

Serviço Público Federal Ministério da Educação **Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul** Instituto de Química Programa de Pós Graduação em Química – Mestrado e Doutorado



ESTUDO EM TEMPO REAL DA ABSORÇÃO UV-VIS E FLUORESCÊNCIA DOS FLUORÓFOROS PRESENTES EM ÓLEO VEGETAL E BIODIESEL DE SOJA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E DO PROCESSO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

Juliete Rocha de Lima

Orientador: Prof. Dr. Samuel Leite de Oliveira

Campo Grande - MS

2014



Serviço Público Federal Ministério da Educação **Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul** Instituto de Química Programa de Pós Graduação em Química – Mestrado e Doutorado



ESTUDO EM TEMPO REAL DA ABSORÇÃO UV-VIS E FLUORESCÊNCIA DOS FLUORÓFOROS PRESENTES EM ÓLEO VEGETAL E BIODIESEL DE SOJA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E DO PROCESSO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

Juliete Rocha de Lima

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química – Nível de Mestrado - da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para a obtenção do título de mestre em Química. Área de Concentração: Química.

Orientador: Prof. Dr. Samuel Leite de Oliveira

Campo Grande – MS

2014



Serviço Público Federal Ministério da Educação **Fundação Universidade Federal do Mato Grosso do Sul** Instituto de Química Programa de Pós Graduação em Química – Mestrado e Doutorado



FOLHA DE APROVAÇÃO

Juliete Rocha de Lima

ESTUDO EM TEMPO REAL DA ABSORÇÃO UV-VIS E FLUORESCÊNCIA DOS FLUORÓFOROS PRESENTES EM ÓLEO VEGETAL E BIODIESEL DE SOJA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E DO PROCESSO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

Dissertação de mestrado submetida ao programa de pós-graduação em Química da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Química. Área de Concentração: Química.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Samuel Leite de Oliveira Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Orientador)

Prof. Dr. Amilcar Machulek Junior Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Prof. Dr. Sandro Marcio Lima Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS)

Data de realização: 28 de novembro de 2014.

A meus pais, João Custódio de Lima e Rosangela Rocha de Lima

A Jacqueline, Dominique e Cristóvão

A João Carlos Feliciano Leite, meu companheiro para todas as horas

Dedico.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço a todos que me incentivaram e apoiaram no mestrado;

- A Deus por me dar forças quando achei que não conseguiria continuar;

- Aos meus pais, João e Rosangela pelos valores e ensinamentos transmitidos, e por me apoiaram e incentivaram na vida acadêmica. E por diversas vezes renunciarem a seus sonhos em meu favor;

- Ao meu noivo João Carlos, pelo companheirismo, paciência, compreensão e estímulo, e por me ensinar a ter calma e perseverar;

- Aos meus irmãos Jacqueline, Dominique e Cristóvão, colocados em minha vida para que eu pudesse aprender o valor da família;

 - Ao meu orientador, o professor Samuel Leite de Oliveira. Por todas as conversas de apoio e motivação. Pela orientação, conhecimento, disponibilidade e paciência. E por me ensinar a ter mais esperança;

- A professora Glaucia Braz Alcantara, pelas análises de ¹H RMN e pela disponibilidade em auxiliar na discussão dos resultados;

- Ao colega e amigo de laboratório Keurison Figueredo Magalhães, por toda ajuda com os equipamentos, análises e no tratamento de dados;

A todos os companheiros de laboratório Silvano, Thamires, Ricardo, Cleidson, Agleison,
 Cayo, por toda ajuda, pelas conversas e risadas;

 Aos professores do programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul;

- Ao CNPq, FUNDECT e Capes pelo apoio financeiro.

"Ler fornece ao espírito materiais para o conhecimento, mas só o pensar faz nosso o que lemos."

John Locke

RESUMO

Neste estudo avaliamos em tempo real tanto o efeito da temperatura sobre a absorção UV-Vis e fluorescência de óleo e biodiesel de soja como a influência da reação de transesterificação sobre a absorção UV-Vis e fluorescência do meio reacional. As amostras de óleo e biodiesel de soja foram aquecidas e resfriadas a diferentes temperaturas, revelando uma estreita correlação entre temperatura, viscosidade e fluorescência do meio (óleo vegetal e biodiesel). O monitoramento da absorção UV-Vis e fluorescência durante a transesterificação a diferentes temperaturas iniciais revelou que a intensidade de fluorescência do meio reacional está intimamente ligada a alterações na viscosidade do meio. Os resultados também demonstram que as diferentes temperaturas iniciais influenciam o comportamento da intensidade de fluorescência podem ser úteis no monitoramento da condição térmica do óleo e biodiesel de soja e do processo de transesterificação, fornecendo resultados de forma rápida, simples, precisa e em tempo real.

Palavras chave: Óleo. Biodiesel. Absorção UV-Vis. Fluorescência. Medidas em tempo real. Transesterificação. Viscosidade.

ABSTRACT

We evaluated in real time both the effect of temperature on the UV-Vis absorption and fluorescence of soybean oil and biodiesel as well as the influence of the transesterification reaction on the UV-Vis absorption and fluorescence of the reaction medium. The samples of soybean oil and biodiesel were heated and cooled at different temperatures, showing a close correlation between temperature, viscosity and fluorescence of the medium (vegetable oil and biodiesel). The monitoring of the UV-Vis absorption and fluorescence during the transesterification at different initial temperatures showed that the fluorescence intensity of the reaction medium is closely linked to changes in viscosity of the medium. The results also show that different initial temperatures affected the behavior of the fluorescence intensity as a function of reaction time. In summary, the results point out that analytical methods based on fluorescence measurements can be useful for monitoring the thermal condition of oil and soybean biodiesel and the transesterification process, providing real-time results in a quick, easy, and accurate way.

Keywords: Oil. Biodiesel. Absorption UV-Vis. Fluorescence. Real-time measurements. Transesterification. Viscosity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Participação das matérias-primas na produção de biodiesel (%)17
Figura 2 – Esquema da reação de transesterificação
Figura 3 – Etapas reacionais envolvidas na transesterificação dos triglicerídeos19
Figura 4 – Reação de hidrólise dos ésteres19
Figura 5 – Reação de esterificação
Figura 6 – Mecanismo da reação de craqueamento térmico
Figura 7 – Modos de vibração molecular (X pra dentro e ■ pra fora)26
Figura 8 – Transições eletrônicas durante excitação de uma molécula
Figura 9 – Feixe de radiação atravessando uma amostra
Figura 10 – Diagrama de Jablonski
Figura 11 – Espectrômetro de infravermelho com acessório ATR
Figura 12 - Aparato utilizado nas medidas de Absorção UV-Vis. (a) fonte de luz, (b) fibra
óptica, (c) suporte para cubeta de 0,5 cm contendo amostra, (d) fibra óptica e (e)
espectrômetro portátil
Figura 13 - Aparato experimental utilizado nas medidas de fluorescência. (a) termopar, (b)
LED 380 nm, (c) espectrômetro portátil, (d) fibra óptica tipo Y, (e) balão
contendo amostra e (f) chapa de aquecimento e agitação
Figura 14 – Espectro de absorção no infravermelho médio do óleo e biodiesel de soja37
Figura 15 - Espectros de absorção no infravermelho médio destacando as bandas de absorção
que sofrem modificações em virtude da conversão do óleo vegetal em biodiesel 38
Figura 16 – Espectro de fluorescência do óleo de soja sob excitação em 380 nm em função do
tempo de aquecimento e posterior resfriamento40
Figura 17 - Intensidade de fluorescência em (a) 495 nm e (b) 660 nm do óleo de soja sob
excitação em 380 nm em função do tempo de aquecimento e posterior
resfriamento. A temperatura do óleo de soja em função do tempo é também
exibida41
Figura 18 - Intensidades de fluorescência normalizadas em 495 nm (a) e 660 nm (b) do óleo
de soja em função da temperatura42
Figura 19 - Espectros de absorção UV-Vis (a) e absorbância em 303, 318 e 380 nm em
função do tempo (b) do óleo de soja43

Figura 31 – Imagem do meio reacional em função do tempo de transesterificação do óleo de soja aquecido a 60 °C......55

- Figura 37 Intensidade de fluorescência em 374, 495 e 660 nm das misturas óleo-metanol, biodiesel-metanol, óleo-glicerol e biodiesel-glicerol sob excitação a 380 nm....62

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIOVE	Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANP	Agencia Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis
ASTM	American Society for Testing and Materials
ATR	Attenuated Total Reflectance
CEN	Comité Européen de Normalisation
CH ₃ OH	Álcool Metílico
DSC	Differential Scanning Calorimetry
EN	European Norm
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
FT-NIR	Near Infrared Spectroscopy
FT-MID	Mid Infrared Spectroscopy
FT-Raman	Raman Fourier Transform
GC	Gas Chromatography
GC-FID	Gas Chromatography with Flame Ionization Detector
GPC	Gel Permeation Chromatography
HCl	Ácido Clorídrico
¹ H NMR	¹ H Nuclear Magnetic Resonance
¹ HR-NMR	¹ H High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance
H_2SO_4	Ácido Sulfúrico
H_3PO_4	Ácido Fosfórico
HPLC	High Performance Liquid Chromatograph
ISO	International Organization for Standardization
КОН	Hidróxido de Potássio
LED UV	Ultraviolet Light Emitter Diode
LR-NMR	¹ H Low-Resolution Nuclear Magnetic Resonance
NaOH	Hidróxido de Sódio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de Sódio
PLS	Partial Least Squares
PNPB	Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel
TG	Thermogravimetry

- U-NMR ¹H Unilateral Nuclear Magnetic Resonance
- USDA United States Department of Agriculture
- UV-Vis Ultravioleta-Visível

SUMÁRIO

CAPITULO 1 INTRODUÇÃO	15
CAPITULO 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
 2.1 BIODIESEL 2.2 MATÉRIA-PRIMA 2.3 MÉTODOS DE PRODUÇÃO 2.3.1 TRANSESTERIFICAÇÃO 2.3.2 ESTERIFICAÇÃO 2.3.3 CRAQUEAMENTO TÉRMICO 2.4 ESTADO DA ARTE 2.5 TÉCNICAS ESPECTROSCÓDICAS 	16 16 18 20 20 21
 2.5 TECNICAS ESPECTROSCOPICAS	25 25 26 28
CAPITULO 3 OBJETIVO	31
3.1 OBJETIVO GERAL 3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	31 31
CAPITULO 4 MATERIAIS E MÉTODOS	32
 4.1 PRODUÇÃO DE BIODIESEL 4.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR)	32 POR 32 33 34 EO E 35 35 36
CAPITULO 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
 5.1 ESTUDO DO COMPORTAMENTO DO ÓLEO E BIODIESEL DE SOJA AQUECIMENTO E RESFRIAMENTO	SOB 37 REAL 54
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	65
REFERÊNCIAS	66

CAPITULO 1

INTRODUÇÃO

Desde o fim do século XIX os combustíveis fósseis vêm sendo utilizados como fonte energética em todo o mundo. Contudo, questões sobre o esgotamento das reservas energéticas e a procura por fontes de energia limpa tem tido maior destaque. Discussões têm sido levantadas a respeito de novas fontes de energia renovável, mas mesmo com os avanços tecnológicos nessa área compostos derivados de petróleo continuam sendo usados em larga escala ^[1-3]. A nível mundial consome-se o equivalente a mais de 11 bilhões de toneladas de petróleo por ano. As reservas de petróleo estão desaparecendo a uma taxa de 4 bilhões de toneladas a cada ano, dessa forma estima-se que os depósitos de petróleo serão exauridos por volta de 2052 ^[4].

Nesse contexto a utilização de matéria orgânica desponta como uma opção viável na obtenção de energia. O biodiesel proveniente de matéria prima vegetal e animal representa uma parcela importante dos biocombustíveis. Ele é renovável, pode ser obtido a partir de matéria-prima vasta e diversificada, é menos poluente que o diesel e apresenta propriedades físico-químicas semelhantes ao diesel, o que tem promovido à sua utilização em misturas biodiesel-diesel, dentre outras vantagens^[5,6].

