



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

DIEGO GALVAN

**MODELAGEM DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO
UTILIZANDO CATALISADOR INORGÂNICO**

Londrina
2019

DIEGO GALVAN

**MODELAGEM DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO
UTILIZANDO CATALISADOR INORGÂNICO**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Dionísio Borsato

Londrina
2019

DIEGO GALVAN

**MODELAGEM DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO
UTILIZANDO CATALISADOR INORGÂNICO**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina, para a obtenção do título de Doutor.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Dionísio Borsato
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Isabel Craveiro Moreira
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Prof. Dr. Evandro Bona
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Prof. Dr. Dimas Augusto Morozin Zaia
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Mário Henrique Montazzolli Killner
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 18 de abril de 2019.

Dedico este trabalho aos meus pais e familiares, pelo incentivo e apoio incessantes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me guiar e iluminar durante todos os momentos de obstáculos encontrados.

A meus pais e familiares pelo apoio em todas as horas e ocasiões durante toda essa longa jornada.

Gostaria de agradecer ao meu orientador, Prof. Dr. Dionísio Borsato pela orientação, pela forma como me acolheu no grupo de pesquisa, pelo carinho, pela paciência e pela oportunidade concedida, fundamental para o meu crescimento profissional e pessoal.

Especialmente gostaria de agradecer ao Prof. Dr. Mário Killner, pela “imensa” contribuição oferecida para a execução deste trabalho. Gostaria ainda de agradecer pela confiança a mim depositada através da minha indicação ao Dr. Ernesto para a realização do Doutorado Sanduíche, o meu mais sincero agradecimento e admiração.

Ao Prof. Dr. Marinho Bastos Quadri da UFSC, pela coorientação.

Ao Prof. Dr. Evandro Bona, que gentilmente nos forneceu a rotina computacional GAMMA, além do auxílio na condução das análises quimiométricas.

Ao Dr. Ernesto Danieli, pela calorosa recepção na Alemanha, orientação, paciência e ensinamentos repassados.

Ao Prof. Dr. Jarbas Rohwedder da UNICAMP, por disponibilizar seu laboratório para as análises.

Agradeço a Hágata, pela sua amizade e ajuda, sem seu incentivo tudo teria sido mais complexo e trabalhoso.

A minha amiga e colega de classe Mirian, pelas calorosas discussões.

Agradeço também a Letícia Magalhães, que não mediu esforços em ajudar na condução dos experimentos até tarde da noite.

A todos meus amigos e colegas do LPAC e LATE pelos momentos de companheirismo e descontração. Sem o apoio e a amizade de vocês, esse período não teria sido tão agradável.

À Magritek, por disponibilizar os dispositivos de RMN de baixo campo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro concedido.

À UEL e ao Laboratório de Espectroscopia (LABSPEC).

*“Life is like riding a bicycle. To keep your
balance you must keep moving.”*

(Albert Einstein)

GALVAN, Diego. **Modelagem da reação de transesterificação utilizando catalisador inorgânico**. 2019. 127 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

As técnicas espectroscópicas em dispositivos de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de bancada de média resolução e Infravermelho Próximo (NIR) apresentam perspectivas animadoras, pois fornecem informações químicas a cerca da amostra de forma rápida, com custo relativamente baixo, visando principalmente as aplicações na indústria de petróleo e biocombustíveis. No entanto, neste cenário as pesquisas ainda são bastante tímidas, o presente trabalho apresentará situações que envolvem a aplicação de ferramentas quimiométricas em dados gerados por métodos espectroscópicos de amostras de biodiesel e gasolina. Para o biodiesel foram gerados modelos de regressão multivariada (PLS1) através de um conjunto de espectros de ^1H RMN de baixo campo e NIR que possibilitou o monitoramento *online* da reação de transesterificação. Os melhores modelos apresentaram valores de erro quadrático médio de predição (RMSEP) que variaram de 0,14 a 1,53% para o NIR e 0,16 a 1,41% para o ^1H RMN de baixo campo. Os dados espectroscópicos de RMN de alto campo permitiram o estudo qualitativo e quantitativo dos compostos presentes na reação, na qual a variação da taxa de conversão molar foi simulada pelo método de elementos finitos (FEM). Os resultados da simulação numérica exibiram bons ajustes com desvios entre os dados simulados e experimentais variando entre 3,5% a 16,9%. Para os dados espectrais das amostras de gasolina foi explorada a implementação de técnicas de transferência de calibração de modelos de regressão PLS entre espectrômetros de diferentes intensidades de campo magnético por padronização direta (DS), padronização direta por partes (PDS) e padronização direta por partes em janela dupla (DWPDS). Foi demonstrado que todos os métodos apresentaram uma diminuição significativa nos valores dos erros de predição quando comparados aos modelos PLS sem a padronização. O método DWPDS apresentou melhores resultados, necessitando de um número inferior a 7 amostras de transferência para obter espectros similares ao instrumento primário, e conseqüentemente apresentou menores valores de erros de predição quando comparados aos métodos DS e PDS. Os algoritmos de otimização por enxame de partículas (PSO) e simplex super modificado acoplados a função de desejabilidade (D) se mostraram ferramentas de suma importância para determinação das melhores condições para cada caso, poupando tempo e trabalho visto a complexidade dos conjuntos amostrais.

Palavras-chave: Biodiesel. Gasolina. FEM. Simplex. Função de Desejabilidade. Enxame de Partículas. ^1H RMN. NIR. PLS.

GALVAN, Diego. **Modeling of the transesterification reaction using inorganic catalyst**. 2019. 127 p. Thesis (Programa de Pós-Graduação em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

Spectroscopic techniques by medium-resolution benchtop Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and Near Infrared (NIR) present exciting prospects as they provide chemical information about the sample quickly, at relatively low cost, primarily targeting applications in the petroleum and biofuel industry. However, in this scenario the researches are still timid, the present work will present situations that involve the application of chemometric tools in data generated by spectroscopic methods of biodiesel and gasoline samples. For biodiesel, multivariate regression models (PLS1) were generated through a set of low-field ^1H NMR and NIR spectra that enabled the online monitoring of the transesterification reaction. The best models presented root mean square error of the prediction (RMSEP) values ranging from 0.14 to 1.53% for the NIR and 0.16 to 1.41% for the low-field NMR. High-field NMR spectroscopic data allowed the qualitative and quantitative study of the compounds present in the reaction that were simulated by the finite element method (FEM). The results of the numerical simulation showed good adjustments of the experimental values, with deviations between simulated and experimental data ranging from 3.5% to 16.9%. For the spectral data of gasoline samples we explored the implementation of calibration transfer techniques of PLS regression models between spectrometers of different magnetic field intensities by direct standardization (DS), piecewise direct standardization (PDS) and double window piecewise direct standardization (DWPDS). All methods showed a significant decrease in prediction error values when compared to PLS models without standardization. The DWPDS method presented the best results, requiring less than 7 transfer samples to obtain spectra similar to the primary instrument, and consequently presented lower values of prediction errors when compared to DS and PDS methods. Particle swarm optimization (PSO) and super simplex modified optimization algorithms coupled with the desirability function (D) proved to be extremely important tools for determining the best conditions for each case, saving time and effort considering the complexity of the sample sets.

Key words: Biodiesel. Gasoline. FEM. Simplex. Desirability Function. Particle Swarm. ^1H NMR. NIR. PLS.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|--------------------|---|----|
| Figura 1 - | Reação de transesterificação empregando metanol. | 18 |
| Figura 2 - | Tipos de elementos empregados. | 32 |
| Figura 3 - | Partes de um elemento tetraédrico. | 33 |
| Figura 4 - | Espectrômetro de baixo campo <i>Spinsolve</i> (a) e espectrofotômetro NIR (b) utilizados no monitoramento <i>online</i> da reação. | 40 |
| Figura 5 - | Célula de fluxo espectroscópico utilizada no RMN de baixo campo (a) e a célula de fluxo utilizada no NIR (b) | 41 |
| Figura 6 - | Configuração experimental: (a) espectrômetro de ^1H RMN-BC; (b) espectrofotômetro NIR; (c) célula de fluxo ^1H RMN-BC; (d) célula de fluxo NIR; (e) bomba peristáltica; (f) agitador magnético; (g) reator; (h) tubos de Teflon [®] d.i = 1,0 mm. | 42 |
| Figura 7 - | Condução do experimento no laboratório da UNICAMP. | 43 |
| Figura 8 - | Estruturas e seus tipos de prótons do grupo gliceril dos glicerídeos e prótons metílicos do FAME. | 45 |
| Figura 9 - | Espectros de ^1H RMN-AC dos padrões de cada glicerídeo e do biodiesel em CDCl_3 : trilinoleína TG (Linolenato), 1,2-dioleína 1,2-DG (Oleato), 1,3-dilinoeína 1,3-DG (Linoleato), 2-monooleína 2-MG (Oleato), 1-monolinoleína 1-MG (Linoleato) e FAME do óleo de soja. | 49 |
| Figura 10 - | Prováveis etapas da reação de transesterificação por metanólise. | 51 |
| Figura 11 - | Espectros ^1H RMN-AC da reação com 0,75% de NaOH. (a) expansão da região do 1,2-DG de $\delta = 5,056$ a $5,114$ ppm (sem sobreposição de sinais). (b) expansão da região do 2-MG de $\delta = 4,894$ a $4,955$ ppm (sem sobreposição de sinais). (c) expansão das regiões do 1,3-DG e TG de $\delta = 4,041$ a $4,380$ ppm e $\delta = 4,219$ a $4,380$ ppm, respectivamente (com sobreposição de sinais). (d) expansão da região do 1-MG de $\delta = 3,893$ a $3,990$ ppm (sem sobreposição de sinais). | 54 |
| Figura 12 - | Espectros ^1H RMN-AC da reação de transesterificação com 0,75% m/m de NaOH expandidos na região do FAME e TG de | |

| | | |
|--------------------|---|----|
| | $\delta = 3,550$ a $3,781$ ppm e $\delta = 4,041$ a $4,380$ ppm, respectivamente (ambos os compostos com sobreposição de sinais com os glicerídeos)..... | 55 |
| Figura 13 - | Espectros sobrepostos de ^1H RMN-AC para toda a região espectral ao longo do tempo de transesterificação com 0,75% m/m de NaOH. | 56 |
| Figura 14 - | Espectros ^1H RMN-AC da reação de transesterificação com 0,75% m/m de NaOH expandidos na região de $\delta = 3,46$ a $3,86$ ppm. | 57 |
| Figura 15 - | Perfil cinético médio das reações de transesterificação obtidos por ^1H RMN-AC para todos os compostos, incluindo todos os intermediários (a) (b) e somente com DG e MG total (c) (d) . A esquerda utilizando 0,50% e a direita com 0,75% de NaOH. Onde: ▼ TG, ◆ 1,3-DG, * 1,2-DG, × DG total, ● 2-MG, ■ 1-MG, * MG total e ▲ FAME. | 58 |
| Figura 16 - | Espectros do monitoramento online da reação de transesterificação por ^1H RMN-BC e NIR. Os espectros (a) e (c) foram pré-processados aplicando normalização para o RMN e primeira derivada com alisamento Savitzky–Golay para o NIR. (b) espectros NIR brutos. | 60 |
| Figura 17 - | Oscilação da conversão molar média do 2-MG na reação de transesterificação obtidos segundo a equação proposta (14) fundamentadas em dados espectrais de ^1H RMN-AC empregando 0,50% (■ vermelho) e 0,75% (● preto) de NaOH. | 64 |
| Figura 18 - | Coeficientes de regressão PLS normalizados para determinação dos compostos da reação de transesterificação por ^1H RMN-BC..... | 65 |
| Figura 19 - | Coeficientes de regressão PLS normalizados para determinação dos compostos da reação de transesterificação por NIR..... | 66 |
| Figura 20 - | Gráfico dos valores previsto versus referência das amostras de previsão para a melhor estratégia de modelagem dos compostos da reação obtidos por ^1H RMN-BC. | 67 |

| | |
|---|-----|
| Figura 21 - Gráfico dos valores previsto versus referência das amostras de previsão para a melhor estratégia de modelagem dos compostos da reação obtidos por NIR. | 68 |
| Figura 22 - Etapas da reação de transesterificação. | 77 |
| Figura 23 - Interface da modelagem no <i>software</i> COMSOL Multiphysics®. | 80 |
| Figura 24 - Fluxograma da otimização das constantes de velocidade pelo método FEM acoplado ao simplex. | 82 |
| Figura 25 - Estabilização das constantes de velocidade direta e reversa durante o processo de otimização. | 85 |
| Figura 26 - Curvas de modelagem cinética (- simulado) e pontos experimentais médios (o experimental) obtidos por ¹ H RMN-AC para a espécies presentes na reação. Linha vermelha (TG), azul (FAME), roxa (DG), verde (MG), amarela (GL) e preta (MeOH). | 87 |
| Figura 27 - Configurações de espectrômetros de RMN de bancada utilizados. | 95 |
| Figura 28 - Estabilizador de temperatura para tubos de RMN. | 96 |
| Figura 29 - Ilustração da aplicação de transferência de calibração quando necessário. | 97 |
| Figura 30 - (a) Espectros de ¹ H RMN-BC de uma mesma amostra de gasolina comum brasileira, adquiridos em espectrômetros de: 43 MHz ^S (linha preta), 60 MHz ^P (verde), 60 MHz ^S (azul) e 80 MHz ^S (linha vermelha). (b) Regiões espectrais expandidas a partir dos espectros. | 102 |
| Figura 31 - Valores de RMSEP e r ² _{pred} para cada parâmetro aplicando o método DS para transferência de calibração do modelo PLS do dispositivo de 60 MHz ^P para os dispositivos de 43 MHz ^S e 80 MHz ^S , de acordo com o número de amostras de transferência. Onde (- o -) indica o RMSEP e (- □ -) indica o r ² _{pred} | 107 |
| Figura 32 - Espectros das amostras de transferência selecionadas de acordo com os maiores valores de alavancagem. | 108 |
| Figura 33 - Valores de RMSEP para os métodos PDS e DWPDS (7 amostras de transferência) em função do número de amostras de transferência e tamanho móvel das janelas (j ₁ e j ₂) para o | |

parâmetro T50% no equipamento secundário de 80 MHz.

Figuras 3D (**esquerda**) e 2D (**direita**).....109

Figura 34 - (a) Espectro de uma mesma amostra adquiridos em espectrômetros de diferentes campos magnéticos. **(b)** região ampliada do espectro após a aplicação do método de padronização DWPDS com resultados otimizados mostrados na Tabela 12 para a massa específica.....112

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----|
| Tabela 1 - Atribuições de deslocamento químico e multiplicidade dos sinais de ^1H RMN-AC em CDCl_3 dos principais prótons dos compostos da reação de transesterificação. | 46 |
| Tabela 2 - Melhores resultados para as etapas de calibração e validação dos modelos PLS desenvolvidos para prever os compostos da reação de transesterificação por NIR e ^1H RMN-BC. | 62 |
| Tabela 3 - Limite superior e inferior das constantes de velocidade utilizados na otimização simplex. | 83 |
| Tabela 4 - Erros percentuais de cada espécie presente no meio reacional após a estabilização. | 83 |
| Tabela 5 - Desvio entre os resultados experimentais e simulados. | 88 |
| Tabela 6 - Limites superiores e inferiores aplicados às variáveis na rotina do PSO para cada método de padronização. | 99 |
| Tabela 7 - Limites superior e inferior aplicados à função de desejabilidade. | 100 |
| Tabela 8 - Pesos / importância atribuídos a cada desejabilidade individual (d_i). | 100 |
| Tabela 9 - Performances de cada instrumento quando aplicado para construir os modelos PLS para prever T50%, PFE e Mesp da gasolina comercial. | 103 |
| Tabela 10 - Performances do modelo PLS construído com o instrumento 60MHz ^P quando aplicado para prever as propriedades de amostras usando espectros adquiridos em um dispositivo secundário. | 105 |
| Tabela 11 - Amostras de transferência selecionadas de acordo com os maiores valores de alavancagem. | 108 |
| Tabela 12 - Resultados obtidos para a transferência de calibração dos modelos PLS desenvolvidos no dispositivo primário para os secundários pelas técnicas DS, PDS e DWPDS utilizando o algoritmo PSO*. | 111 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------|--|
| 1-MG | 1-Monoglicerídeo |
| 2-MG | 2-Monoglicerídeo |
| 1,2-DG | 1,2-Diglicerídeo |
| 1,3-DG | 1,3-Diglicerídeo |
| AIE | Agência Internacional de Energia |
| BDF | Fórmula de Diferenciação Regressiva (<i>Backward Differentiation Formula</i>) |
| GC-FID | Cromatografia Gasosa – Detector por Ionização de Chama (<i>Gas Chromatography – Flame Ionization Detector</i>) |
| HPLC | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (<i>High-Performance Liquid Chromatography</i>) |
| D | Função de Desejabilidade |
| DG | Diglicerídeos |
| DS | Padronização Direta (<i>Direct Standardization</i>) |
| DWPDS | Padronização Direta por Partes em Janela Dupla (<i>Double Window Piecewise Direct Standardization</i>) |
| EDPs | Equações Diferenciais Parciais |
| EtOH | Etanol |
| FAME | Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos (<i>Fatty Acid Methyl Esters</i>) |
| FEM | Método de Elementos Finitos (<i>Finite Element Method</i>) |
| FOM | Figura de Mérito (<i>Figure of Merit</i>) |
| GL | Glicerol |
| IR | Espectroscopia no Infravermelho (<i>Infrared Spectroscopy</i>) |
| j_1 | Tamanho Móvel da Janela Um |
| j_2 | Tamanho Móvel da Janela Dois |
| L_l | Limites Inferiores |
| L_s | Limites Superiores |
| MeOH | Metanol |
| Mesp | Massa Específica |
| MG | Monoglicerídeos |
| MIR | Infravermelho Médio (<i>Medium Infrared Spectroscopy</i>) |
| MLR | Regressão Linear Múltipla (<i>Multiple Linear Regression</i>) |

| | |
|--------------|---|
| N_{cal} | Número de Amostras de Calibração |
| N_{trans} | Número de Amostras de Transferência |
| N_{val} | Número de Amostras de Validação |
| NIRS/NIR | Infravermelho Próximo (<i>Near Infrared Spectroscopy</i>) |
| PCA | Análise de Componentes Principais (<i>Principal Component Analysis</i>) |
| PCR | Regressão por Componentes Principais (<i>Principal Component Regression</i>) |
| PDS | Padronização Direta por Partes (<i>Piecewise Direct Standardization</i>) |
| PFE | Ponto Final de Ebulição |
| PIE | Ponto Inicial de Ebulição |
| PLSR/PLS | Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (<i>Partial Least Squares Regression</i>) |
| PSO | Otimização por Enxame de Partículas (<i>Particle Swarm Optimization</i>) |
| r^2_{cal} | Coefficiente de Correlação para a Calibração (<i>Correlation Coefficient for the Calibration</i>) |
| r^2_{cv} | Coefficiente de Correlação para a Validação Cruzada (<i>Correlation Coefficient for the Cross-Validation</i>) |
| r^2_{pred} | Coefficiente de Correlação para a Predição (<i>Correlation Coefficient for the Prediction</i>) |
| RF | Radiofrequência |
| RMN-AC | Ressonância Magnética Nuclear de Alto Campo |
| RMN-BC | Ressonância Magnética Nuclear de Baixo Campo |
| RMSEC | Erro Quadrático Médio de Calibração (<i>Root Mean Square Error of the Calibration</i>) |
| RMSECV | Erro Quadrático Médio de Calibração Cruzada (<i>Root Mean Square Error of Cross-Validation</i>) |
| RMSEP | Erro Quadrático Médio de Predição (<i>Root Mean Square Error of the Prediction</i>) |
| SVD | Decomposição em Valores Singulares (<i>Singular Value Decomposition</i>) |
| T50% | Temperatura de Destilação de 50% de Recuperação |
| TG | Triglicerídeos |
| VL | Variáveis Latentes |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| CAPÍTULO I | 17 |
| 1.1 SETS DE AMOSTRAGEM | 18 |
| 1.1.1 Biodiesel | 18 |
| 1.1.2 Monitoramento <i>Online</i> da Reação de Transesterificação | 19 |
| 1.1.3 Gasolina | 20 |
| 1.2 TÉCNICAS ANALÍTICAS EMPREGADAS | 21 |
| 1.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN) | 21 |
| 1.2.2 Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR) | 22 |
| 1.3 MÉTODOS MATEMÁTICOS | 24 |
| 1.3.1 Técnicas Quimiométricas – Calibração Multivariada | 24 |
| 1.3.2 Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) | 24 |
| 1.3.3 Transferência de Calibração | 26 |
| 1.3.4 Otimização Simplex | 28 |
| 1.3.5 Otimização por Enxame de Partículas (PSO) | 29 |
| 1.3.6 Função de Desejabilidade (D) | 30 |
| 1.3.7 Método de Elementos Finitos (FEM) | 32 |
| CAPÍTULO II | 35 |
| 2.1 INTRODUÇÃO | 37 |
| 2.2 OBJETIVOS | 39 |
| 2.2.1 Objetivo Geral | 39 |
| 2.2.2 Objetivos Específicos | 39 |
| 2.3 MATERIAIS E MÉTODOS | 40 |
| 2.3.1 Instrumentação | 40 |
| 2.3.2 Reagentes e Materiais | 40 |
| 2.3.3 Reações de Transesterificação | 41 |
| 2.3.4 Amostragem e Monitoramento das Reações de Transesterificação | 42 |
| 2.3.5 Aquisição dos Espectros e Áreas das Integrais | 44 |
| 2.3.6 Modelos de Calibração PLS | 47 |
| 2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 49 |
| 2.4.1 Características Espectrais de ¹ H RMN-AC para Análise Qualitativa dos Compostos da Reação de Transesterificação | 49 |

| | | |
|-------|---|----|
| 2.4.2 | Equações Derivadas de Dados Espectrais de ¹ H RMN-AC para Quantificar os Compostos da Reação de Transesterificação | 52 |
| 2.4.3 | Estudo Cinético da Reação de Transesterificação Baseado nas Equações Propostas por ¹ H RMN-AC | 56 |
| 2.4.4 | Perfil Cinético da Reação de Transesterificação por NIR e ¹ H RMN-BC..... | 59 |
| 2.4.5 | Modelos de Calibração PLS para os Glicerídeos e FAME | 61 |
| 2.5 | CONCLUSÃO | 70 |
| | CAPÍTULO III | 71 |
| 3.1 | INTRODUÇÃO | 73 |
| 3.2 | OBJETIVOS | 75 |
| 3.2.1 | Objetivo Geral..... | 75 |
| 3.2.2 | Objetivos Específicos | 75 |
| 3.3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 76 |
| 3.3.1 | Materiais e Reagentes..... | 76 |
| 3.3.2 | Reação de Transesterificação | 76 |
| 3.3.3 | Amostragem das Reações de Transesterificação | 76 |
| 3.3.4 | Determinação da Concentração Molar dos Componentes | 77 |
| 3.3.5 | Modelagem e Simulação da Reação de Transesterificação..... | 77 |
| 3.3.6 | Teste Estatístico | 80 |
| 3.3.7 | Ajuste das Constantes de Velocidade | 81 |
| 3.3.8 | Processamento e Programas de Computador..... | 82 |
| 3.4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 83 |
| 3.5 | CONCLUSÃO | 89 |
| | CAPÍTULO IV | 90 |
| 4.1 | INTRODUÇÃO | 92 |
| 4.2 | OBJETIVO GERAL..... | 94 |
| 4.2.1 | Objetivo Geral..... | 94 |
| 4.2.2 | Objetivos Específicos | 94 |
| 4.3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 95 |
| 4.3.1 | Amostras de Gasolinas..... | 95 |
| 4.3.2 | Instrumentação e Aquisição de Espectros..... | 95 |

| | | |
|-------|--|------------|
| 4.3.3 | Análise Multivariada..... | 96 |
| 4.3.4 | Otimização por Enxame de Partícula (PSO) | 99 |
| 4.4 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 101 |
| 4.5 | CONCLUSÃO | 113 |
| | REFERÊNCIAS..... | 114 |
| | ANEXOS | 121 |
| | ANEXO A | 122 |
| | ANEXO B | 124 |
| | ANEXO C..... | 126 |

CAPÍTULO I

Revisão Bibliográfica

O presente trabalho será dividido em capítulos, constituído de uma revisão bibliográfica acerca dos assuntos abordados e resultados em diferentes situações. Ambas as situações envolvem a aplicação de ferramentas quimiométricas e de simulação numérica em dados gerados por métodos espectroscópicos de amostras de biodiesel e gasolina.

Na primeira etapa experimental, foi realizada a construção de modelos de regressão multivariada (PLS1) através de um conjunto de espectros de ^1H RMN e NIR para o desenvolvimento de um método analítico que possibilite o monitoramento *online* da reação de transesterificação. Foi também avaliada a cinética da reação de transesterificação através da simulação computacional por método de elementos finitos (FEM), assim como a otimização dos valores das constantes de velocidade pelo algoritmo de otimização simplex super modificado acoplado a função de desejabilidade (D).

A segunda etapa experimental, consiste na padronização de modelos PLS entre diferentes espectrômetros de RMN de média resolução através de métodos de transferência de calibração. Foram avaliados os métodos DS, PDS e DWPDS para a transferência de modelos de calibração baseado em dados espectrais de amostras de gasolina. Os métodos de transferência de calibração foram otimizados pelo algoritmo de otimização por enxame de partículas (PSO) acoplado a função de desejabilidade (D). Esta etapa foi desenvolvida na Empresa Magritek GmbH situada em Aachen – Alemanha, na modalidade de Doutorado Sanduíche.

