacadas.

Finalmente, para o teor de água (**Figura 14c**), o intervalo espectral selecionado pelo *i*PLS foi 4900-5300 cm^{-1} . O APS também selecionou uma variável em 5296 cm^{-1} , dentro do intervalo esperado. Felizardo e colaboradores ^[22] destacam a presença de O-H da água em torno de 5200 cm^{-1} , o que justifica a escolha dessas variáveis para o desenvolvimento de modelos de calibração. A região de 4300-4200 cm^{-1} apresenta bandas de combinação de estiramento simétrico e assimétrico de C-H, que também foram selecionadas pelo APS.

O espectro MIR, médio e bruto, de amostras de biodiesel é apresentado na **Figura 15**. O pico em torno de 1200 cm^{-1} pode ser atribuído à deformação axial de ligações CC(=O) do éster, enquanto o pico em torno de 1183 cm^{-1} pode ser atribuído à deformação axial assimétrica da ligação O-C-C ^[23,24].

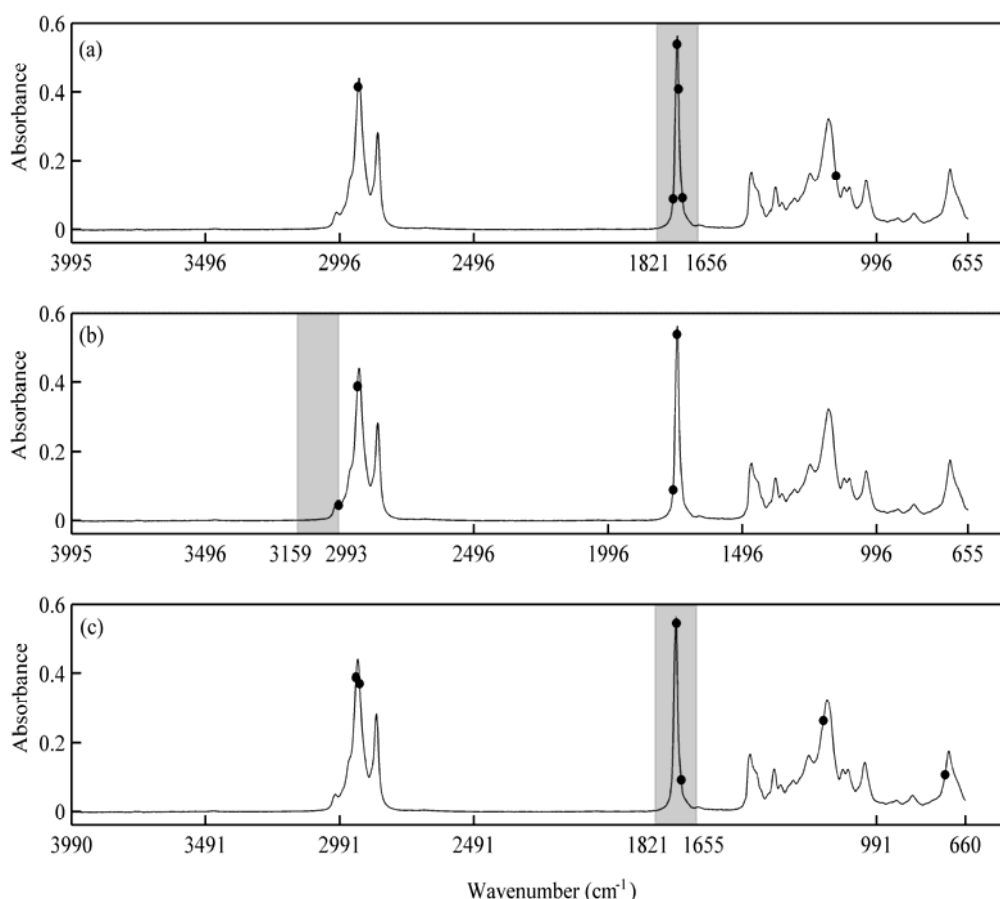


Figura 15. Espectros de amostra de biodiesel na região MIR, (a) variáveis selecionadas pelo APS, intervalo *i*PLS para estabilidade oxidativa (APS-bruto e *i*PLS-21) (b) índice de acidez (11 pontos) e (c) teor de água (APS-21 e *i*PLS-7).

Uma importante região espectral MIR está entre 1735 e 1750 cm^{-1} , onde o pico de absorção corresponde à vibração do grupo carbonila, presente em biodiesel. A última região espectral (que inclui 1750 cm^{-1}) foi, em geral, predominante na seleção de variáveis pelo APS e *i*PLS para o parâmetro de estabilidade oxidativa (**Figura 15a**). Uma variável em 1196 cm^{-1} , que pode ser atribuída à deformação axial assimétrica de O-C-C e outra banda próxima a 2900 cm^{-1} , correspondendo à ligação C-H, também foram selecionadas pela APS. O pico correspondente a vibração do grupo da carbonila foi selecionado pelo APS para o índice de acidez (**Figure 15b**). Em adição, variáveis em 2900 e 3000 cm^{-1} , correspondentes ao estiramento de ligações C-H de carbonos saturados ^[109] foram selecionados por ambas as estratégias de seleção de variáveis (APS e *i*PLS).

Um pico característico associado ao estiramento - OH pode ser esperado em 3500 cm^{-1} , mas curiosamente a região selecionada pelo APS e *i*PLs para o teor de água (**Figura 15c**) não encontra-se nesta região. Uma relação indireta com o grupo carbonila pode ter influenciado na escolha da região ou variáveis espectrais. Sendo assim, as variáveis selecionadas pelas estratégias, estão incluídas na faixa de 1800 a 1600 cm^{-1} (grupo carbonila) além de picos na região de 1300-1000 cm^{-1} (C-C(=O)-O de ésteres). Variáveis em torno de 2900 cm^{-1} , correspondente ao estiramento de (C-H) e 725 cm^{-1} a deformação angular assimétrica de CH₂, ao longo da cadeia de biodiesel, foram também selecionadas pelo APS.

Contudo, no caso do PLS, o algoritmo Jack-Knifing, para essa propriedade, selecionou variáveis que compreendem a região espectral, na região MIR, em torno de 3400 a 3600 cm^{-1} , típicos de bandas de absorção da água, o que também justifica bons resultados quando essa estratégia é escolhida.

2.8.2. Estabilidade Oxidativa

Os melhores resultados obtidos, após a avaliação do pré-processamento dos dados, para os modelos de calibração nas regiões NIR e MIR para o parâmetro de estabilidade oxidativa estão mostrados na **Tabela 8**. Além dos modelos PLS, são apresentados também, os valores obtidos para os modelos MLR/APS bem como para o *i*PLS. Os resultados para os modelos desenvolvidos na região NIR mostram que não há diferença estatisticamente significativa entre os valores de RMSEP apresentados, exceto para o MLR/APS (derivativo). Todos os valores de RMSEP

estão abaixo da reprodutibilidade do método de referência. Assim, mesmo o MLR/APS (derivativo) estaria adequado para a previsão desta propriedade. Em adição, boas correlações, que variaram entre (0,94 e 0,98) para estes modelos, também foram obtidas. O número de fatores de PLS apresentados para os modelos PLS e *i*PLS, na região NIR, foram semelhantes.

Na região MIR, é possível observar que os dados derivativos apresentaram valores de RMSEP maiores que com os dados brutos. Com os espectros originais, o MLR/APS e *i*PLS apresentaram diferenças significativas quando comparados com o PLS. Entretanto, todos os valores também estão abaixo da reprodutibilidade dos métodos de referência.

De acordo com o teste-*F*, para a estabilidade oxidativa, não há diferença significativa, a um nível de 95% de confiança, entre as duas regiões espectrais. Sendo assim, ambas as regiões espectrais são apropriadas na previsão dessa propriedade, levando-se em conta a reprodutibilidade do método de referência.

Tabela 8. Melhores resultados para calibração e validação externa para a estabilidade oxidativa. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP), calibração (RMSECV) e coeficiente de correlação (R) para valores de referência vs. previstos. O número de fatores de PLS ou variáveis em modelos APS/MLR são apresentados em parênteses.

	Calibração				Previsão			
	R		RMSECV		R		RMSEP	
	NIR	MIR	NIR	MIR	NIR	MIR	NIR	MIR
PLS (JK)	0,96	0,93	0,59 (8)	0,70(6)	0,97	0,97	0,55	0,52
<i>i</i> PLS	0,95	0,85	0,65(10)	1,03(6)	0,97	0,95	0,53	0,73
MLR/APS	0,97	0,89	0,50(14)	0,88(6)	0,97	0,94	0,50	0,76
PLS, 21pts	0,97	0,92	0,50(8)	0,76(6)	0,98	0,94	0,48	0,73
<i>i</i> PLS,21pts	0,97	0,79	0,53(9)	1,21(6)	0,97	0,86	0,53	1,11
MLR/APS, 7pts/11pts	0,94	0,85	0,71(5)	1,03(6)	0,94	0,92	0,74	0,88

Os gráficos dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para os conjuntos de calibração e validação externa da propriedade de estabilidade oxidativa em ambas as regiões são apresentados na **Figura 16**.

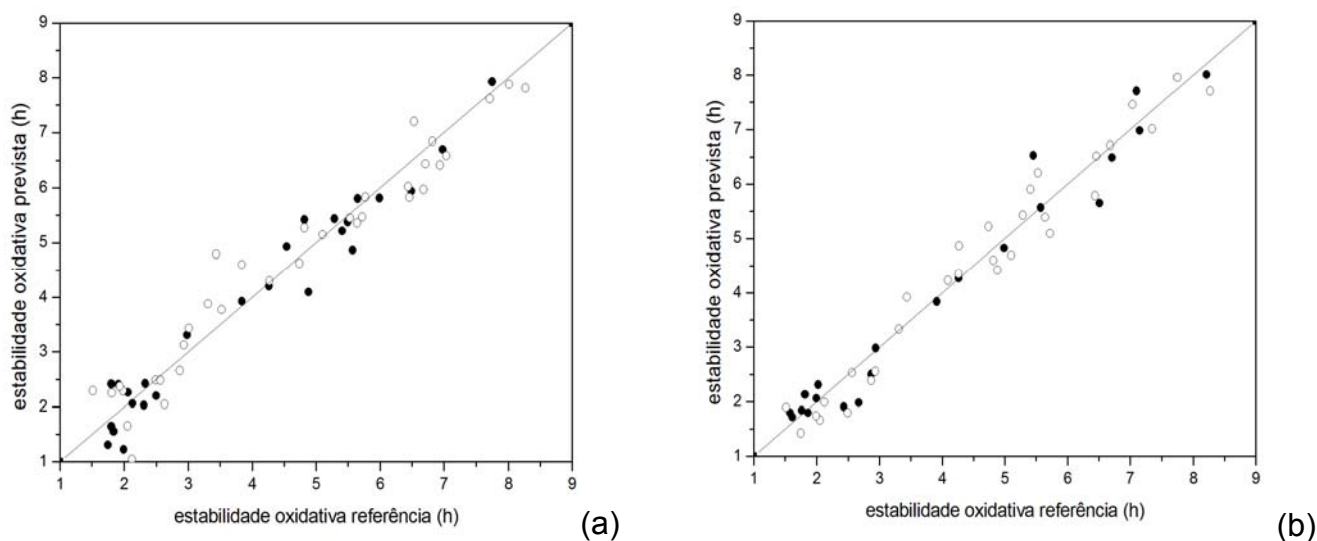


Figura 16. Gráfico dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para estabilidade oxidativa obtidos em (a) NIR (PLS-21pts) e (b) MIR (PLS-21pts). ○(amostras de calibração) ●(amostras de validação externa).

2.8.3. Índice de acidez

A **Tabela 9** mostra os resultados dos modelos para índice de acidez. Em geral, usando os dados derivativos (11 pontos), valores menores de RMSEP foram obtidos em comparação com os espectros originais, em ambas as regiões espectrais. Na região espectral NIR, os RMSEP foram semelhantes (exceto para o MLR/APS).

Poucas variáveis latentes foram necessárias para prever o índice de acidez quando se utiliza o algoritmo *i*PLS. Isso torna o modelo mais parcimonioso e, portanto, vantajoso na construção dos modelos de calibração. Utilizando a estratégia do MLR/APS, RMSEPs menores foram encontrados quando os dados pré-processados foram usados, além de poucas variáveis (5) serem necessárias para prever a propriedade estudada. Além disso, todos os erros de previsão, estão abaixo da reprodutibilidade ($0,21 \text{ mg KOH g}^{-1}$) e da repetitividade ($0,065 \text{ mg KOH g}^{-1}$) dos métodos de referência.

Modelos na região MIR mostraram resultados semelhantes, exceto para o MLR/APS, que apresentou valor de RMSEP significativamente diferente com os

espectros derivativos. Excelentes correlações foram obtidas (0,97 e 0,98) para todos os modelos construídos MIR e NIR.

De acordo com teste-*F*, também realizado para o índice de acidez, não há diferença estatisticamente significativa, com nível de 95% de confiança, entre as duas regiões espectrais. Então, tanto a região NIR quanto a MIR são adequadas para a previsão do índice de acidez em amostras de biodiesel.

Tabela 9. Melhores resultados para calibração e validação externa para índice de acidez. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP), calibração (RMSECV) e coeficiente de correlação (R) para valores de referência vs. preditos. O número de fatores de PLS ou variáveis em modelos APS-MLR são apresentados entre parênteses.

	Calibração				Previsão			
	R		RMSECV		R		RMSEP	
	NIR	MIR	NIR	MIR	NIR	MIR	NIR	MIR
PLS (JK)	0,97	0,98	0,049(4)	0,042(5)	0,98	0,99	0,039	0,029
iPLS	0,98	0,98	0,038(4)	0,040(4)	0,99	0,99	0,026	0,029
MLR/APS	0,98	0,99	0,040(4)	0,031(12)	0,99	0,97	0,031	0,051
PLS, 11pts	0,98	0,97	0,041(4)	0,047(3)	0,99	0,99	0,031	0,025
iPLS, 11pts	0,98	0,97	0,038(7)	0,046(3)	0,98	0,99	0,037	0,028
MLRAPS, 11pts	0,99	0,97	0,032(5)	0,045(4)	0,99	0,99	0,020	0,027

Para o índice de acidez, os gráficos dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para os conjuntos de calibração validação externa são apresentados na **Figura 17**.

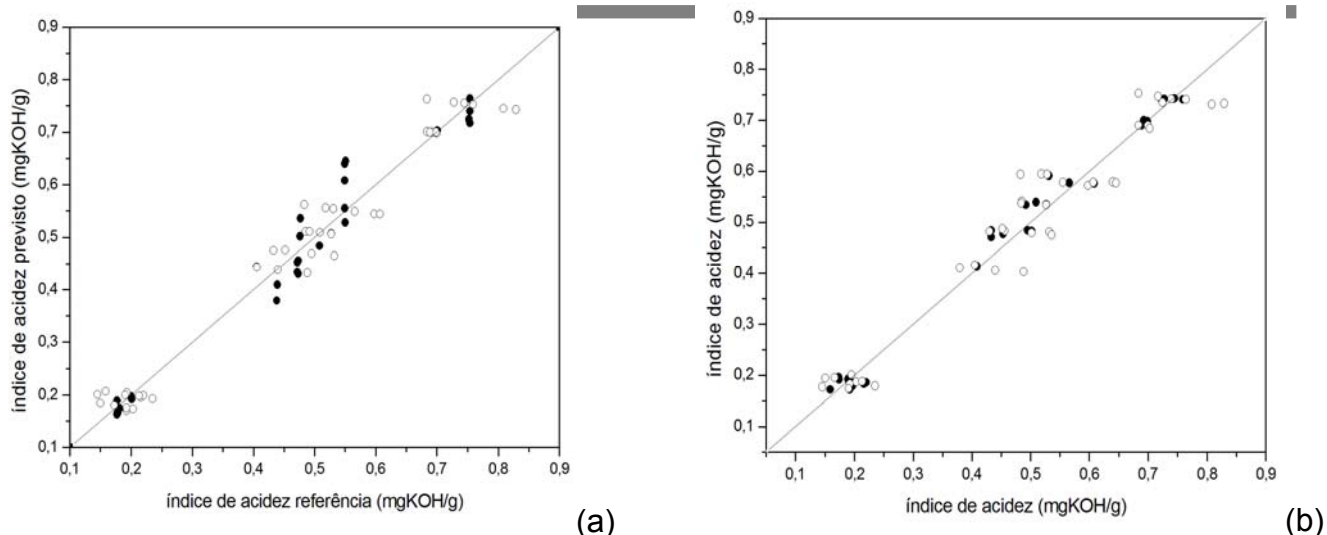


Figura 17. Gráfico dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para índice de acidez em (a) NIR (PLS -11pts) e (b) MIR (PLS -11pts). ○(amostras de calibração) ●(amostras de validação externa).

2.8.4. Teor de água

Para o teor de água (**Tabela 10**) o teste F com 95 % de confiança mostrou que não há diferenças significativas entre os valores de RMSEP nas duas regiões espectrais, nem entre os diferentes modelos, exceto para o MLR/APS na região NIR, que foi um pouco maior quando os dados brutos foram utilizados. Entretanto, valores de RMSEP para todos os modelos foram menores que o valor de reprodutibilidade dos métodos de referência.

Tabela 10. Melhores resultados para calibração e validação externa para teor de água. Erro médio quadrático de previsão (RMSEP), calibração (RMSECV) e coeficiente de correlação (R) para valores de referência vs. preditos. O número de fatores de PLS ou variáveis em modelos MLR/APS são apresentados em parênteses.