O Brasil possui uma extensa área territorial e um clima tropical em que a luminosidade, temperatura e disponibilidade hídrica favorecem o desenvolvimento das mais diversas plantas capazes de serem utilizadas na produção de energia renovável. Essa grande gama de matéria-prima disponível torna o Brasil um país com grande vantagem energética quando comparado a outros países, que buscam fontes renováveis de energia. Nesse cenário, diversos métodos têm sido investigados buscando otimizar a produção do biodiesel e inúmeras ferramentas analíticas têm sido desenvolvidas visando monitorar as propriedades físico-químicas do biodiesel durante todas as etapas de sua cadeia produtiva (produção, transporte, armazenamento, distribuição e consumo) de uma forma precisa, rápida, robusta e de baixo custo.

CAPITULO 2

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 BIODIESEL

O biodiesel pode ser definido quimicamente de acordo com a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) segundo a resolução de n°7 de 19 de março de 2008 Art.2° como: "um combustível composto de alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou gorduras animais" ^[7].

Também pode ser definido de acordo com a lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, como "biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil" ^[8].

No Brasil foi implantado em 2004 o Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel (PNPB), com o intuito de promover a fusão de fontes de energia renováveis (biocombustíveis) com fontes não renováveis (combustíveis fósseis), e posteriormente a sua comercialização ^[9]. Para utilização do biodiesel, tanto nacional quanto importado, fez-se necessária uma regulamentação técnica da ANP nº 4 de 2012 que afirma: "A determinação das características do biodiesel deverá ser feita mediante o emprego das normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), das normas internacionais da American Society for Testing and Materials (ASTM), da International Organization for Standardization (ISO) e do Comité Européen de Normalisation (CEN)"^[10].

2.2 MATÉRIA-PRIMA

Em todo o mundo diversos estudos têm sido conduzidos quanto aos mais variados tipos de matérias-primas que possam ser utilizadas na produção de biodiesel ^[1-6]. No Brasil, a lista de matérias-primas que podem ser utilizadas para produção de biodiesel é ampla. Sejam elas óleos vegetais ou gordura animal, pura ou residual ^[11]. No grupo das fontes vegetais podem ser incluídas: soja, milho, baga de mamona, polpa do dendê, amêndoa do coco de dendê, amêndoa do coco de babaçu, semente de girassol, caroço de algodão, grão de amendoim, semente de canola, semente de maracujá, polpa de abacate, semente de linhaça, semente de

tomate, nabo forrageiro, dentre outros ^[12]. Entre as gorduras de origem animal, o sebo bovino e de frango, e óleos extraídos de peixes e banha de porco, são alguns dos exemplos ^[12].

Óleos residuais apresentam um grande potencial para obtenção de biodiesel, sejam eles oriundos do processamento doméstico ou comercial. Já existem projetos voltados para a coleta de óleos de fritura em várias partes do Brasil, contribuindo tanto para a produção de biodiesel quanto para a reciclagem dessa matéria-prima ^[13]. Projetos têm sido desenvolvidos a cerca da coleta de óleos nos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e Paraná ^[14-18].

A utilização de uma determinada matéria-prima na produção de biodiesel depende de um estudo detalhado da viabilidade da mesma, isto é, um estudo a respeito da sua abundância, mercado, propriedades como: combustível, teor de óleo, custo de produção, plantio, etc^[19]. No Brasil a maior fonte oleaginosa utilizada na produção de biodiesel é a soja^[20]. Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA do inglês *United States Departamento of Agriculture*), o Brasil se tornou o maior produtor de soja do mundo com 90 milhões de toneladas no primeiro bimestre de 2014, ultrapassando os Estados Unidos que produziu 82 milhões de toneladas nesse mesmo período^[21]. De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE) até fevereiro de 2014, a soja foi responsável por 71% da matéria-prima utilizada na produção de biodiesel, seguida por 24% do sebo bovino, 1% do óleo de algodão e 2% de outras fontes, como ilustra a Figura 1^[22].



Figura 1 – Participação das matérias-primas na produção de biodiesel (%).

Fonte: Dados dispostos pela autora^[22]

2.3 MÉTODOS DE PRODUÇÃO

Cada metodologia adotada na obtenção de biodiesel deve estar adequada à matériaprima a ser utilizada na produção do mesmo. Devido à grande variedade de matéria-prima disponível, diversos estudos vêm sendo realizados com o intuito de aperfeiçoar a produção de biodiesel ^[3-6]. Dentre os métodos mais aplicados na obtenção de biodiesel, podem ser citados a transesterificação, a esterificação e o craqueamento térmico.

2.3.1 TRANSESTERIFICAÇÃO

A transesterificação é uma das metodologias mais utilizadas devido a seu alto rendimento (acima de 90%) a temperaturas baixas e pressão ambiente e por permitir o uso de equipamentos de fácil manuseio e de baixo custo ^[5]. A transesterificação também conhecida como alcoolize, consiste na reação de óleos vegetais ou gorduras animais com alcoóis de cadeia curta na presença de um catalisador ^[23]. A utilização dessa metodologia leva a quebra dos triglicerídeos provenientes do óleo vegetal, gerando o biodiesel que possui menor viscosidade que o seu óleo precursor, propriedade essa que influencia de forma significativa na queima desse biocombustível, pois gera menor teor de resíduos ^[24, 25]. A Figura 2 ilustra a reação de transesterificação:





Fonte: Dados dispostos pela autora.

O mecanismo da transesterificação ocorre através de três reações consecutivas e reversíveis (Figura 3), levando à formação de diglicerídeos e monoglicerídeos como produtos intermediários, e como produto final, glicerol e os ésteres desejados (biodiesel). Para que ocorra o aumento no rendimento dos ésteres é necessário empregar um excesso estequiométrico de álcool ^[23].



Figura 3 - Etapas reacionais envolvidas na transesterificação dos triglicerídeos.

Fonte: Dados dispostos pela autora.

Para potencializar a velocidade da reação é preciso empregar catalisadores, sejam eles ácidos (HCl, H₂SO₄, H₃PO₄), básicos (NaOH, KOH, carbonatos, alcóxidos) ou enzimáticos (lípases) ^[23]. A escolha do catalisador depende da matéria-prima, sendo que alto índice de acidez, por exemplo, requer um catalisador ácido ou enzimático. Por outro lado, o alto rendimento, rapidez na produção e baixo custo apresentado pelos catalisadores básicos faz com que estes sejam os mais utilizados nas indústrias de grande porte, porém a matéria-prima deve apresentar baixa acidez para evitar a formação de sabões ^[26]. Se houver a presença de água no meio reacional pode ocorrer uma reação de hidrólise dos ésteres (saponificação) (Figura 4) ^[23, 26].





Fonte: Dados dispostos pela autora.

A esterificação se processa através da reação de ácidos graxos livres reagindo com alcoóis de cadeia curta em meio catalisado por base ou ácido forte sob elevadas temperaturas. Ácidos fortes são geralmente os mais utilizados como catalisador em escala industrial ^[27]. A reação se processa de forma reversível, havendo formação de água como mostrado na Figura 5.

Figura 5 - Reação de esterificação.



Fonte: Dados dispostos pela autora.

Esta técnica é vista industrialmente como um pré-tratamento para óleos residuais como óleos de fritura, escuma de esgoto, e também para óleos com alto teor de acidez como o óleo de babaçu ^[28]. Como a reação apresenta reversibilidade é necessário utilizar um excesso de álcool para garantir a conversão. Estudos demonstram que a razão molar ácido graxo: álcool deve ser 1:9 para obtenção de melhor rendimento ^[28, 29].

2.3.3 CRAQUEAMENTO TÉRMICO

O craqueamento térmico ou pirólise pode ser definido como a conversão de uma substância de massa molar grande em substâncias menores, por meio do aquecimento a temperaturas elevadas e na presença de catalisador ^[30]. O aquecimento é realizado na ausência de ar ou oxigênio para que as ligações sejam clivadas formando moléculas de menor massa molar ^[24]. O mecanismo dessa reação (Figura 6) é de difícil caracterização devido à variedade de caminhos reacionais e produtos que podem ser obtidos. Essa metodologia tem sido estuda há muitos anos, principalmente em regiões onde há escassez de petróleo, empregando óleo vegetal, ácidos graxos naturais e ésteres de ácidos graxos como matéria-prima ^[25].

Figura 6 - Mecanismo da reação de craqueamento térmico.



Fonte: Dados dispostos pela autora.

Através do craqueamento de óleos vegetais é possível se obter produtos semelhantes àqueles encontrados em combustíveis fósseis. Contudo, apesar de ser uma metodologia bastante eficiente, não é adotada em larga escala devido ao preço elevado e ao baixo rendimento apresentado (< 70%)^[25].

2.4 ESTADO DA ARTE

As mais diversas técnicas têm sido utilizadas na avaliação de biodieseis, seja quanto à produção, estabilidade oxidativa ou adulteração. A procura por técnicas de fácil entendimento, rapidez e baixo custo, gera uma vasta gama de estudos onde os mais variados comportamentos referentes aos biocombustíveis podem ser avaliados. A ANP órgão responsável pela qualificação de biodiesel no Brasil, determina que seja seguida a norma européia (EN 14103) que regulamenta o uso de cromatografia gasosa na avaliação da formação de biodiesel ^[10].

A composição dos óleos vegetais pode ser bastante complexa dependendo da matériaprima, e as técnicas cromatográficas podem ser bastante úteis nesse sentido como é o caso do uso da cromatografia liquida de alta eficiência (HPLC – do inglês *High Performance Liquid Cromatograph*) e da cromatografia gasosa (GC – do inglês *Gas chromatography*). Segundo Shang *et al.* é possível caracterizar ésteres metílicos de ácidos graxos em biodiesel utilizando cromatografia líquida de alta eficiência através da identificação das massas especificas de cada composto, e ainda comparar esta metodologia com outro método também muito utilizado, a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (¹H NMR do inglês ¹H Nuclear Magnetic Resonance) ^[31]. A cinética de transesterificação do óleo de palma em um reator foi estudada por meio da técnica de cromatografia gasosa, sob diferentes temperaturas, mostrando mudanças significativas na concentração dos ésteres metílicos formados em função do tempo e temperatura ^[32]. Além do HPLC outras técnicas cromatográficas merecem destaque na análise de conversão de triglicerídeos em biodiesel: cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (GC-FID do inglês *Gas chromatography with flame ionization detector*) ^[33] e cromatografia de permeação em gel (GPC do inglês *Gel permeation chromatography*) ^[34].

Knothe e colaboradores desenvolveram trabalhos importantes a respeito da composição de óleos e biodiesel utilizando a técnica de ¹H NMR, tanto na identificação de compostos após a transesterificação, como no acompanhamento da conversão de óleo em biodiesel ou na quantificação de compostos ^[35-38]. Cabeça *et al.* monitorou a reação de transesterificação utilizando a técnica de ressonância magnética unilateral (U-NMR do inglês ¹H unilateral nuclear magnetic ressonance) adotando como método padrão as técnicas de ressonância magnética nuclear de hidrogênio com alta resolução (HR-NMR do inglês ¹H high-resolution nuclear magnetic resonance) e baixa resolução (LR-NMR do inglês ¹H low-resolution nuclear magnetic resonance), sendo que a técnica unilateral mostrou-se uma técnica rápida, portátil e barata para o monitoramento *on-line* da produção de biodiesel ^[39].

A viscosidade também pode ser utilizada para avaliar a conversão de óleo em biodiesel ^[33]. Filippis e colaboradores relataram a possibilidade de medir o teor de ésteres formados à medida que a reação se processa a partir do monitoramento do comportamento da viscosidade do meio correlacionado a dados de cromatografia gasosa, pois com o aumento da formação de ésteres a viscosidade do meio diminui ^[33].