1.1. SETS DE AMOSTRAGEM

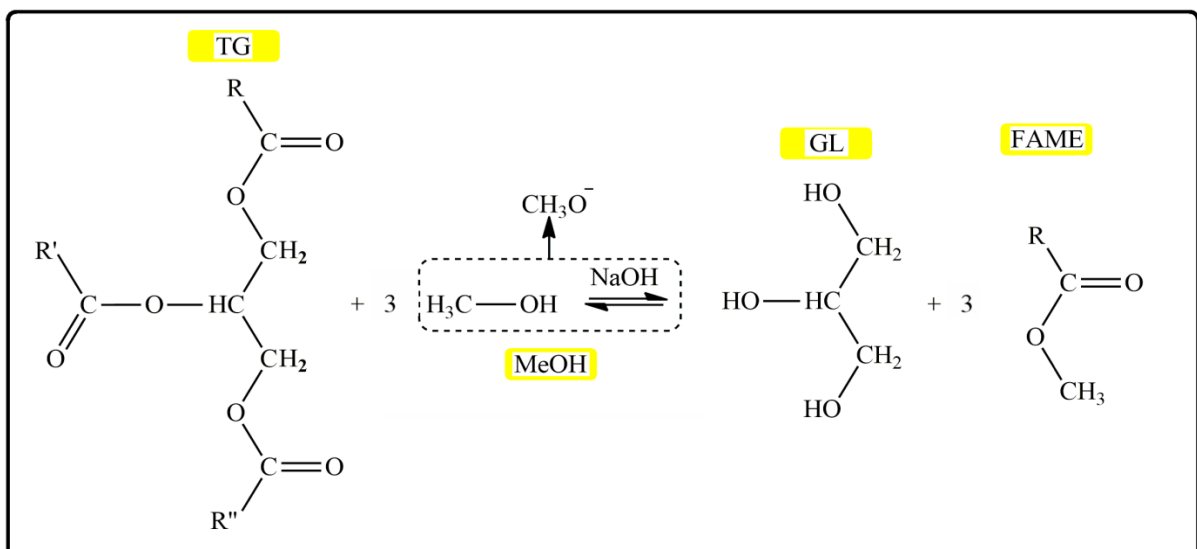
1.1.1. Biodiesel

O biodiesel se classifica como um combustível obtido de fontes renováveis e sua produção têm como principal objetivo a substituição gradual do diesel, o que tem incentivado a pesquisa e a produção deste biocombustível (GOLDEMBERG; LUCON, 2007; DABDOUB et al., 2009). É um combustível mais favorável ao meio ambiente, quando comparado ao diesel por ser: biodegradável, não tóxico e contribuir no balanço de CO₂ na atmosfera (GANESAN et al., 2009; PAPONG et al., 2010).

A principal reação química de obtenção do biodiesel é a de transesterificação, que ocorre com um óleo vegetal e/ou gorduras animais na presença de um álcool de cadeia curta. Esta reação é promovida por um catalisador homogêneo ou heterogêneo (ácido ou básico), com excesso de álcool para deslocar o equilíbrio no sentido da formação de produtos, gerando ésteres e glicerina (BUOSI et al., 2016).

A estequiometria da reação indica a necessidade de 3 mol de álcool para reagir com um mol de triglicerídeo (3:1), formando 3 mol de éster e 1 mol de glicerol. A Figura 1 apresenta a reação de transesterificação empregando o metanol como álcool (ABBASZAADEH et al., 2012).

Figura 1 – Reação de transesterificação empregando metanol.



A reação consiste de um conjunto de três etapas consecutivas e reversíveis. Primeiramente, as moléculas de triglicerídeos (TG) reagem com álcool, neste caso o metanol (MeOH) formando diglicerídeos (DG) (1,2-diglicerídeo (1,2-DG) e 1,3-diglicerídeo (1,3-DG)) que, por sua vez, são convertidos a monoglicerídeos (MG) (1-monoglicerídeo (1-MG) e 2-monoglicerídeo (2-MG)) e, finalmente em glicerol (GL) e três moléculas de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME), são formadas, uma em cada etapa da reação (NOUREDDINI & ZHU, 1997). As reações são reversíveis, embora o equilíbrio químico favoreça a formação de glicerol e ésteres (GALANTE, 2012).

A reação de transesterificação incompleta forma monoglicerídeos ou diglicerídeos, que podem causar problemas durante o armazenamento devido à separação, ou criar problemas no sistema de injeção e no motor (ANDERSON & FRANZ, 2012; GALVAN et al., 2013). A reação ineficaz gera produtos que prejudicam as características finais do produto, qualidade das emissões da queima, bem como o desempenho e a integridade do motor (FERRARI & SOUZA, 2009; ARAUJO et al., 2011).

1.1.2. Monitoramento *Online* da Reação de Transesterificação

Devido à grande diversidade de matérias-primas que podem ser utilizadas na sua obtenção, a produção de biodiesel vem sofrendo algumas dificuldades para sua implantação. De acordo com a matéria prima, técnica de produção, catalisador empregado, as propriedades físico-químicas do biodiesel se diferem, influenciando direta ou indiretamente no sistema de injeção, combustão e armazenamento (GALVAN et al., 2013).

O contínuo crescimento da demanda mundial por combustíveis juntamente com a aprovação de regulamentações mais restritivas referentes à qualidade dos biocombustíveis, corroboram com a necessidade do desenvolvimento de novas tecnologias analíticas aplicáveis a esse setor que ainda são bastante tímidas. Técnicas analíticas como as espectroscópicas permitem obter informações químicas de forma rápida, com custo relativamente baixo e que possibilitem a sua aplicação *in situ* visando monitorar e garantir a qualidade destes produtos ao consumidor final (LINCK et al., 2013).

O monitoramento da reação de transesterificação na grande maioria

dos casos são por métodos cromatográficos, tais como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (STAMENKOVIC et al., 2008, NOUREDDINI & ZHU, 1997) e cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (GC-FID) (VICENTE et al., 2005, VICENTE et al., 2006, BAMBASE et al., 2007). Porém, estas técnicas apresentam algumas desvantagens quando comparadas aos métodos espectroscópicos de ressonância magnética nuclear (RMN) e de infravermelho próximo (NIR), como a necessidade de pré-tratamento da amostra, ser uma análise destrutiva, apresentar longo tempo de análise, e não permitir o monitoramento *online* da reação.

Quando comparado aos países desenvolvidos, os investimentos no setor de combustíveis e biocombustíveis no Brasil ainda é bastante inexpressivo. Este cenário precisa ser alterado, através do desenvolvimento de novas técnicas que possam agregar informações químicas de forma rápida, com custo relativamente baixo, visando principalmente as aplicações *online* na indústria do petróleo e biocombustíveis (LINCK et al., 2013).

1.1.3. Gasolina

A gasolina é um combustível derivado do petróleo constituído de uma mistura complexa de hidrocarbonetos alifáticos (saturados - parafinas, insaturados - olefinas) e cíclicos (naftênicos, aromáticos) contendo átomos de carbono de C₄ a C₁₂ (FLUMIGNAN et al., 2012). No Brasil, a gasolina mais simples encontrada no mercado é a gasolina comum do tipo "C", à qual é acrescentado 27% de álcool etílico anidro, segundo resolução da Agência Nacional do Petróleo (ANP, 2017).

A gasolina possui um papel fundamental na economia do país, que justifica a necessidade da fiscalização contínua de sua distribuição, principalmente nos postos de combustíveis para combater possíveis atividades ilícitas de adulteração do combustível. Atualmente, uma pequena parcela das gasolinas comercializadas são fiscalizadas, esse número deveria ser maior se não fosse a dificuldade de execução de uma fiscalização mais efetiva e abrangente (ANP, 2017).

Para a gasolina ser comercializada deve apresentar parâmetros de qualidade de acordo com os valores especificados pela ANP como a cor, aspecto, massa específica (Mesp), teor de etanol anidro, destilação (temperaturas para 10%,

50%, 90% de evaporados, pontos final (PFE) e inicial (PIE) de ebulição e resíduo), índice de octanagem, índice antidetonante, teor de benzeno e teor de hidrocarbonetos olefínicos e aromáticos (ANP, 2017).

1.2. TÉCNICAS ANALÍTICAS EMPREGADAS

1.2.1. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de alta resolução é uma técnica poderosa e tem sido utilizada com sucesso nos mais variados campos de atuação, incluindo a área de combustíveis (ALAM et al., 2009; GISLASON et al., 2001; MONAKHOVA & DIEHL, 2016).

A espectroscopia de RMN baseia-se na quantização da radiação na região de radiofrequências (RF) por amostras submetidas a um campo magnético com a excitação dos seus átomos. Os núcleos desses átomos quando deslocados geram um campo magnético (momentos magnéticos nucleares), com um momento angular de *spin*, que quando submetidos a um campo magnético externo faz com que seus prótons procurem alinhar seus momentos magnéticos nucleares ao campo magnético aplicado. Ou seja, tendem a ficar oposto a ele, mas os núcleos também tendem a mudar de direção sobre seu próprio eixo de rotação em uma determinada frequência angular, denominada frequência de Larmor (PAVIA et al., 2010).

A aplicação de uma radiofrequência específica igual a radiofrequência desses núcleos geram outro campo magnético que será perpendicular ao eixo do primeiro campo magnético estando então excitados, ao regressarem para seu estado fundamental (tempo de relaxamento) geram as informações essenciais da estrutura molecular (PAVIA et al., 2010; GIL & GERALDES, 2002; SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000). O processo de absorção de energia é quantizado, mas ocorre quando os núcleos são induzidos a mudar de direção de *spin* em comparação ao campo magnético aplicado, onde essa energia é igual a diferença de energia entre os estados de energia α e β do *spin* (PAVIA et al., 2010).

Os prótons presentes nos núcleos são rodeados de elétrons, portanto, estão em ambientes químicos diferentes um em relação aos outros, logo os

prótons de uma mesma molécula apresentam ressonância em diferentes frequências. A densidade eletrônica é responsável pela blindagem dos prótons, portanto, ao aplicar-se um campo magnético, os elétrons da valência tendem a circular gerando um campo magnético (induzido) oposto ao campo magnético aplicado. Quanto maior a densidade eletrônica do núcleo, maior será o campo magnético induzido, que blinda o núcleo diminuindo o campo magnético aplicado que o núcleo experimenta (PAVIA et al., 2010).

A RMN é uma técnica rápida e fácil de ser automatizada, permitindo a análise de grande número de amostras em um curto período de tempo. Se destaca por ser uma técnica analítica moderna, não destrutiva e que fornece informações riquíssimas do ambiente molecular da amostra. Em contrapartida, a sua implementação como uma técnica de rotina em laboratórios ainda é barrada pelos seus altos custos operacionais, de manutenção e aquisição do instrumento (KILLNER et al., 2017).

O desenvolvimento de espectrômetros de bancada de RMN de média resolução, baseados em ímãs permanentes, abre a possibilidade para o desenvolvimento de novas metodologias analíticas com custos operacionais inferiores e informações qualitativas essenciais acerca da amostra (LINCK et al., 2013, KILLNER et al., 2017). Contudo a complexidade e o tamanho dos conjuntos de dados de tal técnica requerem a construção de modelos matemáticos que relacionem propriedades físicas e / ou químicas da amostra com medidas espectrais registradas em diferentes deslocamentos químicos (ALAM et al., 2009; FEUDALE et al., 2002). Problemas estes que podem ser resolvidos com a introdução de ferramentas quimiométricas para processar os dados experimentais, como a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) (KILLNER et al., 2017).

1.2.2. Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR)

A espectroscopia NIR fundamenta-se na absorção em determinadas bandas caracterizadas pelas ocorrências espectrais harmônicas ou de combinações de vibrações fundamentais de estiramento das moléculas que ocorrem no comprimento de onda de 750 à 2500 nm ou número de onda de 13.300 à 4000 cm^{-1} . As ligações mais comuns são de CH, NH, OH e SH, pois tendem a apresentar alta anarmonicidade e alta energia de ligação com transições vibracionais que permitem

prever os sobretons ou combinações das vibrações fundamentais de tais ligações na região associada com fóton no NIR (PASQUINI, 2003; SKOOG et al., 2002).

A base da técnica consiste em que as moléculas no estado fundamental de energia vibracional, onde átomos ou grupos de átomos que participam de ligações químicas se deslocam um em relação ao outro em uma frequência. Quando sofrem a incidência de uma radiação em uma determinada frequência (comprimentos de ondas específicos), há a transferência de energia para a molécula através de um fóton excitando os níveis vibracionais das moléculas (PASQUINI, 2003).

Para a ativação da vibração, é necessário a interação do campo elétrico oscilante da onda eletromagnética (luz) aplicada com a molécula, onde só ocorre quando os deslocamentos dos átomos em um modo vibracional produz uma mudança de dipolo da molécula ou no grupo local de átomos vibratórios. Para isso apenas uma das vibrações de combinação esteja ativa que são permitidas pela anarmonicidade. Esta característica causam algumas vibrações que não podem ser observadas no infravermelho médio (MIR), mas são exibidas no NIR (AGUIAR, 2017).

Portanto, a intensidade de uma determinada banda de absorção depende da magnitude da mudança de dipolo durante o deslocamento de átomos em uma vibração e com seu grau de anarmonicidade (PASQUINI, 2003). Cada tipo de ligação possui uma frequência de vibração natural característica. Contudo, ligações de mesmo tipo em compostos diferentes apresentam frequências vibracionais ligeiramente diferentes. Logo, ainda que algumas bandas possam coincidir, cada molécula tem um espectro de infravermelho único, comparável a uma impressão digital.

O NIR é uma técnica espectroscópica que dispensa o pré-tratamento da amostra, e não acarreta emissão de resíduos, devido ao fato de não empregar solventes, apresentando vantagens devido a capacidade de gerar espectros de amostras sólidas e líquidas. Assim como o RMN o NIR é uma técnica analítica que deve ser utilizada em combinação com ferramentas de análise multivariadas, devido a tantas variáveis existentes do espectro gerado (KILLNER et al., 2011).

1.3. MÉTODOS MATEMÁTICOS

1.3.1. Técnicas Quimiométricas – Calibração Multivariada

Com o desenvolvimento e a ampliação da presença de microcomputadores nos laboratórios, em meados da década de 1970, o número de dados obtidos nos experimentos aumentou em grande escala, dando origem à quimiometria. A quimiometria tem como interesse extrair maiores informações desses dados, utilizando ferramentas de análise multivariadas (PEREIRA, 2013).

A calibração multivariada é uma ferramenta indispensável para a determinação quantitativa em química analítica. Ela consiste em encontrar uma relação matemática entre a propriedade de interesse, geralmente a concentração de um analito com as medidas instrumentais. Uma vez estabelecido um modelo matemático satisfatório, a análise de uma nova amostra pode ser feita com base no seu espectro (MARTINS, 2006).

Dentre os métodos de calibração multivariada, mais conhecidos e utilizados estão a regressão linear múltipla (MLR), regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e regressão por componentes principais (PCR), entre outros (PEREIRA, 2013).

Entre estes métodos o PLS, é o mais comumente utilizado na calibração multivariada por apresentar melhores resultados de previsão quando comparado aos demais métodos (WOLD, SJÖSTRÖM & ERIKSSON, 2001). Adiante será melhor detalhado o PLS, método utilizado no presente trabalho para as construções dos modelos baseados nos conjuntos de espectros obtidos.

1.3.2. Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS)

O método de mínimos quadrados parciais (PLS) é baseado no conceito de análise de componentes principais (PCA), no qual a matriz de dados de sinais analíticos é decomposta em componentes principais. Porém, se difere por também utilizar o vetor de valores de referência (\mathbf{Y}). No PLS uma matriz com as informações espectrais (variáveis independentes, em \mathbf{X}) e um vetor contendo as informações retiradas do conjunto de dados de referência (variáveis dependentes, em \mathbf{Y}) são decompostas ao mesmo tempo num produto de duas matrizes, chamadas

de escores (em inglês *scores*) e pesos (em inglês *loadings*) (BRERETON, 2000; LIMA, 2015). As componentes principais em PLS recebem o nome de variáveis latentes (VL). A decomposição é feita segundo as Equações 1 e 2.

$$X = T P^T + E \quad \text{Eq. (1)}$$

$$Y = U Q^T + F \quad \text{Eq. (2)}$$

Em que **T** e **U** são as matrizes de escores de **X** e **Y**, respectivamente. E **P** e **Q** são as matrizes de pesos das matrizes **X** e **Y**, **P^T** e **Q^T** suas transpostas, e **E** e **F** são os resíduos, respectivamente. O vetor de coeficientes de regressão linear **b** correlaciona os blocos **X** e **Y** de forma linear, para **A** variáveis latentes, de acordo com a Equação 3.

$$u_A = b_A t_A \quad \text{Eq. (3)}$$

Os valores de **b_A** são agrupados na matriz diagonal **B**, os quais contém os coeficientes de regressão entre as matrizes de escores **T** de **X** e **U** de **Y**. A melhor relação linear possível entre os escores desses dois blocos é obtida por meio de pequenas rotações das variáveis latentes dos blocos de **X** e **Y**. Os valores previstos para novas amostras (**Ŷ**) são calculados de acordo com a Equação 4, com base nos escores de **T***.

$$\hat{Y} = T^* B Q \quad \text{Eq. (4)}$$

As matrizes de escores e pesos dependem do número de variáveis latentes **A**, a escolha desse parâmetro é de grande importância, para evitar subajuste ou sobre ajuste. Para a escolha do número de variáveis latentes, usa-se um método de validação cruzada, baseado num procedimento de reamostragem, e deve ser selecionado o número de variáveis latentes correspondente ao modelo de menor raiz quadrada do erro quadrático médio de validação cruzada (RMSECV) (PEREIRA, 2013).

O método PLS é subdividido em duas abordagens diferentes entre PLS1 e PLS2. No PLS1, há um vetor **y** para cada propriedade de interesse - a concentração de cada componente. Nesse caso, um modelo PLS distinto é desenvolvido para cada propriedade de interesse. Na outra abordagem, chamada PLS2, há uma matriz **Y** com todas as propriedades de interesse. O PLS2 é mais prático por possibilitar que todas as variáveis sejam modeladas conjuntamente e todas as propriedades de interesse sejam estimadas simultaneamente por um único modelo PLS (BERGO, 2014).

1.3.3. Transferência de Calibração

Uma vez que o modelo tenha sido desenvolvido, seria desejável que o mesmo pudesse ser aplicado também em um conjunto de instrumentos, no presente caso espectrômetros diferentes daquele utilizado na etapa de modelagem e calibração. Porém, os modelos gerados podem apresentar mudanças na constituição física e/ou química de amostras de diferentes lotes, mudanças nas condições ambientais de operação do instrumento e na resposta instrumental como troca de parte do aparelho ou um novo instrumento (HONORATO et al., 2007). Os métodos que tentam contornar esses problemas, são denominados de métodos de transferência de calibração (MARTINS et al., 2010).

Após a transferência de calibração de um modelo em um dado instrumento, chamado de "**Primário**", é natural o desejo de que o mesmo possa ser aplicado a outros instrumentos (espectrômetros). O instrumento para o qual se deseja transferir a calibração é denominado de "**Secundário**" (HONORATO et al., 2007). Os métodos de transferência mais comuns são o *direct standardization* (DS) e *piecewise direct standardization* (PDS) propostos por Wang et al. (1991). Que posteriormente derivaram em outros métodos como o *double window piecewise direct standardization* (DWPDS) apresentado por Wise et al. (2006).

Tais métodos têm por objetivo construir uma transformação linear para corrigir grandes diferenças aditivas entre as respostas instrumentais do espectro registrado no instrumento secundário, de modo a torná-lo mais semelhante ao do primário. Tal técnica consiste em centrar na média as colunas de cada espectro e recebeu o nome de *Additive Background Correction* (WANG et al. 1991; WANG et al. 1992, WANG et al. ,1994; WANG et al. 1995).

O DS utiliza todo o espectro para o ajuste do sinal analítico em cada frequência, enquanto o PDS utiliza o modo de janela móvel com algumas frequências em torno da variável ajustada, e o DWPDS utiliza duas janelas móveis. Uma descrição teórica mais aprofundada a respeito dos métodos de transferência podem ser encontradas em Wang et al. (1991,1992,1994,1995) e Wise et al. (2006).

No DS a matriz de transferência F_b é calculada usando a Equação 5:

$$F_b = S_2^+ S_1 \quad \text{Eq. (5)}$$

onde S_2^+ é o pseudo-inverso. Calculado pela decomposição de valores singulares (SVD) da matriz de dados experimentais obtida do instrumento secundário e S_1 é a

matriz de resposta do espectrômetro primário. No DS \mathbf{F}_b representa apenas diferenças instrumentais lineares, e cada frequência dos dados primários está relacionado a todas as frequências dos espectros secundários simultaneamente (ALAM et al., 2009; GISLASON et al., 2001).

Para superar o excesso de ajuste ao estimar \mathbf{F}_b e também o desalinhamento do espectro, no PDS a resposta espectral no instrumento primário na v -ésima frequência ($\mathbf{r}_{1,v}$) pode ser relacionada à resposta espectral na j -ésima configuração instrumental em frequências próximas no espectro do secundário com uma largura de janela de $2k + 1$ ($\mathbf{r}_{j,v-k}, \mathbf{r}_{j,v-k+1}, \dots, \mathbf{r}_{j,v+k-1}, \mathbf{r}_{j,v+k}$) denotada por:

$$\mathbf{X}_v = [\mathbf{r}_{j,v-k}, \mathbf{r}_{j,v-k+1}, \dots, \mathbf{r}_{j,v+k-1}, \mathbf{r}_{j,v+k}] \quad \text{Eq. (6)}$$

Um vetor de regressão em cada frequência pode ser calculado usando PLS por uma SVD:

$$\mathbf{b}_v = \mathbf{X}_v^+ \mathbf{S}_{1,v} \quad \text{Eq. (7)}$$

A matriz \mathbf{F}_b é então uma matriz diagonal gerada pelos vetores de regressão para cada janela nos dados:

$$\mathbf{F}_b = \text{diag}(\mathbf{b}_1^T, \mathbf{b}_2^T, \mathbf{b}_3^T, \dots, \mathbf{b}_v^T) \quad \text{Eq. (8)}$$

onde a maioria dos termos fora da diagonal na matriz \mathbf{F}_b são zero.

O método DWPDS é estendido através do uso de uma janela dupla, onde o primeiro comprimento de janela é definido por $2k + 1$ frequências e uma segunda janela de largura $2m + 1$ amostras são usadas no cálculo de \mathbf{F}_b (ALAM et al., 2009). Este método é melhor detalhado no manual do PLS Toolbox 8.1.1 (Eigenvector Research, Inc.) (WISE et al., 2006).

A escolha do conjunto de amostras de transferência de calibração (N_{trans}) é importante para o sucesso do processo, de modo que devem ser representativas do espaço experimental e descrever as diferenças instrumentais. Se isto não acontecer, os parâmetros de transferência calculados levarão a padronizações duvidosas (HONORATO et al., 2007). Entre os métodos de seleção de amostras de transferência mais utilizados estão o método por alavancagem (em inglês “*leverage*”) e Kennard Stone (WESTAD & MARINI, 2015).

A alavancagem representa uma medida de quão extremo um dado ponto ou variável está comparado à maioria. A seleção inicia-se com a amostra de maior alavancagem, que é removida do conjunto de dados e ortogonalizada contra as demais amostras (ALAM et al., 2009; GISLASON et al., 2001; WISE et al., 2006). O Kennard Stone, começa selecionando pares de amostras com a maior distância

Euclidiana, e as duas amostras mais distantes entre si são selecionadas para serem incluídas no conjunto de treinamento. Sucessivamente, para cada uma das amostras candidatas restantes com a menor distância dessas duas amostras selecionadas é retida, e o procedimento é repetido até que um determinado número de amostras de treinamento seja selecionado (WESTAD & MARINI, 2015; KENNARD & STONE, 1969).

Na literatura os métodos de transferência de calibração aplicados a espectros de NIR são bem difundidos. Porém, a literatura é escassa quando se trata de transferência entre espectrômetros de RMN. Até o presente momento, em nossas buscas encontramos somente três trabalhos.

No primeiro reportado por Gislason et al. (2001), foram testados métodos de transferência de calibração e comparados por modelos de regressão PLS de FIDs simulados em amostras de polímeros entre espectrômetros de RMN de baixa resolução (20 MHz). No segundo, Alam et al. (2009) avaliaram o desempenho dos métodos de transferência entre espectrômetros de RMN de alta resolução (600 MHz) para prever as concentrações de citrato, glicose e glicina em misturas. Recentemente, Monakhova & Diehl (2016) avaliaram métodos de transferência para o conjunto de espectros obtidos em espectrômetros de RMN de alta resolução (500 MHz e 600 MHz) em blendas de lecitina de girassol e suas misturas com espécies de soja.

1.3.4. Otimização Simplex

No decorrer dos anos, vários métodos de otimização foram desenvolvidos. Esses métodos permitem otimizar um sistema sem que o pesquisador precise conhecer a forma da relação matemática existente entre a resposta e as variáveis independentes (NETO et al., 1996).

Um desses métodos propostos é conhecido por simplex, apresentado por Spendley et al. (1962), que consiste na maximização ou minimização de uma função objetivo, respeitando um sistema de igualdades ou desigualdades, que recebem o nome de restrições do modelo. O simplex é uma figura regular que se desloca sobre uma superfície, de modo a evitar regiões de resposta não satisfatória. No espaço n -dimensional o simplex é um poliedro com faces planas contendo $n+1$ vértices, na qual n é o número de variáveis

independentes que se deseja ajustar. Portanto, o simplex em uma dimensão é representado por uma linha, enquanto em duas dimensões é representado por um triângulo, em três dimensões por um tetraédro e hiperpoliedros representam múltiplas dimensões (BEZERRA et al., 2016).

A otimização simplex inicia-se atribuindo-se limites inferiores (L_I) e superiores (L_S) para cada fator que será controlado. Em seguida, a técnica calcula as coordenadas do simplex inicial, sendo que os níveis inferiores são escolhidos como primeiro vértice. Após estabelecido o simplex inicial, novas sequências experimentais são sugeridas pelo algoritmo. Assim, todos os experimentos podem ser orientados automaticamente em direção ao ótimo (BONA et al., 2000)

Uma variação do método de otimização simplex, denominado simplex modificado, foi desenvolvida por Nelder e Mead (1965) a partir do método simplex básico. O simplex modificado pode mudar seu tamanho e forma, ajustar-se melhor à superfície de resposta, descrevendo a região experimental estudada e, conseqüentemente, permite uma determinação mais precisa do ponto ótimo. No algoritmo modificado o simplex pode ser submetido à cinco operações: reflexão, expansão, contração, contração com mudança de direção e contração maciça. Com a finalidade de melhorar e trazer mais rapidez ao método, foi desenvolvido o simplex super modificado que teve ampliação dessas operações citadas acima (BONA et al., 2000; BEZERRA et al., 2016; NETO et al., 1996).

Borsato et al. (2012), Angilelli et al. (2015) e Bordin et al. (2019) utilizaram simplex super modificado para otimizar os valores de coeficientes de difusão principais, cruzados e número Biot na transferência de massa de espécies em biosólidos. A difusão foi modelada segundo lei de Fick para difusão simultânea e resolvida pelo FEM. Os resultados exibiram baixos valores de desvios quando comparados os dados experimentais com os simulados.