	Calibração				Previsão			
	R		RMSECV		R		RMSEP	
	NIR	MIR	NIR	MIR	NIR	MIR	NIR	MIR
PLS (JK)	0,97	0,92	0,004(6)	0,006(5)	0,97	0,93	0,004	0,006
iPLS	0,97	0,86	0,003(10)	0,007(4)	0,96	0,92	0,005	0,006
MLR/APS	0,99	0,95	0,002(9)	0,005(8)	0,94	0,92	0,006	0,006
PLS, 7pts	0,98	0,93	0,003(6)	0,005(5)	0,97	0,92	0,004	0,006
iPLS,21pts/7pts	0,95	0,83	0,005(6)	0,008(4)	0,96	0,95	0,004	0,006
MLR/APS, 11pts/21pts	0,97	0,93	0,003(5)	0,005(6)	0,98	0,91	0,003	0,006

Os gráficos dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para os conjuntos de validação externa da propriedade teor de água para o NIR e MIR, são apresentados na **Figura 18**.

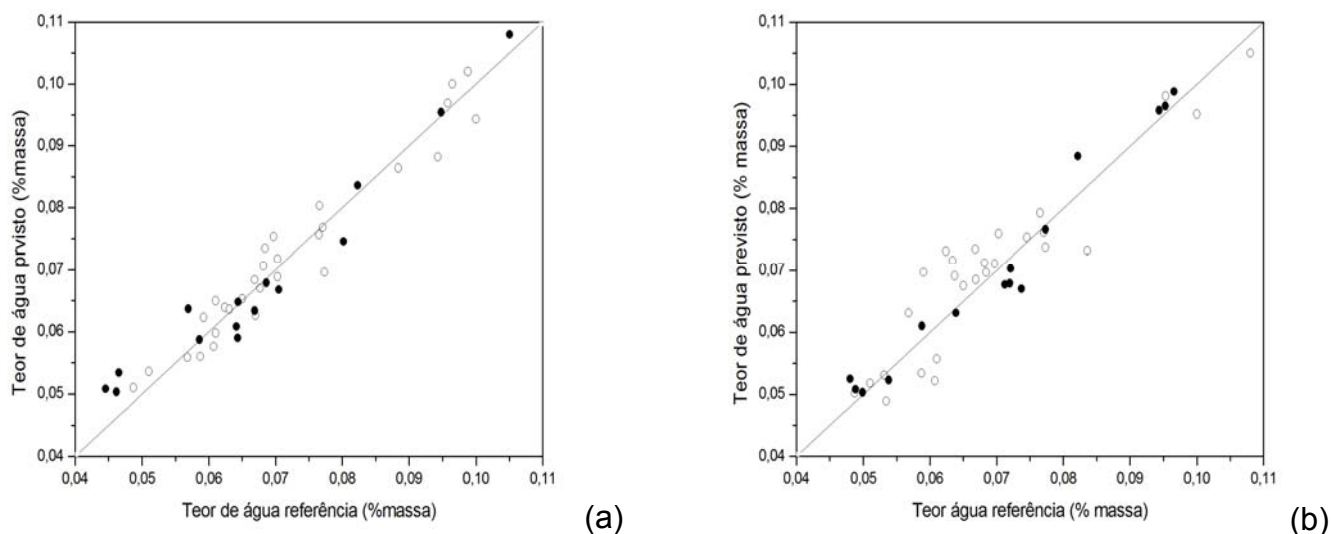


Figura 18. Gráfico dos valores previstos pelo modelo versus os valores obtidos pelos métodos de referência para teor de água em (a) NIR e (b) MIR. ○(amostras de calibração) ●(amostras de validação externa).

2.9. Considerações finais

Os resultados demonstram que ambos os modelos baseados no PLS (com variáveis selecionadas pelo algoritmo de Jack-Knifing, *i*PLS e MLR/APS funcionam com as regiões NIR/MIR e podem ser utilizados para estimar três parâmetros importantes relacionados com a estabilidade do biodiesel: estabilidade oxidativa, índice de acidez e teor de água. É importante mencionar que, apesar de ter sido observada uma excelente correlação entre a Rancimat e métodos de IR, bem como valores de RMSEP abaixo da reprodutibilidade, o método de IR não pode substituir o método Rancimat para atestar a conformidade do biodiesel. O método padrão que utiliza o instrumento Rancimat fornece informações sobre o período de indução, o qual é afetado principalmente pela composição estrutural dos ésteres de ácidos graxos. A presença de catalisador tais como metais e anti-oxidantes em pequenas concentrações, podem afetar também (em menor grau) o período de indução e assim, estas substâncias não serão detectadas pelos espectrômetros de IR. A espectroscopia na região do IR pode ser útil para prever a estabilidade à oxidação, por exemplo, quando associado com os parâmetros de qualidade, tais como acidez, viscosidade, índice de iodo (que pode também ser determinado pelo IR) para controlar a estabilidade do biodiesel durante a estocagem.

Em geral, a espectroscopia na região NIR demonstrou baixos valores de RMSEP o que mostra a eficiência da técnica para prever os parâmetros investigados. Modelos desenvolvidos usando faixa espectral MIR, também apresentaram menores valores de RMSEP quando comparados a reprodutibilidade dos métodos de referência.

Como demonstrado, não houve em geral diferença estatisticamente significativa entre os resultados de NIR e MIR, nem entre todos os pré-processamentos e técnicas utilizadas para as três propriedades estudadas. A Regressão PLS apresenta a vantagem de não necessitar de uma etapa prévia de seleção de seleção de variáveis. A derivada de Savitsky Golay seria recomendável para corrigir possíveis deslocamentos de linha de base.

Capítulo III

Determinação de Fósforo em Biodiesel (B100) utilizando análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

3. INTRODUÇÃO

3.1. Metais e Fósforo

Por ser obtido, em geral, através de uma reação de transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais, na presença de catalisadores como hidróxidos de sódio ou potássio, o biodiesel pode conter metais indesejados que resultam na formação de sabão insolúvel e, conseqüentemente, na formação de sólidos nos motores veiculares ^[110]. Entre os parâmetros de qualidade especificados para o B100, encontram-se as concentrações de metais e fósforo.

Os padrões normativos ABNT ^[25-26] recomendam que a amostra de biodiesel seja dissolvida em xileno ou querosene para as determinações de P, Ca, Mg, K e Na. No caso do P, Ca e Mg, deve-se empregar, como técnica de detecção, ICP OES. Para K e Na, a determinação deve ser realizada por Espectrometria de Absorção Atômica com chama (FAAS). Entretanto, a utilização de solventes orgânicos (xileno ou querosene) requer cuidados no manuseio, devido à toxicidade, além do inconveniente de dificultar a estabilidade do plasma na técnica ICP OES ou da chama na FAAS. Para evitar estes inconvenientes, sobretudo na espectrometria, tem-se aplicado um oxidante complementar (gás oxigênio) que exerce a função de eliminar os resíduos de carbono evitando que o plasma seja extinto ^[111]. Outras desvantagens são a baixa estabilidade do analito ao ser diluído e o alto custo, devido ao emprego de padrões organometálicos.

Curtius e colaboradores ^[111] reportaram um procedimento para a determinação de Ca, P, Mg, K e Na em biodiesel de soja, canola, algodão e gordura vegetal por ICP OES, usando etanol como solvente. As curvas analíticas também foram construídas empregando-se etanol e o ítrio foi usado como padrão interno para compensar interferências de transporte. Além disso, um fluxo de oxigênio foi adicionado ao fluxo de argônio auxiliar para diminuir a radiação de fundo e a formação de depósito de resíduo de carbono no tubo de quartzo, evitando assim a extinção do plasma. Um planejamento fatorial foi realizado para encontrar as condições experimentais ótimas. Os resultados mostraram que o método de preparação de amostras empregando a técnica ICP OES foi eficiente para a determinação simultânea dos elementos anteriormente citados. A interferência de matriz, causada pelas diferenças de propriedades físicas da solução da amostra em

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

comparação a solução padrão do analito, foi avaliada pela técnica de adição de analito, sendo o erro compensado pelo uso de padrão interno. Também foi ressaltado que os limites de quantificação foram adequados para avaliar a qualidade de biodiesel conforme estabelece a legislação.

Um novo método de determinação de Na e K em biodiesel por FAAS usando microemulsão de água em óleo foi proposto por Jesus e colaboradores ^[110]. O método foi investigado para biodiesel produzido de diversas oleaginosas (soja, mamona, girassol) e de gordura animal. A condição otimizada para a microemulsão foi 57,6 % (m/m) de n-pentanol, 20 % (m/m) de biodiesel, 14,4 % (m/m) de Triton X-100 e o restante em água (padrão aquoso de KCl ou NaCl em/ou HNO₃ diluído). Os parâmetros instrumentais otimizados foram a taxa de aspiração de 2mL/min e a composição da chama de 0,131 de C₂H₂/ar. Para efeito de comparação, a determinação de sódio e potássio também foi realizada de acordo com as normas européias (EN 14108 e EN 14109, respectivamente). A estabilidade das amostras e padrões na forma de microemulsões foi investigada e descobriu-se ser estável por pelo menos 3 dias, enquanto o padrão orgânico dissolvido em xileno mostrou uma diminuição de 15% do sinal analítico em uma hora. Os limites de detecção foram de 0,1 µg L⁻¹ e 0,06 µg L⁻¹ para o sódio e potássio respectivamente. O método proposto apresentou limites de detecção e precisão (0,4 a 1,0 %) duas vezes menores quando comparado com o método da diluição (1,5 a 4,5%). O método foi avaliado através de testes de recuperação e comparação com os resultados obtidos pelo método de diluição. As recuperações variaram de 95 a 115% para biodiesel e 90 a 115% para amostras de óleos vegetais. A comparação entre os resultados obtidos para o biodiesel por ambos os métodos não apresentaram diferenças significativas ao nível de confiança de 95% de acordo com o teste t-Student. Este estudo mostrou que o método proposto com base em microemulsão, como preparação da amostra, pode ser aplicado como uma alternativa eficiente para a determinação de sódio e potássio em amostras de biodiesel.

Oliveira e colaboradores ^[112] descreveram um método para determinação de Na em biodiesel por espectrometria de emissão atômica com chama (FAES) usando decomposição por via seca para a preparação de amostras. Amostras de biodiesel foram pesadas e colocadas em uma mufla de aquecimento. Duas temperaturas foram utilizadas no programa de aquecimento para a decomposição por via seca: a primeira temperatura (250 °C) foi mantida durante 1 h para secar as amostras. Após

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

este período a temperatura foi elevada progressivamente a 600 °C e mantida por 4 h para a eliminação da matéria orgânica. Após o resfriamento, o material inorgânico, as cinzas, foram dissolvidas em uma solução de ácido nítrico (1,0%, v / v). As soluções obtidas foram transferidas para um balão volumétrico de 100 mL e em seguida analisadas. Para a determinação de sódio, quatro curvas analíticas (0,1 - 1,0 mg Na L⁻¹) foram construídas e os métodos de calibração foram avaliados através da comparação do coeficiente angular das curvas de análise feita em: (a) cinzas de biodiesel de soja, (b) cinzas de girassol, (c) cinzas de gordura animal e (d) solução aquosa. Duas técnicas para a calibração, na determinação de sódio foram avaliadas: a adição de analito e padrão externo. Nesses casos, efeitos de matriz não foram observados e a concentração de sódio (Na) encontrada atingiu o limite máximo de 28,7 mg kg⁻¹ no biodiesel.

O fósforo, em especial, é um constituinte natural da matéria bruta para a produção do biodiesel (óleo vegetal ou gordura animal). Apesar de estar presente em baixas concentrações, afeta a conversão catalítica no sistema de exaustão dos motores diesel e provoca o aumento na geração de gases poluentes como o monóxido e dióxido de carbono, assim como materiais particulados ^[4]. A concentração de fósforo depende principalmente do processo de refino do óleo ou gordura em estudo, sendo que quanto mais refinado, menor será a presença desse elemento. Um óleo não refinado pode apresentar concentrações de fósforo superiores a 100 mg kg⁻¹ ^[113].

A determinação do fósforo em biodiesel é comumente realizada empregando ICP OES, conforme recomendam os padrões normativos EN 14214^[29] e a ASTM D 6751^[30], além da resolução ANP 07/08^[17]. O valor máximo de fósforo no biodiesel aceito nos três padrões normativos é de 10 mg kg⁻¹^[4]. A determinação de fósforo em matrizes como óleo vegetal e biodiesel tem sido reportada na literatura ^[114-117].

Zakharov e colaboradores ^[114] propuseram uma determinação direta de fósforo em óleos vegetais utilizando a técnica da espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica. Neste trabalho, uma aproximação para a implementação prática do método padrão para determinação de fósforo por espectrometria de absorção atômica com injeção automática de amostra foi proposta. Os experimentos foram realizados em um espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer modelo 1100B, com corretor de fundo de deutério, um atomizador HGA-700, e um amostrador automático AS-70. A fonte de luz foi uma lâmpada de cátodo oco de

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

fósforo. A absorção atômica foi medida no comprimento de onda (λ) 213,5 nm e a largura da fenda espectral de 0,7 nm. Fornos de grafite com uma cobertura pirolítica e plataformas de pirografite (Perkin-Elmer) foram utilizados. O Argônio foi o gás de purga. As amostras para a calibração do espectrômetro foram preparadas de acordo com as recomendações, utilizando um material de referência padrão de óleo vegetal (Conostan, E.U.A.) com uma concentração de fósforo 5000 mg Kg⁻¹. A solução estoque do modificador químico de lantanídeo (Conostan, E.U.A.) foi diluída com ciclohexano, n-heptano, ou óleo de girassol. Os resultados das análises de absorção atômica de óleos foram comparados com os dados do fotolorimetria em um KFK-2MP colorímetro (Rússia). O método apresentou boa concordância com os dados obtidos por fotolorimetria e mostrou ser eficiente no monitoramento da concentração de fósforo em óleos vegetais de vários tipos.

Em 2003, Szydłowska-Czerniak e colaboradores ^[115] descreveram um novo método espectrofotométrico para determinação de fósforo total em sementes de colza e óleo de colza. O procedimento baseia-se na formação do complexo de molibdofosfato com verde de malaquita (MG) em meio ácido. Neste trabalho, as amostras foram digeridas pesando 0,100g de MgO e (0.100–26.000 g) de amostras em um cadinho de quartzo, levando a calcinação a 800 °C. O método proposto foi comparado com os métodos padrões de vanadomolibdato (VM) e azul de molibdênio (MB). Foram observadas concentrações de fósforo no óleo refinado da ordem de 2,0 mg P kg⁻¹ para os três métodos utilizados MG, VM e MB. Valores satisfatórios de recuperação variaram entre 99,1-100,3% e RSD menor que 1%. A vantagem de usar o MG está na sua alta sensibilidade ($\epsilon=1,06 \times 10^5$, 28,57, $1,19 \times 10^4$ dm³ mol⁻¹ cm⁻¹ para os métodos utilizados MG, VM e MB, respectivamente). Os resultados apresentados demonstram a eficiência do método MG, para a análise de rotina de fósforo total de oleaginosas, óleos brutos e refinados.

Motomizu e Li^[116] publicaram uma revisão sobre a determinação de fósforo usando análise por injeção em fluxo (FIA) e métodos colorimétricos baseados na reação do ortofosfato com molibdato para formar ácidos tais como o amarelo e o azul de molibdênio. Neste trabalho, ficou evidente que, os métodos de injeção em fluxo, podem melhorar a sensibilidade de detecção de 10-100 vezes, em comparação com os correspondentes em batelada, utilizando métodos de detecção de reações semelhantes. Os métodos descritos no estudo são voltados para análise

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

em amostras ambientais e biológicas, ainda não tem sido proposto nenhum procedimento envolvendo amostras de biodiesel.

Dos Santos ^[117] determinou fósforo em biodiesel de mamona, soja e dendê por ICP OES usando amostras digeridas em diferentes misturas ácidas. Concentrações de fósforo na faixa entre $11,0 \text{ mg Kg}^{-1} \pm 1,7$ e $17,0 \text{ mg Kg}^{-1} \pm 0,3$ foram encontradas e valores de recuperação variaram entre $92 \pm 1\%$ a $104 \pm 3\%$.

Um método fotométrico para a determinação de fósforo em amostras de biodiesel foi citado por Monteiro e Colaboradores ^[118]. Este método é baseado na fotometria do azul de fosfomolibdênio e envolve carbonização e transformação em cinzas das amostras antes da análise. A vantagem do método está em apresentar um menor tempo de análise. A metodologia foi empregada para analisar seis amostras de biodiesel a partir de distintas matérias-primas (mamona, amendoim, milho, gergelim algodão e óleo de soja). O teor de fósforo nestas seis amostras foi inferior a 5 mg kg^{-1} .

3.2. Preparo de amostra

Embora tenham ocorrido avanços tecnológicos significativos na área de instrumentação analítica, facilitando a automatização de muitos procedimentos, o preparo de amostras continua sendo a etapa mais complexa da seqüência analítica. Além de viabilizar a determinação do analito, é uma etapa determinante da qualidade do resultado a ser obtido. Dependendo da complexidade da matriz, o pré-tratamento de amostras é a etapa mais lenta e tem também como inconveniente ser uma etapa muito propensa à introdução de erros na análise ^[119].

De maneira geral, um tratamento adequado é aplicado à amostra visando à sua preparação para a determinação do(s) analito(s). Esse tratamento pode variar desde um simples polimento da superfície até a completa transformação da amostra sólida em uma solução compatível com o método de determinação ^[119]. A maneira de se decompor uma amostra para a análise depende da sua natureza, do elemento a ser determinado e sua concentração, do método de determinação e da precisão e exatidão desejada.

O preparo da amostra deve ser compatível com o método de análise escolhido. Se o método permitir a análise direta de sólidos, a amostra pode ser apenas moída ou homogeneizada. Em caso de análise em solução, o método de decomposição

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

deve ser capaz de transformar a amostra em uma solução compatível com a instrumentação ^[119]. Sendo assim, é necessário que o método de determinação seja escolhido previamente para que seja elaborada a melhor estratégia possível a fim de solucionar o problema, obtendo os resultados esperados.

Entre os procedimentos de preparo de amostras, encontram-se dissolução, extração líquida, extração em fase sólida, pré-concentração, derivatização, decomposição de amostras por via úmida usando sistema aberto e fechado, além da combustão assistida por radiação micro-ondas ^[119].