Medidas de viscosidade também são úteis na análise de misturas diesel-biodiesel. Tat *et al.* correlacionou diferentes porcentagens de diesel e biodiesel, e mediu a viscosidade em função de temperaturas de 20 à 100°C, mostrando que com a maior adição de diesel foi observada a diminuição da viscosidade no meio e que as análises em duplicata são facilmente reprodutíveis, e mesmo que não desenvolvido nesse trabalho é mostrada a possibilidade de aplicação do monitoramento *in situ* ^[40]. Caires *et al.* utilizou as alterações na viscosidade para explicar o comportamento da intensidade de fluorescência em misturas biodiesel-diesel, onde a viscosidade apresenta um comportamento linear com o aumento da concentração de biodiesel (B) nas misturas de B0 a B100, diferente da intensidade de fluorescência que após B70 apresenta uma queda, mostrando assim não se pode explicar o comportamento das

misturas levando em conta apenas a absorbância, mas também a viscosidade do meio e assumindo que os fluoróforos são rotores moleculares ^[41].

Por sua vez, Ellis *et al.* monitorou a transesterificação usando um viscosímetro *in situ*, onde a viabilidade desse método para acompanhar a reação do início ao fim foi demonstrada, mostrando que essa técnica pode ser utilizada a nível industrial em reatores de produção de biodiesel ^[42].

Técnicas para avaliar a estabilidade de óleos e seus respectivos biodieseis também são importantes, pois tal parâmetro se apresenta como um dos fatores determinantes da qualidade desses produtos. O teste Rancimat é a técnica recomendada para avaliação da estabilidade oxidativa de biodieseis. Segundo a regulamentação da ANP n°7 de 19/03/2008, a estabilidade oxidativa é definida como a resistência de um óleo a oxidação sob condições definidas ^[7]. Sendo utilizada a metodologia EN 14112 que define um período de análise do biodiesel no Rancimat de 6 horas a 110°C.

Algumas técnicas de análise térmica também podem ser utilizadas com o intuito de avaliar a estabilidade térmica do biodiesel assim como a sua propensão a oxidação. Dentre elas se destacam a Termogravimetria (TG – do inglês *Thermogravimetry*)^[43] e a Calorimetria exploratória diferencial (DSC – do inglês *Differential Scanning Calorimetry*)^[44].

A técnica de termogravimetria foi utilizada para avaliar a oxidação de óleo de peixe ^[43]. Na termogravimetria a avaliação é realizada em função da perda de massa da amostra (em forma de compostos voláteis) à medida que a temperatura é elevada, sendo obtida uma curva de decomposição térmica (curva de TG). Através dessa curva é possível avaliar a decomposição térmica, determinar umidade, a composição de cinzas, volatilidade e a cinética das reações voláteis. As curvas de TG obtidas demonstraram que a decomposição do óleo de peixe ocorre a aproximadamente 200°C, o que pode ser considerado sinal de controle eficiente da temperatura de degradação, pois se assemelha a temperaturas de decomposição de outros óleos conhecidos como canola e milho ^[43].

Por sua vez, a técnica de calorimetria exploratória diferencial foi empregada para avaliar a oxidação de biodiesel de milho armazenado sob longos períodos ^[44]. É uma técnica na qual se mede a diferença de energia entre a amostra e um material de referência em função da temperatura, esta previamente programada. Processos endotérmicos e exotérmicos, ou ainda mudanças na capacidade calorífica, podem ser avaliados por meio desta técnica. Ademais, compostos intermediários de oxidação podem ser identificados a partir da verificação do número de etapas caracterizadas por alterações na curva de DSC ^[44].

Outro conjunto de técnicas que vem ganhando destaque são as técnicas ópticas dentre elas podem ser citadas: espectroscopia no infravermelho ^[45-48], Raman ^[49], espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível ^[50]. São técnicas que devido à robustez, precisão, facilidade de operação e aplicabilidade tanto em laboratório quanto em ambientes remotos têm sido utilizadas em vários estudos tais como avaliação da conversão de óleo em biodiesel ^[51], no estudo da degradação do biodiesel ^[52] ou em análises do teor de biodiesel em diesel ^[53, 54].

Yuan et al. monitorou em tempo real a reação de transesterificação do óleo de canola em função da quantidade de catalisador e álcool utilizando a técnica espectroscópica de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR – do inglês Fourier Transform Infrared Spectroscopy), empregando um equipamento que permitiu monitorar tanto a região do infravermelho médio quanto a faixa do infravermelho próximo ^[45]. Knothe desenvolveu estudos utilizando a espectroscopia de absorção no infravermelho próximo, nos quais monitorou o processo reacional de produção de biodiesel ^[35, 46]. Os espectros de absorção foram obtidos utilizando uma fibra óptica acoplada a um espectrômetro, possibilitando a identificação em tempo real da evolução das bandas características dos compostos envolvidos como resultado do avanço da reação ^[35, 46]. Oliveira et al. determinou o teor de ésteres metílicos nas blendas biodiesel-diesel a partir dos espectros de FT-NIR (infravermelho próximo do inglês - Near Infrared Spectroscopy) e FT-IR (com acessório ATR - do inglês Attenuated Total Reflectance) associados a técnicas quimiométricas ^[48]. A espectroscopia de infravermelho médio (FT-MID do inglês - Mid Infrared Spectroscopy) tem sido bem sucedida no acompanhamento da conversão de óleo em biodiesel assim como na análise de quantificação de biodiesel em misturas biodiesel-diesel, monitorando-se a absorção próxima a 1746 cm⁻¹ referente à vibração molecular da ligação C=O^[48, 51].

A técnica de espectroscopia Raman associada à transformada de Fourier foi empregada no monitoramento e quantificação de biodiesel produzido através da transesterificação envolvendo óleo de soja e etanol ^[49]. A espetroscopia FT-Raman (do inglês – *Raman Fourier Transform*) foi associada a modelos de calibração PLS (do inglês – *Partial Least Squares*). Além disso, demonstrou-se uma relação linear entre os dados de FT-Raman e de RMN ¹H ^[49].

Voight relatou que a espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível (UV-Vis) pode ser utilizada para avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel produzido a partir de óleo de fritura quanto à formação de peróxidos mediante o monitoramento da absorbância em 247 nm, região característica de produtos de termoxidação ^[50].

Insausti et al. empregou espectroscopia de fluorescência sincronizada em tempo real aliada a modelos quimiométricos para avaliar parâmetros tais como: percentual de ésteres metílicos, número de cetano, calor de combustão total e coloração em diferentes misturas de diesel-biodiesel^[55]. Chimenez *et al.* mostrou a viabilidade do uso da espectroscopia de fluorescência UV-Vis para monitorar a conversão de óleo vegetal em biodiesel a partir da comparação da intensidade de fluorescência do biodiesel e do seu respectivo óleo ^[51]. Scherer et al. demonstrou que a espectroscopia de fluorescência pode ser empregada em análises in loco para determinação do teor de biodiesel em misturas de biodiesel-diesel utilizando um sistema portátil, podendo ser uma alternativa eficiente frente a outras técnicas espectroscópicas devido a sua maior praticidade e sensibilidade ^[53]. Caires *et al.* demonstrou a possibilidade de quantificar biodiesel a partir de misturas biodiesel-diesel empregando a espectroscopia de fluorescência independente da matéria-prima utilizada na produção dos biodieseis, pois a intensidade de fluorescência entre as misturas foi similar^[54]. Magalhães e colaboradores têm realizado estudos a cerca da oxidação e dos compostos formados pela exposição do biodiesel por tempo prolongado a altas temperaturas e altas concentrações de oxigênio, utilizando espectroscopia de fluorescência^[52].

2.5 TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS

2.5.1 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO

A técnica de espectroscopia de absorção no infravermelho médio (4000 e 400 cm⁻¹) é o método espectroscópico mais comumente usado na análise e identificação de compostos, devido a seu fácil manuseio, rapidez e sensibilidade ^[56, 57]. A radiação no infravermelho médio não possui energia suficiente para que ocorram transições eletrônicas, dessa forma os átomos e moléculas apenas vibram ao redor das ligações, sejam elas saturadas ou insaturadas ^[56, 57]. Quando as vibrações moleculares acabam resultando na alteração do momento de dipolo, podem ser induzidas transições entre os níveis vibracionais, causando variação na distribuição eletrônica entorno das ligações ^[56, 57]. Sendo assim, a frequência específica de vibrações moleculares podem ser classificadas em duas componentes de vibração: deformação axial (estiramento) ou deformação angular (dobramento), como mostrado na Figura 7 ^[57, 58].



Figura 7 – Modos de vibração molecular (X pra dentro e ■ pra fora).

Fonte: Dados dispostos pela autora.

Quando o espectro de infravermelho é obtido, o que se observa são bandas referentes a vibrações moleculares. A intensidade das bandas pode ser dada por transmitância ou absorbância em função do número de onda (cm⁻¹). A partir das bandas identificam-se os grupos funcionais mais prováveis examinando cada região espectral de absorção desses grupos e posteriormente segue-se uma análise mais detalhada do espectro ^[57]. Vale lembrar que alterações pequenas nas moléculas de interesse podem mudar a região de absorção no espectro ^[57].

2.5.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO UV-VIS

A espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (190-800 nm) é uma técnica bastante utilizada na caracterização de diversos compostos, sejam eles inorgânicos, orgânicos ou biológicos ^[59].

Quando é incidida radiação em um material as moléculas contidas no mesmo podem absorver a energia ou espalhá-la, irá depender do tipo de material. Quando a energia é absorvida os elétrons são excitados de um nível de mais baixa energia a um nível de mais alta energia ^[56, 57]. As transições observadas que resultam em absorção de radiação na faixa UV-

Vis ocorrem entre níveis de energia eletrônicos ^[57]. Diferenças energéticas entre níveis eletrônicos variam de 125 a 650 KJ/mol na maioria das moléculas ^[58, 57].

Na Figura 8 estão representados os níveis de energia dos orbitais ligantes (σ ou π), antiligantes (σ^* ou π^*) e não-ligantes (η), assim como suas transições eletrônicas. Para a formação de uma ligação química dois orbitais moleculares devem ser formados, um ligante e outro antiligante. Transições que necessitam de menor energia são aquelas que ocorrem com maior probabilidade, como é caso das transições ($\eta \rightarrow \pi^*$) e ($\pi \rightarrow \pi^*$), sendo que essa última tem maior probabilidade de ocorrer que a anterior devido ao entrelaçamento dos orbitais $\pi^{[57, 58]}$.



Figura 8 – Transições eletrônicas durante excitação de uma molécula.

Fonte: Adaptado pela autora^[59].

Quanto maior a quantidade de moléculas capazes de absorver luz em um determinado comprimento de onda, maior será a absorção ^[56]. Segundo a lei de Lambert-Beer a absorção de energia está correlacionada à concentração das moléculas absorvedoras e ao caminho onde ocorre a absorção ^[57, 58]. Quanto maior a concentração de analito em um caminho fixo, maior será o número de grupos absorvedores, ou seja, mais forte será a absorção. A absorção também será maior se a concentração de analito for fixa e o comprimento do caminho óptico for mais longo. Na Figura 9 é indicada a incidência de um feixe de radiação (I_0), a radiação transmitida (I), o caminho óptico percorrido (b) contendo o analito de concentração (c). A Equação (1) relaciona a transmitância (T) com a radiação incidida e a transmitida. Pode-se fazer uma correlação com a Absorbância (A) de forma logarítmica, que demonstra a diminuição da transmitância com o aumento da absorbância como mostrado na Equação (2).

Figura 9 - Feixe de radiação atravessando uma amostra.