1.3.5. Otimização por Enxame de Partículas (PSO)

Algoritmos baseados em enxames surgiram como uma poderosa família de técnicas de otimização, inspiradas no comportamento coletivo de animais sociais. Na otimização de enxame de partículas (PSO), o conjunto de soluções candidatas ao problema de otimização é definido como um enxame de partículas que podem fluir através do espaço de parâmetros, definindo trajetórias que são

impulsionadas pelos melhores desempenhos dos próprios e vizinhos (MARINI & WALCZAK, 2015).

O algoritmo PSO é expresso por meio da função objetivo. A qualidade da solução é representada por uma partícula e o valor da função objetivo na posição desta partícula. O termo partícula é utilizado, por possuir uma posição e vetor velocidade bem definidos mas não possuir massa nem volume. Já o termo enxame, representa um conjunto de possíveis soluções. Em cada ciclo iterativo avaliado, a posição de cada partícula é atualizada segundo a Equação 9:

$$x_i^{(t+1)} = x_i^{(t)} + v_i^{(t+1)} \quad \text{Eq. (9)}$$

onde $x_i^{(t)}$ representa a posição da partícula i no tempo t e $x_i^{(t+1)}$ e $v_i^{(t+1)}$ são a posição e a velocidade da partícula i no tempo $t+1$, respectivamente.

O vetor velocidade é a soma de três componentes. As três componentes são inércia, memória e cooperação. A inércia mantém a partícula em uma direção idêntica à que ela vinha seguindo. A memória conduz a partícula na direção da melhor posição que a própria partícula encontrou até o momento. Já a cooperação conduz a partícula na direção da melhor posição até o momento em que é descoberta pelo enxame. A cada iteração, o vetor velocidade é atualizada conforme a Equação 10:

$$v_i^{(t+1)} = wv_i^{(t)} + c_1r_1(pb_{est_i} - x_i^{(t)}) + c_2r_2(gbest - x_i^{(t)}) \quad \text{Eq. (10)}$$

onde w é uma constante que representa a inércia da partícula, c_1 e c_2 são constantes que atribuem pesos das componentes cognitiva e social, respectivamente, r_1 e r_2 são números aleatórios entre 0 e 1, pb_{est_i} é a melhor posição encontrada pela partícula i e $gbest$ é a melhor posição encontrada pelo enxame. As posições das partículas se confinam no espaço de busca e a velocidade máxima é estabelecida para cada dimensão (RIZZI et al., 2016).

Os passos se repetem até que o critério de parada seja atingido. Esse critério pode ser o número máximo de iterações ou, até que um valor desejado da função objetivo seja atingido.

1.3.6. Função de Desejabilidade (D)

Uma forma de trabalhar as multirespostas é pela aplicação de um algoritmo desenvolvido originalmente por Harrington (1965) que estabeleceu uma função de desejabilidade e que posteriormente foi aprimorado e divulgado por

Derringer e Suich (1980). Esta metodologia baseia-se na transformação de cada resposta individual em uma escala adimensional de desejabilidades individuais (d_i) onde, cada uma das respostas (Y_1, Y_2, \dots, Y_k) do conjunto original é transformada de tal forma que d_i pertença ao intervalo de $0 \leq d_i \leq 1$. Com as desejabilidades individuais, torna-se possível obter a desejabilidade global (D), que é definida como uma média geométrica das desejabilidades individuais (d_i) segundo a Equação 11:

$$D = \sqrt[m]{d_1 d_2 \dots d_m} \quad \text{Eq. 11}$$

onde m representa o número de respostas estudadas no processo de otimização. Desta forma, o processo de otimização simultânea é reduzida à simples tarefa de se calcular os níveis das variáveis que maximizem a desejabilidade global (D) (PIMENTA et al., 2015).

Para a obtenção das desejabilidades individuais há diferentes tipos de transformações possíveis. As funções para o cálculo de desejabilidades individuais podem ser estabelecidas como o valor alvo ser um mínimo, um máximo ou estiver localizado entre um valor mínimo e um valor máximo (NOVAES et al., 2017).

Por exemplo, se o valor alvo (T) para a resposta y , for um máximo, a desejabilidade individual (d_i) é descrita pela seguinte função apresentada na Equação 12:

$$d = \begin{cases} 0 & \text{se } y < L \\ \left(\frac{y - L}{T - L} \right)^s & \text{se } L \leq y \leq T \\ 1 & \text{se } y > T \end{cases} \quad \text{Eq. 12}$$

onde L é o menor valor aceitável para a resposta e s é o peso. Então, quando $s=1$, a função de desejabilidade é linear e quando $s > 1$, uma maior importância é dada aos valores perto do ótimo.

A aplicação da função de desejabilidade na otimização de métodos analíticos traz inúmeras vantagens como eficiência, economia e objetividade na otimização de procedimentos com múltiplas respostas (NOVAES et al., 2017).

1.3.7. Método de Elementos Finitos (FEM)

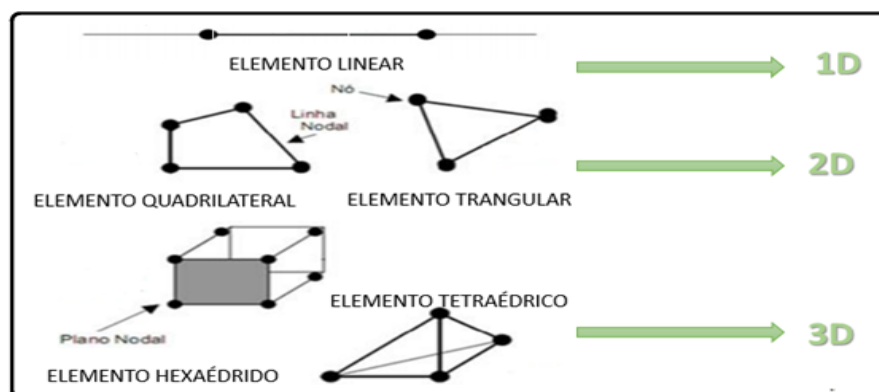
Este método foi desenvolvido em 1943 por Courant, no entanto teve sua aplicação implementada no início dos anos 70. Inicialmente, o método de elementos finitos (FEM) era limitado a computadores com grande capacidade de processamento de dados complexos, geralmente caros e pertencentes a indústrias aeronáutica, automotiva, de defesa e nuclear. Hoje, os programas de simulação com base em FEM, como *software* COMSOL, são capazes de produzir resultados precisos com computadores de configurações modestas (WONG et al., 2014).

O FEM é uma técnica matemática que se tornou popular e tem se destacado nas últimas décadas nas áreas de engenharia, física e química (QIAN et al., 2012). O FEM divide o domínio (Ω) em formas simples de regiões ou elementos, mantendo as mesmas propriedades do meio original, sem qualquer restrições em geometrias arbitrárias e irregulares, e pode lidar com qualquer tipo de condições de contorno (CHOI et al., 2015).

Uma solução aproximada para cada um destes elementos é desenvolvido por equações diferenciais parciais (EDPs) e resolvidos por modelos matemáticos, que correspondem ao fenômeno avaliado. A equação deixa de ser diferencial e passa a ser a soma de várias equações algébricas. A solução total é então gerada, colocando-as juntas solucionando o problema (GALANTE, 2012).

Esta técnica tem três características essenciais. A primeira é que o domínio, é subdividido em elementos, que consiste na geração da malha, que podem ser uni, bi ou tridimensional. E os elementos que constituem a malha podem possuir diferentes formas (Figura 2).

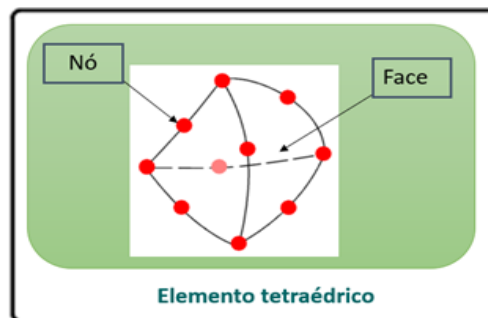
Figura 2 – Tipos de elementos empregados.



Fonte: Adaptado de Galante (2012).

Os pontos de interseção das linhas que descrevem os lados dos elementos são referenciados como nós (\bullet), e os lados são chamados de linhas, faces ou planos nodais. Cada elemento tem os nós que são os pontos que serão usados para calcular as concentrações locais nos dados tempos. A interpolação dos dados de todos os nós nos dá a informação sobre o domínio na sua totalidade, como apresenta a Figura 3 (ANGILELLI, 2013).

Figura 3 – Partes de um elemento tetraédrico.



Fonte: Adaptado de Angilelli (2013).

A segunda característica intrínseca do FEM é a necessidade de inserção dos parâmetros de entrada e definição das condições de contorno. A terceira característica está relacionada ao fato de que numa malha de elementos finitos a regularidade dos elementos influencia decisivamente no resultado final da solução obtida (DICKINSON et al., 2014).

Os passos envolvidos para a resolução de problemas por elementos finitos que devem ser obedecidos são (GALANTE, 2012):

(1) Discretização: Consiste em transformar o domínio em uma malha de elementos, como a escolha de tipo de elemento, a forma e o tamanho. Na geração da malha se deve levar em conta a minimização dos erros e o equilíbrio entre o erro de aproximação e o tempo de simulação para obter a solução do problema.

(2) Determinação das equações para cada modelo: Nesta etapa são aplicadas a cada elemento, as equações dos modelos que representam os fenômenos estudados, juntamente com as condições de contorno e condições iniciais.

(3) Montagem: Após a obtenção das equações dos elementos individuais, estas devem ser reunidas de forma a caracterizar o comportamento

unificado do sistema inteiro, atendendo às condições de continuidade nas fronteiras entre os elementos.

(4) Solução das equações do sistema: Nesta fase ocorre a resolução do sistema de equações previamente determinadas, empregando os algoritmos computacionais baseados em álgebra linear.

(5) Pós-processamento dos resultados: Nesta etapa ocorre a visualização dos resultados analisados na forma de mapas de cores, gráficos e animações gráficas.

A simulação em plataforma multifísica, é uma metodologia de análise dos fenômenos que envolvem escoamento de fluidos associados ou não com a transferência simultânea de calor e massa, com ou sem reação química, mudança de fase, fenômenos de interface, processos biológicos, entre outros fenômenos que podem ser estudados por simulações numéricas computacionais (GALANTE, 2012, QIAN et al., 2012).

Vários grupos têm relatado estudos de modelos cinéticos sobre a reação de transesterificação (BAMBASE et al., 2007; DARNOKO & CHERYAN; 2000; FREEDMAN et al., 1986; LIMA, 2008; NOUREDDINI; ZHU, 1997; OKULLO & TEMU, 2015; SILVA et al, 2008; STAMENKOVIC et al., 2008; VICENTE et al., 2005; VICENTE et al., 2006). Embora úteis, estes estudos não levam em conta uma abordagem em simulação numérica.

No estudo apresentado por Sajjadi et al. (2014a) é realizado uma simulação 3D da produção de biodiesel de óleo de palma em um reator de membrana cerâmica micro porosa. Um tubo de $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ foi utilizado como separador de leito catalítico. O leito catalítico foi embalado com catalisador de hidróxido de potássio suportado em casca de palma e carvão ativado. No outro estudo, Sajjadi et al. (2014b) simularam os fenômenos de convecção e difusão da mesma membrana cerâmica durante a reação de transesterificação.

No estudo apresentado por Han et al. (2011) foi realizada a simulação numérica da produção de biodiesel em um micro-reator capilar, que tem o potencial de intensificar a transferência de massa entre fluidos imiscíveis que resultariam em maiores taxas de reações químicas.

CAPÍTULO II

Monitoramento online da reação de transesterificação por espectroscopia de ^1H RMN de média resolução e NIR em conjunto com regressão PLS

Resumo

Neste trabalho foi realizado um estudo qualitativo e quantitativo dos triglicerídeos (TG), 1,2-diglicerídeos (1,2-DG), 1,3-diglicerídeos (1,3-DG), 1-monoglicerídeos (1-MG), 2-monoglicerídeos (2-MG) e ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) presentes na reação de transesterificação baseados nos dados espectrais de ressonância magnética nuclear de prótons em alto campo (^1H RMN-AC). As equações propostas foram fundamentadas em dados espectrais que permitiram determinar a porcentagem molar dos diferentes tipos de compostos presentes na reação, que foram utilizados como referência para construir os modelos de calibração por regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) empregando dados de espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) e ressonância magnética nuclear de prótons em baixo campo (^1H RMN-BC) obtidos pelo monitoramento *online* da reação. Foram avaliadas algumas estratégias de pré-processamentos, e os modelos que apresentaram os melhores valores de erro quadrático médio de predição (RMSEP) variaram de 0,14 a 1,53% para o NIR e 0,16 a 1,41% para o ^1H RMN-BC considerando todos os compostos da reação. Para todos os glicerídeos e FAME, os modelos desenvolvidos mostraram margens de erro satisfatórios, com exceção ao 2-MG. Esses resultados demonstraram que a análise de ^1H RMN-BC em um espectrômetro compacto e NIR podem fornecer espectros com boa qualidade e com resolução adequada para o controle de qualidade em tempo real da produção de biodiesel.

Palavras chave: biodiesel; ressonância magnética nuclear; infravermelho próximo; regressão por mínimos quadrados parciais; diglicerídeos; monoglicerídeos.

2.1. INTRODUÇÃO

O biodiesel é um dos principais biocombustíveis utilizados na frota de transporte global, em particular, teve o maior aumento entre os biocombustíveis na última década, aproximadamente 15 vezes, sendo os Estados Unidos, o Brasil, e alguns países europeus, os principais responsáveis por esta crescente participação de mercado (OLIVEIRA & COELHO, 2017).

A principal reação química de produção do biodiesel é a transesterificação, que ocorre entre óleo vegetal e/ou gorduras animais e um álcool de cadeia curta. Esta reação é promovida por um catalisador homogêneo ou heterogêneo (ácido ou básico), com excesso de álcool para deslocamento da reação no sentido da formação de produtos, gerando ésteres de ácidos graxos e glicerol (Figura 1) (BUOSI et al., 2016).

A reação consiste em um conjunto de três etapas consecutivas e reversíveis onde uma molécula de triglicerídeo (TG) reage sequencialmente com 3 moléculas do álcool, neste caso o metanol (MeOH). Primeiramente, com a reação do TG com MeOH tem-se a formação de um diglicerídeo (DG) (1,2-DG ou 1,3-DG) e uma molécula de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME). Na sequência, o DG é então convertido a um monoglicerídeo (MG) (1-MG ou 2-MG) e mais uma molécula de FAME. Na terceira e última etapa, o MG é então convertido em glicerol (GL) e mais uma molécula de FAME, somando ao todo 3 moléculas de FAME são produzidas (NOUREDDINI & ZHU, 1997).

Os principais problemas encontrados no biocombustível devido às reações de transesterificação incompletas é a presença de substâncias como GL, MG e DG no produto final, que geram problemas tanto no armazenamento do combustível como no sistema de injeção do motor (ANDERSON & FRANZ, 2012; GALVAN et al., 2013). Dessa forma, o monitoramento da reação de transesterificação é de suma importância para a garantia da qualidade do combustível produzido.

Diversos trabalhos relatam o monitoramento da reação de transesterificação para a produção de biodiesel. No entanto, poucos trabalhos trazem a determinação de compostos minoritários como MG e DG. Na sua maioria, esses trabalhos empregam técnicas cromatográficas de análise que, apesar de

robustas, apresentam limitações técnicas não encontradas no emprego das técnicas espectroscópicas para o monitoramento *online* na produção do combustível (BAMBASE et al., 2007; NOUREDDINI & ZHU, 1997; STAMENKOVIĆ et al., 2008; VICENTE et al., 2005; VICENTE et al., 2006).

Nesse sentido, o presente trabalho propõe uma nova aplicação da técnica de ^1H RMN-AC e NIR para o monitoramento *online* da reação de transesterificação para a produção de biodiesel, através da determinação não apenas de FAME e TG, mas também MG e DG durante todo o desenvolvimento da reação.

2.2. OBJETIVOS

2.2.1. Objetivo Geral

O presente trabalho propõe a análise qualitativa e quantitativa dos compostos majoritários da reação de transesterificação por ^1H RMN-AC, e a construção de modelos de regressão multivariada (PLS1) que emprega o conjunto de espectros de ^1H RMN-BC e NIR para o desenvolvimento de um método analítico que possibilite o monitoramento *online* da reação.

2.2.2. Objetivos Específicos

- Propor equações baseadas em dados espectrais de ^1H RMN-AC que permitam avaliar os diferentes tipos de compostos presentes na reação;
- Gerar modelos de calibração por regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) empregando dados de espectroscopia NIR e ^1H RMN-BC;
- Monitoramento *online* da reação de transesterificação por ^1H RMN-BC;
- Monitoramento *online* da reação de transesterificação por NIR;
- Comparar os modelos PLS entre os dois equipamentos;
- Disseminar o uso da técnica de ^1H RMN, até então pouco empregada nas indústrias brasileiras do setor.

2.3. MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1. Instrumentação

Os espectros de baixo campo (^1H RMN-BC) foram adquiridos num espectrômetro de RMN de bancada (marca *Spinsolve*[®], Magritek) equipado com ímãs permanentes capazes de gerar um campo magnético de 1 T (43 MHz para a frequência de Larmor do próton) (Figura 4 (a)). Os espectros NIR foram coletados usando um espectrofotômetro NIR (ABB Bomem, modelo MB160D) na faixa de 4000 a 14000 cm^{-1} com uma resolução de 4 cm^{-1} (Figura 4 (b)).

Figura 4 – Espectrômetro de baixo campo *Spinsolve* (a) e espectrofotômetro NIR (b) utilizados no monitoramento *online* da reação.



Um espectrômetro de RMN de alto campo da marca Bruker-400 a uma frequência de próton de 400 MHz (9 T) foi usado como referência para o espectrômetro *Spinsolve* RMN de baixo campo e o espectrofotômetro NIR.

2.3.2. Reagentes e Materiais

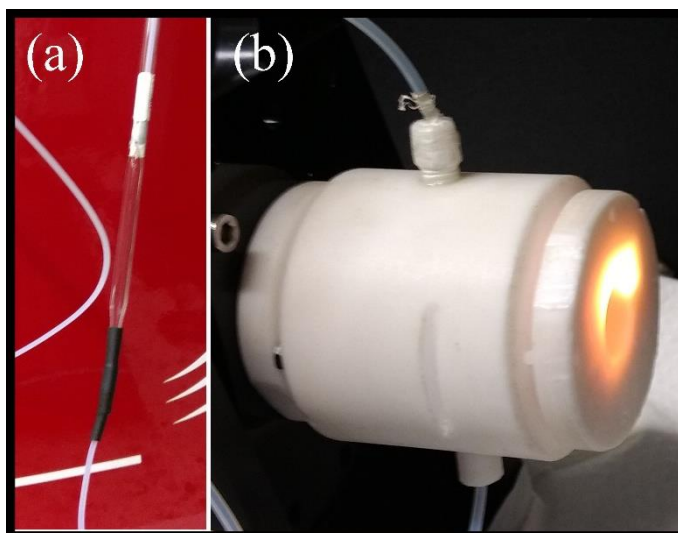
Óleo de soja comercial (Soya, Brasil) foi utilizado em todas as reações de transesterificação realizadas neste trabalho, foram comprados em um mercado local na cidade de Londrina – PR.

Foram também utilizados metanol (J.T.Baker, grau HPLC), hidróxido de sódio (Fmaia, grau analítico), ácido acético (Ecibra, grau analítico) e sulfato de sódio (Anidrol, grau analítico). Clorofórmio deuterado – CDCl_3 99,8%, contendo 0,05% (v/v) de tetrametilsilano – TMS (Sigma Aldrich) foi usado nas análises de ^1H RMN-AC e óxido de deutério – D_2O 99,9% (Sigma Aldrich) para ajustar a homogeneidade do campo magnético (*shim*) das análises de ^1H RMN-BC.

Para as medidas *online* por ^1H RMN-BC foi construída uma célula de fluxo de vidro de 40 mm de comprimento com um diâmetro externo de 5 mm (Figura 5 (a)), com um volume ótimo de pré-polarização configurado para permitir que a mistura atinja o equilíbrio de Boltzmann antes de entrar na região da bobina de radiofrequência, previamente descritos em Killner et al. (2015).

Uma célula de fluxo espectroscópico de Teflon[®] (Figura 5 (b)) também foi desenvolvida para o monitoramento *online* da reação de transesterificação por espectroscopia NIR. A célula possui um caminho óptico de 2,0 mm e um volume interno de 220 μL , consultar Killner et al. (2011) para maiores informações.

Figura 5 – Célula de fluxo espectroscópico utilizada no RMN de baixo campo (a) e a célula de fluxo utilizada no NIR (b).



2.3.3. Reações de Transesterificação

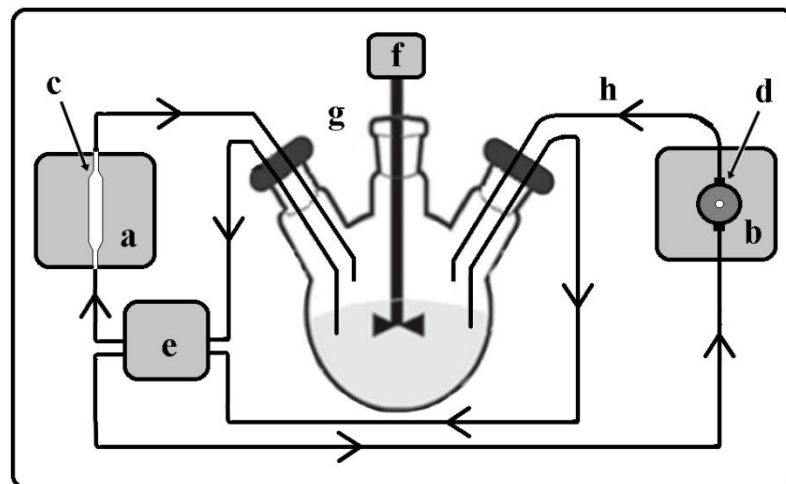
Todas as reações de transesterificação foram realizadas misturando 500 g de óleo de soja, 140 mL de metanol (proporção 1:6 equivalentes) e 2,50 g ou

3,75 g de hidróxido de sódio (0,50% e 0,75% m/m da base em relação ao óleo), previamente dissolvido em metanol, com agitação mecânica de 150 rpm, durante 62 minutos e mantendo apenas a temperatura ambiente do laboratório controlada de 20 ± 2 °C. Neste trabalho, as reações de transesterificação foram realizadas em triplicata.

2.3.4. Amostragem e Monitoramento das Reações de Transesterificação

A Figura 6 apresenta um esquema da configuração experimental da reação de transesterificação, identificando cada instrumento utilizado no experimento.

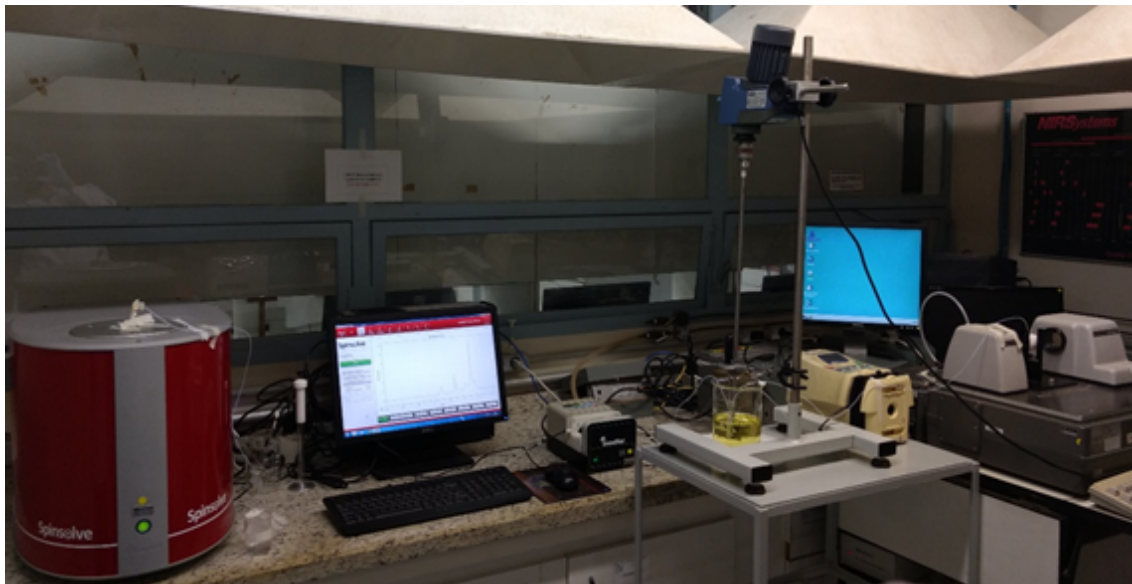
Figura 6 – Configuração experimental: **(a)** espectrômetro de ^1H RMN-BC; **(b)** espectrofotômetro NIR; **(c)** célula de fluxo ^1H RMN-BC; **(d)** célula de fluxo NIR; **(e)** bomba peristáltica; **(f)** agitador magnético; **(g)** reator; **(h)** tubos de Teflon[®] d.i = 1,0 mm.



Ao reator devidamente selado foram inseridos quatro tubos de amostragem de Teflon[®] com um diâmetro interno de cerca de 1 mm. Dois tubos foram utilizados para permitir que a amostra flua através da célula espectrofotométrica do NIR e dois para que a amostra flua através da célula do ^1H RMN-BC. Em cada sistema a mistura da reação foi bombeada com o auxílio de uma bomba peristáltica (Ismatec, modelo IPC-8). A coleta das amostras de ^1H RMN-AC foi realizada com o auxílio de uma pipeta volumétrica (Figura 6).

A Figura 7 apresenta a configuração de um experimento conduzido no laboratório do Instituto de Química da UNICAMP.

Figura 7 – Condução do experimento no laboratório da UNICAMP.



Foram retirados 16 espectros e alíquotas da reação nos tempos de 3, 7, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 42, 46, 50, 54, 58 e 62 minutos, o tempo de reação começou a contar com a adição da solução de NaOH:metanol no óleo de soja. Os espectros foram obtidos tanto pelas técnicas de ^1H RMN-BC e NIR nos intervalos de tempo decorridos. Juntamente, foram retiradas alíquotas de 7 mL do meio reacional em cada intervalo de tempo, adicionadas em um tubo contendo 1,5 mL de ácido acético glacial para neutralizar o NaOH utilizado como catalisador na reação.