Os procedimentos de digestão de amostras de biodiesel através da decomposição por via úmida (ácida), utilizando bloco digestor (aquecimento por indução) ou equipamento com radiação micro-ondas foram avaliados por dos Santos ^[117], para determinar metais e fósforo por ICP OES. O trabalho propunha a comparação dos resultados obtidos com amostras digeridas por três rotas: bloco digestor, forno de micro-ondas com cavidade e forno de micro-ondas com radiação focalizada. Os resultados mostraram que os métodos foram eficientes para a digestão das amostras de biodiesel e os teores de metais e fósforo nas amostras analisadas foram concordantes nos três métodos.

3.2.1. Decomposição por via úmida

Todos os procedimentos de decomposição de amostras orgânicas e biológicas, de uma forma ou de outra, envolvem a oxidação ^[119]. Num processo de oxidação/abertura de amostras, quando se obtém uma solução límpida, assume-se que o mesmo foi completo.

Em geral, a decomposição de materiais orgânicos (como é o caso do biodiesel), consiste no aquecimento das amostras na presença de ácidos ou misturas de ácidos concentrados e/ou em adição do peróxido de hidrogênio, provocando oxidação dos compostos orgânicos, deixando os elementos a serem determinados nas formas inorgânicas simples e apropriados para análise.

Os ácidos geralmente utilizados na decomposição por via úmida e que possuem um elevado poder oxidante são o nítrico (HNO_3), sulfúrico (H_2SO_4) e o perclórico (HClO_4). Eles podem ser usados em separado, de forma individual ou combinados. Neste último, utilizam-se com frequência o HNO_3 ou H_2SO_4 com H_2O_2 .

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

A decomposição por via úmida é muito útil na determinação de elementos em baixas concentrações em vários tipos de amostras. Este procedimento pode ser útil na determinação de fósforo, nitrogênio e enxofre. A principal vantagem de decomposição por via úmida, com relação aos métodos por via seca (forno tipo mufla, por exemplo), são as menores temperaturas empregadas, o que diminui os riscos de perdas por volatilização.

A decomposição por via úmida ^[119] pode ser realizada através de frascos abertos ou fechados. O procedimento que utiliza frascos abertos é um dos mais antigos e mais usados para digestão de amostras orgânicas e inorgânicas.

O bloco digestor é um equipamento bastante utilizado para o procedimento de digestão de amostras em frascos abertos. Neste procedimento, a energia é transferida para a amostra por condução, e como os frascos são baixos condutores, o processo de transferência é lento.

Em sistemas fechados, como o forno de micro-ondas com cavidade, a pressão associada ao potencial oxidativo dos ácidos e o aquecimento, promove maior rapidez na digestão das amostras. O uso da radiação micro-ondas veio acelerar a etapa de pré-tratamento de amostras em diferentes matrizes. A primeira utilização desta técnica na área de preparo de amostra foi em 1975 por Abu-Samra ^[120] e colaboradores. Esses autores modificaram um forno caseiro e realizaram a digestão de amostras biológicas para posteriormente, identificar os analitos de interesse. Com a utilização da radiação micro-ondas como fonte de aquecimento, o tempo de digestão de amostras foi reduzido em relação aos sistemas convencionais, tais como os blocos digestores.

Em procedimentos utilizando radiação micro-ondas, a transferência de energia ocorre quase que simultaneamente para todas as moléculas da solução, tornando o processo mais rápido. Além disso, os procedimentos conduzidos nos fornos de micro-ondas não necessitam de catalisadores para as reações de oxidação e evitam, em muitos casos, algumas fontes de contaminação.

Os procedimentos de digestão assistidos por radiação micro-ondas têm sido implementados nos laboratórios como uma alternativa rápida e segura aos procedimentos convencionais de digestão.

Sant'Ana e colaboradores ^[121] determinaram Al, Cu, Fe, Ni, V e Zn em óleo diesel por ICP OES. Uma massa de 2,5 g de amostra foi pesada em um frasco de borossilicato apropriado para forno com radiação micro-ondas focalizadas e

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

submetida a um programa de aquecimento onde foram usados 10,0 mL de H_2SO_4 e 4 mL de HNO_3 concentrados e na última etapa foram adicionados 10,0 mL de peróxido de hidrogênio. O programa constou de 5 etapas totalizando 40 min chegando a uma potência máxima de 210 W. Os analitos foram determinados com índices de recuperação de 90 %, exceto para o Zn que foi entre 70 e 78 % devido a perdas por volatilização depois do aquecimento.

De uma forma geral, tanto o bloco digestor, como o forno de micro-ondas, utilizam ácidos e peróxido de hidrogênio, diferindo apenas na quantidade desses reagentes ou de amostra, além do tempo necessário para a digestão da mesma.

3.3. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado-ICP OES

A espectrometria óptica é uma das técnicas espectrométricas mais utilizadas na determinação de elementos presentes em amostras, bem como a determinação de suas concentrações ^[53].

Historicamente, a espectroscopia de emissão atômica baseou-se na atomização e excitação por chama, arco elétrico e centelha elétrica. Entretanto, atualmente as fontes de plasma têm se tornado o método mais importante e largamente utilizado para a espectroscopia de emissão atômica. A fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP) é certamente mais utilizada entre as fontes de plasma ^[53].

Chama-se plasma um gás em que uma fração significativa de seus átomos ou moléculas encontra-se ionizada. Pode ser definido, ainda, como uma mistura gasosa condutora de eletricidade contendo uma significativa concentração de cátions-íons argônio e elétrons. Os íons argônios formam o plasma e estabilizam com uma temperatura alta ^[53].

O plasma exerce um papel muito importante na espectrofotometria emissão atômica. Elas são responsáveis pelas seguintes funções: dessolvatar, vaporizar, atomizar e excitar eletronicamente o átomo em análise ^[53]. Duas características marcantes dos plasmas são que eles podem conduzir eletricidade e são suficientemente energéticos para ionizar e excitar os átomos. A fonte com plasma indutivamente acoplado surgiu nos anos 1960 e, desde então, tornou-se uma técnica atraente para a comunidade científica ^[122].

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente Acoplado (ICP OES) baseia-se na introdução de uma amostra em solução em um plasma na forma

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

de um aerossol. O plasma, que deve atingir uma temperatura apropriada, induz a amostra a emitir radiação eletromagnética sendo a intensidade da luz emitida proporcional à concentração desta espécie química de interesse^[122].

Uma característica importante da técnica é que, o aerossol da amostra, introduzida para análise, fica cercado pelo plasma de alta temperatura por um tempo relativamente longo (cerca de 2 ms). É este tempo que contribui para a permanência das partículas de analito no centro do plasma, o que é, em boa parte, responsável pela baixa interferência de matriz no ICP OES^[122].

As informações quantitativas e qualitativas sobre uma amostra utilizando ICP OES é geralmente simples. Na maioria das vezes, três linhas espectrais do elemento a ser determinado são examinadas para ter certeza de que a emissão é característica da espécie em questão. O número de linhas de emissão disponíveis para a maioria dos elementos é relativamente grande e permite eliminar as possíveis interferências espectrais^[122].

A técnica ICP OES é usada, principalmente, para a análise qualitativa e quantitativa de amostras dissolvidas ou suspensas em líquidos aquosos ou orgânicos. Em princípio todos os elementos metálicos podem ser determinados pela espectrometria de emissão em plasma. Um espectrômetro a Vácuo é necessário para a determinação de boro, fósforo, nitrogênio, enxofre e carbono, devido as linhas de emissão para estes elementos surgirem em comprimentos de onda abaixo de 180nm^[53].

O ICP OES é largamente usado para determinação de grande quantidade de elementos, em níveis de concentração inferior a 1 mg.L⁻¹^[122].

A análise de amostras orgânicas, como biodiesel, com a introdução direta no ICP OES, pode causar inconvenientes tais como a desestabilização do plasma e formação de resíduos de carbono sobre os componentes do equipamento. Esses problemas têm sido contornados por meio da mineralização da matriz orgânica^[117].

A espectrometria de emissão por plasma apresenta algumas vantagens, incluindo:

- i) baixa interferência entre elementos. Isto é uma consequência direta de suas altas temperaturas;
- ii) bons espectros podem ser obtidos por vários elementos simultaneamente;

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

iii) as fontes de plasma mais energéticas permitem a determinação de baixas concentrações de elementos que tendem a formar compostos refratários, além de determinar compostos não-metálicos;

Uma desvantagem apresentada pela técnica é o custo relativamente alto quando comparada com técnicas como AAS.

3.4. Análise por injeção em fluxo

O aumento na demanda de análises na indústria clínica, farmacêutica, agrícola e outros tipos de controle analítico têm levado ao desenvolvimento de diversos instrumentos e sistemas automatizados para análises ^[123]. Entre os sistemas, destaca-se, como um dos mais utilizados, a análise química por injeção em fluxo, originada do título em inglês “Flow Injection Analysis” (FIA) e proposta por Ruzicka e Hansen em 1975^[123]. Desde essa proposta inicial, milhares de artigos já foram publicados usando essa técnica nos mais variados campos da Química Analítica ^[124]. Isso se deve, na maioria das vezes, ao interesse em encontrar estratégias eficientes para transportar a amostra no módulo de análise.

A IUPAC ^[125] estabeleceu uma classificação simplificada dos métodos de análise em fluxo, como pode ser visto na **Figura 19**.

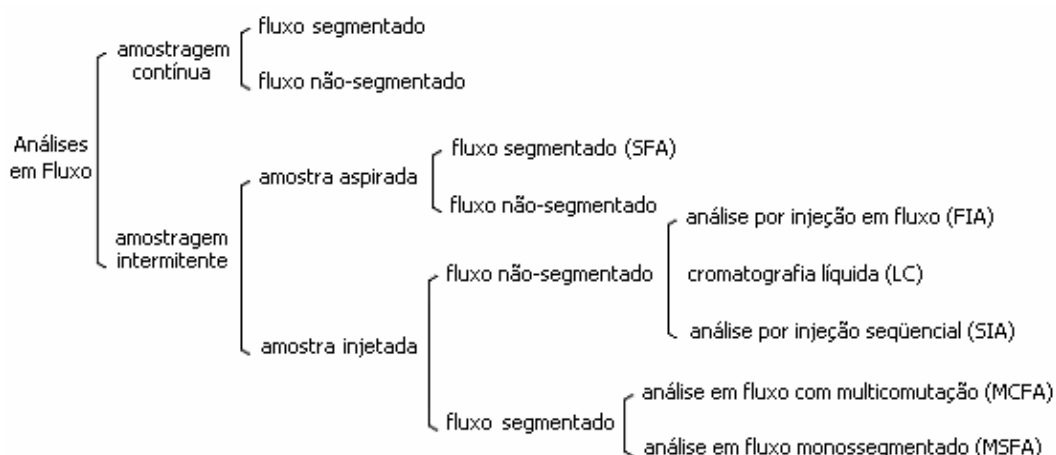


Figura 19. Classificação dos métodos de análise em fluxo segundo a IUPAC ^[126]

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

De acordo com o tipo de amostragem envolvida, os métodos de análise em fluxo podem ser classificados em dois grupos;

- *Análise com amostragem contínua*: aqui as amostras são inseridas no percurso analítico através de bombeamento contínuo, consumindo quantidades relativamente grandes de amostra;
- *Análise com amostragem intermitente*: alíquotas das amostras são injetadas no sistema através do preenchimento de uma alça de amostragem. Nesta forma de amostragem, as amostras estão sempre retornando a seus recipientes.

Neste trabalho, foi utilizado o sistema de análise por injeção em fluxo (com amostragem intermitente) e, dessa forma, a discussão será voltada apenas para este sistema.

Os métodos de injeção em fluxo são uma consequência dos procedimentos de fluxo segmentado, que eram muito usados em laboratórios clínicos nos anos de 1960 a 1970 para determinação automática de rotina de uma variedade de espécies em amostras de sangue e de urina para propósitos de diagnóstico médico.

Nos sistemas em fluxo segmentado, que foram fabricados por uma única companhia nos Estados Unidos, as amostras eram levadas através do sistema a um detector por uma solução aquosa fluindo que continha bolhas de ar espaçadas e muito próximas. O propósito dessas bolhas era o de prevenir a dispersão excessiva da amostra, para promover a mistura de amostras e reagentes por turbulência e para lavar as paredes do tubo condutor, prevenindo, assim, a intercontaminação entre amostras sucessivas ^[53]. Entretanto, alguns autores, observaram que os problemas de dispersão e de contaminação nos sistemas em fluxo poderiam ser quase que completamente evitados em um sistema adequadamente projetado, sem bolhas de ar, e onde a mistura de amostras e reagentes poderia ser facilmente conseguida ^[53]. A ausência de bolhas de ar trouxe importantes vantagens para as medidas por injeção em fluxo, incluindo: (1) maior velocidade analítica (2) melhora do tempo de resposta; (3) tempos menores para iniciar e desligar o sistema (4) simplicidade e flexibilidade ao sistema ^[53].

Desde o seu aparecimento até o momento, diferentes adaptações para os sistemas FIA foram reportadas na literatura buscando melhorar as características analíticas tais como sensibilidade, velocidade analítica, consumo de reagentes entre outros ^[127].

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

A análise por injeção em fluxo é conceituada como a inserção de uma alíquota de amostra em solução aquosa em um fluxo carregador que transporta o mesmo para o detector ^[127]. No trabalho inicial desenvolvido por Ruzicka ^[123], a solução da amostra era injetada no percurso analítico com uma seringa hipodérmica que perfurava com a agulha um septo de borracha colocado em um dispositivo que foi chamado de injetor. Embora esse sistema, como processo de análise química, tenha tido grande aceitação por ser uma técnica versátil, uma fragilidade afetava a operação: o septo de borracha utilizado para inserir a agulha apresentava vazamento após a realização de poucas injeções. Para superar esse inconveniente, um injetor que dispensava o uso de agulha foi proposto, tornando o sistema FIA mais robusto e seguro. Entretanto, com esse dispositivo, a repetitividade dos resultados era afetada pela precisão na seleção das alíquotas de amostra e por alterações na vazão. Assim, os resultados tornavam-se dependentes da experiência do operador ^[124]. Outros sistemas de injeção foram criados até o desenvolvimento do injetor proporcional, construído com peças de acrílico, o qual vem sendo utilizado nos dias atuais, em sistemas FIA.

Os primeiros sistemas FIA, que certamente são até hoje os sistemas mais simples e mais utilizados, consistem na inserção de uma alíquota de amostra em um fluxo onde o carregador era o próprio reagente. Nesse sistema a amostra sofre dispersão e se mistura com o reagente ao percorrer o caminho analítico ^[128].

Buscando otimizar os sistemas FIA, uma série de alterações foram sugeridas, entre as quais, destaca-se a homogeneização entre amostras e reagentes. Neste sentido, a adição de reagentes por confluência foi proposta ^[127], o que contornou problemas de homogeneização entre amostras e reagentes, contribuindo para ocorrer a reação química desejada, além de proporcionar uma maior economia de reagentes ^[127].

A válvula rotativa e o injetor proporcional para a introdução de alíquotas de soluções de amostra e reagente no percurso analítico em sistemas em fluxo ajudaram a corrigir o principal problema da técnica, a repetitividade dos resultados. Todavia, esses dispositivos trabalham com apenas dois estados de repouso e, desse modo, foi denominado de comutação solidária. Desta forma, todas as etapas envolvidas no desenvolvimento dos métodos de análise em fluxo deveriam ser implementadas em apenas dois estágios, o que limitava a versatilidade dos sistemas ^[129].

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

Com o intuito de solucionar este problema, Reis e colaboradores ^[129] propuseram a utilização de um dispositivo de acionamento discreto, as válvulas solenóides. Essas válvulas foram empregadas para o gerenciamento independente das soluções, o que aumentou a versatilidade dos sistemas de análises em fluxo. Empregando esses dispositivos controlados por um microcomputador, foi possível construir módulos de análise que operavam com o mínimo de envolvimento do operador, originando-se o termo multicomutação. O conceito de multicomutação tem como objetivo o desenvolvimento da instrumentação analítica e a implementação da técnica de manipulação de soluções de reagentes e de amostras, denominada de amostragem binária.

A economia de reagente é a principal vantagem da utilização do processo de multicomutação e amostragem binária, pois o procedimento analítico visa à adição discreta de cada solução no percurso analítico. A flexibilidade do sistema também se apresenta como uma característica vantajosa, uma vez que permite a introdução de diferentes reagentes em estágios alternados, possibilitando a utilização de reagentes para determinações seqüenciais de dois ou mais analitos ^[130].

Lapa e colaboradores ^[131] propuseram uma nova estratégia para a propulsão de fluidos baseada no uso de mini-bombas solenóide controladas por computador em substituição à bomba peristáltica e às válvulas solenóides. Este sistema compreende diversas mini-bombas solenóide acopladas a um módulo de análises, onde são capazes de introduzir no percurso analítico pequenos volumes de soluções de amostras e/ou reagentes (3-250 μL) seqüencial e/ou simultaneamente.

As potencialidades dos sistemas aplicando-se as mini-bombas solenóide como unidades de propulsão de fluidos têm sido descritas na literatura demonstrando a eficiência na introdução das soluções de amostra e reagentes, seja simultânea ou seqüencial, no controle do volume injetado e na simplicidade e versatilidade dos procedimentos analíticos, minimizando o consumo de solução de amostra e reagentes, conseqüentemente, reduzindo a produção de efluentes ^[132].

Procedimentos automáticos explorando o conceito da multicomutação associado às mini-bombas solenóide como unidades de propulsão de fluidos têm-se caracterizados como sistemas de análises compactos, de fácil operação, versáteis na manipulação das soluções e, principalmente, proporcionando redução significativa no consumo de soluções de amostra e reagentes e na produção de efluentes ^[129].

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

Uma característica importante do sistema FIA é que o módulo de análise é um sistema isolado, onde a amostra é introduzida no sistema e as reações químicas, assim como a detecção, ocorrem sem nenhum contato externo.