Fonte: Dados dispostos pela autora

$$T = I/I_0 \tag{1}$$

$$A = -\log T = \log I_0 / I \tag{2}$$

A absorbância pode ser descrita, segundo a lei de Lambert-Beer, como proporcional a concentração do meio e ao caminho óptico, como expresso na Equação (3), onde (*a*) corresponde à constante de absortividade que depende da substância e do caminho óptico, e que pode também ser chamada de absortividade molar (ϵ) se a concentração for expressa em L.mol⁻¹ ou M⁻¹ e o caminho óptico em cm⁻¹ como na Equação (4)

$$A = abc \tag{3}$$

$$A = \epsilon b c \tag{4}$$

2.5.3 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA UV-VIS

A luminescência molecular é definida como a emissão de luz proveniente de determinadas moléculas, e pode ocorrer quando se tem estados eletronicamente excitados ^[60]. Pode ser dividida em duas categorias dependendo da natureza do estado excitado: fluorescência ou fosforescência. Na fluorescência o elétron no estado excitado mantém sua

orientação original (estado singleto) e na fosforescência a orientação do elétron promovido ao estado excitado é invertida (estado tripleto)^[60].

No fenômeno da fluorescência, átomos e moléculas após absorverem radiação, retornam após um intervalo de tempo para o seu estado fundamental, liberando a energia absorvida na forma de radiação eletromagnética ^[59, 60]. Este processo é mais provável quando envolve estados singletos, consequentemente tais transições ocorrem mais rapidamente $(10^{-9} - 10^{-7} \text{ s})$ do que aquelas observadas quando estados tripletos são envolvidos $(10^{-3} - 10^2 \text{ s})^{[62]}$. Para entender melhor os processos de absorção e emissão de luz geralmente é utilizado um diagrama de Jablonski (Figura 10). Com esse diagrama é possível entender as transições moleculares que podem ocorrer.



Fonte: Adaptado pela autora [62].

No diagrama são mostrados o estado fundamental S_0 , os estados singletos S_1 e S_2 , e os estados tripletos $T_1, ..., T_n$. O processo de retorno dos elétrons pode ocorrer tanto de forma radiativa como não radiativa ^[60]. Com algumas exceções, os processos de conversão interna são os que ocorrem mais comumente, pois envolvem a passagem da molécula de um estado de mais alta energia para outro de menor energia, em uma escala de tempo de 10^{-12} s ^[59]. Tempos de vida de fluorescência são tipicamente curtos, próximo a 10^{-8} s, sendo a etapa de conversão interna finita antes da emissão ^[60]. Ainda por conversão interna podem ocorrer decaimentos não radiativos até o estado fundamental, em tempos que variam de 10^{-12} s a 10^{-6} s ^[60].

Os espectros de emissão obtidos correlacionam a intensidade de fluorescência com o comprimento de onda de emissão. A fluorescência é uma técnica bastante seletiva, possui uma grande faixa de concentração do fluoróforo em que as medidas de intensidade mantêm um comportamento linear, fator que favorece a sua utilização, contudo apenas compostos específicos fluorescem, o que delimita a técnica ^[60].

CAPITULO 3

OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a absorção e fluorescência do óleo e biodiesel de soja em função da temperatura e avaliar o comportamento espectroscópico dos cromóforos e fluoróforos presentes no óleo e biodiesel durante a reação de transesterificação.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Avaliar os efeitos da exposição de óleo e biodiesel de soja sob a ação de diferentes temperaturas por tempo prolongado através da absorção e fluorescência UV-Vis.

- Monitorar a conversão de óleo em biodiesel em tempo real mudando o parâmetro de temperatura inicial, de modo a avaliar o seu comportamento através das técnicas espectroscópicas de fluorescência e absorção UV-Vis.

CAPITULO 4

MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PRODUÇÃO DE BIODIESEL

A partir dos óleos de soja (LIZA[®]) foram obtidas as amostras de biodiesel de soja, via reação de transesterificação utilizando rota metílica ^[51]. Hidróxido de sódio (NaOH), utilizado como catalisador, foi dissolvido em metanol (CH₃OH) sob agitação a temperatura ambiente. Essa solução foi posteriormente adicionada ao óleo previamente aquecido a 60°C e mantida sob essa temperatura e agitação por 60 minutos. Após 24 horas de decantação a fase inferior contendo glicerina, catalisador e resíduos foi retirada. Em seguida a fase remanescente contendo os ésteres metílicos foi rotaevaporada e submetida à lavagem com água para remoção de resíduos e metanol. E por fim, o biodiesel foi filtrado com papel de filtro qualitativo na presença de sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) para retirada da água remanescente. O biodiesel foi armazenado em frascos âmbar e conservado ao abrigo da luz.

4.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR)

As análises de absorção no infravermelho médio foram realizadas em um espectrofotômetro por transformada de Fourier (*Spectrum 100, Perkin Elmer*) no intervalo de 600 a 4000 cm⁻¹ com uma resolução de 4 cm⁻¹. Foi utilizado um acessório de reflectância total atenuada com janela de seleneto de germânio (GeSe), como mostrado na Figura 11. Espectros foram obtidos, com o intuito de avaliar a conversão do óleo em biodiesel. Para análise dos espectros quanto a conversão de óleo em biodiesel deve-se observar a variação na posição da banda em torno de 1742 cm⁻¹, que está associada a deformação axial de C=O. Comparando-se o óleo e seu respectivo biodiesel é esperado um deslocamento para números de onda menores, o que confirma a eficiência da conversão em biodiesel ^[51,54].



Figura 11 - Espectrômetro de infravermelho com acessório ATR.

Fonte: Da própria autora

4.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO UV-VIS

O aparato experimental montado para obtenção dos espectros de absorção UV-Vis teve como componentes uma fonte de lâmpada pulsada de xenônio (*PX-2 Ocean Optics*), fibras ópticas (*Ocean Optics*) de 600 µm de diâmetro e 2 metros de comprimento dispostas de forma a conduzir a radiação até a amostra e o espectrômetro. Um espectrômetro portátil (*USB4000 Ocean Optics*) foi usado para detecção da radiação emitida pela amostra na faixa entre 220 e 1000 nm. Para acomodar a amostra foi utilizada uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 0,5 mm (*Precision Cells*) e um suporte para cubeta. Na Figura 12 é possível observar a disposição do aparato para realização do experimento. As amostras foram coletadas para realização das análises e em seguida seus espectros salvos. Esse procedimento foi o mesmo realizado tanto para o experimento de aquecimento e resfriamento do óleo e biodiesel, como para o experimento da transesterificação.

Figura 12 – Aparato utilizado nas medidas de Absorção UV-Vis. (a) fonte de luz, (b) fibra óptica, (c) suporte para cubeta de 0,5 cm contendo amostra, (d) fibra óptica e (e) espectrômetro portátil.



Fonte: Da própria autora.

4.4 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

Para as análises de fluorescência molecular, foi utilizada uma fonte de excitação contínua LED UV (do inglês *Ultraviolet light emitter diode*) de 380 nm (*LS-450 Ocean Optics*), uma fibra óptica Y de reflexão de 400 µm de diâmetro (*Ocean Optics*) alocada de forma a conduzir a radiação até a amostra por 6 fibras periféricas e coletar a emissão por uma fibra central. Um espectrômetro portátil (*USB4000, Ocean Optics*) foi usado para detecção de faixa 350 – 1100 nm. O aparato foi disposto como mostra a Figura 13.

Figura 13 – Aparato experimental utilizado nas medidas de fluorescência. (a) termopar, (b) LED 380 nm, (c) espectrômetro portátil, (d) fibra óptica tipo Y, (e) balão contendo amostra e (f) chapa de aquecimento e agitação.



Fonte: Da própria autora

4.4.1 MONITORAMENTO DO AQUECIMENTO E RESFRIAMENTO DO ÓLEO E BIODIESEL

As medidas de aquecimento e resfriamento das amostras de óleo e biodiesel de soja foram realizadas por aproximadamente 18 horas sob agitação constante e temperatura variável controlada por um termopar. Inicialmente a amostra (biodiesel ou soja) foi mantida sob agitação a temperatura ambiente até alcançar a temperatura de 30°C (temperatura elevada devido ao calor gerado pela agitação da chapa) depois de estabilizada manteve-se agitação por 1h. Após esse tempo o aquecimento da chapa foi acionado e a temperatura elevada até 40°C e mantida constante por 1h. O mesmo foi repetido para as temperaturas de 60 e 80°C.

Na ultima etapa do aquecimento, o processo de resfriamento foi iniciado com a redução da temperatura de 80°C para 60°C, mantida por 1h depois de estável. Ao fim desse tempo a temperatura foi reduzida novamente, agora de 60°C para 40°C e assim mantida por 1h. Em seguida a chapa foi desligada para que a última temperatura de 30°C fosse alcançada, e posteriormente, mantida durante 1h como as demais.

A análise procedeu de forma contínua, onde espectros de fluorescência das amostras foram automaticamente coletados a cada minuto devido à prévia programação. Os experimentos foram realizados em duplicata. Todas as medidas foram realizadas com a mesma quantidade de amostra e os espectros obtidos utilizando o software Spectra Suite.

4.4.2 MONITORAMENTO DA TRANSESTERIFICAÇÃO

A reação de transesterificação foi realizada sob quatro diferentes temperaturas (30, 40, 60 e 80°C) e monitorada por 100 minutos. Nos 10 minutos iniciais verificou-se a estabilização da temperatura do óleo e nos 90 minutos seguintes a reação de fato é iniciada com a adição da mistura de metanol e hidróxido de sódio. A temperatura foi monitorada utilizando um termopar a cada 5 minutos. Os experimentos foram realizados em duplicata. Todas as medidas foram realizadas com a mesma quantidade de amostra e os espectros obtidos utilizando o software Spectra Suite.
4.5 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Utilizou-se um espectrômetro de ressonância magnética nuclear (*Bruker DPX-300*), operando a 300 MHz para a frequência do ¹H, com magneto de 7,05 Tesla e sonda de detecção dual ¹H/¹³C. No preparo da amostra foram utilizados tubos de 5 mm de diâmetro para 300 μ L de óleo ou biodiesel, dissolvido em 200 μ L de clorofórmio deuterado (solvente) e vapor de tetrametilsilano (referência interna). As análises foram realizadas logo após o preparo das amostras.

CAPITULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO DO COMPORTAMENTO DO ÓLEO E BIODIESEL DE SOJA SOB AQUECIMENTO E RESFRIAMENTO EM TEMPO REAL

A Figura 14 mostra o espectro de absorção no infravermelho médio do óleo de soja e seu respectivo biodiesel. Essa técnica é uma das mais utilizadas para confirmação da conversão de óleo em biodiesel ^[48, 51], por fornecer resultados de forma rápida, ser um método não destrutivo e de fácil operação e apresentar custo relativamente baixo ^[61, 62].



Figura 14 – Espectro de absorção no infravermelho médio do óleo e biodiesel de soja.

Diversas regiões do espectro de infravermelho podem ser analisadas quanto às vibrações específicas de cada ligação química das moléculas que compõem as amostras. A variação na posição da banda de absorção associada ao estiramento dos grupos carbonila (C=O) que no óleo se encontra em 1745 cm⁻¹ e no biodiesel em 1742 cm⁻¹ tem sido utilizada como indicador da conversão do óleo em biodiesel ^[48, 51]. Esta região aparece em destaque na Figura 15. A região espectral entre 1500 e 650 cm⁻¹ também tem sido utilizada no monitoramento da conversão óleo-biodiesel, sendo denominada "região de impressão digital" (Figura 15). Nessa faixa podem ser observados o surgimento e desaparecimento de bandas a

medida que a reação se processa, assim como uma melhor definição das bandas de absorção do biodiesel em relação ao óleo e o deslocamento para números de onda maiores ^[63, 64]. A identificação dos picos referentes a essa região estão dispostos na Tabela 1, quanto ao número de onda, grupo funcional e modo de vibração. Dentre eles, pode-se destacar o deslocamento do pico em 1161 para 1170 cm⁻¹, referente à banda C-O dos ésteres, acompanhada por diminuição da intensidade. A região de 1300-1050 cm⁻¹ é característica de estiramentos saturados C-O. Outra banda que surge situa-se em 1435 cm⁻¹, referente ao grupo C-H olefínico dos ésteres insaturados formados ^[63, 64]. Vale destacar que os espectros não indicam uma presença significativa de grupos OH nas amostras investigadas uma vez que não foi detectada qualquer banda de absorção na faixa entre 3300 e 2500 cm⁻¹ referente a ácidos graxos ou água ^[57, 65].