Sequencialmente, após a homogeneização, as amostras foram lavadas três vezes com água destilada, 50 mL de água para cada lavagem, e centrifugadas três vezes por 7 minutos a 2300 rpm a temperatura ambiente. Após cada operação de lavagem, a fase orgânica (sobrenadante) foi removida para outro tubo. A fase orgânica remanescente (após três lavagens) foi seca em sulfato de sódio anidro, e centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos, para posterior análise em ^1H RMN-AC.

Para a aquisição dos espectros utilizou-se 50 μL de amostra dissolvidas em 500 μL de CDCl_3 com TMS. Os parâmetros de aquisição dos espectros de ^1H RMN-AC foram pulso simples, largura espectral de 8012 Hz, atraso

de relaxamento 3 s, número de varreduras 16 scans, tempo de aquisição 4,819 s e largura de pulso 90°.

A aquisição dos dados espectrais NIR e ^1H RMN-BC tiveram início somente após 45 s de ativação das bombas peristáltica a uma vazão de 1 mL min^{-1} , assegurando a representatividade da composição nas células de fluxo. Após a aquisição dos dados espectrais, o fluxo que passa através das células foi mudado para o ar. Desta forma, a mistura reacional não se separou em duas fases dentro das células e assegurou-se uma limpeza eficaz das células de fluxo (KILLNER et al., 2011).

Os parâmetros de aquisição dos espectros NIR foram de 60 scans, coletados através da célula de fluxo. Um espectro de ar, foi adquirido com a mesma célula que foi empregado como referência para cálculos de absorção.

Os parâmetros de aquisição dos espectros ^1H RMN-BC foi imediatamente após a aplicação de um pulso simples de radiofrequência (RF) de 90°. Cada espectro contendo 1 scan para cada intervalo de tempo através da célula de fluxo, sequencialmente, após a célula ser preenchida com a mistura, a bomba foi parada. Após a estabilização do fluxo durante um período de 10 s, o espectro foi adquirido. Tempo este necessário para que a solução atingisse o estado estático, e não se observasse separação de fase líquido-líquido (KILLNER et al., 2015).

2.3.5. Aquisição dos Espectros e Áreas das Integrais

Aos conjuntos de espectros de ^1H RMN-AC foram corrigidos em $\delta = 0$ ppm representado pelo TMS e os espectros de ^1H RMN-BC foram processados através de uma rotina escrita nos softwares *Matlab*[®] 2015a (*MathWorks*, USA) e *Prospa*[®] v.3.0.919 (*Spinsolve*[®], Magritek), respectivamente. Todos os espectros RMN foram cortados na faixa de $\delta = -2$ a 10 ppm e tratados pela correção do ângulo de fase, correção de linha de base e alinhamento do desvio químico em $\delta = 1,19$ ppm, segundo testes preliminares descritos por Killner et al. (2015). Aos espectros NIR foi realizado somente o corte dos espectros na região de $\lambda = 4500$ a 9000 cm^{-1} ou 2200 a 1100 nm, conforme relatado por Lima et al. (2014) e Killner et al. (2011).

Após uma rotina preliminar de otimização dos pré-processamentos avaliados, a aplicação da normalização do tipo 1 (FERREIRA, 2015) para o RMN-BC e primeira derivada com alisamento Savitzky–Golay (polinômio de segunda ordem

com janelas de 11 pontos) para o NIR foram os pré-processamentos que apresentares melhores resultados.

Para a seleção da área de integração representada pelo TG, 1,2-DG, 1,3-DG, 1-MG, 2-MG e FAME presentes na reação, também foram obtidas por uma rotina escrita no Matlab. As faixas de seleção das integrais consideradas são apresentadas na Tabela 1, baseadas em estudos relatados por Nieva-Echevarría et al. (2014), com algumas adaptações.

A Figura 8, apresenta os tipos de prótons do grupo gliceril dos triglicerídeos, diglicerídeo, monoglicerídeo e FAME que estão destacados, para melhor compreensão, representadas pelas letras **B** à **M** em azul. Os valores dos deslocamentos químicos para cada sinal se encontram na Tabela 1.

Figura 8 – Estruturas e seus tipos de prótons do grupo gliceril dos glicerídeos e prótons metílicos do FAME.

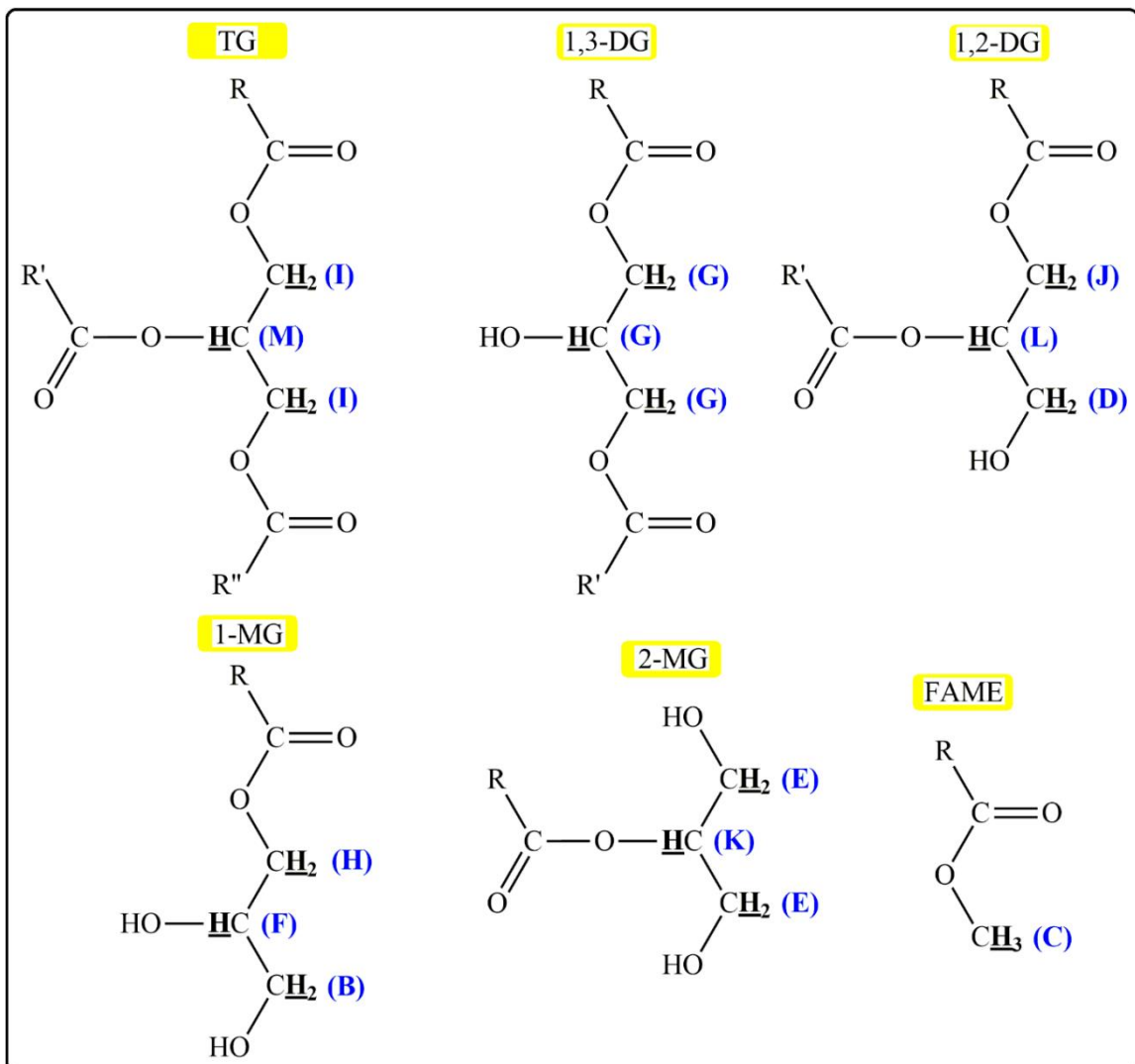


Tabela 1 – Atribuições de deslocamento químico e multiplicidade dos sinais de ^1H RMN-AC em CDCl_3 dos principais prótons dos compostos da reação de transesterificação.

| Sinal | Deslocamento químico δ (ppm) | Multiplicidade | Grupo funcional | | Faixa de integração δ (ppm) |
|----------------|-------------------------------------|----------------|--|------------------------------|------------------------------------|
| | | | Tipo de prótons | Composto | |
| A ₁ | 2,26 – 2,36 | dt | – OCO – CH_2 – | Grupos acil no TG | 2,247 – 2,389 |
| | 2,33 | m | – OCO – CH_2 – | Grupos acil no 1,2–DG | |
| | 2,35 | t | – OCO – CH_2 – | Grupos acil no 1,3–DG e 1–MG | |
| | 2,38 | t | – OCO – CH_2 – | Grupos acil no 2–MG | |
| B | 3,65 | ddd | ROCH_2 – CHO – CH_2OH | Grupos acil no 1–MG | – |
| C | 3,67 | s | $\text{RCOO} - \text{CH}_3$ | Grupo metílico no FAME | 3,550 – 3,781 |
| D | 3,73 | m ^a | ROCH_2 – CH(OR') – CH_2OH | Grupo gliceril no 1,2–DG | – |
| E | 3,84 | m ^a | HOCH_2 – CH(OR) – CH_2OH | Grupo gliceril no 2–MG | – |
| F | 3,94 | m | ROCH_2 – $\text{CHOH} - \text{CH}_2\text{OH}$ | Grupo gliceril no 1–MG | 3,893 – 3,990 |
| G | 4,05 – 4,21 | m | ROCH_2 – $\text{CHOH} - \text{CH}_2\text{OR}'$ | Grupo gliceril no 1,3–DG | 4,041 – 4,380 |
| H | 4,18 | ddd | ROCH_2 – CHO – CH_2OH | Grupo gliceril no 1–MG | – |
| I | 4,22 | dd, dd | ROCH_2 – CH(OR') – $\text{CH}_2\text{OR}''$ | Grupo gliceril no TG | 4,219 – 4,380 |
| J | 4,28 | ddd | ROCH_2 – CH(OR') – CH_2OH | Grupo gliceril no 1,2–DG | – |
| K | 4,93 | m | HOCH_2 – $\text{CH}(\text{OR}) - \text{CH}_2\text{OH}$ | Grupo gliceril no 2–MG | 4,894 – 4,955 |
| L | 5,08 | m | ROCH_2 – $\text{CH}(\text{OR}') - \text{CH}_2\text{OH}$ | Grupo gliceril no 1,2–DG | 5,056 – 5,114 |
| M | 5,27 | m | ROCH_2 – $\text{CH}(\text{OR}') - \text{CH}_2\text{OR}''$ | Grupo gliceril no TG | – |

Abreviação: s: singleto; t: tripleto; m: multipletto; d: dubleto. ^aEste sinal mostra uma multiplicidade diferente se o espectro é adquirido a partir do composto puro ou participando de mistura. Onde TG: triglicerídeos; 1,3-DG: 1,3–diglicerídeo; 1,2-DG: 1,2–diglicerídeo; 1-MG: 1-monoglicerídeo; 2-MG: 2-monoglicerídeo e FAME: *Fatty Acid Methyl Esters*. Adaptada de Nieva-Echevarría et al. (2014).

Para cada faixa de integração representada por um grupo específico de um composto foi realizado um ajuste polinomial da curva afim de se obter a área do sinal espectral mais precisamente, visto que as áreas dos picos dos compostos intermediários são razoavelmente pequenas. Um procedimento de integração simples foi realizado pela função de integração numérica trapezoidal do *software Matlab*, sobre as diferentes regiões mencionadas.

2.3.6. Modelos de Calibração PLS

Para a construção dos modelos de calibração PLS1, duas reações de transesterificação em triplicata foram conduzidas utilizando as concentrações de 0,50 e 0,75% do catalisador NaOH. Para ambas as técnicas de ^1H RMN-BC e NIR, foram adquiridos 16 espectros de cada reação nos devidos tempos mencionados, totalizando 96 espectros para cada.

O método PLS foi utilizado para obter modelos preditivos e o método *leave-one-out* foi empregado para a validação interna para o conteúdo de mono-, di-, triglicerídeos e FAME. Os modelos foram construídos empregando a rotina computacional GAMMA (2017), operando no programa computacional *Matlab*. Os dados quantitativos derivados dos espectros de ^1H RMN-AC da conversão do TG, 1,2-DG, 1,3-DG, DG total, 1-MG, 2-MG, MG total e FAME, foram utilizadas como referência (vetor "Y") para construir o modelo multivariável, e o conjunto de espectros de ^1H RMN-BC e NIR foram aplicados cada um em uma matriz de dados "X".

O conjunto amostral inicial foi dividido em 64 amostras de calibração (67%) e 32 amostras de previsão (33%) usando o algoritmo de Kennard e Stone (KENNARD & STONE, 1969). Para a definição da quantidade de variáveis latentes foi utilizada validação cruzada. A quantidade de variáveis latentes para cada modelo foi selecionada com base no menor valor na raiz quadrada do erro quadrático médio de validação cruzada (RMSECV), escolhendo o menor número de variáveis latentes possível.

Os modelos foram então construídos com os espectros pré-processados selecionando o que apresentou o menor número de variáveis latentes e valores de RMSECV. Nessa etapa também foram excluídas as amostras anômalas

(*outliers*) com base nos valores de resíduos com alta influência não modelados em **y**.

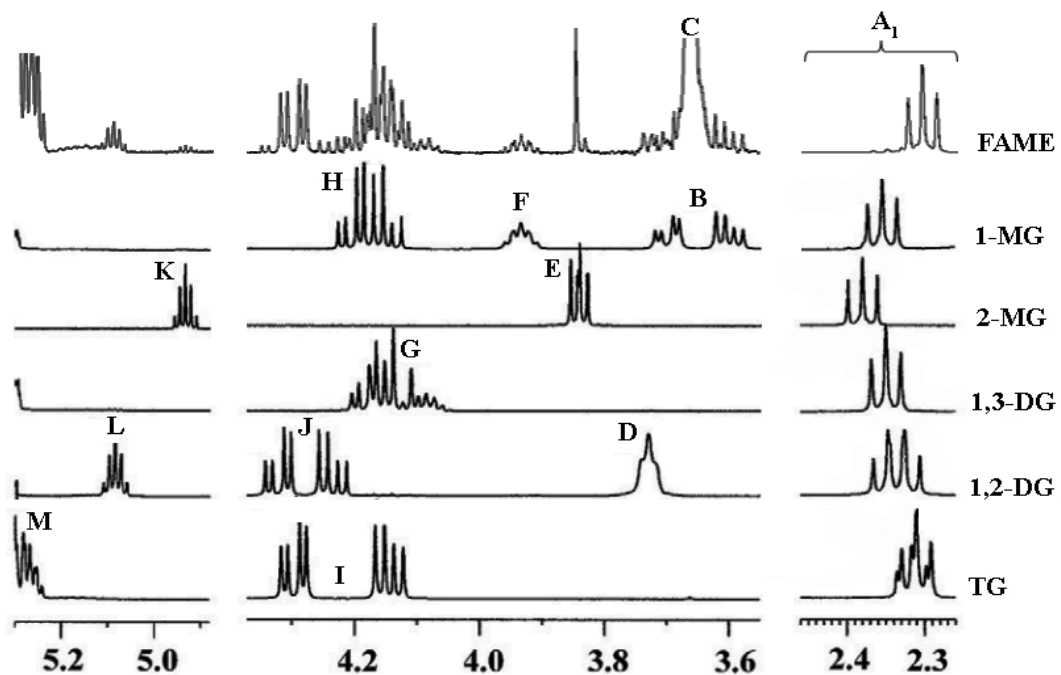
Para validar os modelos de calibração multivariada foram escolhidas as figuras de méritos (FOM) do erro quadrático médio de calibração e predição (RMSEC e RMSEP) e os coeficientes de correlação (r^2). Além disso, foram avaliados o *bias* e as elipses de confiança dos modelos.

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1. Características Espectrais de ^1H RMN-AC para Análise Qualitativa dos Compostos da Reação de Transesterificação

Os sinais espectrais de ^1H RMN-AC identificados para o biodiesel de óleo soja e os padrões dos glicerídeos presentes na reação são apresentados na Figura 9. Os espectros dos padrões na Figura 9, foram adquiridos por Nieva-Echevarría et al. (2014) com algumas adaptações. Neste trabalho, os autores propõem quantificar os compostos intermediários formados na hidrólise de misturas de óleos por ^1H RMN. De acordo com a Figura 9, é possível ainda notar que o biodiesel de soja (FAME) obtido apresenta os sinais de todos os padrões dos intermediários e do triglicerídeo.

Figura 9 – Espectros de ^1H RMN-AC dos padrões de cada glicerídeo e do biodiesel em CDCl_3 : trilinoleína TG (Linolenato), 1,2-dioleína 1,2-DG (Oleato), 1,3-dilinoleína 1,3-DG (Linoleato), 2-monooleína 2-MG (Oleato), 1-monolinoleína 1-MG (Linoleato) e FAME do óleo de soja.



Fonte: Adaptada de Nieva-Echevarría et al. (2014).

Jin et al. (2007) ao identificar os intermediários presentes na reação de transesterificação do óleo de colza por ^1H e ^{13}C RMN-AC, relatam que os

produtos intermediários mais significativos foram o 1,3-DG e o 1-MG, sendo o 2-MG ausente. Propondo o seguinte mecanismo de reação de metanólise, sugerindo que o íon alcóxido (CH_3O^-) ataca mais facilmente o carbono carbonílico do grupo acil do TG e 1,2-DG na posição $sn-2$, que nas demais posições $sn-1$ ou $sn-3$, com isso ocorre uma maior formação de 1,3-DG que 1,2-DG, e conseqüentemente a ausência 2-MG, e maior formação de 1-MG, ver mecanismo de reação detalhado na Figura 10.

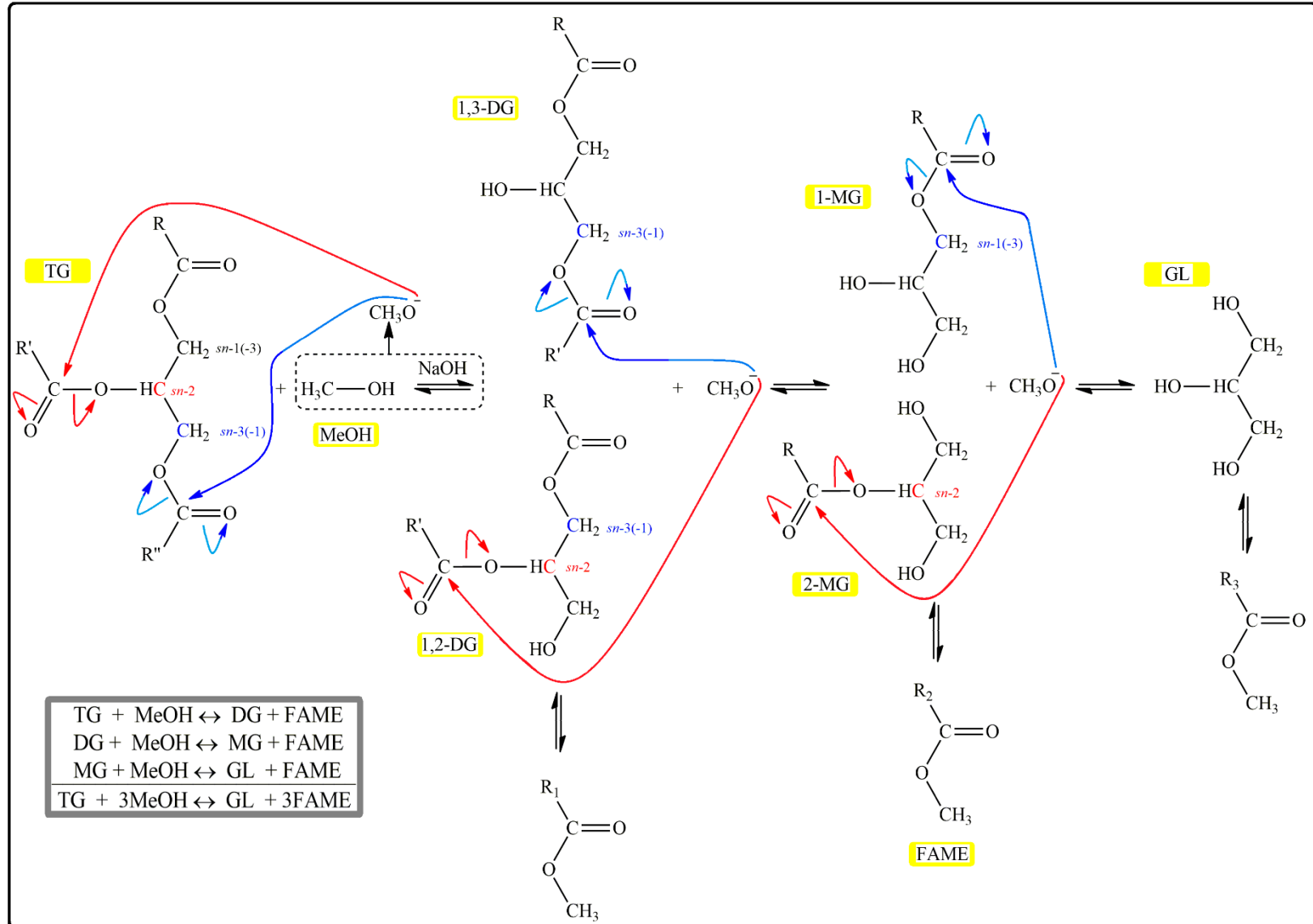
Os espectros do padrão 1,3-DG apresentam sinais específicos em **G** produzido pelos prótons de sua cadeia do grupo gliceril, contudo há sobreposição parcial com o sinal **H** do 1-MG, **I** do TG e **J** do 1,2-DG, apresentados na Figura 9 que devem ser levados em conta para fins quantitativos, que será melhor exemplificado na seção seguinte. Jin et al. (2007), também relata a dificuldade de identificação do 1,3-DG em biodiesel devido às sobreposições de sinais.

Embora a formação do 1,2-DG, seja um pouco restrita devido a seletividade do grupo alcóxido pelo carbono carbonílico do TG na posição $sn-2$, houve a formação desse composto na reação. O 1,2-DG produz sinais específicos em **D**, **J** e **L**, proveniente dos prótons da cadeia do grupo gliceril. Porém, nos sinais **D** e **J** há uma sobreposição parcial dos sinais com **B**, **H** do 1-MG, **G** do 1,3-DG, **I** do TG e nenhuma sobreposição para o sinal **L** conforme apresenta na Figura 9.

Já o 1-MG apresenta sinais específicos de prótons no esqueleto do grupo gliceril em **B**, **F** e **H**. No entanto, há uma sobreposição parcial dos sinais **B** e **H** com os sinais do **D** e **J** do 1,2-DG, **G** do 1,3-DG, **I** do TG e **C** do FAME, e nenhuma para o sinal **F**, facilitando na sua quantificação (ver a Figura 9).

A formação do 2-MG, é ainda mais restrita devido seletividade do grupo alcóxido pelo carbono carbonílico do 1,2-DG na posição $sn-2$. Outro fator que contribui para a sua ausência, é que no composto 1,3-DG as únicas opções para o ataque do grupo alcóxido são as posições $sn-1$ ou $sn-3$, favorecendo a formação do 1-MG (ver a Figura 10). No entanto, assim como os demais compostos também apresenta prótons do seu esqueleto gliceril com sinal específicos em **E** e **K**, que não se sobrepõem com qualquer outro sinal, facilitando sua quantificação (Figura 9). Em contradição com os relatos de Jin et al. (2007), observamos a formação do 2-MG na reação em porcentagens relativamente baixas. Sugerindo que uma pequena quantidade de íon metóxido ataca os carbonos carbonílicos do 1,2-DG nas posições $sn-1$ ou $sn-3$, conforme o mecanismo detalhado na Figura 10.

Figura 10 – Prováveis etapas da reação de transesterificação por metanólise.



Os sinais espectrais para os reagentes e produtos da reação apresentam sinais específicos nos espectros, porém, ambos com sobreposição parcial de sinais, apresentados na Figura 9. O TG apresenta sinais específicos em **I** e **M** provenientes dos prótons do seu esqueleto gliceril, com sobreposição dos sinais **H** do 1-MG, **G** do 1,3-DG e **J** do 1,2-DG. Já o FAME também apresenta sinais espectrais específicos em **C**, provenientes do seu grupo metílico do FAME que também apresenta sobreposição com os sinais **B** do 1-MG e do sinal **D** do 1,2-DG.

2.4.2. Equações Derivadas de Dados Espectrais de ^1H RMN-AC para Quantificar os Compostos da Reação de Transesterificação

Além dos dados qualitativos dos espectros de ^1H RMN-AC, propomos também obter os dados quantitativos das conversões para os diferentes tipos de compostos que constituem o biodiesel. De acordo com Nieva-Echevarría et al. (2014), as áreas de sinal nos espectros são proporcionais ao número de prótons que os geram. Logo, a conversão molar dos diferentes tipos de moléculas (glicerídeos e FAME) presentes nas amostras podem ser calculados utilizando diferentes equações em que estão envolvidas as áreas de diferentes sinais espectrais. As equações foram adaptadas do trabalho publicado por Nieva-Echevarría et al. (2014), onde foram propostas diferentes equações para quantificar a porcentagem molar de mono-, di- e triglicerídeos em uma mistura complexa de lipídios por ^1H RMN.

As seguintes equações propostas podem ser utilizadas quando todos os tipos de compostos estão presentes na amostra, ou no caso de ausência de um deles. Para os compostos que geram sinais específicos não sobrepostos no espectro, como os glicerídeos: 1-MG, 2-MG e 1,2-DG a conversão molar (C) pode ser obtida utilizando as seguintes equações (espectros expandidos na Figura 11 **(a)**, **(b)** e **(d)**):

$$C_{1\text{-MG}} = 6 \times (I_{1\text{-MG}} / I_{\text{Acy}}) \times 100\% \quad \text{Eq. (13)}$$

$$C_{2\text{-MG}} = 6 \times (I_{2\text{-MG}} / I_{\text{Acy}}) \times 100\% \quad \text{Eq. (14)}$$

$$C_{1,2\text{-DG}} = 6 \times (I_{1,2\text{-DG}} / I_{\text{Acy}}) \times 100\% \quad \text{Eq. (15)}$$

Onde I representa a área de integração do sinal correspondente a cada composto no espectro, indicados na Tabela 1. Para a I_{Acy} (2 prótons) a área de integração entre $\delta = 2,247$ a $2,389$ ppm representado pela letra **A**₁, corresponde

ao grupo acil presentes originalmente em moléculas de TG no início da reação de transesterificação, foi usada para relacionar a porcentagem molar de cada composto com a quantidade inicial de TG no meio da reação, uma vez que estes tipos de prótons também estão presentes nas espécies MG, DG e FAME.