Uma revisão sobre as aplicações da injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica para análises farmacêuticas foi publicada em 2007 por Tzanavaras e Themelis ^[133]. Em 2008, uma nova revisão sobre a análise por injeção em fluxo foi publicada por Ruzicka e Hansen ^[134], ressaltando a importância da técnica dentro do contexto da análise química.

Sistemas FIA são vantajosos porque possibilitam trabalhar com microvolumes, e assim, o sistema economiza amostras e reagentes e contribui para a química limpa. Além disso, esses sistemas podem ser facilmente acoplados com outras técnicas analíticas, devido a sua simplicidade e versatilidade. Métodos analíticos baseados em FIA com diferentes técnicas de detecção são citados na literatura ^[135-137]. Entretanto, a espectrometria de absorção molecular é certamente a mais empregada para esse propósito ^[127, 138-139].

É importante ressaltar que, até o momento, não foi encontrado na literatura metodologia para determinação de fósforo em amostras digeridas de biodiesel empregando sistema FIA com detecção espectrofotométrica (FIA-SD).

3.5. Experimental

A determinação de fósforo em biodiesel, usando sistema em fluxo e detecção espectrofotométrica é possível desde que as amostras estejam mineralizadas, ou seja, é necessário realizar previamente o tratamento das amostras. Para tanto, dois sistemas para digestão de amostras foram avaliados: bloco digestor e o forno de micro-ondas. Em seguida, determinou-se fósforo nas amostras digeridas empregando ICP OES e FIA-SD.

No trabalho de Dos Santos ^[117] a digestão de amostras de biodiesel de soja, mamona e dendê foram avaliadas empregando bloco digestor e micro-ondas com cavidade, sendo o método otimizado.

No estudo aqui descrito, foram digeridas em forno de micro-ondas e bloco digestor nove amostras de biodiesel originadas das sementes oleaginosas, girassol, canola, mamona (rota metílica e etílica), algodão (rota metílica e etílica), soja, oiticica e uma mistura de mamona e algodão, usando o procedimento otimizado no trabalho

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

supra citado. Todas foram previamente preparadas utilizando hidróxido de sódio como catalisador.

3.5.1. Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada e todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

Uma solução de 340 mmol L^{-1} de ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) (Merck) foi preparada pesando-se 6 g de ácido ascórbico e dissolvendo-se em 100 mL de água deionizada.

Uma solução estoque de 32 mmol L^{-1} de molibdato de amônio (QM) foi preparada pesando-se 20 g do sal e dissolvendo-se em 400 mL de água deionizada. Após manter a solução sob agitação durante 4 horas, transferiu-se para um balão volumétrico de 500 mL e completou-se o volume com água deionizada.

Uma solução estoque de 9 mmol L^{-1} de tartarato de potássio e antimônio (Vetec) foi preparada pesando-se 3,0 g do tartarato de potássio e antimônio e dissolvendo-se em um béquer de 250 mL com água deionizada. Posteriormente, transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água deionizada. Esta solução foi armazenada em frasco âmbar sob refrigeração.

Para compor a solução reagente, misturou-se, 35 mL de ácido sulfúrico concentrado em 500 mL de água deionizada. Em seguida, adicionou-se 215 mL da solução estoque de 32 mmol L^{-1} molibdato de amônio em 72 mL da solução 9 mmol L^{-1} tartarato de potássio e antimônio. Finalmente, a mistura foi transferida para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água deionizada.

Ácido Nítrico (HNO_3) 65% m/v, ácido sulfúrico (H_2SO_4) P.A. e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 30% v/v, todos da Merck, foram utilizados para a digestão da amostra.

Padrão inorgânico de fósforo 1000 mg L^{-1} (SPECSOL) foi diluído adequadamente para preparar soluções na faixa de 1 a 10 mg L^{-1} de fósforo. Estas soluções foram preparadas em meio de uma mistura de ácidos ($\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$) e usadas para obter a curva analítica do sistema FIA.

3.5.2. Digestão Sistema Aberto

3.5.2.1. Bloco digestor

Uma massa de aproximadamente 1 g de biodiesel foi pesada e colocada num tubo de vidro específico para digestão de amostras. Em seguida 2 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) e 10 mL de ácido nítrico (HNO_3) foram adicionados gradativamente, para evitar uma reação violenta entre a amostra e os ácidos. Além desses reagentes, foram adicionados 6 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , 30% v/v) no decorrer da digestão.

Os tubos digestores contendo as amostras foram, então, levados ao bloco digestor, TECNAL modelo TE-040/25. No decorrer da reação, os reagentes eram adicionados até o volume final, segundo procedimento otimizado por Santos ^[117]. A adição foi realizada de forma lenta, pois a amostra e os ácidos nítrico e sulfúrico reagem violentamente. Esse procedimento foi realizado para digerir nove amostras distintas de biodiesel: mamona (rotas etílica e metílica), soja, algodão, canola, girassol (todos via rotas metílicas), algodão (rota etílica), biodiesel de oiticica (rota metílica) e uma mistura de mamona e algodão por rota metílica. As amostras de biodiesel de cada oleaginosa foram digeridas em quadruplicata. A temperatura do bloco foi programada para 270 °C, sendo aumentada em dois momentos, iniciando em 180 °C e após 40 min passando para 270 °C.

O tempo total para o término da digestão foi de aproximadamente três horas. Após esse tempo, deixou-se a temperatura estabilizar e, então, transferiu-se a amostra digerida para um tubo plástico, usado em centrífugas, onde o volume foi elevado para 10 mL com água deionizada. Em seguida, os frascos com as amostras digeridas e diluídas foram acondicionados em refrigerador. Um esquema completo da digestão em bloco digestor encontra-se apresentado na **Figura 20**.

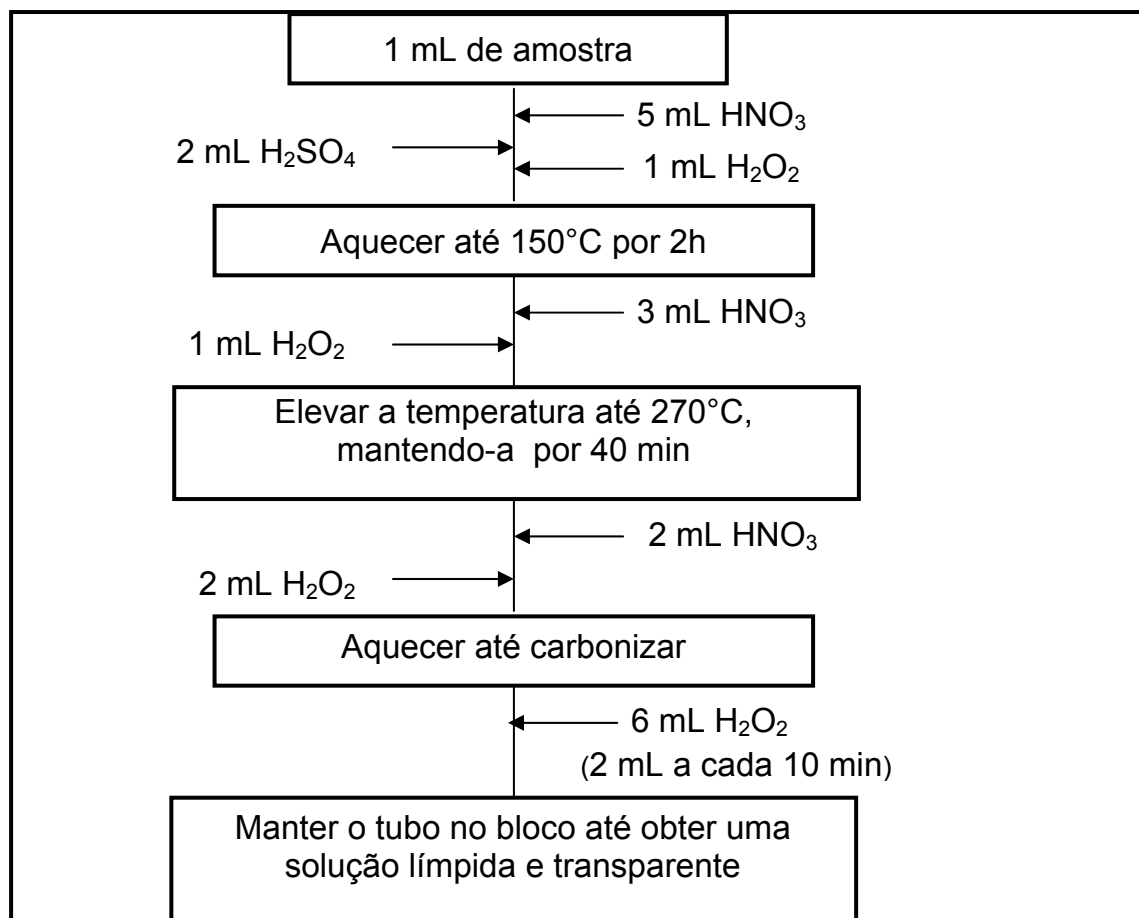


Figura 20. Fluxograma do procedimento de digestão de amostras de biodiesel em bloco digestor ^[117]

3.5.3. Digestão em Sistema Fechado

3.5.3.1. Forno de Micro-ondas com cavidade

As mesmas amostras digeridas no bloco digestor foram também digeridas no equipamento com radiação micro-ondas com cavidade, modelo Ethos EZ (Milestone, Sorisole, Itália). Uma massa de aproximadamente 0,25 g de biodiesel foi pesada no frasco de Teflon[®], específico para o equipamento. Em seguida, 7 mL de ácido nítrico concentrado foram adicionados e a solução permaneceu em repouso por 30 minutos. Após esse tempo, 1 mL de peróxido de oxigênio (H_2O_2) foi adicionado.

Os frascos foram, então, fechados e levados para o interior do forno de micro-ondas, onde se variou a potência em função do tempo. O tempo total de digestão foi de 40 minutos, sendo 20 minutos para a digestão e 20 min para ventilação do sistema.

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

A temperatura e a potência dentro do equipamento de micro-ondas foram gradativamente aumentadas durante a digestão. A rampa foi previamente definida pelo operador, sendo monitorada por um dispositivo externo.

Na **Tabela11**, encontra-se descrito o programa de aquecimento otimizado ^[117] para os seguintes parâmetros: tempo (T), a potência (P) e temperatura externa (T_{ext}) utilizados no forno de micro-ondas com cavidade.

Tabela11. Programa de aquecimento para digestão de biodiesel em forno de micro-ondas com cavidade ^[117]

Etapa	t (min)	P (W)	T_{externa} (°C)
1	4	500	90
2	2	750	90
3	6	1000	180
4	10	1000	180
Ventilação	20	-	-

3.5.4. Acidez e carbono residual dos digeridos

Materiais digeridos com baixa acidez residual são recomendados para determinações elementares empregando técnicas espectrométricas. Isso é importante porque é possível ter aumento na sensibilidade, uma vez que a diluição adicional das amostras não se faz necessária. Além disso, o comportamento do sinal dos analitos depende da concentração ácida introduzida nos equipamentos. Para a técnica ICP OES, é aconselhável a introdução de soluções com acidez menor que 10 % v/v, principalmente quando se trabalha com equipamentos com visão axial.

Além disso, menor índice de acidez pode ajudar no processo de alcalinização das amostras para as medidas empregando o sistema FIA com detecção espectrofotométrica (FIA-SD).

Para determinar a acidez final, foram feitas titulações ácido-base dos digeridos para os dois procedimentos de digestão mencionados anteriormente. A titulação foi realizada com uma solução padronizada de hidróxido de sódio ($0,099 \text{ mol L}^{-1}$) usando a fenolftaleína (1,0 % em etanol) como indicador. As soluções

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

de trabalho para a curva analítica foram preparadas com a mesma acidez do procedimento de digestão.

O carbono residual foi medido no ICP OES usando solução de uréia (25 g L^{-1}), no preparo da solução de trabalho de carbono para a construção da curva analítica ($0,5 - 10 \text{ mg L}^{-1}$).

3.5.5. Figuras de mérito

As figuras de mérito para cada procedimento (bloco digestor e forno de micro-ondas com cavidade) foram avaliadas através dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) sob condições robustas do ICP OES. Os mesmos foram calculados utilizando as seguintes equações:

$$LD = 3.s / S \quad (15)$$

$$LQ = 10.s / S \quad (16)$$

Onde:

s = desvio padrão (em intensidade) calculado a partir da medida de 10 brancos e
S = inclinação da curva analítica.

Para o sistema FIA, o LD e o LQ foram também calculados como descrito nas equações 15 e 16, entretanto, os valores utilizados para calcular os desvios padrão, nesse caso, foram obtidos a partir das absorbâncias dos brancos.

3.5.6. Parâmetros para medidas no ICP OES

Para todas as amostras e soluções de referência em meio nítrico/sulfúrico (bloco digestor), foi utilizado ítrio (Y) como padrão interno, a fim de corrigir efeitos do ácido sulfúrico na nebulização e evitar decréscimo do sinal. A concentração final do ítrio foi de 1 mg L^{-1} . A **Tabela 12** mostra as condições experimentais utilizadas no ICP OES.

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

Tabela 12. Condições experimentais utilizadas no ICP OES com configuração axial

Rádio-freqüência do gerador (MHz)	40
Potência (kW)	1,2 ou 1,3
Vazão do gás do plasma (L min⁻¹)	15,0
Vazão do gás auxiliar (L min⁻¹)	1,5
Câmara de nebulização	V-groove
Nebulizador	Sturman – master
P (I) 177,434	Y* (II) 371,029

Y* é o elemento utilizado como padrão interno (1,0 mg L⁻¹).

(I) linha de emissão atômica e (II) linha de emissão iônica.

3.5.7. Instrumentação do sistema FIA com detecção espectrofotométrica (FIA-SD)

O módulo de análise foi baseado em um injetor proporcional, construído em acrílico, tubos de polietileno com diâmetro interno de 0,8 mm, bomba peristáltica com 4 canais (Ismatec IPC-4) e tubos de Tygon com vazão específica, conectores feitos de acrílico, na forma de “T”, banho termostatizado (Tecnal, modelo TE 184), espectrofotômetro (Femto, modelo 700) equipado com cela de fluxo de vidro (ca. 180 µL) com caminho óptico de 10 mm. Os sinais medidos no espectrofotômetro foram monitorados na tela do computador através de uma interface que converte os sinais analógicos e os armazena na forma digital. O módulo de análise do sistema em fluxo é mostrado na **Figura 21**.

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

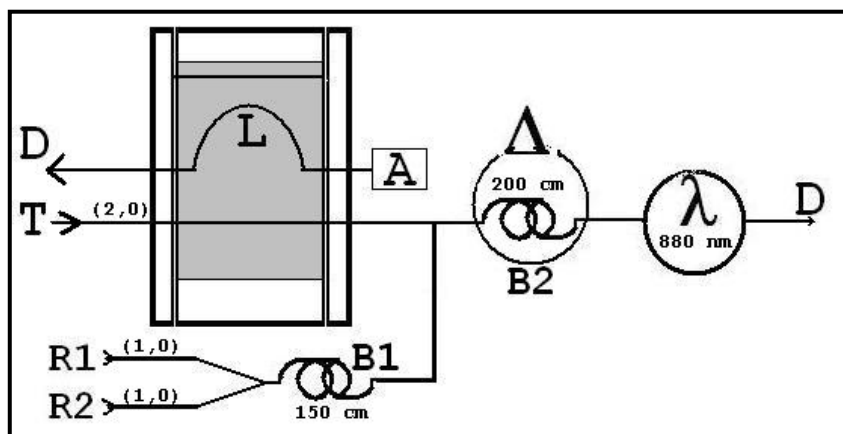


Figura 21. Diagrama do sistema de análise em fluxo para determinação de $P-PO_4^{3-}$. A: solução da amostra; L: alça de amostragem, 10 cm (50 μ L); x: ponto de confluência; T: solução transportadora, H_2O ; R1: solução de molibdato de amônio com tartarato de potássio e antimônio (reagente colorido); R2: solução de ácido ascórbico; B1: reator de 150 cm; B2: reator de 200 cm; Δ banho termostaticado, a 37 °C; λ : detector, 880 nm; D: resíduo a ser tratado. Os números entre parênteses indicam a vazão de bombeamento em $mL\ min^{-1}$.

Durante a análise no FIA, molibdato de amônia e tartarato de potássio e antimônio reagem com íon ortofosfato (PO_4^{3-}), formando ácido fosfomolibdico, (coloração amarela). Este ácido é reduzido pelo ácido ascórbico formando o complexo azul de molibdênio, de coloração azul intenso, que absorve radiação a 880 nm. Este é o método padrão para determinação de fósforo em água ^[140] e foi adaptado para as medidas em biodiesel.

Antes da realização das medidas, 2 mL da amostra foram adicionados a um recipiente e a este, acrescentaram-se NaOH 30% (m/v), em quantidade necessária para a neutralização da amostras, semelhante à metodologia realizada por Oliveira e colaboradores ^[141]. O volume de NaOH variou para cada amostra e foi determinado usando uma bureta e fenolftaleína como indicador. Essa adição foi necessária para evitar que a acidez elevada da amostra impedisse a formação do complexo azul de molibdênio. Além disso, a diferença de pH entre a amostra e a solução transportadora poderia causar o efeito Schlieren ^[142] gerando perturbações causadas pela diferença do índice de refração, comprometendo a precisão e exatidão da medida.

3.6. Resultados e Discussão

3.6.1 ICP OES

3.6.1.1. Avaliação do procedimento de digestão

Durante o procedimento de digestão, ocorre a reação entre a amostra e os ácidos. A maioria das amostras era digerida de forma amena, exceto para as amostra de mamona e oiticica. Nessas amostras a reação amostra/ácido era muito agressiva o que provocava, algumas vezes, perda de material durante o processo de digestão, no caso da digestão no bloco digestor.

Os valores dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para a determinação de fósforo no ICP OES utilizando soluções padrões de brancos das amostras digeridas no bloco foram $0,19 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,65 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Para os brancos digeridos no forno de micro-ondas com cavidade, valores de LD de $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ e LQ de $0,33 \text{ mg L}^{-1}$ foram alcançados.