Figura 15 – Espectros de absorção no infravermelho médio destacando as bandas de absorção que sofrem modificações em virtude da conversão do óleo vegetal em biodiesel.



Fonte: Da própria autora.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo Funcional	Modo de Vibração
1464	-C-H (CH ₂ , CH ₃)	Dobra tesoura (scissoring)
1435	-C-H (CH ₂ , CH ₃)	Dobra assimétrica
1377	-CH ₃	Dobra simétrica
1245	-C-O	Estiramento assimétrico
1198	O-CH ₃	Estiramento
1170	C-0	Estiramento
1119	C-O e C-C	Estiramento
1097	C-O-C	Estiramento assimétrico
1015	O-C-C	Estiramento
91/	C-H	Dobra
721	HC=CH (cis)	Dobra assimétrica (rocking)

Tabela 1 – Números de onda, grupos funcionais e modo de vibração associados ao espectro de absorção no infravermelho médio do óleo e biodiesel de soja apresentado na Figura 14.

Fonte: Dados adaptados pela autora [18, 48, 57, 66].

Após a verificação da conversão de óleo em biodiesel foram realizadas as medidas de fluorescência, tanto do óleo como do biodiesel de soja em função do tempo e temperatura de aquecimento. Na Figura 16, é mostrado o espectro de fluorescência do óleo de soja aquecido e resfriado. São observadas duas bandas, uma com máximo em 495 nm correspondente aos compostos tetraenos conjugados presentes no óleo de soja e a outra corresponde à clorofila em 660 nm ^[67].

Figura 16 – Espectro de fluorescência do óleo de soja sob excitação em 380 nm em função do tempo de aquecimento e posterior resfriamento.



No aquecimento pode-se notar uma queda na intensidade de fluorescência à medida que peratura é elevada. No resfriamento o que se observa é um aumento na intensidade de

a temperatura é elevada. No resfriamento o que se observa é um aumento na intensidade de fluorescência à medida que a temperatura diminui. A viscosidade é um dos fatores que podem influir na fluorescência do meio uma vez que alterações na temperatura provocam mudanças, por exemplo, nas frequências de choque das moléculas do meio e por consequência nas taxas de decaimento radiativo ou não radiativo, afetando o rendimento quântico de fluorescência de compostos fluoróforos ^[60]. Se o meio é muito viscoso favorece o decaimento radiativo, mas se for pouco viscoso as moléculas possuem maior liberdade e o decaimento não radiativo é favorecido. Portanto, a viscosidade do meio pode ser uma das razões da mudança de intensidade de fluorescência em função da temperatura ^[60]. A viscosidade tem sido considerada um fator importante na explicação das diferentes intensidades de fluorescência

A Figura 17 mostra o comportamento da intensidade de fluorescência em 495 e 660 nm em função do tempo de aquecimento e posterior resfriamento. A temperatura do óleo de soja em função do tempo é também exibida.

Figura 17 – Intensidade de fluorescência em (a) 495 nm e (b) 660 nm do óleo de soja sob excitação em 380 nm em função do tempo de aquecimento e posterior resfriamento. A temperatura do óleo de soja em função do

tempo é também exibida.



Fonte: Da própria autora.

Pode-se observar que os comportamentos das intensidades de fluorescência em 495 e 660 nm em função do tempo e temperatura são similares, porém as intensidades são diferentes. Outro fator que pode ser observado é o retorno à intensidade inicial (para a temperatura de 30°C) após o aquecimento e posterior resfriamento, indicando que o óleo de soja talvez não tenha sofrido qualquer alteração em suas propriedades físico-químicas após as medições.

Os resultados exibidos na Figura 17 mostram uma relação direta entre a intensidade de fluorescência e a temperatura em função do tempo de aquecimento e resfriamento. Por exemplo, à medida que a temperatura aumenta a intensidade de fluorescência diminui e

quando a temperatura atinge um patamar constante em função do tempo, o mesmo ocorre para a intensidade de fluorescência. A temperatura é um dos fatores essenciais que podem influenciar na intensidade de fluorescência, pois influi nos processos de relaxamento vibracional ^[54]. Quando se eleva a temperatura, a probabilidade de colisão entre as moléculas é maior, consequentemente a probabilidade de desativação por processos não radiativos (conversão interna) aumenta, ou seja, a eficiência quântica diminui, e é observada uma diminuição da emissão ^[51, 53, 54]. Já a temperaturas menores o número de colisões entre as moléculas é reduzido, sendo a emissão fluorescente maior.

A intensidade de fluorescência em 495 e 660 nm em função da temperatura apresentaram um comportamento praticamente linear (Figura 18).



Figura 18 – Intensidades de fluorescência normalizadas em 495 nm (a) e 660 nm (b) do óleo de soja em função da temperatura.

Fonte: Da própria autora.

Esteban e colaboradores relataram uma dependência linear da viscosidade do óleo em função da temperatura na faixa entre 10 e 140°C ^[68]. Caires e coautores utilizaram fluorescência como método de caracterização de misturas biodiesel-diesel, contudo atribuiuse a evolução da intensidade de fluorescência nas diferentes blendas ao efeito da viscosidade das misturas. Através de uma análise da viscosidade das misturas em função da concentração de biodiesel foi possível determinar uma relação linear, mostrando que com o aumento da viscosidade o rendimento quântico da fluorescência também aumenta ^[54]. Portanto, podemos atribuir o comportamento apresentado na Figura 18 a mudanças na viscosidade do óleo na medida em que ele é aquecido ou resfriado.

A técnica de absorção UV-Vis vem sendo bastante utilizada para avaliação de possíveis alterações de óleos e biodieseis ^[69, 70]. Essas medidas foram executadas concomitantemente a análise de fluorescência do óleo, sendo que os espectros de absorção em função do tempo estão dispostos na Figura 19.



Figura 19 - Espectros de absorção UV-Vis (a) e absorbância em 303, 318 e 380 nm em função do tempo (b) do

Fonte: Da própria autora.

Nota-se que os espectros de absorção UV-Vis mantêm um perfil constante no aquecimento e posterior resfriamento. Isso se torna mais evidente quando plotamos a absorbância em 303 e 318 nm bandas características de compostos tetraenos conjugados ^[67], e também em 380 nm comprimento de onda de excitação do LED (Figura 19-b). De forma que esses resultados indicam que o comportamento da intensidade de fluorescência em função da temperatura, observado na Figura 18, não está associado a modificações eletrônicas das moléculas induzidas pelo aquecimento.

Foram realizadas ainda medidas de absorção no infravermelho médio. Analisamos as regiões espectrais utilizadas para o monitoramento da degradação do óleo, dentre elas a região que compreende a banda da carbonila entre 1710-1730 cm⁻¹ (Figura 20). Nenhum alargamento ou aumento da intensidade da banda associado à presença de ácidos e aldeídos, subprodutos de mecanismos de oxidação, foi observado ^[71, 72].





RMN ¹H tem sido uma ferramenta útil no estudo de óleos e biodiesel submetido à degradação ^[72, 73, 74]. A Figura 21 mostra os gráficos de RMN ¹H do óleo de soja aquecido e posteriormente resfriado. São bem conhecidas as atribuições dos picos específicos do óleo de soja no espectro de RMN ¹H. Estudos sobre o comportamento de óleos sob estresse térmico tem sido realizados utilizando variadas metodologias, e os resultados são discutidos em termos do deslocamento químico e das intensidades dos picos ^[36, 74].



Figura 21 – Espectros de RMN ¹H do óleo de soja sem tratamento térmico e depois do processo de aquecimento e posterior resfriamento, destacando as regiões utilizadas para monitoramento de degradação.

Fonte: Da própria autora.

No espectro comparativo do óleo de soja, os sinais não apresentam qualquer indicação de que tenha ocorrido algum tipo de degradação do meio em decorrência do aquecimento e posterior resfriamento. As regiões onde se espera observar degradação nos triacilglicerídeos são mostradas entre 5,1 e 5,5 ppm (esperava-se uma diminuição da intensidade do sinal correspondente aos hidrogênios próximos as duplas ligações) e entre 4,1 e 4,4 ppm (diminuição da intensidade na região referente ao hidrogênio α -CH₂)^[75]. Assim, o conjunto dos resultados obtidos sugere que a evolução da intensidade de fluorescência em função da temperatura/tempo está associada à mudança na viscosidade do óleo em virtude do seu aquecimento/resfriamento.

O espectro de fluorescência do biodiesel de soja está descrito na Figura 22, onde foram observadas bandas de emissão na mesma região espectral daquelas observadas no óleo de soja. Contudo, as intensidades de fluorescência referentes ao início do aquecimento são

menores, principalmente na emissão de 495 nm, que corresponde aos compostos tetraenos conjugados ^[67]. Este efeito pode estar associado aos diferentes valores de viscosidade que após a formação do biodiesel torna-se menor que o seu óleo precursor ^[41].



Figura 22 – Espectro de fluorescência do biodiesel de soja sob excitação em 380 nm em função do tempo de aquecimento e posterior resfriamento.

Fonte: Da própria autora.

Para melhor avaliar o comportamento da fluorescência do biodiesel em função do tempo e temperatura, construímos os gráficos de intensidade para as emissões em 495 e 660 nm (Figura 23).



Fonte: Da própria autora.

O comportamento da intensidade de fluorescência do biodiesel de soja quando aquecido e resfriado segue em linhas gerais o mesmo perfil observado no óleo precursor. Contudo, verificou-se uma grande disparidade entre a intensidade de fluorescência no início do processo e aquela observada após o resfriamento.

As intensidades de fluorescência em 495 e 660 nm em função da temperatura apresentaram um comportamento praticamente linear (Figura 24), similarmente ao que foi observado no óleo de soja precursor. Esse fato indica que a viscosidade não afeta somente a fluorescência do óleo, mas também do biodiesel. Entretanto, esses gráficos destacam a disparidade entre as intensidades de fluorescência detectadas no início e término do processo.

A degradação de compostos fluorescentes presentes no biodiesel pode ser um dos responsáveis por esse comportamento. Vale destacar que a coloração do meio submetido a temperaturas acima de 80°C se altera do amarelo para o alaranjado.



Figura 24 – Intensidades de fluorescência normalizadas em 495 nm (a) e 660 nm (b) do biodiesel de soja em função da temperatura.

Medidas de absorção UV-Vis foram realizadas para avaliar a possível degradação do biodiesel. Essas medidas foram executadas simultaneamente aos experimentos de fluorescência. Os espectros de absorção em função do tempo são exibidos na Figura 25.



Figura 25 – Espectros de absorção UV-Vis (a) e absorbância em 303, 318 e 380 nm em função do tempo (b) do biodiesel de soja.

Fonte: Da própria autora.

Os espectros de absorção UV-Vis mantêm o perfil praticamente inalterado no aquecimento e posterior resfriamento do biodiesel. A figura 25-b exibe a absorbância em 303 e 318 nm bandas características de compostos tetraenos conjugados ^[67], e também em 380 nm (comprimento de onda do LED). Os resultados revelam um aumento nos valores de absorbância em 380 nm, referente ao laser de excitação. Enquanto, uma suave queda é verificada na absorbância em 303 e 318 nm, relacionados aos compostos tetraenos conjugados. Esses dados revelam modificações eletrônicas e/ou alteração na concentração de cromóforos/fluoróforos em decorrência do aquecimento, ao contrário do que foi observado no óleo precursor. Esse efeito pode estar relacionado à viscosidade do meio, pois o biodiesel é

menos viscoso em relação ao óleo o que possibilita um maior número de colisões entre as moléculas do meio diminuindo o rendimento quântico da fluorescência.

Medidas de absorção no infravermelho médio das amostras de biodiesel não permitiram avaliar se as amostras de biodiesel sofreram degradação, mesmo monitorando uma região espectral (1700-1800 cm⁻¹) que tem sido empregada no monitoramento da degradação de óleos e biodiesel (Figura 26). Os espectros exibem o mesmo perfil espectral, independente do tratamento térmico.