As Equações 13, 14 e 15 foram utilizadas para determinação da porcentagem molar de 1-MG (C_{1-MG}), 2-MG (C_{2-MG}) e 1,2-DG ($C_{1,2-DG}$) no meio reacional. Para estes todos esses tipos de prótons não há sobreposição com quaisquer outros prótons na região considerada de integração. Assim, as equações levam em conta apenas a área de cada próton específico e os prótons dos grupos acil para normalizar os resultados, conforme descrito acima. I_{1-MG} na Equação 13 representa a área de um próton do grupo gliceril do 1-MG ($\delta = 3,94$ ppm), I_{2-MG} na Equação 14 para a área de um próton do grupo gliceril do 2-MG ($\delta = 4,93$ ppm) e $I_{1,2-DG}$ na Equação 15 para a área de um próton do grupo gliceril do 1,2-DG ($\delta = 5,08$ ppm). Onde as regiões de I_{1-MG} , I_{2-MG} e $I_{1,2-DG}$, correspondem a áreas de integração dos grupos gliceril de cada composto são representados pelos sinais **F**, **K**, e **L**.

Para determinação do TG e 1,3-DG as Equações 16 e 17, respectivamente, foram adaptadas de Nieva-Echevarría et al. (2014). Devido à sobreposição dos prótons do TG e 1,2-DG na região de integração do espectro entre $\delta = 4,219$ a $4,380$ ppm, representados pela soma dos sinais **I** e **J**. Onde os sinais dos prótons da $I_{1,2-DG}$ (sinal **J**) foram subtraídos da região do I_{TG} (sinal **I**) para determinação da C_{TG} (Equação 16). Como consideração somente metade do sinal **I** (2 de 4 prótons) e metade do sinal **J** (1 de 2 prótons) do grupo gliceril presente no TG e 1,2-DG foi utilizada. A área entre $\delta = 5,056$ a $5,114$ ppm do sinal **L** da $I_{1,2-DG}$ foi utilizada para subtração da região da I_{TG} (ver espectro expandidos na Figura 11 **(a)** e **(c)**). A equação está representada a seguir:

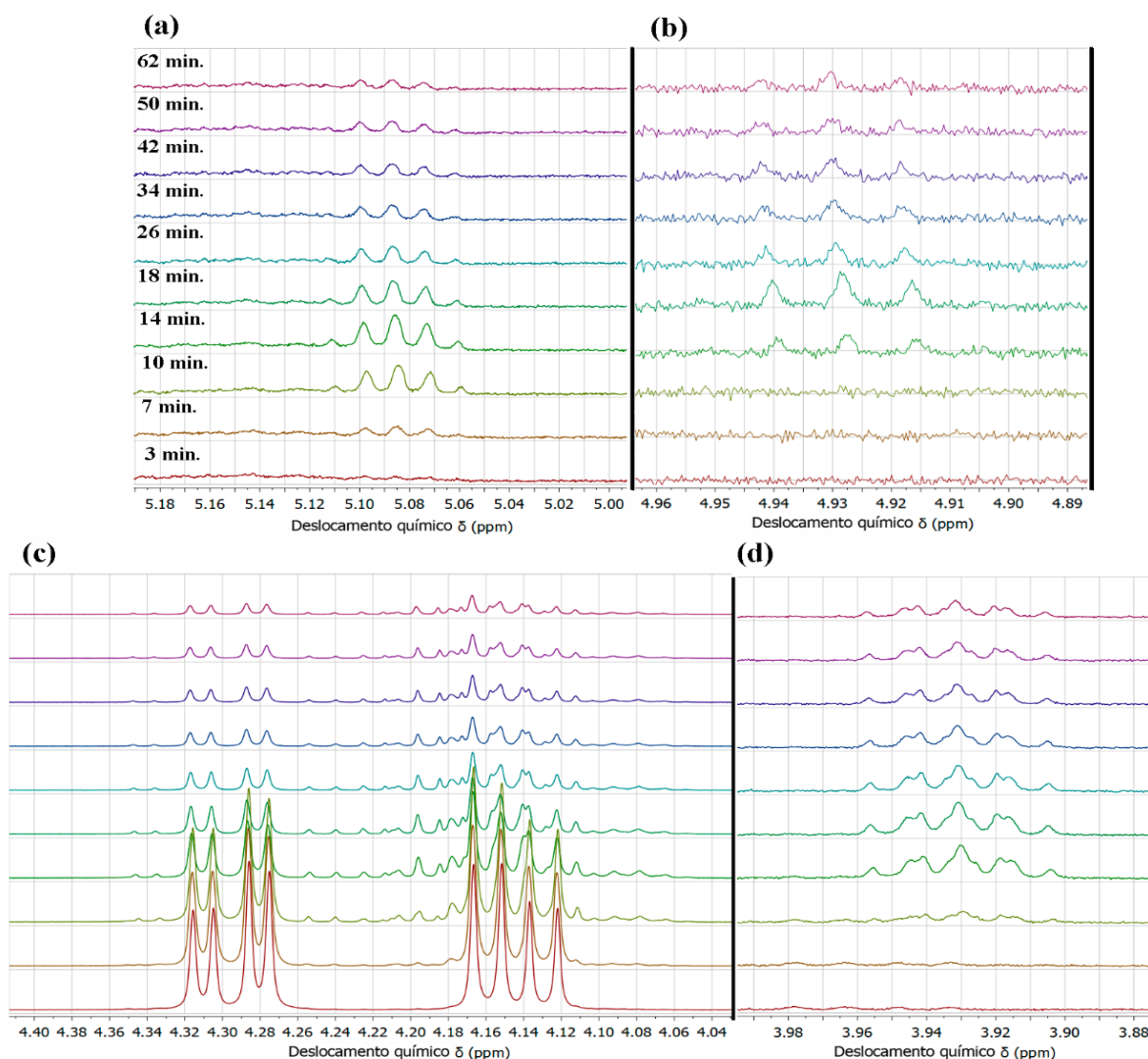
$$C_{TG} = 3 \times ((I_{TG} - I_{1,2-DG}) / I_{Acy}) \times 100\% \quad \text{Eq. (16)}$$

Para a determinação do 1,3-DG ($C_{1,3-DG}$) todos os prótons gliceril do 1,3-DG (sinal **G**) devem ser considerados, além da sobreposição com os sinais **H**, **I** e **J** do 1-MG, TG e 1,2-DG, respectivamente. Desta forma, a região de integração entre $\delta = 4,041$ a $4,380$ ppm ($I_{1,3-DG}$) é representada pela soma dos sinais **G**, **H**, **I** e **J**. Os sinais sobrepostos foram subtraídos da região da $I_{1,3-DG}$, para isso as regiões consideradas foram as seguintes: para a I_{1-MG} foi área do sinal entre $\delta = 3,893$ a $3,990$ ppm do sinal **F**, para a I_{TG} a área do sinal entre $\delta = 4,219$ e $4,380$ ppm do sinal

I e para a $I_{1,2-DG}$ corresponde a área do sinal entre $\delta = 5,056$ a $5,114$ ppm do sinal L (Figura 11 (c)). Apresentada na seguinte equação proposta:

$$C_{1,3-DG} = 1,2 \times [I_{1,3-DG} - (2 \times I_{1-MG}) - (2 \times I_{1,2-DG}) - (2 \times (I_{TG} - I_{1,2-DG}))] / I_{Acy} \times 100\% \quad \text{Eq. (17)}$$

Figura 11 – Espectros ^1H RMN-AC da reação com 0,75% de NaOH. **(a)** expansão da região do **1,2-DG** de $\delta = 5,056$ a $5,114$ ppm (sem sobreposição de sinais). **(b)** expansão da região do **2-MG** de $\delta = 4,894$ a $4,955$ ppm (sem sobreposição de sinais). **(c)** expansão das regiões do **1,3-DG** e **TG** de $\delta = 4,041$ a $4,380$ ppm e $\delta = 4,219$ a $4,380$ ppm, respectivamente (com sobreposição de sinais). **(d)** expansão da região do **1-MG** de $\delta = 3,893$ a $3,990$ ppm (sem sobreposição de sinais).



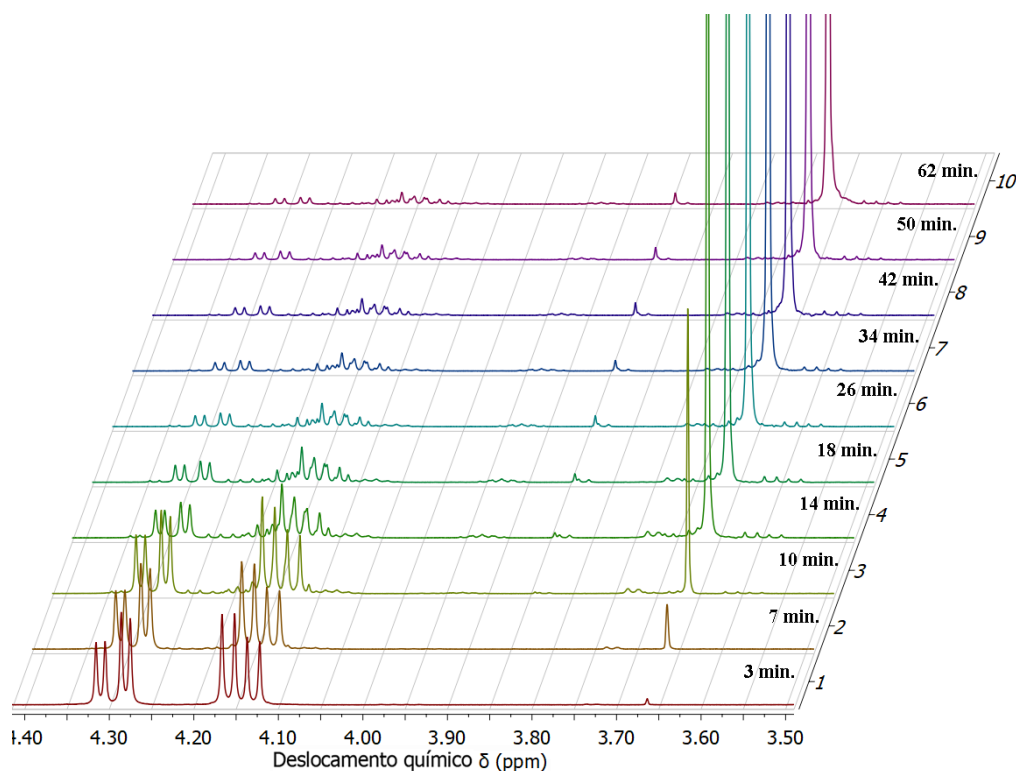
A taxa de conversão molar da reação de transesterificação foi obtida pela Equação 18, levando em conta a conversão da molécula do TG em FAME, com algumas considerações. Devido a sobreposição no espectro do sinal C do FAME

com os sinais **B** e **D** do 1-MG e 1,2-DG, respectivamente (ver o espectro expandido na Figura 12).

$$C_{FAME} = 0,67 \times ((I_{FAME} - (2 \times (I_{1-MG} + I_{1,2-DG}))) / I_{Acy}) \times 100\% \quad \text{Eq. (18)}$$

A I_{FAME} representa a área dos sinais do espectro na faixa entre $\delta = 3,550$ a $3,781$ ppm, nesta região há uma sobreposição dos prótons metoxilícos da molécula do FAME (3 prótons, $\delta = 3,67$ ppm) com os prótons do grupo gliceril do 1,2-DG ($I_{1,2-DG}$, 2 prótons em $\delta = 3,73$ ppm) e grupo gliceril do 1-MG (I_{1-MG} , 2 prótons em $\delta = 3,65$ ppm). As regiões sobrepostas foram subtraídas da I_{FAME} , e as áreas consideradas para o I_{1-MG} e $I_{1,2-DG}$, foram entre $\delta = 3,893$ a $3,990$ ppm do sinal **F** e o sinal entre $\delta = 5,056$ a $5,114$ ppm do sinal **L**, respectivamente.

Figura 12 – Espectros ^1H RMN-AC da reação de transesterificação com 0,75% m/m de NaOH expandidos na região do **FAME** e **TG** de $\delta = 3,550$ a $3,781$ ppm e $\delta = 4,041$ a $4,380$ ppm, respectivamente (ambos os compostos com sobreposição de sinais com os glicerídeos).



Com a determinação dos glicerídeos e FAME é possível obter a conversão total das diferentes moléculas (C_T) na amostra que pode ser determinado pela a soma das conversões de todos os diferentes compostos presentes, nos quais todos os termos incluem a mesma constante de proporcionalidade, e ainda é

possível determinar a conversão molar de qualquer um deles utilizando a seguinte equação adaptada de Nieva-Echevarría et al. (2014):

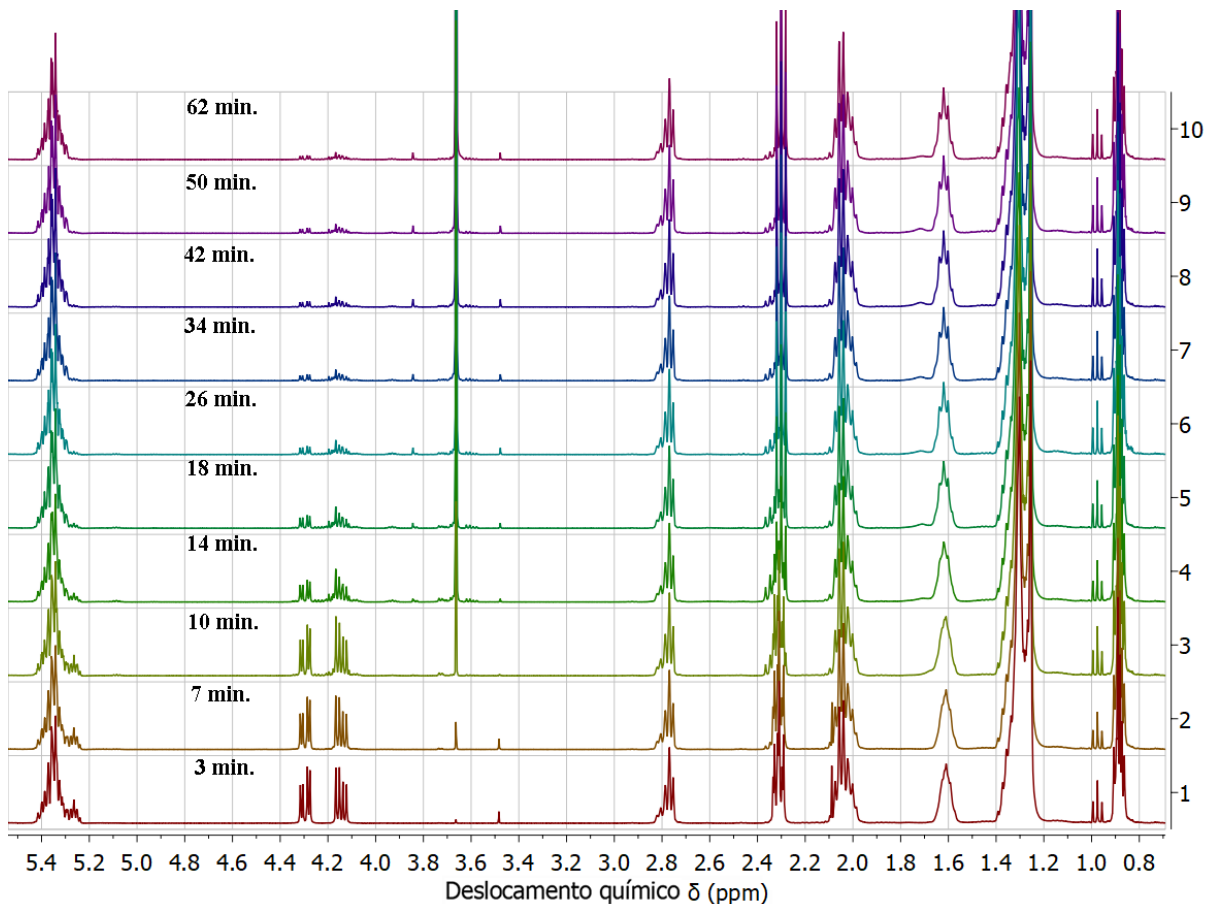
$$C_T = C_{TG} + C_{1,3-DG} + C_{1,2-DG} + C_{2-MG} + C_{1-MG} + C_{FAME} \quad \text{Eq. (19)}$$

A possibilidade de determinar a conversão molar dos diferentes compostos no biodiesel permite o acompanhamento da cinética da reação de transesterificação.

2.4.3. Estudo Cinético da Reação de Transesterificação Baseado nas Equações Propostas por ^1H RMN-AC

A Figura 13, apresenta os espectros de ^1H RMN-AC da reação de transesterificação do óleo de soja empregando a concentração de 0,75% m/m do catalisador NaOH, avaliado durante um tempo de 62 minutos na temperatura de 20 °C.

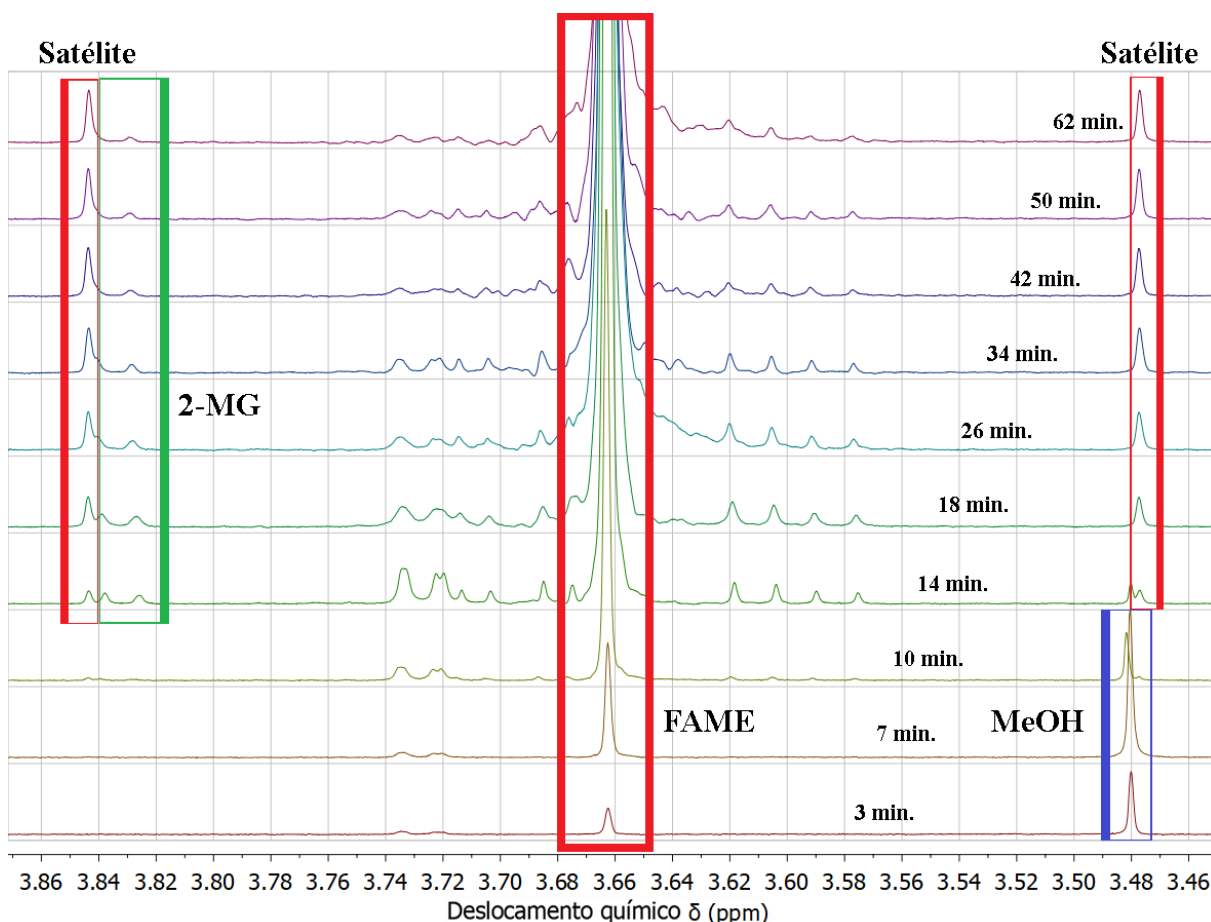
Figura 13 – Espectros sobrepostos de ^1H RMN-AC para toda a região espectral ao longo do tempo de transesterificação com 0,75% m/m de NaOH.



De acordo com a Figura 13, é possível notar um aumento da área do sinal **C** ($\delta = 3,67$ ppm), que representa o grupo metílico do FAME, e um decréscimo na área do **I** ($\delta = 4,22$ ppm), representada pelo grupo gliceril do TG (espectro expandido na Figura 11 **(c)** e Figura 12). Nota-se ainda que as áreas de **F**, **G**, **K** e **L** gerados pelo grupo gliceril dos monos e diglicerídeos (intermediários) é relativamente pequena, as regiões dos espectros estão ampliadas na Figura 11.

De acordo com a Figura 14, em aproximadamente $\delta = 3,48$ ppm há um sinal (destacado em azul) que pode ser atribuído aos prótons metílicos do metanol, que desaparece com o decorrer da reação. Cabe ainda salientar que o sinal do metanol relativamente pequeno, ou a ausência do sinal do glicerol nos espectros é devido a solubilidade dos compostos em água após etapa de lavagem das amostras.

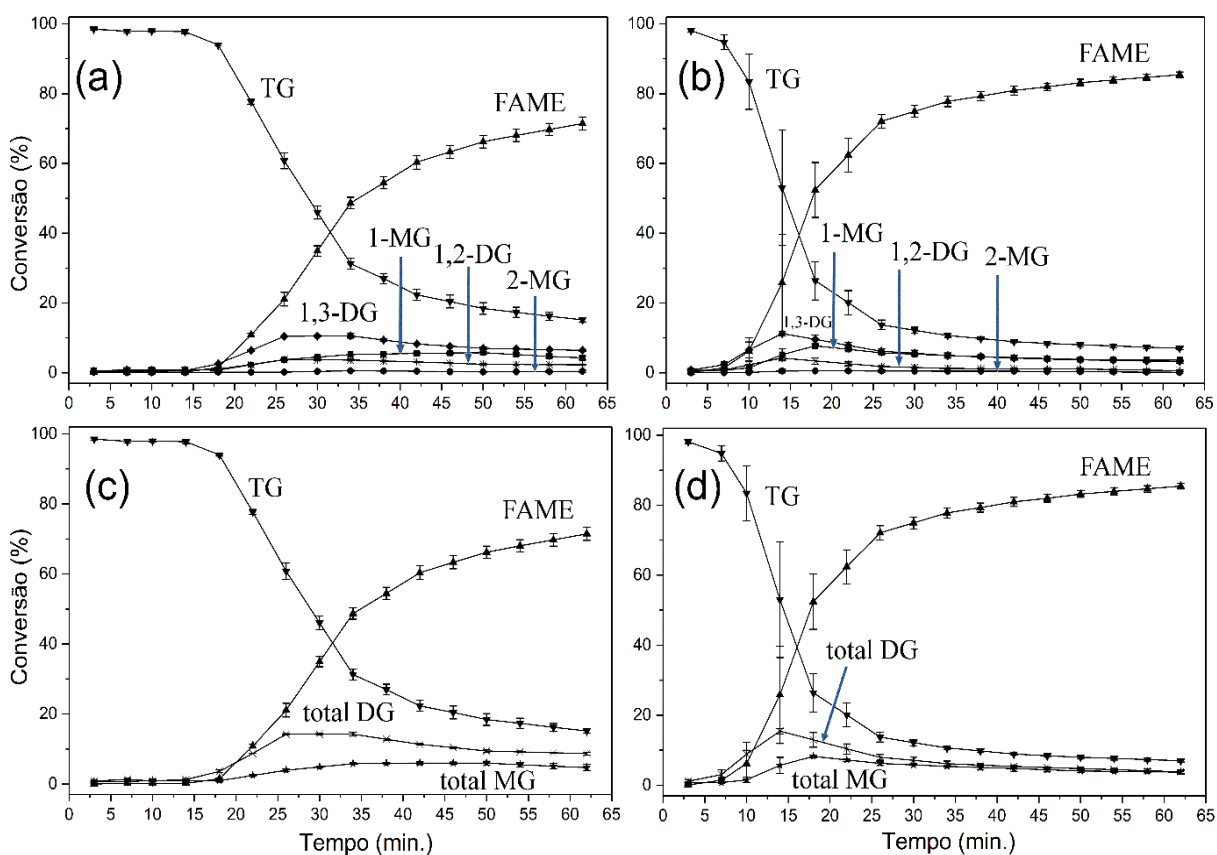
Figura 14 – Espectros ^1H RMN-AC da reação de transesterificação com 0,75% m/m de NaOH expandidos na região de $\delta = 3,46$ a 3,86 ppm.



Como discutido anteriormente, mencionamos que o 2-MG apresenta um sinal específico em **E** ($\delta = 3,84$ ppm, em verde), que não se sobrepõe com qualquer outro sinal. Porém, de acordo com a Figura 14 à medida que a concentração de FAME aumenta ao longo da reação, surgem dois pequenos sinais simétricos visíveis nas regiões de $\delta = \sim 3,47$ ppm e $\delta = \sim 3,85$ ppm, em vermelho (possíveis satélites de ^{13}C do FAME), que se sobrepõem com o sinal do grupo gliceril do 2-MG em $\delta = 3,84$ ppm (em verde), dificultando a quantificação deste composto nesta região. Por isso optou-se por utilizar o sinal **K**, que não possui qualquer interferência do sinal no espectro.

Os perfis cinéticos gerados pela média das triplicatas das reações utilizando as taxas de conversões obtidas pelas equações propostas (Equações 13-18) por ^1H RMN-AC são apresentados na Figura 15.

Figura 15 – Perfil cinético médio das reações de transesterificação obtidos por ^1H RMN-AC para todos os compostos, incluindo todos os intermediários **(a)** **(b)** e somente com DG e MG total **(c)** **(d)**. A esquerda utilizando 0,50% e a direita com 0,75% de NaOH. Onde: ▼ TG, ◆ 1,3-DG, * 1,2-DG, × DG total, ● 2-MG, ■ 1-MG, * MG total e ▲ FAME.