A acidez das amostras digeridas resultou em: $2,2 \text{ mol L}^{-1}$ para o bloco digestor e $4,0 \text{ mol L}^{-1}$ para o forno de micro-ondas com cavidade. Embora tenha sido adicionado maior quantidade de ácidos no bloco digestor, foi encontrada maior acidez no forno de micro-ondas. Isso confirma que usando frascos fechados, o forno retém os compostos adicionados, no caso, os ácidos, enquanto que o bloco como emprega os tubos abertos, tende a liberar os compostos mais voláteis para a atmosfera.

A variância em condições de repetitividade para as digestões foi de 6,37% para o bloco digestor e 6,58% para o forno de micro-ondas com cavidade.

O carbono residual foi de $0,16 \pm 0,08 \%$ e $0,79 \pm 0,08 \%$ para os digeridos provenientes do bloco digestor e do forno de micro-ondas, respectivamente. Observa-se maior eficiência de digestão, em termos de resíduo orgânico para o bloco digestor quando comparado com o forno de micro-ondas. Portanto, a partir dos resultados obtidos, o bloco digestor foi escolhido como procedimento para digestão das amostras de biodiesel, pois além das vantagens supracitadas, é um equipamento de menor custo, quando comparado ao forno.

Os resultados para as concentrações de fósforo obtidas para as nove amostras após digestão estão mostrados na **Figura 22**.

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

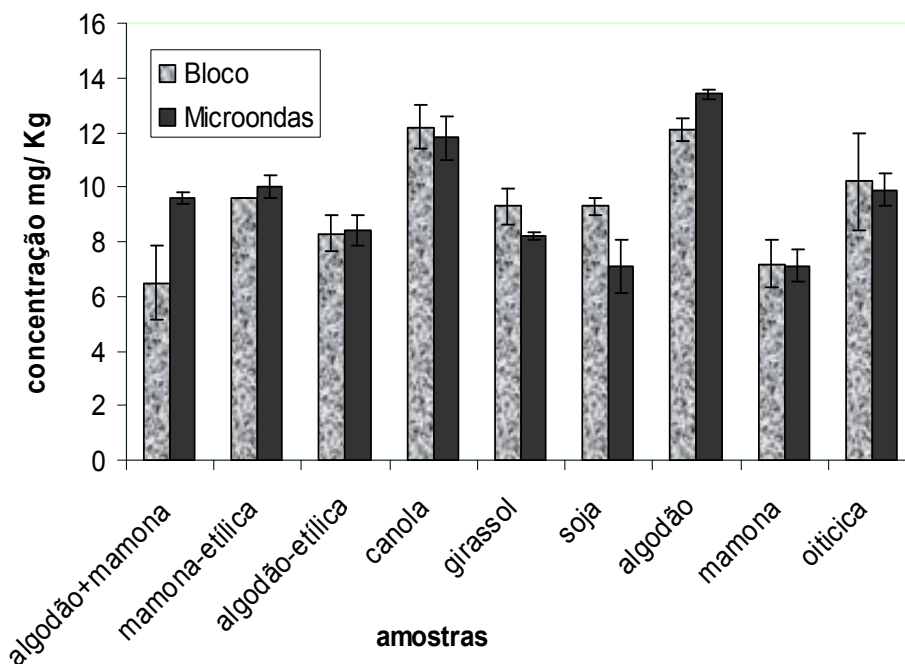


Figura 22. Concentração de fósforo obtida, nas amostras digeridas no bloco digestor e no forno de microondas com cavidade usando ICP OES.

Empregando-se o teste t-pareado, observa-se na **Figura 22** que os valores de concentração de fósforo nas amostras digeridas por ambos os procedimentos de digestão não apresentam diferenças estatisticamente significativas para um nível de 95 % de confiança. De acordo com o padrão normativo de especificação (ANP 07/2008), o teor máximo de fósforo em biodiesel deve ser 10 mg kg^{-1} . Sendo assim, as amostras de canola e algodão apresentaram valores de concentração de fósforo acima do permitido pela legislação.

3.6.2. Análise por Injeção em Fluxo com Detecção Espectrofotométrica (FIA-SD)

Para a validação da metodologia FIA-SD, foram analisadas quatro amostras, digeridas, de biodiesel, preparadas a partir de óleo de canola, girassol e algodão (obtidos em rota etílica e metílica). A curva analítica foi obtida para soluções de trabalho na faixa de 1 a 10 mg L^{-1} de P com equação $\text{Abs} = - (0,018 \pm 0,01) + (0,0496 \pm 0,002) \times C$, com coeficiente de correlação de 0,9977.

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

Os resultados obtidos no sistema em fluxo foram comparados com aqueles obtidos por ICP OES, conforme apresentados na **Tabela 13**.

Tabela 13. Concentração de fósforo (mg kg^{-1}) obtida pelo procedimento do sistema em fluxo e o método ICP OES para amostras de biodiesel.

Biodiesel	ICP OES (mg kg^{-1})	FIA SD (mg kg^{-1})
Girassol	$10,7 \pm 1,1$	$10,3 \pm 0,7$
Canola	$12,7 \pm 3,7$	$13,1 \pm 0,6$
Algodão (metanol)	$15,1 \pm 2,7$	$19,2 \pm 0,1$
Algodão (etanol)	$11,0 \pm 0,5$	$12,7 \pm 0,2$

* n=3

O teste t-pareado ($t_{\text{calculado}} = 1,47$) mostrou que não há diferença estatisticamente significativa em nível de 95 % de confiança para os resultados obtidos em ambas as técnicas ($t_{\text{critico}} = 3,18$, para 3 graus de liberdade).

Para avaliar a exatidão da metodologia, duas amostras de biodiesel (canola e algodão metílico), foram novamente preparadas e a concentração de fósforo foi determinada pelo ICP OES através dos métodos oficiais ASTM 4951 e EN 14107 (sem digestão, dissolvido em querosene). As mesmas amostras foram também digeridas no bloco digestor e determinadas no FIA-SD. Para o biodiesel de canola, foram obtidos valores de concentração de fósforo de $4,3 \pm 0,2 \text{ mg Kg}^{-1}$ com o método oficial e $4,8 \pm 0,3 \text{ mg Kg}^{-1}$ com o FIA-SD. No caso do biodiesel de algodão, os valores foram $5,1 \pm 0,6$ e $5,8 \pm 0,2 \text{ mg Kg}^{-1}$ para o oficial e FIA-SD, respectivamente. O teor de fósforo nessas amostras analisadas está dentro do permitido pela legislação (10 mg kg^{-1}).

Testes de recuperação foram também realizados. Nesse caso, amostras de biodiesel de girassol, mamona e soja foram utilizadas. Sendo assim, 1 mL de soluções estoque com concentrações conhecidas de 30, 50 e 70 mg Kg^{-1} de P foram adicionadas nas amostras de biodiesel para medidas no sistema FIA-SD. Os valores de recuperação obtidos são apresentados na **Tabela 14**.

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

Tabela 14. Percentual de recuperação das amostras com adição de 3,0, 5,0 e 7,0 mg Kg⁻¹ de P em amostras de biodiesel de girassol, mamona e soja.

Recuperação %			
Biodiesel	3,0 (mg Kg ⁻¹)	5,0 (mg Kg ⁻¹)	7,0 (mg Kg ⁻¹)
Girassol	101,0 ± 0,5	98,6 ± 0,5	99,2 ± 0,7
Mamona	110,4 ± 2,1	102,1 ± 1,2	104,7 ± 0,5
Soja	114,8 ± 1,5	103,1 ± 1,2	113,5 ± 0,7

Os resultados dos testes de recuperação variaram entre 98,6 e 114,8%. As figuras de mérito obtidas para o método FIA-SD estão descritas na **Tabela 15**.

Tabela 15. Figuras de mérito para o método FIA-SD.

Figuras de Mérito	
Repetitividade	2,2%
LD	1,4 mg Kg ⁻¹
LQ	4,6 mg Kg ⁻¹
Frequência Analítica	200 determinações/h

3.7. Considerações Finais

Os valores de fósforo obtidos com as amostras digeridas no bloco digestor e em forno de micro-ondas com cavidade não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Entretanto, as amostras digeridas no bloco apresentaram menor índice de acidez e carbono residual, o que levou a escolha do mesmo como método de digestão de amostras para análise no sistema FIA.

O método FIA-SD mostrou-se promissor na determinação de fósforo em amostras de biodiesel previamente digeridas obtidas a partir de diversas oleaginosas. Entretanto, mais testes precisam ser realizados. Este método torna-se vantajoso, quando comparado ao método oficial, empregando ICP OES, pois é rápido, usa quantidades reduzidas de amostras, gera conseqüentemente menor volume de resíduo, não usa solventes orgânicos e apresenta principalmente, menor

Capítulo III – Determinação de fósforo em biodiesel usando injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica

custo. Considerando as vantagens apresentadas é viável o emprego deste método, em laboratórios que trabalham com análise de biodiesel, como uma alternativa para determinação de fósforo em amostras de biodiesel depois de adequada digestão.

Capítulo IV- Conclusões

4.0. CONCLUSÕES

A espectroscopia no infravermelho mostrou-se capaz de prever as propriedades, monitoradas pela ANP, não só do B100 como também das misturas. No caso das misturas (BX), os RMSEPs mostraram-se inferiores a reprodutibilidade dos dados de referência entrada (exceto para massa específica no MIR). Em geral, não foram evidenciadas diferenças significativas entre os RMSEPs dos modelos globais (biodiesel/diesel) e dos modelos contendo apenas as misturas (Bx).

Os erros de previsão dos modelos construídos para os dois equipamentos testados (Perkin Elmer e Irox diesel) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas e ambos são adequados para monitoramento da qualidade das misturas biodiesel/diesel. Os resultados dos modelos construídos com espectros obtidos no Irox diesel mostram-se promissores para a análise de rotina, uma vez que o Irox é um equipamento portátil, presente na maioria dos laboratórios conveniados com a ANP.

Em relação à transferência de calibração, os resultados demonstraram que, embora o RMSEP apresente, em geral, um pequeno aumento, ainda permanece abaixo da reprodutibilidade do método de referência (exceto para a massa específica), tornando viável a utilização destas estratégias, por exemplo, em laboratórios de monitoramento de combustíveis.

No tocante ao estudo voltado ao monitoramento da estabilidade oxidativa, teor de água e índice de acidez do B100, os modelos construídos foram eficientes na previsão dos três parâmetros, índice de acidez, teor de água e estabilidade oxidativa. Para a estabilidade oxidativa, houve uma excelente correlação entre os dados RANCIMAT e os métodos IR, com erros de previsão abaixo da reprodutibilidade dos métodos de referência. Mas, embora os modelos tenham apresentado bons resultados, os mesmos não podem substituir o método RANCIMAT, que determina o período de indução das amostras. Entretanto, o estudo associado dos três parâmetros analisados, pode ser usado para monitorar a degradação do biodiesel.

Em relação à digestão de amostras, a escolha da utilização do procedimento em bloco digestor ou forno de micro-ondas irá depender da disponibilidade dos equipamentos, do número de amostras e do tempo disponível.

O bloco digestor é um procedimento mais demorado, entretanto digere, de uma única vez, uma quantidade maior de amostras.

No caso do forno de micro-ondas, o tempo de digestão é reduzido, mas o número de amostras digeridas é limitado e nem sempre amostras de origens distintas podem ser digeridas simultaneamente.

O sistema FIA com detecção espectrofotométrica mostrou ser promissor para a determinação de fósforo em biodiesel, tendo em vista que apresentou valores equivalentes aos obtidos com ICP OES. Apresenta ainda vantagens quando comparado ao método oficial em relação ao custo e a não utilização de solventes tóxicos.

O sistema em fluxo apresenta adequada frequência analítica, podendo ser implementado em laboratórios de análise de rotina. Com relação ao custo, um ICP OES quando comparado ao FIA além de ter custo mais elevado para a aquisição do equipamento, a operação do mesmo também implica em maior gasto.

4.1. Propostas Futuras

- Estudar outros parâmetros de qualidade para o biodiesel (B100);
- Desenvolver novos modelos de calibração utilizando outras técnicas de seleção de variáveis;
- Aperfeiçoar o processo de digestão de amostras, para biodiesel, visando reduzir o tempo de digestão;
- Digerir amostras de biodiesel de diferentes oleaginosas e realizar medidas no sistema FIA-SD e comparar com os resultados obtidos com o método oficial;
- Automatizar o sistema FIA-SD através do uso de dispositivos de inserção de soluções controlados por microcomputador.

Referências Bibliográficas

- [1] NAIK, S. N.; MEHER, L. C.; VIDYA SAGAR D. Technical aspects of biodiesel production by transesterification - a review, **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.10, p. 248-268, 2006.
- [2] RINALDI, R.; GARCIA, C.; MARCINIUK, L. L.; ROSSI A. V.; SCHUCHARDT, U. **Química Nova**, v. 30, p. 1374-1380, 2007 *apud* LOBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; DA CRUZ, R. S.; Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos, **Química Nova**, v. 32, p. 1596-1608, 2009.
- [3] DEMIRBAS, A. **Energy Conversion and Management**, v.44, p.2093-2109, 2003 *apud* LOBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; DA CRUZ, R. S.; Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos, **Química Nova**, v. 32, p. 1596-1608, 2009.
- [4] LOBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; DA CRUZ, R. S.; Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos, **Química Nova**, v. 32, p. 1596-1608, 2009.
- [5] LIMA, P. C. R. O Biodiesel e a Inclusão Social. *Consultoria Legislativa*, mar. 2004 Brasília-DF. Disponível em:
www2.camara.gov.br/internet/publicacoes/estnottec/tema16/pdf/2004_676_Estudo.pdf >. Acesso em 12 dez. 2009.
- [6] FANGRUI, M.A.; HANNA, M.A.; Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, v.70, p. 1-15, 1999.
- [7] NOGUEIRA, L. A. H; PIKMAN, B. Biodiesel: Novas perspectivas de Sustentabilidade. Informe Conjuntura & Informação, Agência Nacional do Petróleo, Agosto-Outubro, n. 19, p.1-4, 2002. Disponível em:
<http://www.anp.gov.br/doc/informe_ci/CI_n_19.pdf>. Acesso em: 14 ago. 2007.

Referências Bibliográficas

- [8] COSTA, R. A.; Os Biocombustíveis e as Novas Perspectivas para as Empresas de Energia no Brasil. **3º Congresso Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento em petróleo e Gás**, 2005.
- [9] MARQUES, M.V.; DA SILVA, C. F. G.; NACIUK, F. F.; FONTOURA, L. A. M. A química, os processos de obtenção e as especificações do biodiesel, **Analytica**, v.33, p. 72-86, 2008.
- [10] FERREIRA, C.V. **Otimização do processo de produção de biodiesel a partir de óleos de mamona e algodão**.2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco, 2007.
- [11] PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P.; ANDRADE, J.B. Biodiesel: An Overview, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.16, p.1313-1330, 2005.
- [12] Boletim Mensal do Biodiesel - Setembro 2009. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/?pg=11492&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1260798044862>. Acesso em: 14 dez.2009
- [13] ENWEREMADU, C.C.; MBARAWA, M.M. Technical aspects of production and analysis of biodiesel from used cooking oil-A review, **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.13,p. 2205–2224, 2009.
- [14] CRISTINA, M.; Biodiesel: o combustível do futuro. **Ciência em Rede**, v. 1, p.10-23, 2006.
- [15] PARENTE, E. ; Biodiesel: Uma Aventura Tecnológica num País Engraçado. Tecbio, 30 mar. 2003. Disponível em: <http://www.iadb.org/intal/intalcdi/PE/2008/01430.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2009.
- [16] RESOLUÇÃO ANP N°15. ANP- Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 17 jul. 2006 (DOU 19/07/2006). Disponível em:

<http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll?f=templates&fn=default.htm&vid=anp:10.1048/enu>

[17] RESOLUÇÃO ANP Nº07. ANP- Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 19 mar. 2008 (DOU 20/03/2008). Disponível em: [http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2008/mar%C3%A7o/ranp%207%20-%202008.xml?f=templates\\$fn=document-frame.htm\\$3.0\\$q=\\$x=\\$nc=6637](http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2008/mar%C3%A7o/ranp%207%20-%202008.xml?f=templates$fn=document-frame.htm$3.0$q=$x=$nc=6637)

[18] REBOUÇAS, M.V.; BARROS NETO, B. Near infrared spectroscopic prediction of physical properties of aromatic-rich hydrocarbon mixtures. **Journal Near Infrared Spectroscopy**, v.9, p.755-759, 2001.

[19] PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal Brazilian Chemical Society**, v.14, p.198-219, 2003.

[20] PASADAKIS, N.; SOURLIGS, S.; FOTEINOPOULOS, CH. Prediction of the distillation profile and cold properties of diesel fuels using mid-IR spectroscopy and neural networks. **Fuel**, v.85, p.1131-1137, 2006.

[21] BATISTA, P.; FELIZARDO, P.; MENEZES, J.C.; CORREIA, M.J.N. Monitoring the quality of oils for biodiesel production using multivariate near infrared spectroscopy models, **Journal Near Infrared Spectroscopy**, v.16, p. 445-454, 2008.

[22] FELIZARDO, P.; BAPTISTA P.; MENEZES J.C.; CORREIA M.J.N.; Multivariate near infrared spectroscopy models for predicting methanol and water content in biodiesel. **Analytica Chimica Acta**, v. 595, p.107-113, 2007.

[23] PIMENTEL, M. F.; RIBEIRO, G; M.G.S. CRUZ, R. S. DA; STRAGEVITCH L.;FILHO, J. G. A. P.; TEIXEIRA L. S.G. Determination of biodiesel content when blended with mineral diesel fuel using infrared spectroscopy and multivariate calibration, **Microchemical Journal**., v.82, p. 201-206, 2006.

[24] DE LIRA, L. D. B.; DE VASCONCELOS, F. V. C.; PEREIRA C. F.; PAIM, A. P. S.; STRAGEVITCH L.; PIMENTEL, M. F. Prediction of properties of

diesel/biodiesel blends by infrared spectroscopy and multivariate calibration, **Fuel**, v. 89,p.405-409, 2010.