Figura 26 - Espectro de absorção de infravermelho médio do biodiesel de soja destacando a região entre 1800 e

1700 cm⁻¹, referente à banda carbonila.



Fonte: Da própria autora.

A Figura 27 exibe os espectros de RMN ¹H das amostras de biodiesel de soja. Nessas curvas podem ser visualizados, além de deslocamentos químicos, a diminuição da intensidade de alguns picos em decorrência do tratamento térmico das amostras. O singleto em 3,6 ppm corresponde aos ésteres metílicos (biodiesel), entretanto é visto um deslocamento químico assim como uma queda na intensidade, ambas características podem evidenciar uma possível degradação do biodiesel ^[74]. Entre 4,0 e 4,4 ppm são mostrados os sinais remanescentes dos hidrogênios α -CH₂ do óleo precursor, os quais sofreram alterações de intensidade e deslocamento em virtude do tratamento térmico ^[74-76]. Um sinal minoritário foi observado em 3,4 ppm, que pode ser atribuído ao metanol remanescente na amostra.



Figura 27 – Espectros de RMN ¹H do biodiesel de soja sem tratamento térmico e depois do processo de aquecimento e posterior resfriamento, destacando as regiões utilizadas para monitoramento de degradação.

Fonte: Da própria autora.

Diferentes lotes de óleos e seus respectivos biodieseis foram também avaliados, adotando a mesma metodologia reportada anteriormente. O óleo de soja é um dos óleos mais utilizados no país, sendo assim sua produção pode estar associada a diferentes localidades.

Além disso, muitas são as influencias que podem modificar as propriedades dessa oleaginosa, como solo, clima e água ^[77]. Tal comportamento pode influir ainda nas características do biodiesel produzido a partir desses óleos. Assim sendo, medidas foram feitas com dois lotes diferentes de óleo de soja da mesma marca (LIZA[®]), onde a diferença visual de ambos foi facilmente perceptível como mostra a Figura 28.



Figura 28 – Comparação visual entre os lotes de óleo de soja 1 e 2.

Fonte: Da própria autora.

A Figura 29 exibe as intensidades de fluorescência em 495 e 660 nm em função do tempo e da temperatura para ambos os lotes de óleo de soja. É possível observar que o comportamento da fluorescência independe do lote do óleo. Por outro lado, percebe-se que os tempos de aquecimento e posterior resfriamento são diferentes entre os lotes. O experimento realizado com o óleo do lote 2 demorou 280 minutos a mais do que o experimento realizado com a amostra do lote 1. Essa diferença no tempo pode estar relacionada, por exemplo, a diferenças nos valores de viscosidade dos óleos.



Figura 29 - Intensidade de fluorescência em função do tempo e temperatura para dois diferentes lotes de óleo de

Fonte: Da própria autora.

Assim como observado no óleo, o comportamento da fluorescência verificado no biodiesel de soja se mostra independente dos lotes do óleo precursor, apesar das diferenças na intensidade de fluorescência entre eles (Figura 30). Ademais, verificou-se a mesma diferença na intensidade de fluorescência antes e após o tratamento térmico, como discutido anteriormente. Esses resultados demonstram a versatilidade da técnica de fluorescência para monitorar alterações físico-químicas em óleos e biodiesel, independente da fonte precursora utilizada.



Figura 30 - Intensidade de fluorescência em função do tempo e temperatura para dois diferentes lotes de

Fonte: Da própria autora.

5.2 ESTUDO DO MONITORAMENTO DA TRANSESTERIFICAÇÃO EM TEMPO REAL

Os biodieseis de soja foram preparados segundo a metodologia proposta por Chimenez ^[51], adotando as seguintes temperaturas iniciais do óleo precursor: 30, 40, 60 e 80 °C. Inicialmente, cada óleo foi aquecido e mantido em uma temperatura por 10 minutos. Após esse intervalo de tempo, adicionou-se o metóxido de sódio previamente preparado. A temperatura então apresentou uma queda abrupta, voltando a subir gradativamente com o tempo de reação, até que ao fim a mesma temperatura inicial fosse reestabelecida para as

reações, exceto aquela iniciada em 80 °C. Na Figura 31 são mostradas imagens do meio reacional aquecido inicialmente a 60 °C.



Figura 31 – Imagem do meio reacional em função do tempo de transesterificação do óleo de soja aquecido a 60

Fonte: Da própria autora.

Mudanças na coloração do meio reacional ocorrem devido à formação dos compostos intermediários, pois a reação se processa em duas etapas. Uma etapa rápida (formação de diglicerídeos e monoglicerídeos) e uma etapa lenta (formação dos ésteres metílicos) ^[78]. Inicialmente com a adição do metóxido de sódio ao óleo de soja, o meio torna-se turvo e a viscosidade do meio diminui. A glicerina começa a se formar desde o início e só pode ser visualizada com maior clareza ao fim da reação quando a agitação é desligada.

Na Figura 32 são mostrados os espectros de fluorescência das misturas reacionais sob excitação em 380 nm para as quatro diferentes temperaturas iniciais. Como discutido anteriormente, as bandas com máximos em 495 e 660 nm são atribuídas aos compostos tetraenos conjugados e a clorofila, respectivamente. Por sua vez, a banda com pico em torno de 374 nm corresponde à fonte de excitação.



Figura 32 – Espectros de fluorescência do meio reacional sob excitação em 380 nm em função do tempo para diferentes temperaturas iniciais do óleo de soja.

Fonte: Da própria autora.

Chimenez demonstrou a possibilidade de utilizar a espectroscopia de fluorescência para avaliar a conversão de óleo vegetal em biodiesel, relacionando a mudança de intensidade de fluorescência durante a reação. As análises foram realizadas 5 minutos após a coleta, para que houvesse a decantação da glicerina, e observou que à medida que a reação se processava a intensidade de fluorescência aumentava até por fim se estabilizar^[79]. Neste estudo, as medidas de fluorescência foram realizadas diretamente no meio reacional e em tempo real, conforme descrito na Seção 4.4.1.

A Figura 33 exibe a evolução da intensidade de fluorescência em 495 e 660 nm à medida que a reação se processa em função do tempo e temperaturas iniciais.



Fonte: Da própria autora.

Inicialmente podemos perceber que a intensidade de fluorescência é diferente para cada uma das reações, isso ocorre devido as diferentes temperaturas iniciais adotadas. Por exemplo, a reação que se inicia a temperatura ambiente apresenta a maior intensidade de emissão. Como discutido na Seção 5.1, a intensidade de fluorescência diminui com o aumento da temperatura, pois esta induz mudanças na viscosidade do meio. Outros fatores influenciam cada reação à medida que se processam, como o efeito de diluição (causado pela adição do metóxido de sódio) e a mudança de viscosidade do meio (influenciada tanto pela adição do metóxido de sódio como pela alteração na temperatura). De modo geral, o comportamento da intensidade de fluorescência tanto em 495 nm quanto em 660 nm em função do tempo e da temperatura é semelhante mesmo com as diferenças nos valores absolutos de intensidade.

Durante os 10 minutos iniciais a temperatura foi mantida constante, contudo com a adição do metóxido de sódio notou-se uma queda na temperatura e na intensidade de fluorescência das reações investigadas. Essa diminuição pode estar associada à mudança de viscosidade do meio, embora o efeito da diluição não possa ser desprezado. A respeito do

efeito da viscosidade, Ellis e colaboradores mostraram a possibilidade de utilizar três viscosímetros para avaliar a reação de transesterificação ^[42]. Nesse estudo óleo vegetal residual, metanol (1:6) e hidróxido de potássio foram utilizados na transesterificação, onde se avaliou o perfil da viscosidade em função do tempo e temperatura de reação. Com a temperatura inicial a 70°C foi realizada a adição do metóxido de potássio e como esperado ocorreu uma queda na viscosidade e na temperatura devido ao efeito de diluição do meio, entretanto a temperatura voltou a subir até 60 °C e manteve-se praticamente estável até o fim da reação (~ 60 minutos). A viscosidade após a queda voltou a subir, contudo sem alcançar o valor inicial, e manteve-se constante durante a transesterificação ^[42]. Esse comportamento é semelhante ao observado pelas medições de intensidade de fluorescência em 495 e 660 nm do meio reacional em função do tempo e temperatura relatados acima, indicando uma íntima conexão entre as intensidades de fluorescência e a viscosidade do meio.

As curvas mostradas na Figura 33 também revelam que a variação na intensidade de fluorescência antes e, logo após a adição do metóxido de sódio, depende da temperatura inicial do óleo vegetal. Por exemplo, observa-se que o intervalo de tempo desde o início da queda da intensidade de fluorescência até a sua estabilização é maior para a reação iniciada em 30 °C do que aquela iniciada em 80 °C. Este efeito pode estar também associado à viscosidade do meio, pois quanto maior a viscosidade do meio (menor temperatura) maior será o tempo para atingir uma redistribuição homogênea dos fluoróforos presentes no meio reacional.

Após a diminuição das intensidades de fluorescência em 495 e 660 nm em virtude da adição do catalisador, observamos que seus valores permanecem praticamente constantes até que após um dado tempo de reação, o qual depende da temperatura inicial, as intensidades começam a oscilar, independente do comprimento de onda de emissão. Essa oscilação foi observada apenas para as reações iniciadas em 60 e 80 °C e tiveram início em 40 e 20 minutos, respectivamente. Esse comportamento pode estar ligado à formação de glicerol no meio que acaba interferindo no monitoramento da intensidade de fluorescência, intensificando, por exemplo, o espalhamento de luz, à medida que a conversão de óleo em biodiesel ocorre. Os meios inicialmente mantidos a 30 e 40 °C não apresentaram tal comportamento, possivelmente devido à baixa eficiência de conversão óleo vegetal-biodiesel. Souza e coautores monitoraram a conversão de óleo de soja em biodiesel em tempo real utilizando a técnica de espectroscopia de infravermelho médio ^[84]. Através da análise de banda de metanol C-O (1030 cm⁻¹) determinaram a porcentagem de conversão para diferentes

temperaturas e tempos, mostrando que até 110 minutos apenas reações realizadas a temperaturas acima de 45°C sofreram conversão total ^[80].

A Figura 34 mostra a região entre 1800 e 1700 cm⁻¹ referente ao estiramento da carbonila (C=O) que no óleo de soja apresenta máximo em 1745 cm⁻¹, enquanto no biodiesel o máximo ocorre em 1742 cm⁻¹ [^{25, 80]}. Esses dados revelam a conversão de óleo vegetal em biodiesel, contudo não podemos avaliar a eficiência de conversão óleo-biodiesel utilizando apenas esses espectros.

Figura 34 - Espectro de absorção na região do infravermelho médio do óleo de soja e dos biodieseis produzidos



Fonte: Da própria autora.

A técnica de absorção UV-Vis foi utilizada simultaneamente a análise de fluorescência para investigar se houveram alterações nas propriedades eletrônicas dos cromóforos/fluoróforos presentes no meio reacional durante a reação de transesterificação. Os espectros em função do tempo de reação para cada temperatura são mostrados na Figura 35.



Figura 35 – Espectros de absorção UV-Vis da mistura em função do tempo de reação e das diferentes temperaturas iniciais do óleo de soja.

Fonte: Da própria autora.

Nota-se que os espectros referentes aos meios submetidos às temperaturas iniciais de 30, 40 e 60 °C mantiveram um perfil praticamente constante com o passar do tempo de transesterificação, isso fica evidenciado quando plotamos a absorbância em 303, 318 (correspondente aos compostos tetraenos conjugados) ^[67, 81] e 380 nm (comprimento de excitação do LED) em função do tempo de reação para cada temperatura (Figura 36). Portanto, não houve qualquer alteração nas características eletrônicas e na concentração dos compostos cromóforos/fluoróforos durante a reação de transesterificação desses meios reacionais.



Figura 36 – Absorbância em 303, 318 e 380 nm da mistura em função do tempo de reação e das diferentes temperaturas iniciais do óleo de soja.