De acordo com a Figura 15, nas etapas iniciais da reação (entre aproximadamente 0 a 15 minutos **(a) (c)** e 0 a 5 minutos **(b) (d)**), é possível observar que é uma região controlada por transferência da massa, ou seja, lenta, possivelmente pela temperatura que foram conduzidas as reações. Dos 15 minutos **(a) (c)** e 5 minutos **(b) (d)** adiante, é possível observar uma região controlada cineticamente, ou seja, rápida, principalmente na reação que contem 0,75% m/m de catalisador. E por fim uma região lenta (aproximadamente 62 minutos **(a) (c)** e 50 minutos **(b) (d)**), que representa o equilíbrio da reação (NOUREDDINI & ZHU, 1997). Stamenkovic et al. (2008), apresentou o perfil cinético semelhante utilizando uma proporção molar de 6:1 de metanol para o óleo de girassol com 1% m/m de KOH a temperatura de 20 °C a 200 rpm, determinado por HPLC.

Observa-se ainda o aumento na concentração de FAME seguido por um decréscimo na concentração de TG. Além de uma discreta formação dos intermediários 1,3-DG, 1,2-DG, 1-MG e 2-MG, com um aumento da concentração inicial ao longo do tempo, seguida do decréscimo da concentração dos mesmos (valores de taxas de conversão são apresentados no **Anexo A**).

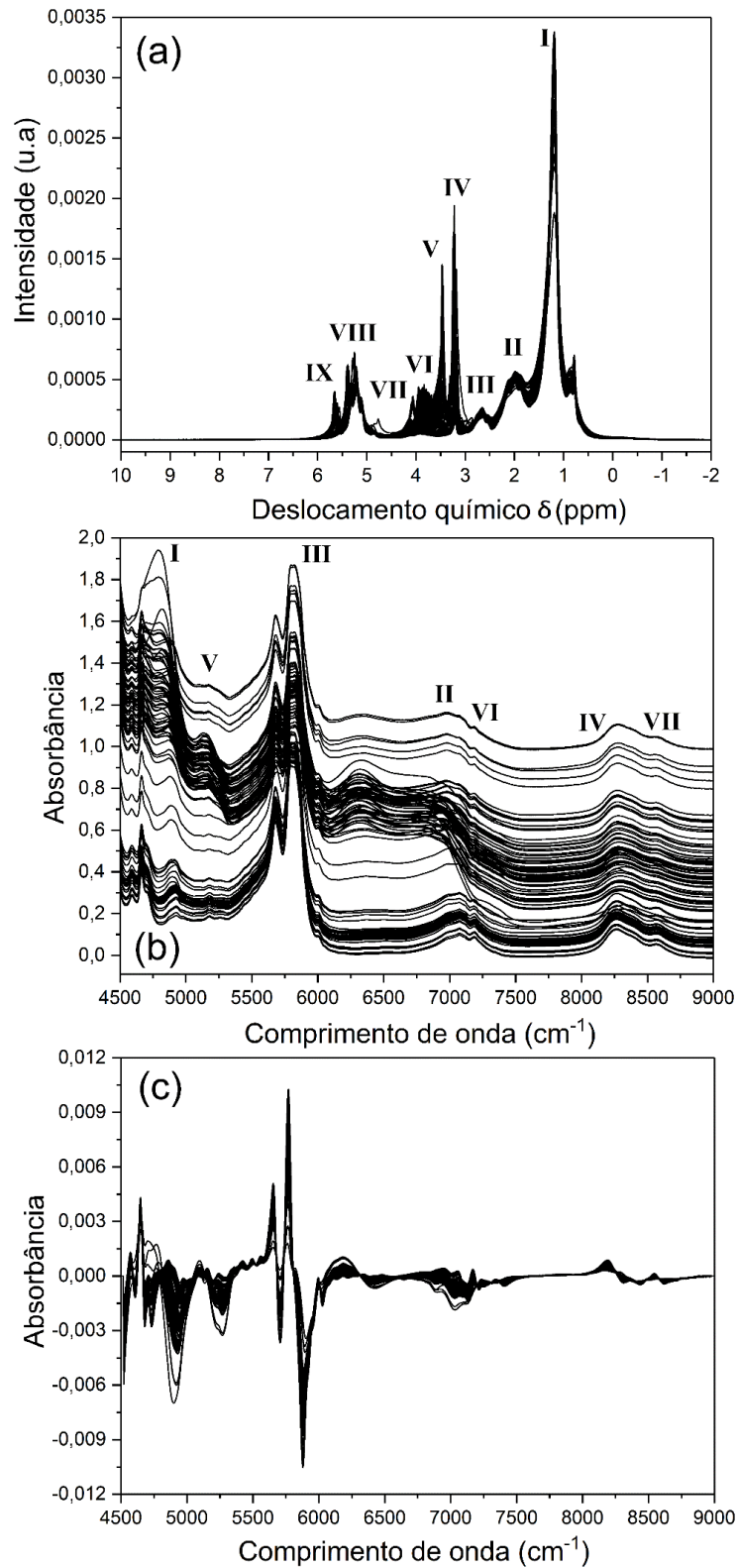
Jin et al. (2007), ao avaliar os intermediários formados durante a transesterificação por RMN não constatou a presença do 2-MG. Embora a concentração seja extremamente baixa, na ordem de 0,0 a 0,6%, em nossos estudos evidenciamos a formação do 2-MG.

O comportamento da reação de transesterificação baseado em análise de ^1H RMN-AC foi semelhante quando comparados às técnicas consideradas de referência para tal análise como HPLC (STAMENKOVIC et al., 2008, NOUREDDINI & ZHU, 1997) e GC-FID (VICENTE et al., 2005, VICENTE et al., 2006, BAMBASE et al., 2007).

2.4.4. Perfil Cinético da Reação de Transesterificação por NIR e ^1H RMN-BC

Os espectros NIR e de ^1H RMN-BC adquiridos durante o monitoramento online das reações de transesterificação são apresentados na Figura 16, onde são também nomeadas as regiões espectrais que mostraram as maiores alterações durante o monitoramento da reação.

Figura 16 – Espectros do monitoramento online da reação de transesterificação por ^1H RMN-BC e NIR. Os espectros **(a)** e **(c)** foram pré-processados aplicando normalização para o RMN e primeira derivada com alisamento Savitzky–Golay para o NIR. **(b)** espectros NIR brutos.



Nos espectros de ^1H RMN-BC, destacam-se as regiões $\delta = 3,00$ a $4,12$ ppm e $\delta = 5,32$ a $5,80$ ppm (Figura 16 **(a)**). Nesses espectros, os sinais **I**, **II**, **III** e **VIII** correspondem aos prótons do grupo acil e gliceril dos mono, di e triglicerídeos ($\delta = 1,19$ ppm, $\delta = 2,00$ ppm, $\delta = 2,67$ ppm e $\delta = 5,21$ ppm). **IV** aos prótons metílicos do metanol ($\delta = 3,21$ ppm), **V** prótons metoxílicos dos ésteres (FAME) e carbinólicos do glicerol (CH/CH_2) ($\delta = 3,45$ ppm) que se sobrepõem, **VI** aos prótons glicerídicos dos mono, di e triglicerídeos ($\delta = 3,59$ a $4,09$ ppm), **VII** aos prótons hidroxílicos do metanol e glicerol, presentes na fase rica em éster ($\delta = 4,13$ ppm), e **IX** aos prótons hidroxílicos do metanol e glicerol presentes na fase rica em glicerol ($\delta = 5,63$ ppm) (KILLNER et. al., 2015). Os valores dos deslocamentos químicos podem ser diferentes quando comparados ao ^1H RMN-AC, devido às amostras não terem sido dissolvidas em clorofórmio deuterado para aquisição dos espectros de baixo campo e também à maior sobreposição espectral de diferentes prótons quando imersos em campo magnético menos intenso (KILLNER et al., 2017).

A atribuição das bandas de absorção nos espectros NIR não é trivial, devido principalmente à própria natureza da técnica e ao elevado número de sobreposições espectrais. As principais diferenças espectrais observadas entre o óleo de soja e seu biodiesel se encontram nas regiões entre $\lambda = 5928$ e 5959 cm^{-1} , que corresponde ao primeiro sobretom de estiramento C–H para ligações CH_2 e CH_3 (KILLNER et al., 2011). Entre os diversos pré-processamentos avaliados, os melhores resultados foram atribuídos à normalização para os espectros de RMN e primeira derivada com alisamento Savitzky-Golay para o NIR (Figura 16 **(c)**).

2.4.5. Modelos de Calibração PLS para os Glicerídeos e FAME

Os espectros de ^1H RMN-BC e NIR, foram empregados para a construção de modelos de calibração PLS para prever as taxas de conversão dos diferentes compostos presentes no meio reacional (TG, 1,3-DG, 1,2-DG, DG total, 2-MG, 1-MG, MG total e FAME). A Tabela 2 apresenta os resultados determinados para as etapas de calibração e previsão com os modelos PLS desenvolvidos e otimizados para cada compostos, onde os espectros NIR e ^1H RMN-BC foram empregados como matriz de dados **X** e as concentrações das diferentes espécies, obtidas por ^1H RMN-AC, foram empregadas como matriz **Y** de dados para a construção dos modelos de calibração PLS e também para suas validações.

Tabela 2 – Melhores resultados para as etapas de calibração e validação dos modelos PLS desenvolvidos para prever os compostos da reação de transesterificação por NIR e ^1H RMN-BC.

| Parâmetro | N _{cal} | VL | RMSECV (% conv.) | RMSEC (% conv.) | N _{val} | RMSEP (% conv.) | r ² _{cv} | r ² _{cal} | r ² _{pred} | Faixa (% conv.) |
|-----------------------|------------------|----|---------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------|
| 1-MG ¹ | 62 | 6 | 0,59 | 0,47 | 30 | 0,49 | 0,864 | 0,916 | 0,956 | 0,00 - 7,98 |
| 1-MG ² | 62 | 5 | 0,59 | 0,43 | 30 | 0,51 | 0,922 | 0,959 | 0,940 | |
| 2-MG ¹ | 60 | 6 | 0,20 | 0,16 | 29 | 0,14 | 0,337 | 0,573 | 0,682 | 0,00 - 1,12 |
| 2-MG ² | 61 | 6 | 0,19 | 0,13 | 30 | 0,16 | 0,426 | 0,702 | 0,495 | |
| Total MG ¹ | 62 | 6 | 0,65 | 0,51 | 31 | 0,53 | 0,865 | 0,916 | 0,956 | 0,00 - 8,45 |
| Total MG ² | 61 | 5 | 0,67 | 0,52 | 31 | 0,55 | 0,916 | 0,949 | 0,936 | |
| 1,2-DG ¹ | 62 | 7 | 0,44 | 0,22 | 31 | 0,28 | 0,847 | 0,961 | 0,956 | 0,16 - 4,06 |
| 1,2-DG ² | 60 | 5 | 0,50 | 0,37 | 29 | 0,22 | 0,819 | 0,899 | 0,932 | |
| 1,3-DG ¹ | 62 | 8 | 0,69 | 0,43 | 31 | 0,65 | 0,941 | 0,976 | 0,973 | 0,22 - 11,95 |
| 1,3-DG ² | 61 | 6 | 1,53 | 0,85 | 30 | 0,59 | 0,780 | 0,929 | 0,956 | |
| Total DG ¹ | 62 | 7 | 1,33 | 0,67 | 30 | 0,96 | 0,885 | 0,971 | 0,963 | 0,58 - 15,85 |
| Total DG ² | 61 | 5 | 2,30 | 1,43 | 30 | 0,84 | 0,733 | 0,893 | 0,935 | |
| TG ¹ | 61 | 8 | 1,67 | 1,02 | 30 | 1,53 | 0,996 | 0,998 | 0,999 | 6,78 - 98,67 |
| TG ² | 62 | 6 | 2,73 | 1,78 | 30 | 1,28 | 0,994 | 0,997 | 0,999 | |
| FAME ¹ | 62 | 5 | 1,49 | 1,18 | 31 | 1,30 | 0,997 | 0,998 | 0,998 | 0,00 - 86,17 |
| FAME ² | 63 | 5 | 2,61 | 1,78 | 31 | 1,41 | 0,993 | 0,996 | 0,998 | |

Abreviação: ¹NIR. ²¹H RNM-BC. VL: Número de variáveis latentes. N_{cal}: Número de amostras de calibração. N_{val}: Número de amostras de validação. RMSECV: Erro quadrático médio de validação-cruzada. RMSEC: Erro quadrático médio de calibração. RMSEP: Erro quadrático médio de predição. r²_{cv}: Coeficiente de correlação para a validação cruzada. r²_{cal}: Coeficiente de correlação para a calibração. R²_{pred}: Coeficiente de correlação para a predição. Faixa: Menores e maiores valores encontrados para o parâmetro de interesse no set de amostras. % conv.: porcentagem conversão molar.

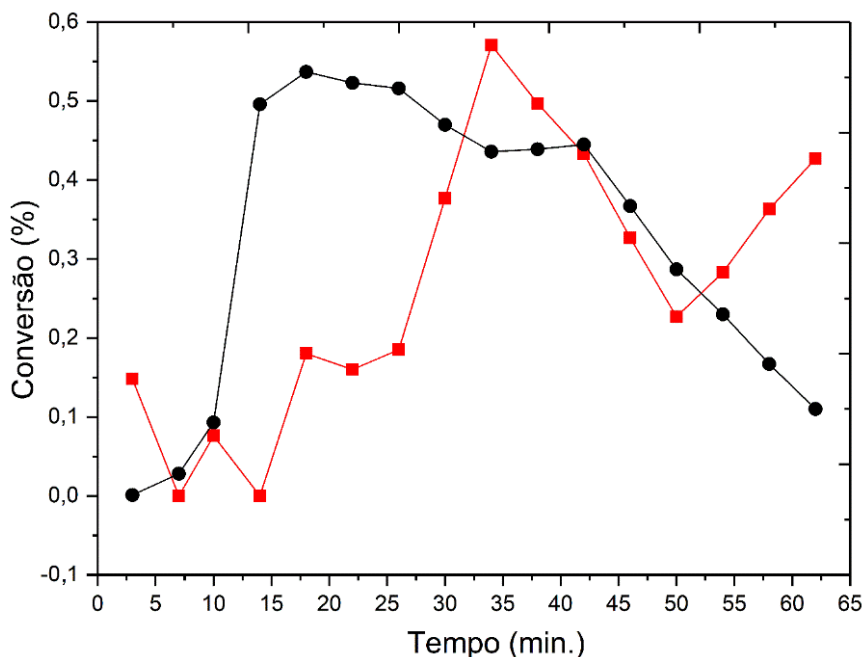
De acordo com a Tabela 2, quando se compara os modelos PLS das duas diferentes técnicas avaliadas, é possível notar que os resultados foram similares, porém nota-se que o RMN necessita uma quantidade inferior de variáveis latentes para quase todos os parâmetros avaliados quando comparado ao NIR. De modo geral, os valores de RMSEP para ambas as técnicas foram semelhantes, variando de 0,140 a 1,53% conv. para o NIR e 0,160 a 1,41% conv. para o ^1H RMN-BC em todos os modelos.

O valor de RMSEP para o FAME foi de 1,30% conv. para o NIR e 1,41% conv. para ^1H RMN-BC. Lima et al. (2014) e Killner et al. (2011) ao monitorar online a reação de transesterificação do óleo de soja com metanol por NIR, reportam valores de RMSEP semelhantes aos obtidos, variando entre 1,51 a 2,80% massa e 0,74 e 1,27% de conversão para o FAME, respectivamente. Lima et al. (2014), obtém ainda os valores de RMSEP de 0,68% massa para o TG, 0,35% masa para o DG total e 0,24% massa para o MG total. Para estes compostos os valores de RMSEP obtidos no presente trabalho foram superiores, porém, deve-se considerar que a faixa dos valores estudados para cada parâmetro também foi mais ampla.

Entre os modelos PLS avaliados, nota-se que o 2-MG não apresentou resultados satisfatórios, com baixos valores de coeficientes de correlação e RMSEP razoavelmente elevados, erro de aproximadamente 12% para NIR e 14% para RMN sobre o valor da faixa do 2-MG. A baixa eficiência dos PLS pode estar atribuída a baixa quantidade de 2-MG formada, e pelo comportamento instável do perfil cinético obtido por ^1H RMN-AC, principalmente na reação com 0,50% m/m de NaOH (Figura 17) ou até mesmo a sensibilidade instrumental do NIR e ^1H RMN-BC em compostos em baixas concentrações.

A Figura 18 apresenta os coeficientes de regressão normalizados para o ^1H RMN-BC e as principais informações espectrais para cada composto. De modo geral os coeficientes mais significativos e com maiores diferenças espectrais para o TG e FAME se encontram no sinal **V** em 3,45 ppm, que correspondem aos prótons metoxílicos do éster (FAME) e prótons carbinólicos do glicerol (CH/CH_2) que se sobrepõem, e sinal **IV** dos prótons metílicos do metanol em 3,21 ppm. Para o DG e MG os coeficientes apresentaram perfis semelhantes, porém, os sinais **VI** e **VIII** apresentaram uma diferença perceptível quando comparados, esses sinais correspondem aos prótons do grupo gliceril dos mono e diglicerídeos que variam entre 3,59 e 4,09 ppm e 5,20 e 5,35 ppm, respectivamente.

Figura 17 – Oscilação da conversão molar média do 2-MG na reação de transesterificação obtidos segundo a equação proposta (14) fundamentadas em dados espectrais de ^1H RMN-AC empregando 0,50% (■ vermelho) e 0,75% (● preto) de NaOH.



De acordo com a Figura 19, os coeficientes de regressão PLS normalizados para os dados do NIR mais significativos e com maiores diferenças espectrais para o TG, FAME, DG e MG foram as regiões II, III e IV em aproximadamente 6700 a 7120 cm^{-1} , 5860 a 6100 cm^{-1} e 8000 a 8800 cm^{-1} , respectivamente, que correspondem a primeira região de sobretom de combinação do C–H, primeira e segunda região de sobretom do estiramento do C–H. Killner et al. (2011) relatam que a região III é a melhor para a determinação do FAME. Enquanto, Lima et al. (2014), descrevem que a região IV apresentou coeficientes de regressão bastante diferentes entre o TG, DG e MG. Porém, observamos ainda que as regiões I e V entre 4540 a 4775 cm^{-1} e 5170 cm^{-1} , respectivamente, que representam as bandas de absorção atribuídas à combinação do C–H e a banda atribuída ao segundo sobretom do C=O, também apresentaram coeficientes de regressão diferenciados para todos os compostos.

Figura 18 – Coeficientes de regressão PLS normalizados para determinação dos compostos da reação de transesterificação por ^1H RMN-BC.

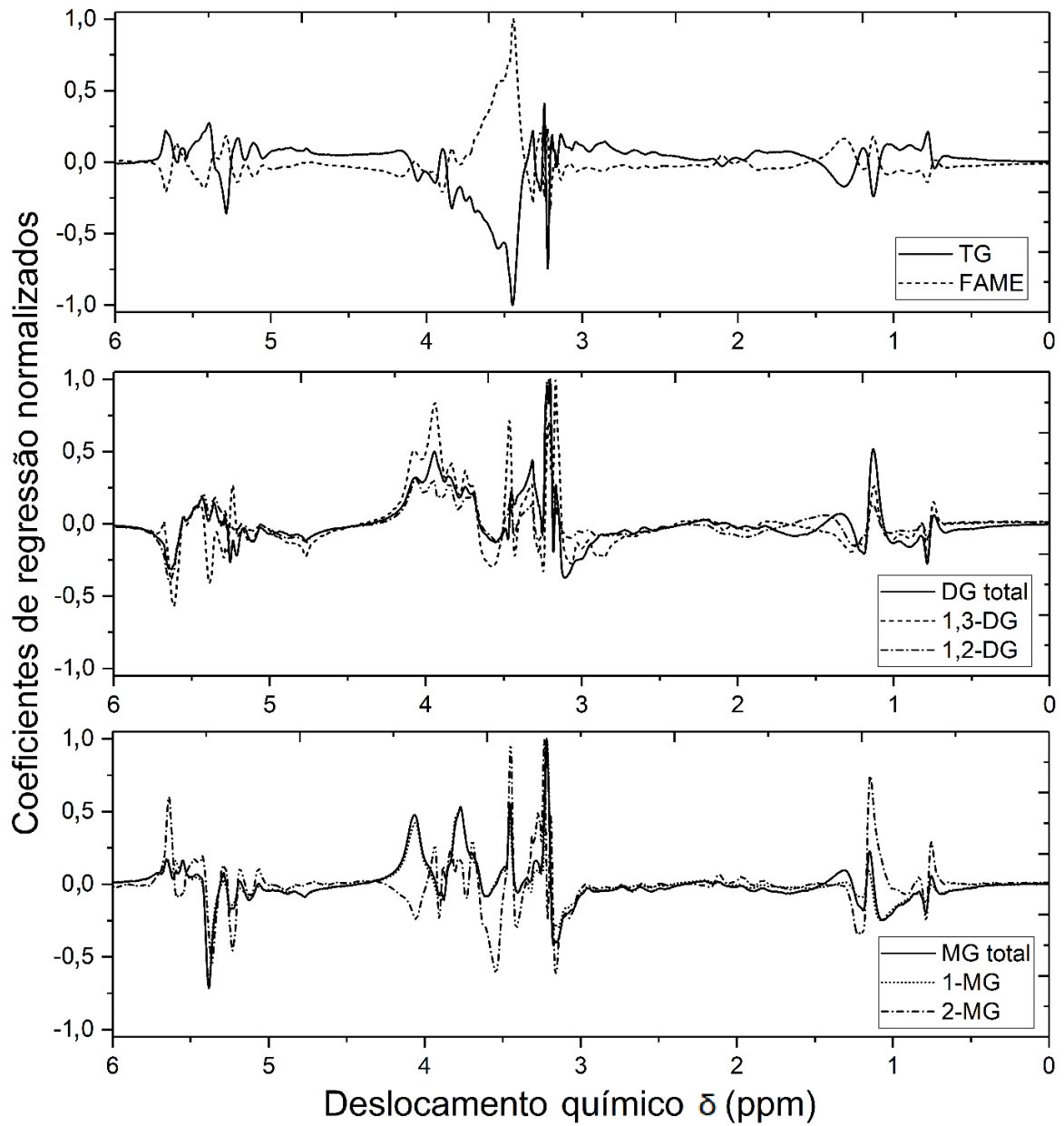
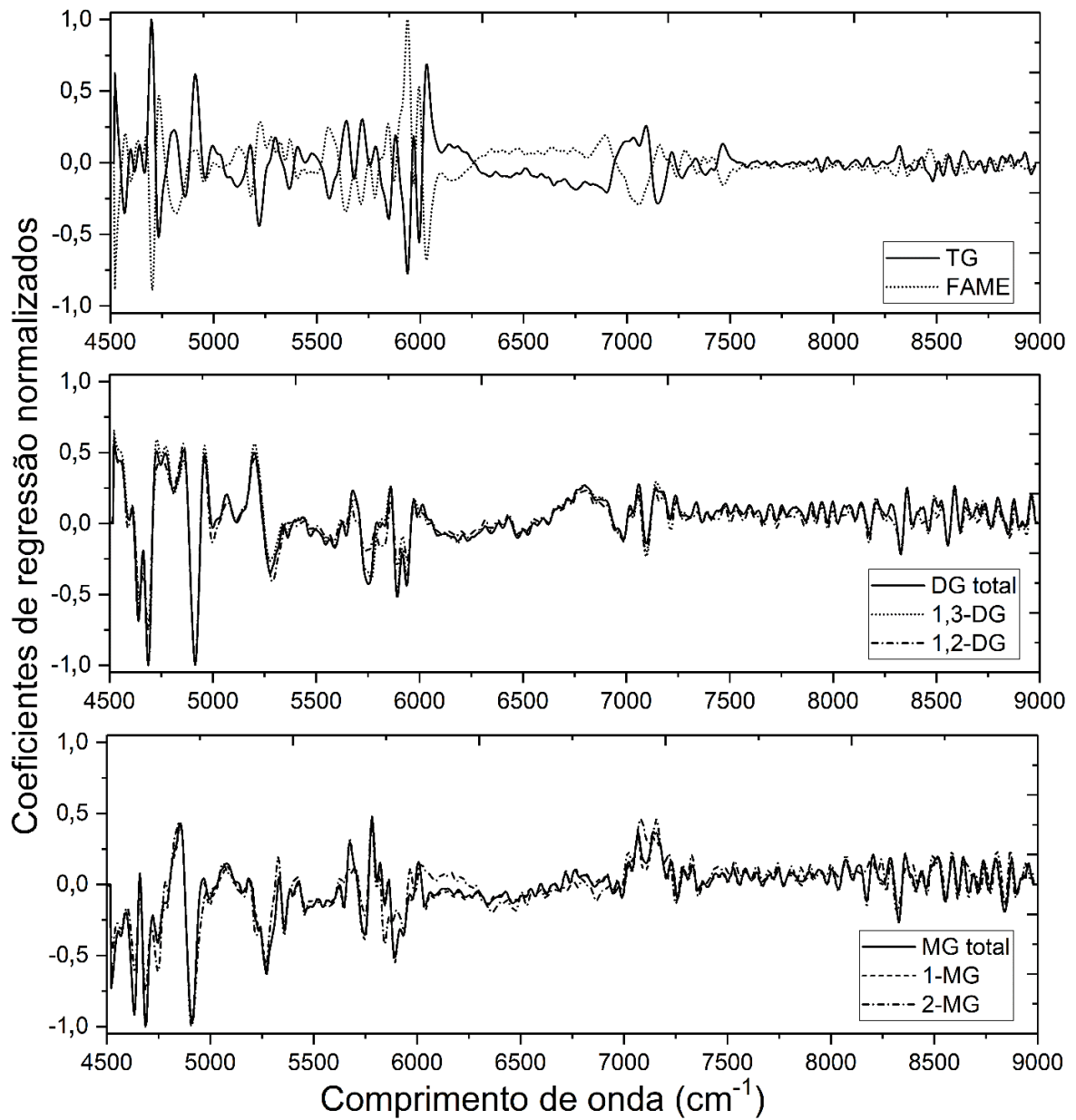


Figura 19 – Coeficientes de regressão PLS normalizados para determinação dos compostos da reação de transesterificação por NIR.



A Figura 20 e a Figura 21 apresentam os gráficos dos valores preditos versus valores determinados pelos métodos de referência somente para as amostras de previsão da melhor estratégia de modelagem PLS para o ¹H RMN-BC e NIR dos glicerídeos e FAME.

Figura 20 – Gráfico dos valores previsto versus referência das amostras de previsão para a melhor estratégia de modelagem dos compostos da reação obtidos por ^1H RMN-BC.