[25] Associação Brasileira de Norma e Técnicas - ABNT NBR 15553 – Determinação dos teores de cálcio, magnésio, sódio, fósforo e potássio por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Rio de Janeiro, 2008.

[26] Associação Brasileira de Norma e Técnicas - ABNT NBR 15556 - Determinação dos teores de sódio, potássio, magnésio e cálcio por espectrometria de absorção atômica, Rio de Janeiro, 2008.

[27] American Society for Test and Materials - ASTM. Annual Book de ASTM Standard,v. 05, D 975 - Specification for Diesel Fuel Oils. West Conshohocken, PA, 2009.

[28] British Standard - BS. European Standard, EN 590 – Automotive Fuels. Diesel. Requirements and test methods,London, 2009.

[29] British Standard - BS. European Standard, EN 14214 – Automotive fuels. Fatty acid methyl esters (FAME) for diesel engines. Requirements and test methods, London, 2009.

[30] American Society for Teste and Materials - ASTM. Annual Book de ASTM Standard, v. 05.04, D 6751 - Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels. American Society for Test and Materials. West Conshohocken, PA, 2009.

[31] KNOTHE G. Some aspects of biodiesel oxidative stability, **Fuel Processing Technology**, v.88, p.669-677, 2007.

[32] LEUNG, D.Y.C.; KOO, B.C.P.; GUO, Y. Degradation of biodiesel under different storage conditions, **Bioresource Technology**, v.97, p. 250-256, 2006.

- [33] DINKOV, R.; HRISTOV, G.; STRATIEV, D.; ALDAYRI, V. B.; Effect of commercially available antioxidants over biodiesel/diesel blends stability, **Fuel**, v. 88, p.732-737, 2009.
- [34] MCCORMICK, R.L.; RATCLIFF, M.; MOENS, L.; LAWRENCE, R. Several factors affecting the stability of biodiesel in standard accelerated tests, **Fuel Processing Technology**, v.88, p. 651-657, 2007.
- [35] BOUAID, A., MARTINEZ, M., ARACIL, J. Long storage stability of biodiesel from vegetable and used frying oils, **Fuel**, v. 86, p. 2596-2602, 2007.
- [36] FERRARI, R.A.; OLIVEIRA, V.S.; SCABIO, A. Oxidative stability of biodiesel from soybean oil fatty acid ethyl esters, **Science Agricultural**, v. 62, p. 291-295, 2005.
- [37] DUNN, R.O. Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel), **Fuel Processing Technology**, v. 86, p. 1071-1085, 2005.
- [38] British Standard - BS. European Standard, EN 14112 – Fat and Oil Derivatives - Fatty Acid Methyl Esters (FAME)-Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test), London, 2003.
- [39] GONZAGA, F.B., PASQUINI, C. A new method for determination of the oxidative stability of edible oils at frying temperatures using near infrared emission spectroscopy, **Analytica Chimica Acta**, v. 570, p.129-135, 2006.
- [40] KNOTHE, G. Analysis of oxidized biodiesel by ^1H -NMR and effect of contact area with air, **European Journal of Lipid Science Technology**, v.108, p. 493-500, 2006.
- [41] REDA, S. Y.; COSTA, B.; SOSSELA, R. Determinação do Índice de Acidez por RMN- ^1H do Biodiesel Etílico de Milho, in: **Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel**, 2, 2007, Distrito Federal. Anais de congresso, Brasília, p.102-102, 2007.

- [42] FELGNER, A.; SCHLINK, R.; KIRSCHENBUHLER, P.; FAAS, B.; ISENGARD, H.D. Automated Karl Fischer titration for liquid samples – Water determination in edible oils, **Food Chemistry**, v.106, p.1379-1384, 2007.
- [43] American Society for Test and Materials - ASTM. Annual Book de ASTM Standard, v.05, D 4052. Standard Test Method for Density and Relative Density of liquids by Digital Density Meter. American Society for Test and Materials, Philadelphia, PA, 1996.
- [44] American Society for Test and Materials - ASTM. Annual Book de ASTM Standard, v.05, D 86. Standard test method for distillation of petroleum products. American Society for Test and Materials, Philadelphia, PA, 2000.
- [45] American Society for Test and Materials – ASTM. Standard test method for sulphur in petroleum and petroleum products by energy dispersive X-Ray fluorescence spectroscopy. v.05, D 4294. American Society for Test and Materials, Philadelphia, PA, 1998.
- [46] American Society for Test and Materials – ASTM. Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis. v.03, E1655. American Society for Test and Materials. West Conshohocken, PA, 2005.
- [47] Associação Brasileira de Norma e Técnicas - ABNT NBR 15568 – Determinação do teor de biodiesel em óleo diesel por espectroscopia na região do infravermelho médio. Rio de Janeiro, 2008.
- [48] BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of Near-Infrared Analysis**. New York, Marcel Dekker, 2001 *apud* VALDERRAMA, P. **Avaliação de figuras de mérito em calibração multivariada na determinação de parâmetros de controle de qualidade em indústria alcooleira por espectroscopia no infravermelho próximo**. 2005. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Instituto de Química. Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

- [49] WORKMAN JR, J. J. Interpretative spectroscopy for near infrared, **Applied Spectroscopy Review**, v.31, p. 251-320, 1996.
- [50] VALDERRAMA, P. **Avaliação de figuras de mérito em calibração multivariada na determinação de parâmetros de controle de qualidade em indústria alcooleira por espectroscopia no infravermelho próximo**. 2005. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Instituto de Química. Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- [51] PEREIRA, A. F. C. **Determinação simultânea de acidez, índice de refração e viscosidade em óleos vegetais usando espectrometria NIR, calibração multivariada e seleção de variáveis**. 2007. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.
- [52] DOS SANTOS, S. R. B. **Um Fotômetro de Fluxo SW-NIR para Análises tipo Screening do Teor de Etanol em Gasolinas Tipo C e Álcool Combustível**, 2004. Tese (Doutorado em Ciências). Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2004.
- [53] SKOOG, D. A.;HOLLER, F.J.;NIEMAN T.A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookmam, 2002.
- [54] COATES, J. A. Review of current new technology: Used in instrumentation for industrial vibrational spectroscopy, **Spectroscopy**, v.14, p. 21-34,1999 *apud* VALDERRAMA, P. **Avaliação de figuras de mérito em calibração multivariada na determinação de parâmetros de controle de qualidade em indústria alcooleira por espectroscopia no infravermelho próximo**. 2005. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Instituto de Química. Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- [55] HONORATO, F. A. **Previsão de propriedades das gasolinas do Nordeste empregando espectroscopia NIR/MIR e transferência de calibração**. 2006. Tese

(Doutorado em Química). Departamento de Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

[56] ELLIS, J.; BATH, J.; Modifications in the Near Infra-Red Absorption Spectra of Protein and of Light and Heavy Water Molecules When Water is Bound to Gelatin. **Journal Chemical Physics**. v. 6, p. 723-729, 1938 *apud* PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal Brazilian Chemical Society**, v.14, p.198-219, 2003.

[57] HART, J.R.; NORRIS, K.H.; GOLUMBIC, C. Determination of the Moisture Content of Seeds by Near-Infrared Spectrophotometry of Their Methanol Extracts. **Cereal Chemistry**, v.39, p. 94-99, 1962 *apud* PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal Brazilian Chemical Society**, v.14, p.198-219, 2003.

[58] BARTHUS, R.C.; POPPI, R. J.; ANDRADE J.C. Determination of total unsaturation in vegetable oil by Fourier Transform Raman spectroscopy and multivariate calibration, **Vibrational Spectroscopy**, v.26, p.99-105, 2001.

[59] SCAFI, S.H.F.; PASQUINI, C.; Identification of counterfeit drugs using near-infrared spectroscopy, **Analyst**, v. 126, p.2218-2224, 2001.

[60] PARISI, A. F.; NOGUEIRAS, L.; PRIETO, H.; On line determination of fuel quality parameters using near-infrared spectrometry with fiber optics and multivariate calibration, **Analytica Chimica Acta**, v.238, p.95-100, 1990.

[61] FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: Calibração multivariada, um tutorial, **Química Nova**, v.22, p.724-731, 1999.

[62] OTTO, M. **Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry**. Nova York: Chichester, Wiley – VCH, 1999.

[63] OLIVEIRA, J.S.; MONTALVÃO R.; DAHER L.; SUAREZ P.A.Z.; RUBIM, J. C. Determination of methyl ester contents in biodiesel blends by FTIR-ATR and FTNIR spectroscopies. **Talanta**, v. 69, p.1278-1284, 2006.

- [64] SOARES, I.P.; REZENDE, T.F.; SILVA, R.C.; CASTRO, E.V.R.; FORTES, I.C.P. Multivariate Calibration by Variable Selection for Blends of Raw Soybean Oil/Biodiesel from Different Sources Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) Spectra Data. **Energy Fuels**, v. 22, p. 2079-2083, 2008.
- [65] 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, p.153-159, 2008.
- [66] ZAGONEL, G.F.; PERALTA-ZAMORA, P.; RAMOS, L.P. Multivariate monitoring of soybean oil ethanolysis by FTIR. **Talanta**, v. 63, p.1021-1025, 2004.
- [67] PONTES, M. J. C.; CORTEZ, J.; GALVÃO, R. K. H.; PASQUINI, C.; COELHO, R. M.; CHIBA, M. K.; ABREU, M. F. B.; MADARI, E. Classification of Brazilian soils by using LIBS and variable selection in the wavelet domain, **Analytica Chimica Acta**, v.642, p.12-18, 2009.
- [68] NAES, T.; ISAKSSON, T.; FEARN, T.; DAVIES, T. **A user-friendly guide to Multivariate Calibration and Classification**, Chichester-UK, NIR Publications, 2002.
- [69] BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics a practical guide**. New York: John Wiley Y Sons, 1998.
- [70] PONTES, M.J.C. **Algoritmo das Projeções Sucessivas para Seleção de Variáveis Espectrais em Problemas de Classificação**. 2009. Tese (Doutorado em Ciências). Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.
- [71] SAVITZKY, A.; GOLAY, M. J. E. Smoothing and differentiation of data by simplified least-squares procedures, **Analytical Chemistry**, v.36, p.1627-1639, 1964

- [72] PONTES, M. J. C. **Classificação de bebidas alcoólicas destiladas e verificação de adulteração usando espectrometria NIR e quimiometria**. PONTES, M.J.C. 2005. Dissertação (Mestrado em Química). Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2005.
- [73] BRERETON, R.G. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry, **Analyst**, v. 125, p.2125-2154, 2000 *apud* HONORATO, F. A. **Previsão de propriedades das gasolinas do Nordeste empregando espectroscopia NIR/MIR e transferência de calibração**. 2006. Tese (Doutorado em Química). Departamento de Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.
- [74] WOLD, S.; SJO"STRO", M.; ERIKSSON, L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics, **Chemometrics and Intelligent Laboratory System**, v.58, p. 109-130,2001.
- [75] GELADI, P.; KOWALSKI B. R. Partial least-squares regression: a tutorial, **Analytica Chimica Acta**, v.186, p. 1-17,1986.
- [76] ESBENSEN, K.H. **Multivariate Data Analysis-in practice**, 5ed.,Aalborg University, Esbjerg, CAMO, 2004.
- [77] LEARDI, R. Genetic algorithms in chemometrics and chemistry: a review, **Journal of Chemometrics**, v.15, p.559-569, 2001.
- [78] FORINA, M.; LANTERI, S.; CASALE, M.; OLIVEROS, M. C. C., Stepwise orthogonalization of predictors in classification and regression techniques: An "old" technique revisited, **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**,v. 87,p.252-261, 2007.
- [79] ARAÚJO, M. C. U.; SALDANHA, T. C. B.; GALVÃO, R. K. H.; YONEYAMA, T.; CHAME, H. C.; VISANI, V. The successive projections algorithm for variable selection in spectroscopy multicomponent analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v.57, p.65-73, 2001.

- [80] NØRGAARD, L.; SAUDLAND, A.; WAGNER, J.; NIELSEN, J. P.; MUNCK, L.; ENGELSEN, S. B. Interval partial least-squares regression (i-PLS): A comparative chemometric study with an example from near infrared spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v.54, p.413-419, 2000.
- [81] GALVÃO, R. K. H.; ARAÚJO, M. C. U.; SILVA, E. C.; JOSÉ, G. E.; SOARES, S. F. C.; PAIVA, H. M., Cross-validation for the selection of spectral variables using the Successive projections algorithm, **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.18, p.1580-1584, 2007.
- [82] DI NEZIO, M.S.; PISTONESI, M.F.; FRAGOSO, W.D.; PONTES, M.J.C.; GOICOECHEA, H.C; ARAUJO, M.C.U.; FERNÁNDEZ BAND, B.S. Successive projections algorithm improving the multivariate simultaneous direct spectrophotometric determination of five phenolic compounds in sea water **Microchemical Journal**, v. 85,p. 194–200, 2007.
- [83] MOREIRA, E. D.; PONTES, M. J. C.; GALVÃO, R. K. H.; ARAÚJO, M. C. U. Near infrared reflectance spectrometry classification of cigarettes using the successive projections algorithm for variable selection. **Talanta**, v. 79,p. 1260–1264, 2009.
- [84] HONORATO, F.A.; GALVÃO, R.K.H.; PIMENTEL, M.F.; DE B. NETO, B.; ARAÚJO, M.C.U. DE CARVALHO, F.R., **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v.76, p. 65 -72, 2005.
- [85] GALVÃO, R.K.H.; PIMENTEL, M.F.; ARAUJO, M.C.U.; YONEYAMA, T.; VISANI, V. Aspects of the successive projections algorithm for variable selection in multivariate calibration applied to plasma emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 443,p. 107–115, 2001.
- [86] HONORATO F. A., NETO, B. B., MARTINS, M. N., GALVÃO, R. K. H., PIMENTEL, M. F., Transferência de Calibração em Métodos Multivariados, **Química Nova**, v. 30, p.1301-1312, 2007.

- [87] PEREIRA, A. F. C.; PONTES, M. J. C.; GAMBARRA NETO, F. F.; SANTOS, S. R. B.; GALVÃO, R. K. H.; ARAÚJO, M. C. U. NIR spectrometric determination of quality parameters in vegetable oils using iPLS and variable selection, **Food Research International**, v. 41,p.341-348,2008.
- [88] BORIN, A.; POPPI, R. J. Application of mid spectroscopy and iPLS for the quantification of contaminants in lubricating oil. **Vibrational Spectroscopy**, v.37, p.27-32, 2005.
- [89] KENNARD, R.W.; STONE, L.A. Computer-aided design of experiments, **Technometrics**, v.11,p.137-148, 1969.
- [90] GALVÃO, R. K. H.; ARAUJO, M. C. U.; JOSÉ, G. E.; PONTES, M. J. C.; SILVA, E. C.; SALDANHA, T. C. B. A method for calibration and validation subset partitioning, **Talanta**, v.67,p. 736-740,2005.
- [91] HONORATO, F.A.; GALVÃO, R.K.H.; PIMENTEL, M.F.; BARROS NETO, B.; ARAÚJO, M.C.U.; CARVALHO, F.R. Robust modelling for multivariate calibration transfer by the successive projections algorithm **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v.76, p.65-72, 2005.
- [92] PEREIRA, C. F. ; PIMENTEL, M. F.; GALVÃO, R. K. H.; HONORATO, F. A.; STRAGEVITCH, L.; MARTINS, M. N. Comparative study of calibration transfer methods for determination of gasoline quality parameters in three different near infrared spectrometers. **Analytica Chimica Acta**, v.1, p.41-47, 2008.
- [93] FEARN, T. Standardization and calibration transfer for near infrared instruments: a review, **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v.9, p.229-244, 2001.
- [94] WANG, Y.; VELTKAMP, D. J.; KOWALSKI, B. R. Multivariate Instrument Standardization, **Analytical Chemistry**, v. 63, p. 2750-2758, 1991.

- [95] KNOTHE G. Determining the Blend Level of Mixtures of Biodiesel with Conventional Diesel Fuel by Fiber-Optic Near-Infrared Spectroscopy and ^1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **Journal American Oil Chemical Society**, v.78, p. 1025-1028, 2001.
- [96] CANTARELLI, M. A.; FUNES, I. G.; MARCHEVSKY, E. J.; CAMIÑA, J. M. Determination of oleic acid in sunflower seeds by infrared spectroscopy and multivariate calibration method, **Talanta**, v. 80, p. 489-492, 2009.
- [97] BAPTISTA, P.; FELIZARDO, P.; MENEZES, J.C.; CORREIA, M.J.N. Multivariate near infrared spectroscopy models for predicting the iodine value, CFPP, kinematic viscosity at 40 °C and density at 15 °C of biodiesel, **Talanta**, v. 77, p. 144-151, 2008.
- [98] KNOTHE, G. Rapid Monitoring of Transesterification and Assessing Biodiesel Fuel Quality by Near-Infrared Spectroscopy Using a Fiber-Optic Probe. **Journal American Chemical Society**, v. 76, p. 795-800, 1999.
- [99] KNOTHE, G. Monitoring a progressing transesterification reaction by fiber-optic near infrared spectroscopy with correlation to H^{-1} nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal American Oil Chemical Society**, v. 77, p. 489 – 493, 2000.
- [100] TREVISAN, M. G.; GARCIA, C. M.; SCHUCHARDT, U.; POPPI, R. J. Evolving factor analysis-based method for correcting monitoring delay in different batch runs for use with PLS: On-line monitoring of a transesterification reaction by ATR-FTIR, **Talanta**, v. 74, p. 971–976, 2008.
- [101] DE OLIVEIRA, I. K.; ROCHA, W. F. DE C.; POPPI, R.J. Application of near infrared spectroscopy and multivariate control charts for monitoring biodiesel blends, **Analytica Chimica Acta**, v. 642, p.217–221, 2009.
- [102] TRIPATHI, M. M.; HASSAN, E. B.M.; YUEH, F.-Y.; SINGH, J.P.; STEELE, P. H.; INGRAM JR, L. L. Reflection–absorption-based near infrared spectroscopy for predicting water content in bio-oil, **Sensors and Actuators B: Chemical**, v.136, p. 20-25, 2009.