Fonte: Da própria autora.

Por sua vez, a Figura 35 revela que as absorbâncias obtidas do meio reacional submetido à temperatura inicial de 80 °C não apresentaram um perfil constante na região entre 325 e 700 nm, revelando que novos produtos estão sendo formados em virtude da temperatura e da reação de transesterificação.

Foram realizadas análises de fluorescência entre misturas de óleo e de biodiesel com metanol e glicerol, com o intuito de estabelecer um panorama mais completo do comportamento da fluorescência observado na transesterificação. A Figura 37 mostra os gráficos de intensidade de fluorescência em função do tempo e temperatura das misturas de óleo-glicerol, biodiesel-glicerol, óleo-metanol e biodiesel-metanol. As adições de glicerol foram de 10% em relação à massa de óleo/biodiesel (500 g), relação descrita na literatura a respeito do rendimento do glicerol nesse tipo de reação ^[82]. Por sua vez, a proporção de metanol utilizada foi idêntica àquela empregada na transesterificação (110 mL). Tanto a adição de glicerol como de metanol ao óleo e biodiesel foram realizadas após 10 minutos de aquecimento a 60°C.



Figura 37 – Intensidade de fluorescência em 495 e 660 nm das misturas óleo-metanol, biodiesel-metanol, óleoglicerol e biodiesel-glicerol sob excitação a 380 nm.

Fonte: Da própria autora.

As misturas óleo-metanol, biodiesel-metanol e óleo-glicerol não apresentaram o mesmo comportamento verificado na transesterificação em torno de 60 °C (Figura 33). Observou-se a formação de uma emulsão na mistura de óleo-metanol, formada provavelmente devido à baixa solubilidade de óleo em metanol ^[83]. Nas misturas biodiesel-metanol e óleo-glicerol apenas os efeitos induzidos pelas modificações da viscosidade foram observados. Não obstante, a curva da mistura biodiesel-glicerol apresentou o mesmo comportamento de intensidade de fluorescência verificado na transesterificação a 60°C (Figura 33). Portanto, o efeito observado nos meios reacionais submetidos às temperaturas iniciais de 60 e 80 °C após 40 e 20 minutos, respectivamente, pode não estar diretamente vinculado aos ésteres metílicos (biodiesel), mas sim a produção de glicerol.

Na Figura 38 são comparadas as intensidades de fluorescência em 495 nm para as diferentes temperaturas iniciais de aquecimento (30, 40, 60 e 80°C). Nota-se que à medida que a temperatura inicial do óleo de soja aumenta a intensidade de fluorescência diminui. Como já discutido na sessão anterior esse efeito está ligado a mudanças na viscosidade do

meio devido a alterações na temperatura. O efeito do tempo de queda após a adição do metóxido de sódio também é outro aspecto que diferencia o comportamento entre cada reação, pois à medida que a temperatura aumenta o tempo de queda se torna menor. Este comportamento pode estar associado, por exemplo, a diferentes valores de viscosidade dos meios em decorrência da temperatura, os quais contribuem para diferentes tempos de solubilização do metóxido na solução. A Figura 38 também ressalta o surgimento das flutuações na intensidade de fluorescência apenas nas misturas submetidas a temperaturas iniciais de 60 e 80 °C. Além disso, verifica-se que o intervalo de tempo para o surgimento dessas flutuações é maior para a mistura submetida a uma temperatura menor, sugerindo que esse fenômeno esteja relacionado a maior produção, por exemplo, de glicerol. Contudo, vale lembrar que esse efeito pode depender da distribuição homogênea do glicerol no meio reacional.

Figura 38 – Intensidade de fluorescência em 495 nm do meio reacional sob excitação em 380 nm em função do tempo de reação para diferentes temperaturas iniciais de aquecimento.



Fonte: Da própria autora.

Finalmente, vale destacar que todos os experimentos foram realizados em duplicata. Na Figura 39 são mostradas as intensidades de fluorescência do meio reacional em 495 e 660 nm em função do tempo para ambas tentativas (1° e 2°), onde é possível verificar a reprodutibilidade das análises realizadas para as diferentes temperaturas. Assim sendo, a técnica de fluorescência se mostra útil no monitoramento do meio reacional e da análise da conversão de óleo em biodiesel, apresentando uma excelente reprodutibilidade.



Figura 39 – Intensidade de fluorescência em 495 e 660 nm do meio reacional submetido a diferentes temperaturas sob excitação em 380 nm em função do tempo.

Fonte: Da própria autora.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

 A conversão do óleo de soja em biodiesel foi confirmada através da técnica de absorção no infravermelho médio.

– Uma correlação linear pode ser estabelecida entre a intensidade de fluorescência de óleo e a temperatura, tanto no aquecimento como resfriamento do óleo de soja.

Em virtude do tratamento térmico apenas o biodiesel apresentou modificações eletrônicas
e/ou alterações na concentração dos cromóforos e fluoróforos, diferente do seu óleo precursor.

– Com as mudanças na temperatura a viscosidade do meio também é alterada, o que influencia a intensidade de fluorescência tanto do óleo quanto do biodiesel.

– O comportamento da intensidade de fluorescência do biodiesel de soja quando aquecido e resfriado segue em linhas gerais o mesmo perfil observado no óleo precursor. Contudo, o biodiesel sofre degradação após aquecido a 80°C. Modificações eletrônicas foram induzidas nos cromóforos/fluoróforos em decorrência do aquecimento a essa temperatura.

– Independente do lote utilizado nas análises de aquecimento e resfriamento de biodiesel e óleo de soja, ambos os lotes apresentam entre si o mesmo comportamento geral.

– No monitoramento da transesterificação foi possível distinguir claramente uma reação das demais, observando o comportamento da intensidade de fluorescência em função do tempo e da temperatura.

 A viscosidade do meio afeta o comportamento da intensidade de fluorescência para cada uma das reações.

– O tempo necessário para a conversão total do óleo em biodiesel não pode ser apontado através dos dados obtidos. Também não foi possível avaliar a eficiência de conversão óleobiodiesel diante das condições experimentais adotadas. Pode-se inferir acerca do tempo no qual a produção de glicerol se torna mais significativa.

 As técnicas de absorção UV-Vis e fluorescência se mostraram eficientes na análise do comportamento termomecânico do óleo e biodiesel de soja assim como na transesterificação.

– Dispositivos baseados em medições de fluorescência utilizados nas análises em tempo real, oferece a possibilidade de se desenvolver um sistema robusto, preciso, portátil e de baixo custo para o monitoramento de propriedades físico-químicas de óleo, biodiesel de soja e também da reação de transesterificação.

REFERÊNCIAS

[1] GHASSAN, T. A.; MOHAMAD, I.; AL-WIDYAN, B. et al.; Combustion performance and emissions of ethyl ester of a waste vegetable oil in a water-cooled furnace. Applied Thermal Engineering, v. 23, p. 285-293, 2003.

[2] SOUZA, G. R.; SANTOS, A. M.; FERREIRA, S.L. et al.; Evaluation of the performance of biodiesel from waste vegetable oil in a flame tube furnace. Applied Thermal Engineering, v. 29, p. 2562-2566, 2009.

[3] LOTERO, E.; LIU, Y.; LOPEZ, D. E. et al.; Synthesis of Biodiesel via Acid Catalysis. Industrial & Engineering Chemistry Research, v. 44, p. 5353, 2005.

[4] ASHRAFUL, A. M.; MASJUKI, H. H.; KALAM, M. A. et al.; Production and comparison of fuel properties, engine performance, and emission characteristics of biodiesel from various non-edible vegetable oils: A review. Energy Conversion and Management, v. 80, p. 202-228, 2014.

[5] MEHER, L. C.; SAGAR, V. D.; NAIK, S. N.; Technical aspects of biodiesel production by transesterification - a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews. v. 10, p. 248–268, 2006.

[6] MA, F.; HANNA, M.; Biodiesel production: a review. Bioresource Technology, v. 70, p. 1-15, 1999.

[7] Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: < http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2008/mar%C3%A7o/ranp%207%2 0-%202008.xml?f=templates\$fn=document-frame.htm\$3.0\$q=\$x=\$nc=6637>. Acesso em agosto de 2014.

[8] Planalto Civil. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004 200 6/20 05/Lei/L11097.htm>. Acesso em maio de 2014.

[9] Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: < http://www.anp.gov.br>. Acesso em maio de 2014.

[10] Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2012/maio/ranp%2014%20-%202 012.xml>. Acesso em maio de 2014.

[11] Sebrae, Biodiesel. Disponível em : <http:// 201.2.114.14 7/bds/BDS.nsf/D170D324C7 521915832572B200470F63/\$File/NT00035116.pdf>. Acesso em maio de 2014.

[12] Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: < http://www.mma.gov.br/estru turas/sqa_pnla/_arquivos/item_4.pdf>. Acesso em maio de 2014.

[13] Associação Brasileira de Óleos de Bares e Restaurantes, ABRASEL. Disponível em: http://www.abrasel.com.br/index.php/servicos/projeto-papa-oleo.html. Acesso em maio de 2014.

[14] SABESP. Programa PROL. Disponível em: < http://site.sabesp.com.br/uploads/file/asab esp_doctos/programa_reciclagem_oleo_completo.pdf >. Acesso em maio de 2014.

[15] Instituto Bióleo de Desenvolvimento Sustentável. Disponível em: http://bioleo.org. br/programa-bioleo>. Acesso em maio de 2014.

[16] Departamento Municipal de Limpeza Urbana. Disponível em: http://www2. portoalegre.rs.gov.br/dmlu/default.php?p_secao=89>. Acesso em maio de 2014.

[17] Programa Coleta Seletiva. Disponível em: http://www.campogrand erecicla.com.br/ pontos-de-coleta>. Acesso em maio de 2014.

[18] Programa de Coleta de Óleo de Cozinha. Disponível em: http://www.oleosustentavel .org.br/?page=o-programa>. Acesso em: maio de 2014.

[19] Revista de Política Agrícola. Publicação Trimestral, Ano XV – n.3, p.3, Jul/ Ago/ Set/ 2006.

[20] Portal Brasil. Disponível em: http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2014/02/mato-grosso-se-torna-maior-produtor-de-soja-do-pais. Acesso em abril de 2014.

[21] United States Department of Agriculture. Disponível em: < http://apps.fas.usda.gov/ps donline/circulars/production.pdf>. Acesso em abril de 2014.

[22] Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais Disponível em: < http://www.a biove.org.br/site/index.php>. Acesso em abril de 2014.

[23] CORDEIRO, C. S.; SILVA, F. R.; WYPYCH, F. et al.; Catalisadores heterogêneos para a produção de monoésteres graxos (biodiesel). Química Nova, v. 34, n. 3, p. 477-486, 2011.

[24] MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; BRITO, Y. C.; A Reação de Transesterificação, Algumas Aplicações e Obtenção de Biodiesel. Revista Virtual de Química, v. 5, n. 1, p. 63-73, 2013.

[25] ZAGONEL, G. F.; Obtenção e caracterização de biocombustíveis a partir da transesterificação etílica do óleo de soja. 2000. 85 f. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

[26] GOMES, M. M. R.; Produção de biodiesel a partir da esterificação dos ácidos graxos obtidos por hidrólise de óleo de peixe. 2009. 93 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

[27] MILINSK, M. C.; Análise comparativa entre oito métodos de esterificação na determinação quantitativa de ácidos graxos em óleo vegetal. 2007. 118 f. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2007.

[28] MARCHETTI, J. M.; MIGUEL, V. U.; ERRAZU, A. F.; Heterogeneous esterification of oil with high amount of free fatty acids. Fuel, v. 86, n. 5-6, p. 906-910, 2007.

[29] ROSSET, I. G.; Produção de biodiesel empregando biocatálise via reações de esterificação e transesterificação. 2011. 152 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

[30] SONNTAG, N.O.V.; SWERN, D.; Reactions of fats and fatty acids. Bailey's industrial oil and fat products. 4. ed. Nova York: John Wiley & Sons. 1979. v. 1. p. 99.