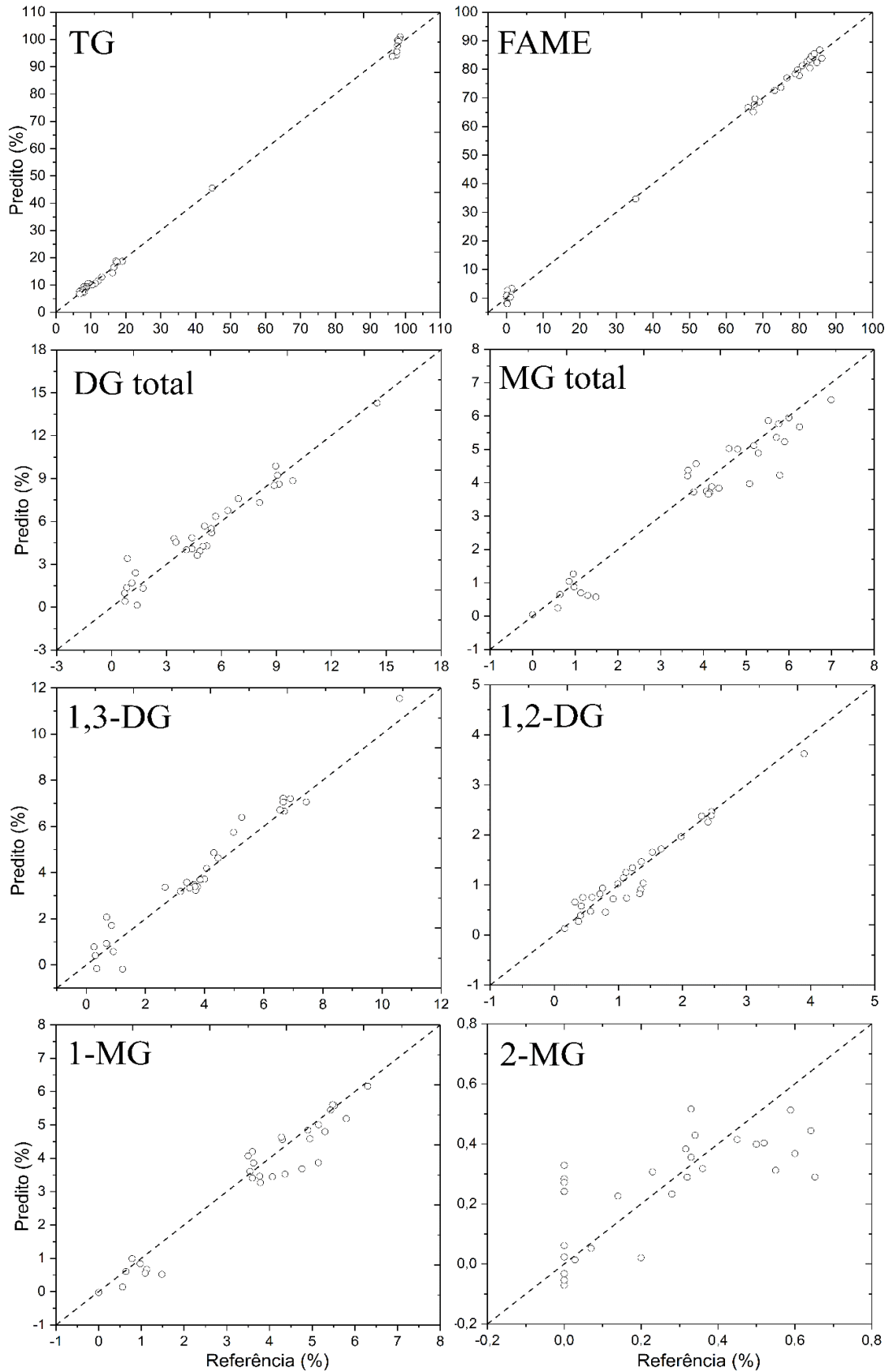
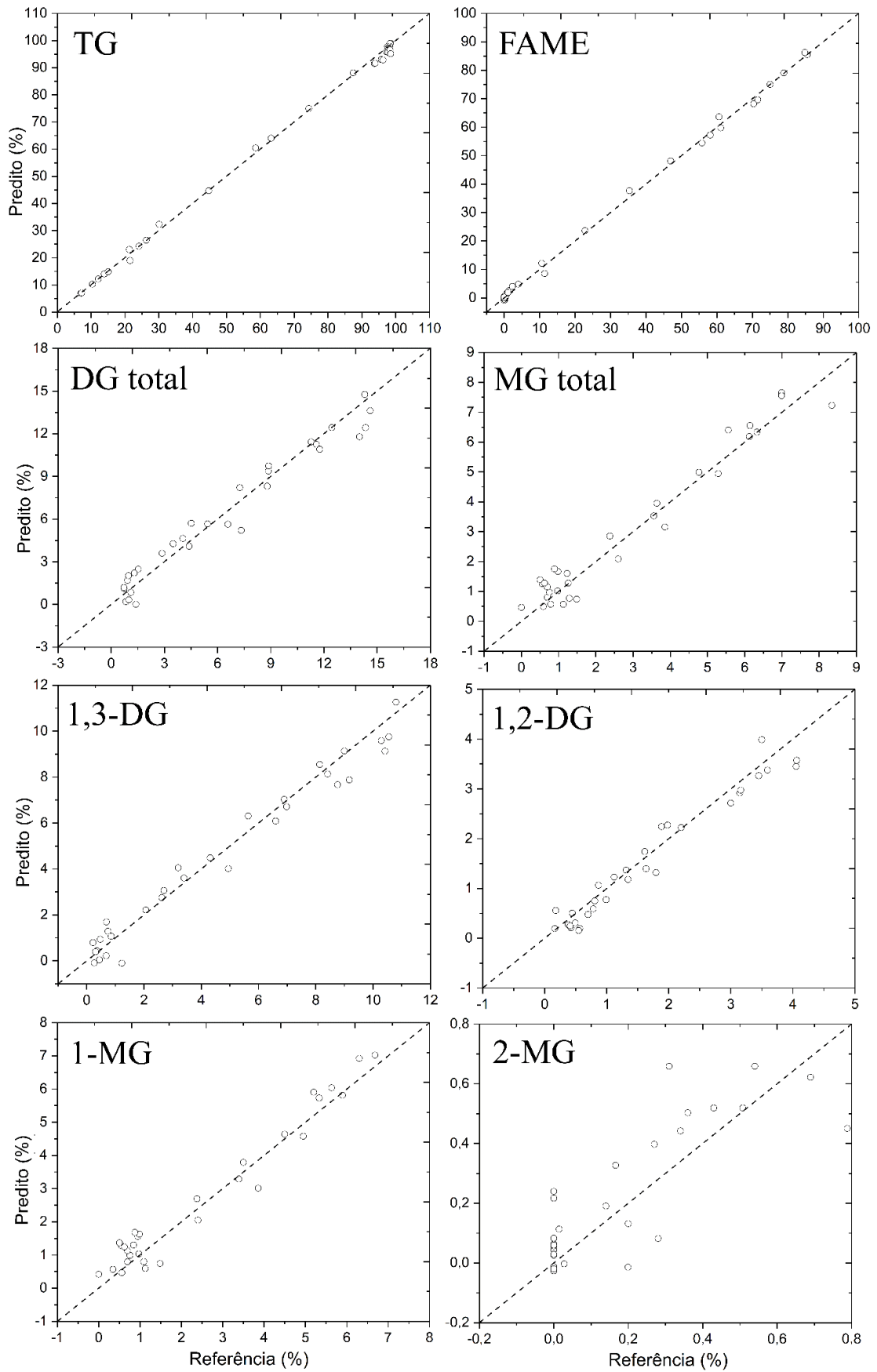


Figura 21 – Gráfico dos valores previsto versus referência das amostras de previsão para a melhor estratégia de modelagem dos compostos da reação obtidos por NIR.



De acordo com a Figura 20 e Figura 21, é possível visualizar que os pontos estão distribuídos aleatoriamente em torno da linha bissectriz ao longo de toda a gama de valores-y com uma alta correlação existente entre os modelos e a respectiva técnica de referência (^1H RMN-AC) para a grande maioria dos compostos analisados, sendo o 2-MG o composto que apresentou uma maior dispersão para as previsões em ambas as técnicas.

2.5. CONCLUSÃO

Este trabalho provou a utilidade de ^1H RMN-AC para estudar qualitativamente e quantitativamente a composição da mistura durante o progresso da reação de transesterificação, aliada ao uso de um espectrômetro compacto de ^1H RMN-BC e um espectrofotômetro NIR para o monitoramento *online* da reação. A composição da mistura de reação foi predita usando modelos de regressão PLS para ambas as técnicas, que apresentaram valores de RMSEP satisfatórios para todos os compostos, com certa exceção ao 2-MG. Em comparação com outras metodologias aplicadas, esta abordagem permite um estudo global da amostra, fornecendo informações detalhadas sobre todos os tipos de compostos presentes, de forma simples, rápida usando apenas um dispositivo, sem qualquer modificação química, pré-tratamento ou diluição da amostra e que permitem acompanhar o progresso da reação. A aplicação direta de ^1H RMN-BC e NIR no monitoramento *online* de processos industriais e nas medidas de fiscalização em campo, permitirão um controle mais rigoroso da linha de produção de biodiesel, com isso diminuindo custo operacionais, melhorando a qualidade e produtividade do processo.

CAPÍTULO III

Modelagem matemática da reação de transesterificação por elementos finitos: Otimização dos parâmetros cinéticos empregando o método simplex sequencial

Resumo

A reação de transesterificação do óleo de soja foi modelada pelo método dos elementos finitos no *software* COMSOL Multiphysics considerando as três etapas reversíveis das reações diretas e reversas seguindo um modelo cinético semi-empírico geral de segunda ordem. As constantes de velocidade (k) foram determinadas usando o método de otimização simplex acoplado a função de desejabilidade, pela minimização dos erros percentuais. Os valores de k de formação otimizados foram 0,250 (k_{1f}); 1,14 (k_{2f}) e 3,13 (k_{3f}); e k reversos foram de 0,202 (k_{1r}); 0,884 (k_{2r}) e 0,219 (k_{3r}) $\times 10^{-6}$ expresso em $\text{m}^3/\text{mol}\cdot\text{s}$. Os resultados da simulação exibiram bons ajustes aos valores experimentais, o que valida a capacidade preditiva do modelo, com desvios entre os dados simulados e experimentais variando entre 3,5% a 16,9%. O modelo cinético proposto para a reação pode ser simulado pelo método de elementos finitos (FEM) sob condições mais realistas.

Palavras chave: COMSOL Multiphysics; biodiesel; cinética; metanólise; transferência de massa; óleo de soja.

3.1. INTRODUÇÃO

O biodiesel se classifica como um combustível obtido a partir de fontes renováveis e a sua produção têm como principal objetivo a substituição gradual do diesel de petróleo, o que vem incentivando a pesquisa e a produção deste biocombustível (BUOSI et al., 2016). É um dos principais biocombustíveis utilizados na frota de transporte global, que tem aumentado o seu consumo na última década, sendo os Estados Unidos, o Brasil, e alguns países europeus, os principais responsáveis por esta crescente participação de mercado (OLIVEIRA & COELHO, 2017).

Para a obtenção industrial do biodiesel, os parâmetros cinéticos e as constantes de velocidade de reação devem ser estabelecidos, pois são fundamentais para projetos de reatores. Independentemente do tipo de óleo, temperatura de reação e da razão molar de metanol / óleo, o mecanismo envolve três reações consecutivas reversíveis (STAMENKOVIC et al., 2008). Ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) e glicerol (GL) são produtos da transesterificação de gorduras e óleos fontes de triglicérides (TG), com álcoois como metanol (MeOH) ou etanol (EtOH) na presença de catalisador ácido ou básico. Três etapas de reações reversíveis consecutivas ocorrem com a formação de intermediários, diglicerídeos (DG) e monoglicerídeos (MG) (NOUREDDINI & ZHU, 1997).

Embora a modelo cinético permaneça inalterado independente da matéria prima, temperatura ou razão molar entre o óleo e álcool, os valores das constantes de velocidade sofrem alteração nos seus valores, e avaliar todas estas variáveis ao mesmo tempo, por simulação torna-se mais viável. A simulação em plataforma multifísica com base no método de elementos finitos (FEM) é uma metodologia de análise que vem ganhando cada vez mais espaço em áreas da ciência (BORDIN et al., 2019; QUIAN et al., 2012).

O FEM é um método usado para resolver equações diferenciais usando uma formulação variacional ou um procedimento de peso residual, onde uma equação diferencial parcial é transformada em um sistema de equações diferenciais ordinárias quando o problema é dependente do tempo (GALVAN et al., 2019, *no prelo*). Vários autores tem utilizado a simulação por elementos finitos, acoplado a métodos de otimização e funções de desejabilidade, para determinação

de coeficientes de difusão, laminares e número de Biot (BONA et al., 2007; BORDIN et al., 2019; BORSATO et al., 2012).

Para a obtenção dos valores de constantes de velocidade de formação e reversa propomos a otimização utilizando o método conhecido por simplex apresentado por Spendley et al. (1962). O simplex é uma figura regular que se desloca sobre uma superfície, de modo a evitar regiões de resposta não satisfatória. No espaço n-dimensional o simplex é um poliedro com faces planas contendo n+1 vértices, na qual n é o número de variáveis independentes que se deseja ajustar (BEZERRA et al., 2016).

Uma variação do método de otimização simplex, denominada simplex modificado, foi desenvolvida por Nelder e Mead (1965) e pode mudar seu tamanho e forma, devido a cinco operações se ajustando melhor à superfície de resposta. Com a finalidade de melhorar e trazer mais rapidez ao método foi desenvolvido o simplex supermodificado que teve ampliação dessas operações (BONA et al., 2000; BEZERRA et al., 2016; NETO et al., 1996). Neste algoritmo, o simplex pode ser submetido a cinco operações: refelexão, expansão, contração, contração com mudança de direção e contração maciça. Com a finalidade de melhorar e trazer mais rapidez ao método, foi desenvolvido o simplex super modificado que teve ampliação dessas operações citadas acima (BONA et al., 2000).

O objetivo deste estudo foi modelar e simular a reação de transesterificação usando o método de elementos finitos associado à otimização simplex para determinar os valores das constantes de velocidade de formação e reversa nas três reações consecutivas reversíveis.

3.2. OBJETIVOS

3.2.1. Objetivo Geral

O objetivo do presente trabalho foi modelar e simular a reação de transesterificação do óleo de soja, utilizando o método de elementos finitos no *software* COMSOL Multiphysics, associado a otimização simplex acoplada a função de desejabilidade. Neste processo, foram consideradas as três etapas reversíveis das reações diretas e reversas seguindo um modelo cinético semi-empírico geral de segunda ordem para a obtenção dos valores otimizados das constantes de velocidade.

3.2.2. Objetivos Específicos

- Modelar e simular a reação de transesterificação por FEM;
- Averiguar a aplicabilidade do algoritmo de otimização simplex para obtenção das constantes de velocidade;
- Determinar e otimizar os valores das constantes de velocidade de formação e reversas da reação;
- Avaliar o modelo empírico cinético proposto para a reação por FEM;
- Comparar os valores dos desvios entre os resultados experimentais e simulados segundo o modelo cinético proposto.

3.3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1. Materiais e Reagentes

Para as reações de transesterificação foi utilizado óleo de soja comercial (Soja, Brasil) adquirido no mercado local. Foram utilizados como reagentes metanol, hidróxido de sódio, ácido acético e sulfato de sódio anidro, todos de grau analítico. Utilizou-se clorofórmio deuterado contendo 0,05% (v/v) de tetrametilsilano (TMS) para análise de ^1H RMN-AC.

3.3.2. Reação de Transesterificação

As reações de transesterificação foram realizadas por catálise básica misturando 500 g de óleo de soja, 140 mL de metanol (proporção 1:6 equivalentes) e hidróxido de sódio a 0,75% m/m como catalisador, previamente dissolvidos em metanol. A reação foi conduzida com agitação mecânica mantida a 150 rpm durante 62 minutos com temperatura controlada a 20 ± 2 °C. A reação foi realizada em triplicata.

3.3.3. Amostragem das Reações de Transesterificação

Durante o desenvolvimento da reação, foram adquiridas 16 alíquotas de 7,0 mL do meio reacional para cada reação nos tempos de 3, 7, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 42, 46, 50, 54, 58 e 62 minutos para análise de ^1H RMN-AC.

Cada alíquota foi adicionada a um tubo contendo ácido acético glacial para neutralizar o catalisador. Após homogeneização a mistura foi lavada com água destilada e centrifugada por três vezes, sempre recuperando a fase orgânica e descartando a fase aquosa. A fase orgânica foi seca em Na_2SO_4 , em seguida retirou-se um volume de 50 μl dessa fase, que foi diluída em 500 μl de CDCl_3 em um tubo apropriado. Posteriormente, foi realizada a aquisição dos espectros de ^1H RMN-AC.

Os parâmetros de aquisição dos espectros ^1H RMN-AC foram descritos na **Seção 2.3.4**. Utilizou-se um espectrômetro de RMN de 400 MHz da marca Bruker. As regiões espectrais estudadas foram de -2 a 10 ppm processadas

no *software* Matlab[®] 2016b (MathWorks, EUA).

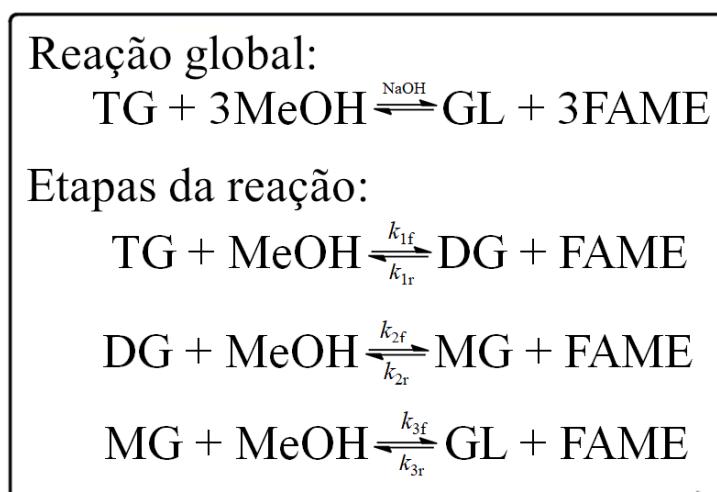
3.3.4. Determinação da Concentração Molar dos Componentes

As concentrações molar foram obtidas pelas equações dos composto glicerídeos (triglicerídeos, diglicerídeos e monoglicerídeos) e ésteres metílicos de ácidos graxos presentes no meio reacional durante as reações de transesterificação. Os valores foram determinados com base nas áreas de diferentes sinais espectrais obtidos por ¹H RMN-AC, conforme descrito nas Equações 13-18 da **Seção 2.4.2**. A determinação das áreas dos picos nos espectros de ¹H RMN-AC foi realizada através de uma rotina escrita no *Matlab*. A concentração molar do metanol e glicerol foram determinadas através do balanço material da reação utilizando as concentrações iniciais de triglicerídeos e metanol previamente calculadas (VICENTE et al., 2005, VICENTE et al., 2006, BAMBASE et al., 2007).

3.3.5. Modelagem e Simulação da Reação de Transesterificação

A simulação da reação foi realizada utilizando o *software* COMSOL Multiphysics[®] através da interface física “*Reaction Engineering (re)*”. Em nosso estudo foram consideradas as três etapas das reações reversíveis, diretas e reversas seguindo um modelo cinético semi-empírico de segunda ordem (Figura 22).

Figura 22 – Etapas da reação de transesterificação.



O esquema da reação para a metanólise do óleo vegetal é apresentado na Figura 22. A reação global de transesterificação requer que o TG reaja com o MeOH, na presença de um catalisador alcalino, produzindo o FAME e a GL. A estequiometria da reação requer três mol de MeOH e um mol de TG para formar três mol de FAME e um mol de GL. Nas etapas da reação, MG e DG são os intermediários formados. O mecanismo da reação consiste primeiramente na reação da moléculas de TG com MeOH, formando-se moléculas de DG e FAME. Sequencialmente, esta molécula de DG reage com uma molécula de MeOH, e uma molécula de MG e outra de FAME é formada. Finalmente, na última etapa, o MG reage com outra molécula de MeOH para formar outra molécula de FAME e uma molécula de GL, somando três moléculas FAME no processo da reação (NOUREDDINI & ZHU, 1997; DARNOKO & CHERYAN, 2000).

As etapas da reação são apresentadas na Figura 22, onde k_{nf} representa as constantes de velocidade de formação e k_{nr} as constantes de velocidade reversas. As três etapas (equações) foram definidas em definições globais no *software* COMSOL, e todos os valores físicos necessários como constantes de velocidade e concentrações iniciais foram inseridos nos parâmetros para iniciar a modelagem da reação.

As três taxas de expressões das reações reversíveis (r_n), expressas em mol/m³.s, são representadas pelas Equações 20, 21 e 22.

$$r_{1f} = k_{1f} \cdot c_{TG} \cdot c_{MeOH} \qquad r_{1r} = k_{1r} \cdot c_{DG} \cdot c_{FAME} \qquad \text{Eq. (20)}$$

$$r_{2f} = k_{2f} \cdot c_{DG} \cdot c_{MeOH} \qquad r_{2r} = k_{2r} \cdot c_{MG} \cdot c_{FAME} \qquad \text{Eq. (21)}$$

$$r_{3f} = k_{3f} \cdot c_{MG} \cdot c_{MeOH} \qquad r_{3r} = k_{3r} \cdot c_{GL} \cdot c_{FAME} \qquad \text{Eq. (22)}$$

onde c é a concentração teórica de triglicerídeos (TG), diglicerídeos (DG), monoglicerídeos (MG), glicerol (GL), metanol (MeOH) e ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) para cada intervalo de tempo da reação e as letras f e r , representam as taxas de formação e reversa das reações, respectivamente.

As equações diferenciais para a cinética da reação foram obtidas conforme as três etapas da reação (Figura 22) e são dadas nas Equações 23-28. Este sistema de equações foi resolvido usando métodos numéricos.

$$\frac{\partial TG}{\partial t} = -r_{1f} + r_{1r} \qquad \text{Eq. (23)}$$

$$\frac{\partial DG}{\partial t} = r_{1f} - r_{1r} - r_{2f} + r_{2r} \qquad \text{Eq. (24)}$$

$$\frac{\partial \text{MG}}{\partial t} = r_{2f} - r_{2r} - r_{3f} + r_{3r} \quad \text{Eq. (25)}$$

$$\frac{\partial \text{GL}}{\partial t} = r_{3f} - r_{3r} \quad \text{Eq. (26)}$$

$$\frac{\partial \text{FAME}}{\partial t} = r_{1f} - r_{1r} + r_{2f} - r_{2r} + r_{3f} - r_{3r} \quad \text{Eq. (27)}$$

$$\frac{\partial \text{MeOH}}{\partial t} = -r_{1f} + r_{1r} - r_{2f} + r_{2r} - r_{3f} + r_{3r} \quad \text{Eq. (28)}$$

A diferenciação das concentrações molar em relação ao tempo, foram calculadas a partir dos valores das concentrações nos respectivos tempos, para cada experimento.

Para a modelagem da cinética da reação de transesterificação, foram adotadas algumas considerações, conforme descritas por Nouredini & Zhu (1997), Vivente et al. (2005) e Stamenkovic et al. (2008). De acordo com os autores na reação de transesterificação o óleo vegetal e metanol são imiscíveis, assim na etapa inicial o sistema reacional consiste de duas fases. Fase esta controlada pela transferência de massa. No entanto, a formação de FAME no sistema reacional inicial, auxilia na solubilização do óleo vegetal com o metanol, atuando como co-solvente no sistema e uma única fase é formada.

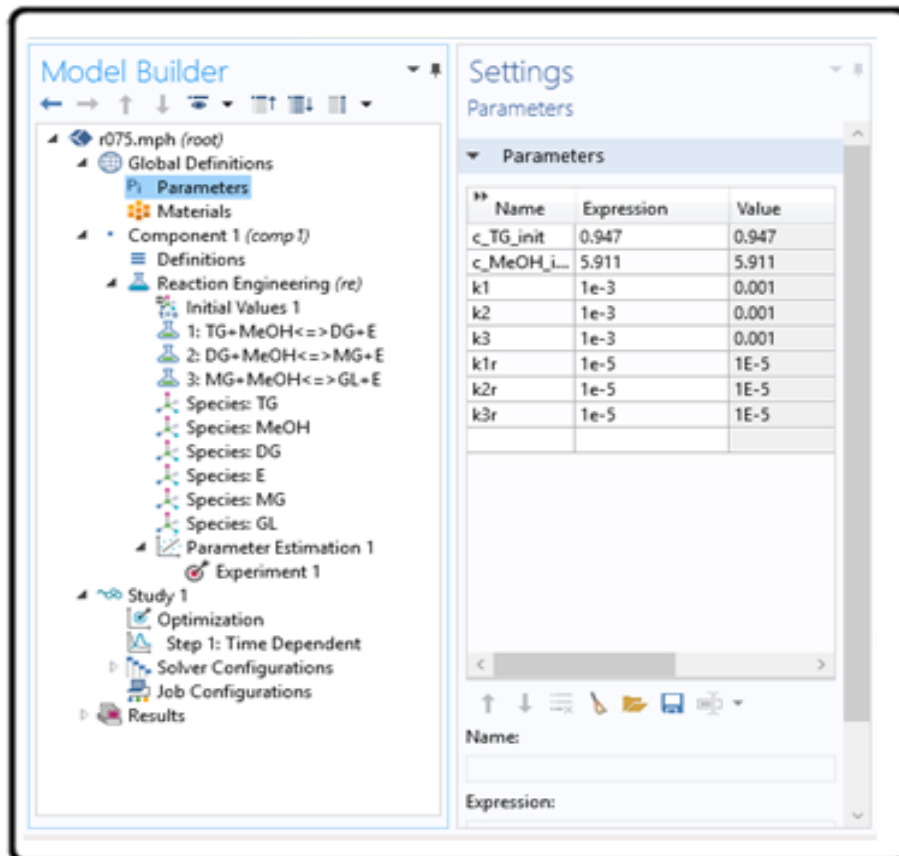
Como condições de contorno para modelagem da reação foram adotadas algumas considerações segundo Vivente et al. (2005) e Stamenkovic et al. (2008):

- (i) no estágio inicial o controle de transferência de massa foi insignificante;
- (ii) a proporção de ácido graxo livre foi insignificante e, em seguida, a neutralização de ácidos graxos livres não foi significativa;
- (iii) considerou-se também que a reação de saponificação foi insignificante;
- (iv) os valores das concentrações molar do DG e MG são representadas pela soma das concentrações do 1,3-DG e 1,2-DG; e 2-MG e 1-MG, respectivamente.