- [103] CAMO S.A. Manual do Usuário. UNSCRAMBLER 7.5, Noruega. 1998.
- [104] American Society for Test and Materials – ASTM. Standard Test Method for Distillate Fuel Storage Stability at 43°C (110°F), v.05, D 4625. American Society for Test and Materials, West Conshohocken, PA, 1998.
- [105] American Society for Test and Materials – ASTM. Standard Test Method for Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration, v.05, D 664, Philadelphia, 2007.
- [106] American Society for Test and Materials – ASTM. Standard Test Method for Determination of Water in Petroleum Products, Lubricating Oils, and Additives by Coulometric Karl Fischer Titration, v.05, D6304, Philadelphia, 2008.
- [107] COZZOLINO, D.; MURRAY, I.; CHREE, A.; SCAIFE, J. R. Multivariate determination of free fatty acids and moisture in fish oils by partial least-squares regression and near-infrared spectroscopy, **LWT**, v. 38, p. 821-828, 2005.
- [108] JR, J. W.; WEYER, L. Practical Guide to Interpretive Near-Infrared Spectroscopy, CRC Press, United States, 2007.
- [109] VASCONCELOS, A. F. F.; DANTAS, M. B.; FILHO, M. G. R.; ROSENHAIM, R.; CAVALCANTI, E. H. S.; FILHO, N. R. A.; SINFRÔNIO, F. S. M.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G. Influence of drying processes on oxidative stability of ethyl corn biodiesel by differential scanning calorimetry, **Journal Thermal Analitical Calorimetry**, v.97, p. 657-660, 2009.
- [110] JESUS, A.; SILVA, M. M.; VALE M. G. R. The use of microemulsion for determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry, **Talanta**, v. 74, p. 1378–1384, 2008.
- [111] CURTIUS, A. J.; FRESCURA, V. L. A.; SCHOEMBERGER, A. C.; VECHIATTO, W.W.D.; CHAVES, E. S.; HERRMANN, A. B.; SANTOS, E. J. Simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by axial view

inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.22, p.1-4, 2007.

[112] DE OLIVEIRA, A. P.; VILLA, R. D.; ANTUNES, K. C. P.; DE MAGALHÃES, A., CASTRO E SILVA, E. Determination of sodium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry using dry decomposition for the sample preparation, **Fuel**, v. 88,p. 764–766,2009.

[113] KORN, M. G. A.; SANTOS, D. S.S. dos; WELZ, B.; VALE, M. G. R.; TEIXEIRA, A. P.; LIMA, D. de C.; FERREIRA, S. L. C. Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels - A review. **Talanta**, v.73, p. 1-11. 2007.

[114] ZAKHAROV, Y.A.;MOTYGULLIN, E.K.; GII'MUTDINOV, A.K. Direct determination of phosphorus in vegetables oil by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry, **Journal of Analytical Chemistry**, v.55,p.649-652,2000.

[115] SZYDLOWSKA-CZERNIAK, A.; SZLYK,E. Spectrophotometric determination of total phosphorus in rape seeds and oils at various stages of technological process: calculation of phospholipids and non-hydratable phospholipids contents in rapeseed oil, **Food Chemistry**, v.81,p.613-619,2003.

[116] MOTOMIZU, S.; LI, ZHEN-HAI. Trace and ultratrace analysis methods for the determination of phosphorus by flow-injection techniques, **Talanta**, v.66, p.332-340,2005.

[117] DOS SANTOS, D. C. M. B. **Avaliação de sistemas de preparo de amostras de biodiesel visando determinação de metais e fósforo por ICP OES**. 2008. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2008.

- [118] MONTEIRO, M. R.; AMBROZIN, A. R. P.; LIÃO, L. M.; FERREIRA, A. G. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. **Talanta**, v. 77, p. 593–605, 2008.
- [119] KRUG, F.J. **Métodos de Preparo de amostras**, 1a ed., Piracicaba, F.J.krug, 2008.
- [120] ABU-SAMRA, A.; MORRIS, J. S.; KOIRTYOHANN, S. R. Wet ashing of some biological samples in a microwave oven, **Analytical Chemistry**, v. 47, p. 1475-1477, 1975.
- [121] SANT'ANA, F. W.; SANTELLI, R. E.; CASSELLA , A.R.; CASSELLA, R. J., Optimization of an open-focused microwave oven digestion procedure for determination of metals in diesel oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, **Journal Hazardous Materials** , v. 149, p. 67-74, 2007.
- [122] BOSS, C.B.; FREDEEN, K.J. **Concepts, Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry**, 2ed, USA, Perkin Elmer, 1997.
- [123] RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. Parte I. A new concepts of fast continuous flow analysis, **Analytica Chimica Acta**, v.78, p.145-157, 1975.
- [124] REIS, B.F.; BERGAMIN, H.; Evolução dos injetores de análise química por injeção em fluxo, **Química Nova**, v.16,p.570-573,1993.
- [125] ZAGATTO, E. A. G.; VAN STADEN, J. F.; MANIASSO, N.; STEFAN, R. I.; MARSHALL, G. D. Information essential for characterizing a flow-based analytical system (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 4, p. 585-592, 2002.

- [126] ALMEIDA, L.F. **Um Analisador Fluxo-Batelada com Bomba-Pistão Aplicado à Preparação de Soluções de Calibração e Microemulsões: Determinação de Metais em Água Mineral e Gasolina por GF AAS**. 2007. Tese (Doutorado em Química). Departamento de Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.
- [127] REIS, B.F. Análise Química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento, **Química Nova**, v.19, p. 51-58, 1996.
- [128] <http://www.flowinjection.com/> acessado em 31 de agosto de 2009.
- [129] REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; ZAGATTO, E.A.G.; LIMA, J.L.F.C.; LAPA, R.A., Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests, **Analytica Chimica Acta**, V. 293, p. 129-138 1994.
- [130] ROCHA, F.R.P.; REIS, B.F.; ZAGATTO, E.A.G.; LIMA, J. L.F.C.; LAPA, R. A.S. SANTOS J.L.M. Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends, **Analytica Chimica Acta**, v.468, p.119–131, 2002.
- [131] LAPA, R. A.S. ; LIMA, J.L.F.C. ; REIS, B. F.;, SANTOS, J. L.M.; ZAGATTO, E. A.G. Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities, **Analytica Chimica Acta**, v.466, p. 125–132, 2002.
- [132] LIMA, J.L.F.C.; SANTOS, J.L.M.; DIAS, A.C.B.; RIBEIRO, M.F.T.; ZAGATTO, E.A.G., Multi-pumping flow systems: an automation tool **Talanta**, v.64, p.1091-1098, 2004.
- [133] TZANAVARAS, P. D.; THEMELIS, D.G. Review of recent applications of flow injection spectrophotometry to pharmaceutical analysis, **Analytica Chimica Acta**, v. 588, p. 1–9, 2007.
- [134] RUZICKA, J., HANSEN, E. H. Retro-review of flow-injection analysis, **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, p.390-393, 2008.

- [135] NÓBREGA, J.A.; CAPELATO,M.D.; GAMA,R. Flow Injection amperometric determination of acid-available cyanide: A study de sulfide and tiocyanate and interferences, **Journal Brazilian Chemical society**, v.5,p.91-95,1994.
- [136] CONCEIÇÃO, M., MONTENEGRO, B.S.M., LIMA, J. L. F. C., MATTOS, I. L., NETO,G. O., NETO, J. A. G., ZAGATTO, E.A.G. Development of a tubular periodate electrode for flow-injection determination of glycerol, **Talanta**, v. 40, p. 1563-1568,1993.
- [137] TROJANOWICZ M., MATUSZEWSKI W., SZOSTEK B., MICHAŁOWSKI J. Simultaneous determination of nitrite and nitrate in water using flow-injection biamperometry, **Analytical Chimica Acta**, v. 261, p. 391-398, 1992.
- [138] SARANTONIS, E. G.,TOWNSHEND, A. Flow-injection determination of iron (II), iron (III) and total iron, with chemiluminescence detection, *Analytica Chimica Acta*,v. 184, p. 311-315, 1986.
- [139] MANIASSO, N., JACINTHO, A.O., GINÉ, M. F. Determinação Espectrofotométrica Catalítica de Sulfato em Águas Naturais Empregando Sistemas de Injeção em Fluxo, **Química Nova**, v.18, p. 147-150, 1995.
- [140] Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed, Washington, DC, USA, 1998.
- [141] OLIVEIRA,C. C.; ZAGATTO,E. A. G.; ARAUJO, A. N.; COSTA LIMA, J. Â. L. F. Sample preparation in sequential injection analysis. Spectrophotometric determination of total phosphorus in food samples, **Analytica Chimica Acta**,v. 371,p. 57-62,1998.
- [142] ROCHA, F. R. P.; NÓBREGA, J. A., Efeito Schlieren em sistemas de análise por injeção em fluxo, **Química Nova**, v.19, p.636 - 640,1996.

APÊNDICE A: especificações vigentes para às misturas diesel - biodiesel.

2.1. APARÊNCIA

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 14483	Produtos de Petróleo – Determinação da cor – Método do colorímetro ASTM
ASTM D 1500	ASTM Color of Petroleum Products

2.2. COMPOSIÇÃO

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 14533	Produtos de Petróleo – Determinação do enxofre por espectrometria de fluorescência de Raios X (Energia Dispersiva)
ABNT NBR 14875	Produtos de Petróleo – Determinação do enxofre pelo método da alta temperatura
ASTM D 1552	Sulfur in Petroleum Products (High-Temperature Method)
ASTM D 2622	Sulfur in Petroleum Products by X-Ray Spectrometry
ASTM D 4294	Sulfur in Petroleum Products by Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectroscopy
ASTM D 5453	Total Sulfur in Light Hydrocarbons, Motor Fuels and Oils by Ultraviolet Fluorescence

2.3. VOLATILIDADE

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 7148	Petróleo e Produtos de Petróleo – Determinação da massa específica, densidade relativa e °API – Método do densímetro
ABNT NBR 14598	Produtos de Petróleo – Determinação do Ponto de Fulgor pelo Vaso Fechado Pensky Martens
ABNT NBR 7974	Produtos de Petróleo – Determinação do ponto de fulgor pelo vaso fechado TAG
ABNT NBR 9619	Produtos de Petróleo – Determinação da faixa de destilação
ABNT NBR 14065	Destilados de Petróleo e Óleos Viscosos – Determinação da massa específica e da densidade relativa pelo densímetro digital.

ASTM D 56	Flash Point by Tag Closed Tester
ASTM D 86	Distillation of Petroleum Products
ASTM D 93	Flash Point by Pensky-Martens Closed Cup Tester
ASTM D 1298	Density, Relative Density (Specific Gravity) or API Gravity of Crude Petroleum and Liquid Petroleum Products by Hydrometer Method
ASTM D 3828	Flash Point by Small Scale Closed Tester
ASTM D 4052	Density and Relative Density of Liquids by Digital Density Meter

2.4. FLUIDEZ

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 10441	Produtos de petróleo – Líquidos transparentes e opacos – Determinação da viscosidade cinemática e cálculo da viscosidade dinâmica
ABNT NBR 14747	Óleo Diesel – Determinação do ponto de entupimento de filtro a frio
ASTM D 445	Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and the Calculation of Dynamic Viscosity)
ASTM D 6371	Cold Filter Plugging Point of Diesel and Heating Fuels.

2.5. COMBUSTÃO

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 9842	Produtos de Petróleo – Determinação do Teor de Cinzas
ABNT NBR 14318	Produtos de Petróleo – Determinação do Resíduo de Carbono Ramsbottom
ABNT NBR 14759	Combustíveis Destilados – Índice de Cetano calculado pela equação de quatro variáveis
ASTM D 482	Ash from Petroleum Products
ASTM D 524	Ramsbottom Carbon Residue of Petroleum Products
ASTM D 613	Cetane Number Diesel
ASTM D 4737	Calculated Cetane Index by Four Variable Equation

2.6. CORROSÃO

MÉTODO	TÍTULO
--------	--------

ABNT NBR 14359	Produtos de Petróleo – Determinação da corrosividade – Método da lâmina de cobre
ASTM D 130	Detection of Copper Corrosion from Petroleum Products by the Copper Strip Tarnish Test

2.7. CONTAMINANTES

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 14647	Produtos de Petróleo – Determinação da Água e Sedimentos em Petróleo e Óleos Combustíveis pelo Método de Centrifugação.
ASTM D 1796	Test Method for Water and Sediment in Fuel Oils by the Centrifuge Method (Laboratory Procedure)

2.8. LUBRICIDADE

MÉTODO	TÍTULO
ATM D 6079	Lubricity of Diesel Fuels by the High-Frequency Reciprocating Rig (HFRR)

3. TABELA I – ESPECIFICAÇÃO

CARACTERÍSTICA (1)	UNIDADE	LIMITE		MÉTODO	
		TIPO		ABNT	ASTM
		Metropolitano	Interior		
APARÊNCIA					
Aspecto		Límpido isento de impurezas		Visual (2)	
Cor		-	Vermelho	Visual (2)	
Cor ASTM, máx.		3,0	3,0 (3)	NBR 14483	D 1500
COMPOSIÇÃO					
Teor de Biodiesel,	% vol.	(4)	(4)	Espectrometria de Infra-vermelho	
Enxofre Total, máx.	Mg/kg	500	1.800	NBR14875 - NBR14533 -	D 1552 D 2622 D 4294 D 5453
VOLATILIDADE					
Destilação	°C			NBR 9619	D 86

10% vol., recuperados		Anotar			
50% vol., recuperados, máx.		245,0 a 310,0			
85% vol., recuperados, máx.		360,0	370,0		
90% vol., recuperados		Anotar			
Massa específica a 20°C	kg/m3	820 a 865	820 a 880	NBR 7148, NBR 14065	D 1298 D 4052
Ponto de fulgor, min.	°C	38,0		NBR 7974 NBR 14598 -	D 56 D 93 D 3828
FLUIDEZ					
Viscosidade a 40°C, máx.	(mm2/s) cSt	2,0 a 5,0		NBR 10441	D 445
Ponto de entupimento de filtro a frio	°C	(5)		NBR 14747	D 6371
COMBUSTÃO					
Número de Cetano, mín. (6)	-	42		-	D 613
Resíduo de carbono Ramsbottom no resíduo dos 10% finais da destilação, máx.	% massa	0,25		NBR 14318	D 524
Cinzas, máx.	% massa	0,010		NBR 9842	D 482
CORROSÃO					
Corrosividade ao cobre, 3h a 50°C, máx.	-	1		NBR 14359	D 130
CONTAMINANTES					
Água e Sedimentos, máx.	% volume	0,05		NBR 14647	D 1796
LUBRICIDADE					
Lubricidade, máx.	mícron	460	-		D 6079

(7)					
-----	--	--	--	--	--

(Nota)

(1) Poderão ser incluídas nesta especificação outras características, com seus respectivos limites, para óleo diesel obtido de processo distinto de refino e processamento de gás natural ou a partir de matéria prima que não o petróleo.

(2) A visualização será realizada em proveta de vidro de 1L.

(3) Limite requerido antes da adição do corante. O corante vermelho, segundo especificação constante da Tabela III deste Regulamento Técnico, deverá ser adicionado no teor de 20mg/L pelas Refinarias, Centrais de Matérias Primas Petroquímicas e Importadores.

(4) Adição obrigatória de biodiesel em percentual determinado pela legislação vigente.

(Nota)

(5) Limites conforme Tabela II.

(6) Alternativamente ao ensaio de Número de Cetano fica permitida a determinação do Índice de Cetano calculado pelo método NBR 14759 (ASTM D 4737), cuja especificação fica estabelecida no valor mínimo de 45. Em caso de desacordo de resultados prevalecerá o valor do Número de Cetano.

(7) Até 01.04.2007, data em que deverão estar sanadas as atuais limitações laboratoriais dos Produtores, apenas os óleos diesel que apresentarem teores de enxofre inferiores a 250mg/kg necessitarão ter suas lubricidades determinadas, e informadas à ANP, sem, contudo, comprometer a comercialização dos produtos.

TABELA II – PONTO DE ENTUIMENTO DE FITRO A FRIO

UNIDADES DA FEDERAÇÃO	LIMITE MÁXIMO, °C											
	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
SP – MG – MS	12	12	12	7	3	3	3	3	7	9	9	12
GO/DF – MT – ES – RJ	12	12	12	10	5	5	5	8	8	10	12	12
PR – SC – RS	10	10	7	7	0	0	0	0	0	7	7	10

TABELA III – ESPECIFICAÇÃO DO CORANTE PARA O ÓLEO DIESEL INTERIOR

Característica	Especificação	Método
Aspecto	Líquido	Visual
Color Index	Solvente Red	-
Cor	Vermelho intenso	Visual
Massa Específica a 20°C, kg/m ³	990 a 1020	Picnômetro
Absorvância, 520 a 540nm	0,600 – 0,650	(*)

(*) A Absorbância deve ser determinada em uma solução volumétrica de 20mg/L do corante em tolueno P.A., medida em célula de caminho ótico de 1cm, na faixa especificada para o comprimento de onda.