[31] SHANG, N. C.; LIUB, R. Z.; CHENB, C. Y. et al.; Characterization of fatty acid methyl esters in biodiesel using high-performance liquid chromatography. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, v. 43, p. 354–359, 2012.

[32] DARNOKO, D.; CHERYAN, M.; Kinetics of palm oil transesterification in a batch reactor. Journal of the American Oil Chemists' Society, v. 77, p. 1263-1267, 2000.

[33] FILIPPIS, P.; GIAVARINI, C.; SCARSELLA, M. et al.; Transesterification processes for vegetable oils: A simple control method of methyl ester content. Journal of the American Oil Chemists Society, v. 72, p. 1399-1404, 1995.

[34] DUBÉ, M. A.; ZHENG, S.; MCLEAN, D. D. et al.; A comparison of attenuated total reflectance-FTIR spectroscopy and GPC for monitoring biodiesel production. Journal of the American Oil Chemists' Society, v. 81, p. 599-603, 2004.

[35] KNOTHE, G.; Monitoring a progressing transesterification reaction by fiber-optic near infrared spectroscopy with correlation to 'H nuclear magnetic resonance spectroscopy. Journal of the American Oil Chemist's Society, v. 77, n. 5, p. 489-493, 2000.

[36] KNOTHE, G.; KENAR, J. A.; Determination of the fatty acid profile by ¹H-NMR spectroscopy. European Journal of Lipid Science and Technology, v. 106, p. 88–96, 2004.

[37] GUNSTONE, F. D.; KNOTHE, G. H.; NMR spectroscopy of fatty acids and their derivatives, 2007. Disponível em: < http://lipidlibrary.aocs.org/nmr/nmr.html >. Acesso em junho de 2014.

[38] KNOTHE, G. H.; 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 of the American Oil Chemists' Society, v. 78, n. 10, p. 1025-1028, 2001.

[39] CABEÇA, L. F.; MARCONCINI, G. P.; MAMBRINI, R. B. V. et al.; Monitoring the transesterification reaction used in biodiesel production, with a low cost unilateral nuclear magnetic resonance sensor. Energy Fuel, v. 25, p. 2696-2701, 2011.

[40] TAT, M. E.; VAN GERPEN, J. H.; The kinematic viscosity of biodiesel and its blends with diesel fuel. Journal of the American Oil Chemists' Society, v. 76, n. 12, p. 1511-1513, 1999.

[41] CAIRES, A. R. L.; SCHERER, M. D.; SOUZA, J. E. et al.; The role of viscosity in the fluorescence behavior of the diesel/ biodiesel blends. Renewable Energy, v. 46, p. 137-140, 2012.

[42] ELLIS, N.; GUAN, F.; CHEN, F. et al.; Monitoring biodiesel production (transesterification) using in situ viscometer. Chemical Engineering Journal, v. 138, p. 200–206, 2008.

[43] ARAÚJO, K. L. G. V.; Avaliação físico-química do óleo de peixe. 2007. 83 f. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

[44] ALMEIDA, A. A. F.; Avaliação da oxidação biodiesel etílico de milho por meio de técnicas espectroscópicas. 2007. 62 f. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

[45] YUAN, T.; AKOCHI-KOBLE, E.; PINCHUK, D. et al.; FTIR on-line monitoring of biodiesel transesterification. International Journal of Renewable Energy & Biofuels, v. 2014, p. 1-13, 2014.

[46] KNOTHE, G.; Rapid monitoring of transesterification and assessing biodiesel fuel quality by near infrared spectroscopy using a fiber-optic probe. Journal of the American Oil Chemist's Society, v. 76, n. 7, p. 795-800, 1999.

[47] OLIVEIRA, J. S.; MONTALVÃO, R.; DAHER, L. et al.; Determination of methyl ester contents in biodiesel blends by FTIR-ATR and FTNIR spectroscopies. Talanta, v. 69, n. 5, p. 1278–1284, 2006.

[48] ZAGONEL, G. F.; ZAMORA, P. P.; RAMOS, L. P.; Multivariate monitoring of soybean oil ethanolysis by FTIR. Talanta, v. 63, p. 1021–1025, 2004.

[49] GHESTI, G. F.; MACEDO, J. L.; RESCK, I. S. et al.; FT-Raman Spectroscopy Quantification of Biodiesel in a Progressive Soybean Oil Transesterification Reaction and Its Correlation with 1H NMR Spectroscopy Methods. Energy & Fuels an American Chemical Society Journal, v. 21, n. 5, p. 2475-2480, 2007.

[50] VOIGHT, C. L.; Síntese e caracterização espectroscópica de biocombustível de óleo de fritura. 2009. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2009.

[51] CHIMENEZ, T. A.; MAGALHÃES, K. F.; CAIRES, A. R. L. et al.; Fluorescence as an analytical tool for assessing the conversion of oil into biodiesel. Journal Fluorescence, v. 22, p. 1177–1182, 2012.

[52] MAGALHÃES, K. F.; CAIRES, A. R. L.; SCHERER, M. D. et al.; The Effect of temperature on the Endogenous Fluorophores in Biodiesel: An optical-analytical approach to assess systematic physical-chemical alteration in its composition. 2014 (Redação).

[53] SCHERER, M. D.; OLIVEIRA, L. S.; LIMA, S. M. et al.; Determination of the biodiesel content in diesel/biodiesel blends: A method based on fluorescence spectroscopy. Journal of Fluorescence, v.21, p.1027-1031, 2011.

[54] CAIRES, A. R. L.; LIMA, V. S.; OLIVEIRA, S. L.; Quantification of biodiesel content in diesel/biodiesel blends by fluorescence spectroscopy: Evaluation of the dependence on biodiesel feedstock. Renewable Energy, v. 46, p. 137-140, 2012.

[55] INSAUSTI, M.; ROMANO, C.; PISTONESI, M.F. et al.; Simultaneous determination of quality parameters in biodiesel/diesel blends using synchronous fluorescence and multivariate analysis. Microchemical Journal, v. 108, p. 32–37, 2013.

[56] GAUGLITZ, G.; VO-DINH, T.; Handbook of Spectroscopy. 1ed. Weinheim: WILEY-VCH, 2003. V. 1. P. 48-57.

[57] PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. et al.; Introdução à espectroscopia. 4ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010. P. 15-18.

[58] SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G.; MORRIL, T. C.; Identification of organic compounds. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1994. P. 72-73, 387.

[59] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A.; Princípios de analise instrumental. 5ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. P. 836.

[60] LAKOWICZ, J. R.; Principles of Fluorescence Spectroscopy. 3.ed. Baltimore: Springer, 2006. P. 5, 63-67.

[61] FIGUEIREDO, M. S.; Estudo das propriedades ópticas e termo-ópticas do biodiesel e suas misturas. 2009. 106 f. Dissertação (Mestrado em Física Aplicada), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

[62] ALISKE, M. A.; Medidas de espectroscopia no infravermelho médio para a determinação do teor de biodiesel em óleo diesel. 2010. 85 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

[63] CASTILHO-ALMEIDA, E. W.; SANTOS, H. F.; MIRANDA, A. M. et al.; Estudo teórico e experimental de espectros infravermelho de ésteres de ácido graxo presentes na composição do biodiesel de soja. Química Nova, v. 35, n. 9, p. 1752-1757, 2012.
[64] PEREIRA, N. R.; Estudos oleoquímicos e obtenção de ésteres metílicos e etílicos a partir do óleo do *Dipteryx ala vog* (baru). 2010. 88 f. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

[65] KNOTHE, G.; Review: Some aspects of biodiesel oxidative stability. Processing Technology. Fuel, v. 88, p. 669–677, 2007.

[66] MAHAMUNI, N. N.; ADEWUYI, Y. G.; Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) Method To Monitor Soy Biodiesel and Soybean Oil in Transesterification Reactions, Petrodiesel Biodiesel Blends, and Blend Adulteration with Soy Oil. Energy & Fuels, v. 23, p. 3773–3782, 2009.

[67] MAGALHÃES, K. F.; CAIRES, A. R. L.; SILVA, M. S. et.al.; Endogenous fluorescence of biodiesel and products thereof: Investigation of the molecules responsible for this effect. Fuel, v. 119, p. 120–128, 2014.

[68] ESTEBAN, B.; RIBA, J.; BAQUERO, G. et al.; Temperature dependence of density and viscosity of vegetable oils. Biomass and bioenergy, v. 42, p. 164-171, 2012.

[69] DANTAS, M. B.; ALBUQUERQUE, A. R.; BARROS, A. K. et al.; Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. Fuel, v. 90, p. 773–778, 2011.

[70] SOUZA, F. H. N.; ALMEIDA, L. R.; RIOS, M. A.; UV-Visible Spectroscopy Study of Oxidative Degradation of Sunflower Biodiesel. Energy Science and Technology, v. 2, n. 2, p. 56-61, 2011.

[71] ÁVILA, R. N. A.; Características físico-químicas e estabilidade à oxidação do biodiesel de nabo forrageiro. 2009. 110 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica). Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

[72] CONCEIO, M. M.; FERNANDES, V. J.; FARIAS, M. F. et al.; Thermal and Oxidative Degradation of Castor Oil Biodiesel. Energy Fuels, v. 21, p. 1522-1527, 2007.

[73] KNOTHE, G.; Analysis of oxidized biodiesel by ¹H-NMR and effect of contact area with air. European Journal of Lipid Science and Technology, v. 108, p. 493-500, 2006.

[74] CHUCK, C. J.; JENKINS, R. W.; BANNISTER, C. D. et al.; Design and preliminary results of an NMR tube reactor to study the oxidative degradation of fatty acid methyl ester. Biomass and Bioenergy, v. 47, p. 188-194, 2012.

[75] BARISON, A.; SILVA, C. W. P.; CAMPOS, F. R. et al.; A simple methodology for the determination of fatty acid composition in edible oils through ¹H NMR spectroscopy. Magnetic Resonance in Chemistry, v. 48, n. 8, p. 642-650, 2010.

[76] MONTEIRO, M. R.; AMBROZIM, A. R. P.; LIÃO, L. M. et al.; Determination of biodiesel blend levels in different diesel samples by 1H NMR. Fuel, v. 88, p. 691–696, 2009.

[77] VICARI, J. S. O.; Qualidade de óleo de soja refinado embalado em PET (Polietileno Tereftalato) armazenado na presença e ausência de luz. 2013. 68 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Campo Grande, 2013.

[78] RINALDI, R.; GARCIA, C.; MARCINIUK, L. L. et al.; Síntese de Biodiesel: Uma proposta contextualizada de experimento para laboratório de química geral. Química Nova, v. 30, n. 5, p. 1374-1380, 2007.

[79] CHIMENEZ, T. A.; Espectroscopia de fluorescência como ferramenta para caracterização de biodiesel e monitoramento de processos de degradação. Dissertação de mestrado. Dourados – MS, 2011.

[80] SOUZA, A. V. A.; SILVA, J. F. C.; Biodiesel synthesis evaluates by using real-time ATR-FTIR. Organic Process Research & Development, v. 17, p. 127–132, 2013.

[81] SANTANA, D. E. M.; MADEIRA, M. P.; VIEIRA, T. W. S. et al.; Estudo da foto e termo-oxidação do óleo de coco de babaçu utilizando a técnica de UV-Vis. XX Seminário de Iniciação Científica III Seminário em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação, UFPI, 2011.

[82] ZHOU, C. H.; BELTRAMINI, J. N.; FAN, Y. X. et al.; Chemoselective catalytic conversion of glycerol as a biorenewable source to valuable commodity chemicals. Chemical Society Reviews, v. 37, p. 527-549, 2008.

[83] GALVÃO, A. C.; BOSCHI, R.; COELHO, K. A. et al.; Solubilidade do metanol, etanol e isopropanol em óleos vegetais a diferentes temperaturas e pressão atmosférica. Ciência e Natura, v. 35, n. 2, p. 311-317, 2013.