2.1. APARÊNCIA

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 14483	Produtos de Petróleo – Determinação da cor – Método do colorímetro ASTM
ASTM D 1500	ASTM Color of Petroleum Products

2.2. COMPOSIÇÃO

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 14533	Produtos de Petróleo – Determinação do enxofre por espectrometria de fluorescência de Raios X (Energia Dispersiva)
ABNT NBR 14875	Produtos de Petróleo – Determinação do enxofre pelo método da alta temperatura
ASTM D 1552	Sulfur in Petroleum Products (High-Temperature Method)
ASTM D 2622	Sulfur in Petroleum Products by X-Ray Spectrometry
ASTM D 4294	Sulfur in Petroleum Products by Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectroscopy
ASTM D 5453	Total Sulfur in Light Hydrocarbons, Motor Fuels and Oils by Ultraviolet Fluorescence

2.3. VOLATILIDADE

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 7148	Petróleo e Produtos de Petróleo – Determinação da massa específica, densidade relativa e °API – Método do densímetro
ABNT NBR 14598	Produtos de Petróleo – Determinação do Ponto de Fulgor pelo Vaso Fechado Pensky Martens
ABNT NBR 7974	Produtos de Petróleo – Determinação do ponto de fulgor pelo vaso fechado TAG
ABNT NBR 9619	Produtos de Petróleo – Determinação da faixa de destilação
ABNT NBR 14065	Destilados de Petróleo e Óleos Viscosos – Determinação da massa específica e da densidade relativa pelo densímetro digital.
ASTM D 56	Flash Point by Tag Closed Tester
ASTM D 86	Distillation of Petroleum Products
ASTM D 93	Flash Point by Pensky-Martens Closed Cup Tester
ASTM D 1298	Density, Relative Density (Specific Gravity) or API Gravity of Crude Petroleum and Liquid Petroleum Products by Hydrometer Method
ASTM D 3828	Flash Point by Small Scale Closed Tester

ASTM D 4052	Density and Relative Density of Liquids by Digital Density Meter
-------------	--

2.4. FLUIDEZ

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 10441	Produtos de petróleo – Líquidos transparentes e opacos – Determinação da viscosidade cinemática e cálculo da viscosidade dinâmica
ABNT NBR 14747	Óleo Diesel – Determinação do ponto de entupimento de filtro a frio
ASTM D 445	Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and the Calculation of Dynamic Viscosity)
ASTM D 6371	Cold Filter Plugging Point of Diesel and Heating Fuels.

2.5. COMBUSTÃO

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 9842	Produtos de Petróleo – Determinação do Teor de Cinzas
ABNT NBR 14318	Produtos de Petróleo – Determinação do Resíduo de Carbono Ramsbottom
ABNT NBR 14759	Combustíveis Destilados – Índice de Cetano calculado pela equação de quatro variáveis
ASTM D 482	Ash from Petroleum Products
ASTM D 524	Ramsbottom Carbon Residue of Petroleum Products
ASTM D 613	Cetane Number Diesel
ASTM D 4737	Calculated Cetane Index by Four Variable Equation

2.6. CORROSÃO

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 14359	Produtos de Petróleo – Determinação da corrosividade – Método da lâmina de cobre
ASTM D 130	Detection of Copper Corrosion from Petroleum Products by the Copper Strip Tarnish Test

2.7. CONTAMINANTES

MÉTODO	TÍTULO
ABNT NBR 14647	Produtos de Petróleo – Determinação da Água e Sedimentos em Petróleo e Óleos Combustíveis pelo Método de Centrifugação.
ASTM D 1796	Test Method for Water and Sediment in Fuel Oils by the Centrifuge Method (Laboratory Procedure)

2.8. LUBRICIDADE

MÉTODO	TÍTULO
ATM D 6079	Lubricity of Diesel Fuels by the High-Frequency Reciprocating Rig (HFRR)

3. TABELA I – ESPECIFICAÇÃO

CARACTERÍSTICA (1)	UNIDADE	LIMITE		MÉTODO	
		TIPO		ABNT	ASTM
		Metropolitano	Interior		
APARÊNCIA					
Aspecto		Límpido isento de impurezas		Visual (2)	
Cor		-	Vermelho	Visual (2)	
Cor ASTM, máx.		3,0	3,0 (3)	NBR 14483	D 1500
COMPOSIÇÃO					
Teor de Biodiesel,	% vol.	(4)	(4)	Espectrometria de Infra-vermelho	
Enxofre Total, máx.	Mg/kg	500	1.800	NBR14875 - NBR14533 -	D 1552 D 2622 D 4294 D 5453
VOLATILIDADE					
Destilação	°C			NBR 9619	D 86
10% vol., recuperados		Anotar			
50% vol., recuperados, máx.		245,0 a 310,0			
85% vol., recuperados, máx.		360,0	370,0		
90% vol., recuperados		Anotar			
Massa específica a 20°C	kg/m3	820 a 865	820 a 880	NBR 7148, NBR 14065	D 1298 D 4052
Ponto de fulgor, min.	°C	38,0		NBR 7974 NBR 14598 -	D 56 D 93 D 3828
FLUIDEZ					

Viscosidade a 40°C, máx.	(mm ² /s) cSt	2,0 a 5,0	NBR 10441	D 445
Ponto de entupimento de filtro a frio	°C	(5)	NBR 14747	D 6371
COMBUSTÃO				
Número de Cetano, mín. (6)	-	42	-	D 613
Resíduo de carbono Ramsbottom no resíduo dos 10% finais da destilação, máx.	% massa	0,25	NBR 14318	D 524
Cinzas, máx.	% massa	0,010	NBR 9842	D 482
CORROSÃO				
Corrosividade ao cobre, 3h a 50°C, máx.	-	1	NBR 14359	D 130
CONTAMINANTES				
Água e Sedimentos, máx.	% volume	0,05	NBR 14647	D 1796
LUBRICIDADE				
Lubricidade, máx. (7)	mícron	460	-	D 6079

(Nota)

(1) Poderão ser incluídas nesta especificação outras características, com seus respectivos limites, para óleo diesel obtido de processo distinto de refino e processamento de gás natural ou a partir de matéria prima que não o petróleo.

(2) A visualização será realizada em proveta de vidro de 1L.

(3) Limite requerido antes da adição do corante. O corante vermelho, segundo especificação constante da Tabela III deste Regulamento Técnico, deverá ser adicionado no teor de 20mg/L pelas Refinarias, Centrais de Matérias Primas Petroquímicas e Importadores.

(4) Adição obrigatória de biodiesel em percentual determinado pela legislação vigente.

(Nota)

(5) Limites conforme Tabela II.

(6) Alternativamente ao ensaio de Número de Cetano fica permitida a determinação do Índice de Cetano calculado pelo método NBR 14759 (ASTM D 4737), cuja especificação fica estabelecida no valor mínimo de 45. Em caso de desacordo de resultados prevalecerá o valor do Número de Cetano.

(7) Até 01.04.2007, data em que deverão estar sanadas as atuais limitações laboratoriais dos Produtores, apenas os óleos diesel que apresentarem teores de enxofre inferiores a 250mg/kg necessitarão ter suas lubricidades determinadas, e informadas à ANP, sem, contudo, comprometer a comercialização dos produtos.

TABELA II – PONTO DE ENTUIMENTO DE FITRO A FRIO

UNIDADES DA FEDERAÇÃO	LIMITE MÁXIMO, °C											
	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ

SP – MG – MS	12	12	12	7	3	3	3	3	7	9	9	12
GO/DF – MT – ES – RJ	12	12	12	10	5	5	5	8	8	10	12	12
PR – SC – RS	10	10	7	7	0	0	0	0	0	7	7	10

TABELA III – ESPECIFICAÇÃO DO CORANTE PARA O ÓLEO DIESEL INTERIOR

Característica	Especificação	Método
Aspecto	Líquido	Visual
Color Index	Solvente Red	-
Cor	Vermelho intenso	Visual
Massa Específica a 20°C, kg/m ³	990 a 1020	Picnômetro
Absorvância, 520 a 540nm	0,600 – 0,650	(*)

(*) A Absorvância deve ser determinada em uma solução volumétrica de 20mg/L do corante em tolueno P.A., medida em célula de caminho ótico de 1cm, na faixa especificada para o comprimento de onda.

APÊNDICE B: especificações vigentes para biodiesel puro.

REGULAMENTO TÉCNICO ANP Nº 1/2008

1. Objetivo

Este Regulamento Técnico aplica-se ao biodiesel, de origem nacional ou importada, a ser comercializado em território nacional adicionado na proporção prevista na legislação aplicável ao óleo diesel conforme a especificação em vigor, e em misturas específicas autorizadas pela ANP.

2. Normas Aplicáveis

A determinação das características do biodiesel será feita mediante o emprego das normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), das normas internacionais "American Society for Testing and Materials" (ASTM), da "International Organization for Standardization" (ISO) e do "Comité Européen de Normalisation" (CEN).

Os dados de incerteza, repetitividade e reprodutibilidade fornecidos nos métodos relacionados neste Regulamento devem ser usados somente como guia para aceitação das determinações em duplicata do ensaio e não devem ser considerados como tolerância aplicada aos limites especificados neste Regulamento.

A análise do produto deverá ser realizada em uma amostra representativa do mesmo obtida segundo métodos ABNT NBR 14883 – Petróleo e produtos de petróleo – Amostragem manual ou ASTM D 4057 – Prática para Amostragem de Petróleo e Produtos Líquidos de Petróleo (Practice for Manual Sampling of Petroleum and Petroleum Products) ou ISO 5555 (Animal and vegetable fats and oils – Sampling).

As características constantes da Tabela de Especificação deverão ser determinadas de acordo com a publicação mais recente dos seguintes métodos de ensaio:

2.1. Métodos ABNT

MÉTODO	TÍTULO
NBR 6294	Óleos lubrificantes e aditivos - Determinação de cinza sulfatada
NBR 7148	Petróleo e produtos de petróleo - Determinação da massa específica, densidade relativa e °API - Método do densímetro
NBR 10441	Produtos de petróleo - Líquidos transparentes e opacos - Determinação da viscosidade cinemática e cálculo da viscosidade dinâmica
NBR 14065	Destilados de petróleo e óleos viscosos - Determinação da massa específica e da densidade relativa pelo densímetro digital.
NBR 14359	Produtos de petróleo - Determinação da corrosividade - método da lâmina de cobre
NBR 14448	Produtos de petróleo - Determinação do índice de acidez pelo método de titulação potenciométrica
NBR 14598	Produtos de petróleo - Determinação do Ponto de Fulgor pelo aparelho de vaso fechado Pensky-Martens
NBR 14747	Óleo Diesel - Determinação do ponto de entupimento de filtro a frio
NBR 15341	Biodiesel - Determinação de glicerina livre em biodiesel de mamona por cromatografia em fase gasosa
NBR 15342	Biodiesel - Determinação de monoglicerídeos, diglicerídeos em biodiesel de mamona por cromatografia em fase gasosa
NBR 15343	Biodiesel - Determinação da concentração de metanol e/ou etanol por cromatografia gasosa
NBR 15344	Biodiesel - Determinação de glicerina total e do teor de triglicerídeos em biodiesel de mamona
NBR 15553	Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos/etilícos de ácidos

	graxos - Determinação dos teores de cálcio, magnésio, sódio, fósforo e potássio por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICPOES)
NBR 15554	Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos - Determinação do teor de sódio por espectrometria de absorção atômica
NBR 15555	Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos - Determinação do teor de potássio por espectrometria de absorção atômica
NBR 15556	Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos - Determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio por espectrometria de absorção atômica
NBR 15586	Produtos de petróleo - Determinação de microrresíduo de carbono
NBR 15764	Biodiesel - Determinação do teor total de ésteres por cromatografia em fase gasosa
NBR 15771	Biodiesel - Determinação de glicerina livre - Método Volumétrico

(Nota)

2.2. Métodos ASTM

MÉTODO	TÍTULO
ASTM D93	Flash Point by Pensky-Martens Closed Cup Tester
ASTM D130	Detection of Copper Corrosion from Petroleum Products by the Copper Strip Tarnish Test
ASTM D445	Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and the Calculation of Dynamic Viscosity)
ASTM D613	Cetane Number of Diesel Fuel Oil
ASTM D664	Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration
ASTM D874	Sulfated Ash from Lubricating Oils and Additives
ASTM D1298	Density, Relative Density (Specific Gravity) or API Gravity of Crude Petroleum and Liquid Petroleum Products by Hydrometer
ASTM D4052	Density and Relative Density of Liquids by Digital Density Meter
ASTM D4530	Determination of Carbon Residue (Micro Method)
ASTM D4951	Determination of Additive Elements in Lubricating Oils by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry
ASTM D5453	Total Sulfur in Light Hydrocarbons, Motor Fuels and Oils by Ultraviolet Fluorescence
ASTM D6304	Test Method for Determination of Water in Petroleum Products, Lubricating Oils, and Additives by Coulometric Karl Fisher Titration
ASTM D6371	Cold Filter Plugging Point of Diesel and Heating Fuels
ASTM D6584	Determination of Free and Total Glycerine in Biodiesel Methyl Esters by Gas Chromatography
ASTM	Determination of Ignition Delay and Derived Cetane Number (DCN) of Diesel Fuel

D6890	Oils by Combustion in a Constant Volume Chamber
-------	---

2.3. Métodos EN/ ISO

MÉTODO	TÍTULO
EN 116	Determination of Cold Filter Plugging Point
EN ISO 2160	Petroleum Products – Corrosiveness to copper – Copper strip test
EN ISO 3104	Petroleum Products – Transparent and opaque liquids – Determination of kinematic viscosity and calculation of dynamic viscosity
EN ISO 3675	Crude petroleum and liquid petroleum products – Laboratory determination of density – Hydrometer method
EN ISO 3679	Determination of flash point – Rapid equilibrium closed cup method
EN ISO 3987	Petroleum Products – Lubricating oils and additives – Determination of sulfated ash
EN ISO 5165	Diesel fuels – Determination of the ignition quality of diesel fuels – Cetane engine
EN 10370	Petroleum Products – Determination of carbon residue – Micro Method
EN ISO 12185	Crude petroleum and liquid petroleum products. Oscillating U-tube
EN ISO 12662	Liquid Petroleum Products – Determination of contamination in middle distillates
EN ISO 12937	Petroleum Products – Determination of water – Coulometric Karl Fischer Titration
EN 14103	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents
EN 14104	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of acid value
EN 14105	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of free and total glycerol and mono-, di- and triglyceride content – (Reference Method)
EN 14106	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of free glycerol content
EN 14107	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of phosphorous content by inductively coupled plasma (ICP) emission spectrometry
EN 14108	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of sodium content by atomic absorption spectrometry
EN 14109	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of potassium content by atomic absorption spectrometry
EN 14110	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of methanol content
EN 14111	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of iodine value
EN 14112	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test)
EN 14538	Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of Ca, K, Mg and Na content by optical emission spectral analysis with inductively coupled plasma (ICP-OES)
EN ISO	Petroleum Products – Determination of low sulfur content – Ultraviolet fluorescence

20846	method
EN ISO 20884	Petroleum Products – Determination of sulfur content of automotive fuels – Wavelength- dispersive X-ray fluorescence spectrometry

Tabela I: Especificação do Biodiesel

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	LIMITE	MÉTODO		
			ABNT NBR	ASTM D	EN/ISO
Aspecto	-	LII (1)	-	-	-
Massa específica a 20° C	kg/m³	850-900	7148 14065	1298 4052	EN ISO 3675 - EN ISO 12185
Viscosidade Cinemática a 40°C	Mm²/s	3,0-6,0	10441	445	EN ISO 3104
Teor de Água, máx. (2)	mg/kg	500	-	6304	EN ISO 12937
Contaminação Total, máx.	mg/kg	24	-	-	EN ISO 12662
Ponto de fulgor, mín. (3)	°C	100,0	14598	93	EN ISO 3679
Teor de éster, mín	% massa	96,5	15764	-	EN 14103
Resíduo de carbono (4)	% massa	0,050	15586	4530	-
Cinzas sulfatadas, máx.	% massa	0,020	6294	874	EN ISO 3987
Enxofre total, máx.	mg/kg	50	- -	5453	- EN ISO 20846 EN ISO 20884
Sódio + Potássio, máx.	mg/kg	5	15554 15555 15553 15556	-	EN 14108 EN 14109 EN 14538
Cálcio + Magnésio, máx.	mg/kg	5	15553 15556	-	EN 14538
Fósforo, máx.	mg/kg	10	15553	4951	EN 14107
Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx.	-	1	14359	130	EN ISO 2160
Número de Cetano (5)	-	Anotar	-	613	EN ISO

				6890 (6)	5165
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.	°C	19 (7)	14747	6371	EN 116
Índice de acidez, máx.	mg KOH/g	0,50	14448 -	664 -	- EN 14104 (8)
Glicerol livre, máx.	% massa	0,02	15341 15771 - -	6584 (8) -	- EN 14105 (8) EN 14106 (8)
Glicerol total, máx.	% massa	0,25	15344 -	6584 (8) -	- EN 14105 (10)
Mono, di, triacilglicerol (5)	% massa	Anotar	15342 15344	6584 (8)	- - EN 14105 (8)
Metanol ou Etanol, máx.	% massa	0,20	15343	-	EN 14110
Índice de lodo (5)	g/100g	Anotar	-	-	EN 14111
Estabilidade à oxidação a 110°C, mín.(2)	h	6	-	-	EN 14112 (8)

Nota:

(1) Límpido e isento de impurezas com anotação da temperatura de ensaio.

(2) O limite indicado deve ser atendido na certificação do biodiesel pelo produtor ou importador.

(3) Quando a análise de ponto de fulgor resultar em valor superior a 130°C, fica dispensada a análise de teor de metanol ou etanol.

(4) O resíduo deve ser avaliado em 100% da amostra.

(5) Estas características devem ser analisadas em conjunto com as demais constantes da tabela de especificação a cada trimestre civil. Os resultados devem ser enviados pelo produtor de biodiesel à ANP, tomando uma amostra do biodiesel comercializado no trimestre e, em caso de neste período haver mudança de tipo de matéria-prima, o produtor deverá analisar número de amostras correspondente ao número de tipos de matérias-primas utilizadas.

(6) Poderá ser utilizado como método alternativo o método ASTM D6890 para número de cetano.

(7) O limite máximo de 19°C é válido para as regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Bahia, devendo ser anotado para as demais regiões. O biodiesel poderá ser entregue com temperaturas superiores ao limite supramencionado, caso haja acordo entre as partes envolvidas. Os métodos de análise indicados não podem ser empregados para biodiesel oriundo apenas de mamona.

(8) Os métodos referenciados demandam validação para as matérias-primas não previstas no método e rota de produção etílica.