As simulações foram realizadas em dimensão 0D na interface COMSOL Multiphysics[®], e como critério foi considerado um erro de tolerância relativa na modelagem de 1×10^{-7} . Na aplicação de elementos finitos, as equações algébricas são resolvidas pelo método *Backward Differentiation Formula* (BDF), que

é um solucionador dependente do tempo, são resultado de uma discretização aplicada às equações diferenciais originais que foram resolvidas pelo método de elementos finitos (FEM) usando o COMSOL Multiphysics® interface. A Figura 23 apresenta a interface da modelagem da reação na plataforma do *software*.

Figura 23 – Interface da modelagem no *software* COMSOL Multiphysics®.



As constantes de velocidade k_n foram obtidas pela estimativa dos parâmetros através dos dados experimentais das concentrações molar dos triglicerídeos, monoglicerídeos, diglicerídeos, metanol, glicerol e FAME, resumidos no **Anexo B**.

3.3.6. Teste Estatístico

Os dados teóricos e experimentais relacionados ao TG, DG, MG, GL, MeOH e FAME foram comparados através do erro percentual, como forma de avaliar a qualidade do ajuste por meio da Equação 29 (BONA et al., 2007).

$$\% \text{ Erro} = 100 \sum_{i=1}^N \left[\frac{|\bar{C}_{calc} - \bar{C}_{exp}|}{\bar{C}_{exp}} \right] \frac{1}{N} \quad \text{Eq. (29)}$$

onde: \bar{C}_{calc} = concentração média estimada por solução numérica; \bar{C}_{exp} = concentração experimental média; e N = número de observações consideradas.

3.3.7. Ajuste das Constantes de Velocidade

As constantes de velocidade da reação (k_n) para a reação de transesterificação consistem em três reações reversíveis consecutivas, onde k_{nf} são as constantes de formação e k_{nr} são as constantes de velocidade reversas. Os valores de k_n foram ajustados e otimizados pelo método simplificado de otimização simplex (BONA et al., 2000) associado às funções de desejabilidade (D) (DERRINGER & SUICH, 1980). Estes valores foram avaliados usando o *software* COMSOL.

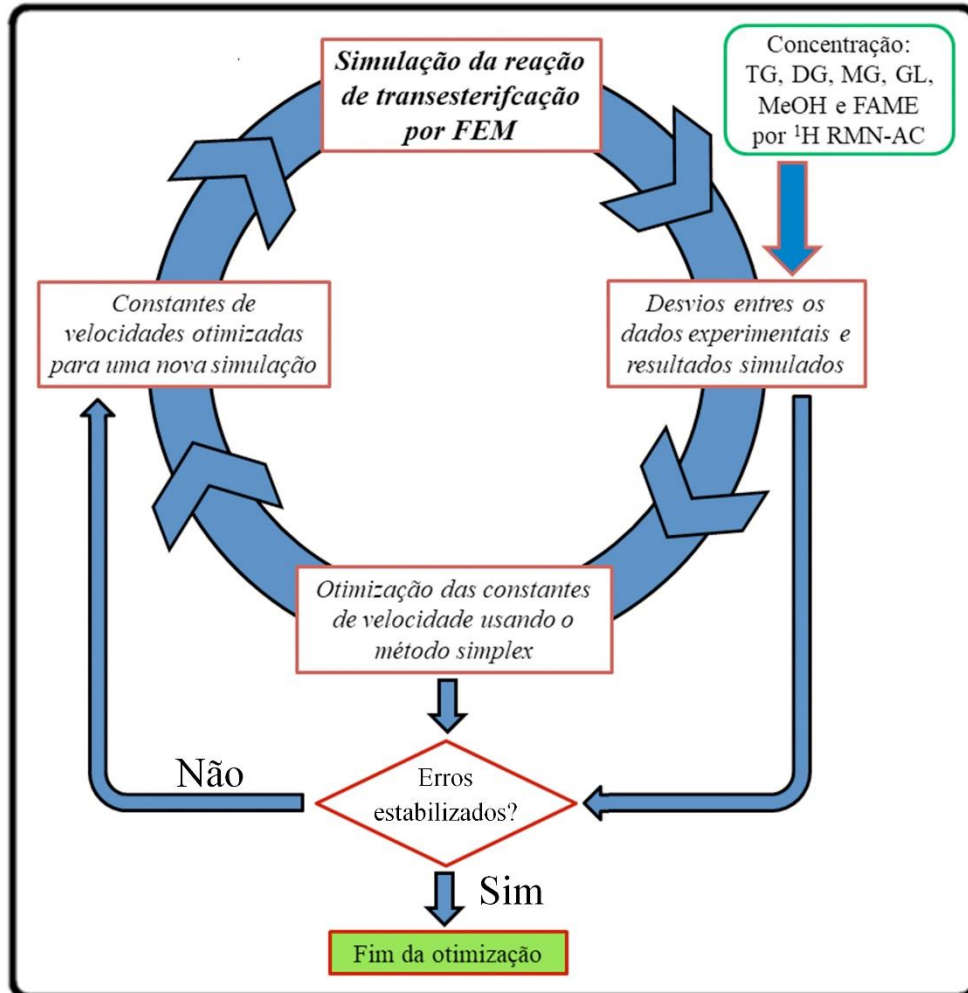
A otimização simplex inicia-se com a atribuição de limites inferiores e superiores para cada fator que será controlado. A otimização é realizada em três etapas fundamentais: simplex inicial; coordenada de reflexão e coordenada do vetor de movimento, de acordo com a metodologia descrita por Bona et al. (2000) e Bordin et al. (2019).

No simplex inicial (n+1), o algoritmo sugere sete combinações de valores de constantes de velocidade, que são inseridas nas simulações da reação por FEM em geometria 0D. Em seguida, a simulação fornece os valores simulados das concentrações de TG, DG, MG, GL, MeOH e FAME que são comparados com os valores experimentais através dos erros de acordo com a Equação 29. A partir desses erros e da aplicação do vetor de reflexão e movimento, o algoritmo sugere um novo conjunto de constantes de velocidade que são aplicadas na interface do *software* COMSOL Multiphysics® e novos valores de concentrações são gerados e comparados aos experimentais. Essas etapas são executadas sempre descartando o simplex com menor valor de desejabilidade até que os valores de **D**, *k* e os erros percentuais dos compostos sejam estabilizados. Assim, todos os valores das constantes foram orientados automaticamente em direção a resposta ótima (BONA et al., 2000).

A Figura 24 apresenta uma ilustração do fluxograma do processo de

otimização dos valores das constantes de velocidade utilizando o FEM acoplado ao método de otimização simplex com a função de desejabilidade.

Figura 24 – Fluxograma da otimização das constantes de velocidade pelo método FEM acoplado ao simplex.



3.3.8. Processamento e Programas de Computador

A reação de transesterificação foi simulada usando o COMSOL Multiphysics[®] versão 5.2 (COMSOL, Inc., Burlington, MA). Todos os resultados das reações foram processados usando um computador Intel[®] Core™ i7-4790 CPU[®] 3.60GHz, 32GB RAM e 250GB HDD.

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A possibilidade de determinar a concentração molar das diferentes espécies ao longo do tempo permitiram o acompanhamento da cinética da reação de transesterificação. Com os valores da concentração de cada espécie nos tempos avaliados foi possível determinar e otimizar os valores das constantes de velocidade de formação e reversa da reação pelo método simplex supermodificado. Como é um método recursivo e com restrições, atribuem-se valores de limites superiores e limites inferiores para cada parâmetro (Tabela 3). A escolha dos intervalos das constantes de velocidade foi baseado em testes preliminares.

Tabela 3 – Limite superior e inferior das constantes de velocidade utilizados na otimização simplex.

| Const. de velocidade * | Variáveis Independentes | |
|------------------------|-------------------------|-----------------------|
| | L _I | L _S |
| k_{1f} | $0,20 \times 10^{-6}$ | $0,33 \times 10^{-6}$ |
| k_{2f} | $0,90 \times 10^{-6}$ | $1,20 \times 10^{-6}$ |
| k_{3f} | $2,80 \times 10^{-6}$ | $3,30 \times 10^{-6}$ |
| k_{1r} | $0,06 \times 10^{-6}$ | $0,26 \times 10^{-6}$ |
| k_{2r} | $0,50 \times 10^{-6}$ | $1,20 \times 10^{-6}$ |
| k_{3r} | $0,15 \times 10^{-6}$ | $0,39 \times 10^{-6}$ |

*m³/mol.s. L_I - Limite inferior. L_S - Limite superior.

As estabilizações dos erros percentuais das espécies quando comparados os dados experimentais e simulados ocorreram a partir do simplex de número 15. Os erros obtidos quando considerados 62 minutos da reação de transesterificação foram de 3,53% a 16,96% (Tabela 4).

Tabela 4 – Erros percentuais de cada espécie presente no meio reacional após a estabilização.

| Erros estabilizados (%) | | | | | |
|-------------------------|------|------|------|-------|------|
| TG | MeOH | DG | FAME | MG | GL |
| 16,32 | 3,53 | 7,53 | 7,95 | 16,96 | 8,95 |

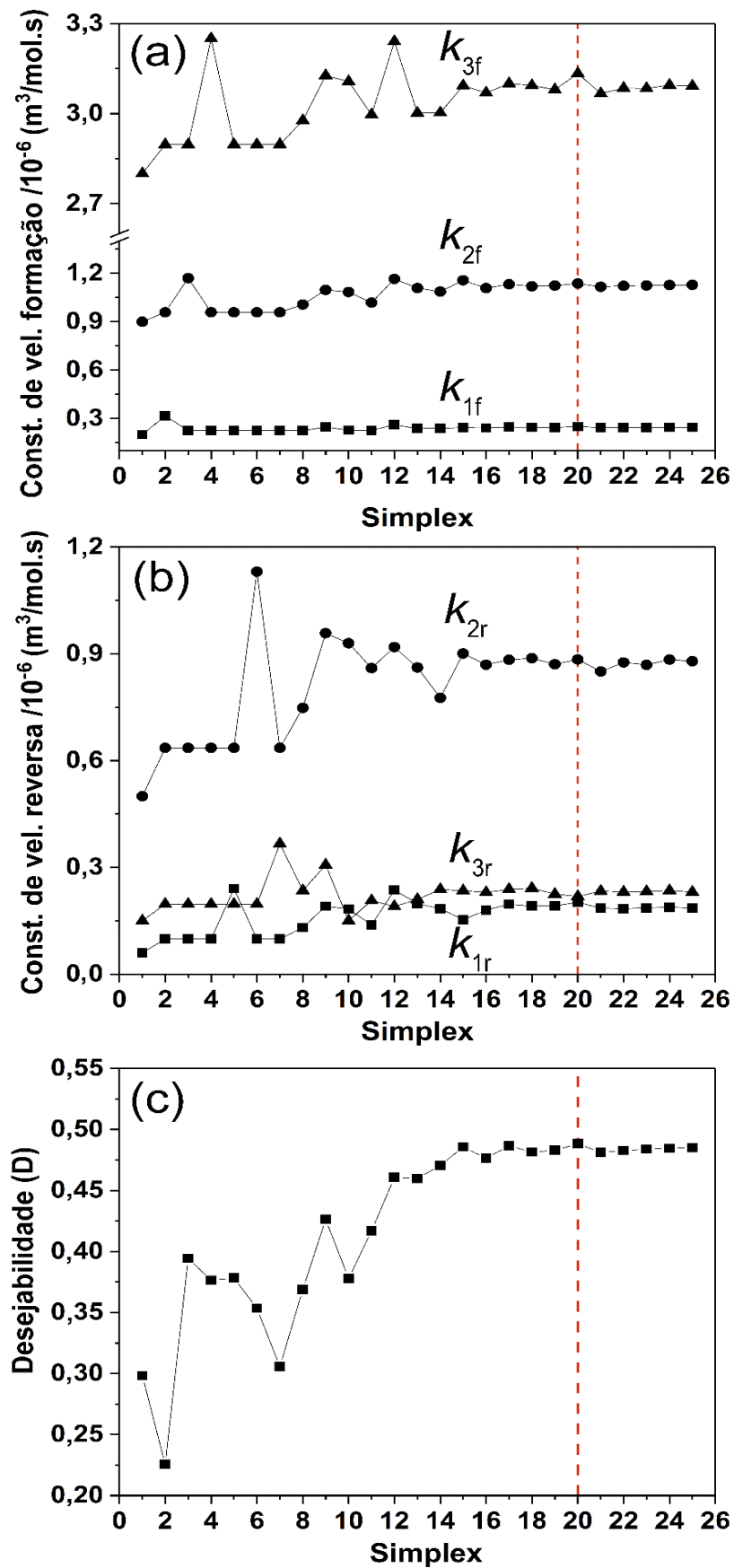
Os valores de erros percentuais para o TG e MG podem ser considerados aceitáveis quando se trata de modelagem matemática. Angilelli et al. (2015) e Ferrari & Hubing (2008), reportam valores de erros de até 11,24% e 25,00%, respectivamente, quando obtiveram os valores de coeficientes de difusão de espécies em alimentos utilizando a Lei de Fick e simulação por FEM.

Stamenkovic et al. (2008), ao avaliar os mecanismo da reação de transesterificação do óleo de girassol em baixas temperaturas, propuseram um modelo cinético sigmoidal para modelar as etapas da reação. O valor do desvio relativo do TG calculado com base no modelo cinético proposto e a conversão experimental foi de $\pm 4,6\%$ a 20 °C.

Os valores de constantes de velocidade de formação e reversa apresentaram estabilização a partir do simplex número 15 para as seis variáveis avaliadas (Figura 25 **(a)(b)**). Embora os erros percentuais e valores de constantes de velocidade tenham se estabilizado em torno do simplex número 15, e por se tratar de uma otimização conjunta, ou seja, uma maximização da função objetivo representada pela desejabilidade, o simplex número 20 apresentou maior valor de **D** (Figura 25 **(c)**).

Isso acontece por se tratar de uma otimização conjunta, de forma que muitas combinações das variáveis podem gerar os mesmos erros. No entanto, isso não significa, necessariamente, que um baixo valor do erro garante que as variáveis já estejam otimizadas. A otimização é atingida quando, além dos erros, as variáveis também tenham se estabilizado, dessa forma, sabe-se que o simplex atingiu seu ponto ótimo e não se modifica mais (BORDIN et al., 2019).

Figura 25 – Estabilização das constantes de velocidade direta e reversa durante o processo de otimização.



De acordo com a Figura 25, as constantes de velocidade para as reações de formação em baixas temperaturas normalmente tem uma magnitude maior que a reação reversas correspondentes (BAMBASE et al., 2007; SILVA et al., 2008; STAMENKOVIC et al., 2008). Para as constantes de velocidade de formação os valores decrescem na ordem de $k_{3f} > k_{2f} > k_{1f}$, comportamento esse que não é observado para as reações reversas. Considerando somente as reações de formação, a reação do TG para DG (k_{1f}) é mais lenta que a DG para MG (k_{2f}) e MG para GL (k_{3f}). Isso explica o porquê há um leve acúmulo de TG nos minutos iniciais da reação.

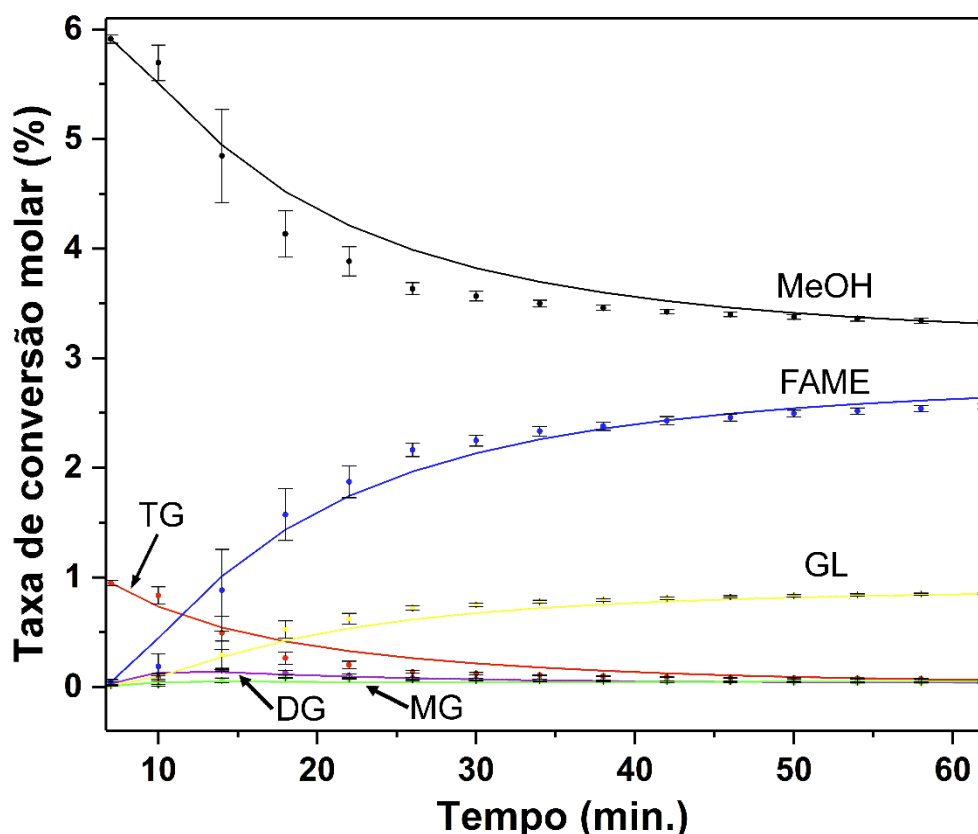
Baixos valores do k_{1f} para a primeira reação de formação também foram reportados por Vicente et al. (2005) e Vicente et al. (2006), o que significava que, a baixas temperaturas, a reação do triglicerídeo formando o diglicerídeo foi mais lenta e, portanto, essa etapa da reação é a responsável pelo controle do processo.

Os baixos valores de constantes de velocidade reversas indicam que essas reações não são favoráveis. De acordo com Vicente et al. (2005), os valores para a terceira reação reversa (k_{3r}), onde a reação da glicerina com o metil éster para formar monoglicérides e metanol não é favorecida, sendo considerada irreversível. Isso ocorre devido a imiscibilidade de ésteres metílicos e glicerol, que envolve uma grande resistência de transferência de massa nesse sentido.

Os perfis cinéticos experimentais e as curvas de modelagem geradas usando as equações propostas para a determinação das taxas de conversão dos diferentes compostos presentes na reação de transesterificação são apresentados na Figura 26. Deve-se observar que cada valor é a média experimental das três observações para reações realizadas sob as mesmas condições.

A Figura 26 apresenta as taxas de consumo do TG e a formação de FAME e GL, bem como os compostos intermediários. Os intermediários MG e DG aumentaram nos primeiros minutos da reação atingindo um valor máximo, logo em seguida um decréscimo e finalmente permaneceram quase constantes.

Figura 26 – Curvas de modelagem cinética (- simulado) e pontos experimentais médios (○ experimental) obtidos por ^1H RMN-AC para a espécie presentes na reação. Linha vermelha (TG), azul (FAME), roxa (DG), verde (MG), amarela (GL) e preta (MeOH).



De acordo com a Figura 26, nos estágios iniciais da reação, a taxa de reação é controlada pela transferência de massa, lenta, possivelmente pela temperatura em que as reações foram conduzidas, a imiscibilidade entre o TG e álcool e a baixa intensidade de agitação. Estas condições contribuíram para que o erro entre os dados experimentais e simulados para conversão do TG fosse de 16,3% (Tabela 4). A partir dos 7 minutos adiante é possível observar uma região cineticamente controlada, ou seja, rápida. E por fim, uma região lenta, aproximadamente 50 minutos, que representa o estado de equilíbrio da reação (NOUREDDINI & ZHU, 1997).

Os resultados experimentais demonstraram que o modelo cinético proposto, descreve adequadamente as condições da reação. No trabalho de Stamenkovic et al. (2008) um perfil cinético similar foi obtido usando uma relação molar de 6:1 de metanol para óleo de girassol com 1% m/m de KOH a uma

temperatura de 20 °C e agitação de 200 rpm.

O rendimento da reação obtido através dos dados experimentais foi de 85% após 62 minutos de reação, e apresentou um desvio de $\pm 2,9\%$ quando comparado ao simulado (Tabela 5). O baixo desvio entre os valores experimentais e simulados indica um bom ajuste dos dados ao modelo cinético aplicado.

Tabela 5 – Desvio entre os resultados experimentais e simulados.

| | Experimental | Simulado | Desvio |
|---------------|--------------|----------|--------|
| Conversão (%) | 85,43 | 87,94 | 2,94% |

3.5. CONCLUSÃO

O modelo semi-empírico cinético proposto para a reação da transesterificação pode ser simulado pelo método de elementos finitos sob condições mais realistas. A simulação da reação por FEM aliada à otimização simplex dos valores das constantes de velocidade foram comparadas com os resultados experimentais, validando a sua aplicação. As constantes de velocidade estimadas e otimizadas apresentaram comportamento semelhantes aos reportados por Stamenkovic et al. (2008) sob condições semelhantes. Esta nova abordagem permite um controle mais rigoroso do processo, além de permitir modular o tempo de reação, apresentando perspectivas encorajadoras para estudos cinéticos em todos os outros tipos de ambientes.

CAPÍTULO IV

*Transferência de Calibração entre
Instrumentos de RMN de Média
Resolução em Amostras de
Gasolina*

Resumo

A espectroscopia em dispositivos RMN de bancada de média resolução apresenta perspectivas animadoras. Nesse sentido, foi explorada a implementação de técnicas de transferência de calibração de modelos de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) entre espectrômetros de diferentes frequências de campo magnético por padronização direta (DS), padronização direta por partes (PDS) e padronização direta por partes em janela dupla (DWPDS) em dados espectrais de ^1H RMN. Como teste, modelos PLS para prever parâmetros de qualidade em amostras de gasolina, foram usados para avaliar o desempenho dos diferentes métodos de transferência. Foi demonstrado que todos os métodos otimizados pelo algoritmo por enxame de partículas (PSO) apresentaram uma diminuição significativa nos valores dos erros de predição quando comparados aos modelos PLS sem a padronização. Contudo, o método DWPDS apresentou os melhores resultados, necessitando de um número inferior de amostras de transferência, e conseqüentemente apresentou menores valores de erros de predição quando comparados aos métodos DS e PDS. A aplicação da padronização por DWPDS demonstrou que é necessário um número inferior a 7 amostras de transferência para obter espectros similares ao instrumento primário quando as amostras foram adquiridas no secundário, independente do parâmetro avaliado. O estudo mostrou ainda que é necessário a aplicação de um procedimento de padronização aos espectros registrados em um espectrômetro secundário, mesmo quando o instrumento tem a mesma ou diferente intensidade do campo magnético.

Palavras chave: quimiometria; padronização direta (DS); padronização direta por partes (PDS); padronização direta por partes em janela dupla (DWPDS); regressão por mínimos quadrados parciais (PLS); ^1H RMN.

4.1. INTRODUÇÃO

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de alta resolução (AC) é uma técnica poderosa e tem sido utilizada com sucesso nos mais variados campos de atuação (ALAM et al., 2009; GISLASON et al., 2001; MONAKHOVA & DIEHL). É uma técnica analítica moderna, não destrutiva e rica em informações a respeito do ambiente molecular da amostra. No entanto, a sua implementação como uma técnica de rotina é ainda barrada pelos elevados custos operacionais, manutenção e aquisição do instrumento (KILLNER et al., 2017).

Na última década, os dispositivos RMN de bancada, com resolução espectral média, começaram a aparecer como uma ferramenta analítica poderosa para controle de qualidade de produtos, abrindo a possibilidade para o desenvolvimento de novas metodologias analíticas com custos operacionais inferiores e informações qualitativas essenciais acerca da amostra (KILLNER et al., 2017; LINCK et al., 2013). Para tais dispositivos, a sua implementação como uma ferramenta de trabalho em laboratórios pode requerer algumas ferramentas quimiométricas para correlacionar os espectros adquiridos a qualquer propriedade de amostra, de um modo semelhante ao que os instrumentos ópticos fazem, como dispositivos de IR e Raman, que utilizam métodos de regressão multivariada (ALAM et al., 2009; FEUDALE et al., 2002).

O método de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) é a ferramenta quimiométrica mais extensivamente aplicada em laboratórios analíticos para qualquer quantificação de propriedade. É um método robusto que funciona adequadamente para a previsão de novas propriedades de amostras após uma etapa de calibração, que consiste no desenvolvimento de um modelo de calibração específico abrangendo um número considerável de amostras de calibração com propriedades físico-químicas semelhantes às novas amostras a serem estudadas (KILLNER et al., 2017).

Uma vez que o modelo tenha sido desenvolvido, seria desejável que o mesmo pudesse ser aplicado também em um conjunto de instrumentos (espectrômetros) diferentes daquele utilizado na etapa de calibração. Infelizmente, a aplicação a longo prazo e extensiva de um modelo PLS desenvolvido também é

restringida pela estabilidade instrumental, uma vez que variações espectrais relacionadas apenas ao próprio instrumento podem influenciar fortemente a capacidade de predição do modelo PLS. Da mesma forma, as diferenças espectrais geralmente encontradas para dois dispositivos diferentes podem restringir a aplicação do modelo PLS apenas ao instrumento que o modelo PLS foi construído, chamado de dispositivo primário (HONORATO et al., 2007).

Estes fatos são bem conhecidos na aplicação de PLS, independentemente da técnica analítica utilizada, e desempenham um papel importante no controle de qualidade. Essas diferenças instrumentais podem ser minimizadas pelo uso de métodos de “transferência de calibração”. Entre os mais utilizados estão o “*Direct Standardization (DS)*” e “*Piecewise Direct Standardization (PDS)*” propostos por Wang et al. (1991), Wang et al. (1992), Wang et al. (1994) e Wang et al. (1995). Que posteriormente derivaram em outros métodos como o “*Double Window Piecewise Direct Standardization (DWPDS)*”, apresentado por Wise et al. (2006).

Estes métodos são bem estabelecidos na literatura para métodos ópticos de análise, porém, existem poucos estudos aplicáveis à espectroscopia de RMN, e até onde sabemos, este é o primeiro estudo tratando a transferência de calibração entre dispositivos RMN de bancada de média resolução.

4.2. OBJETIVO GERAL

4.2.1. Objetivo Geral

O presente trabalho propõe minimizar as diferenças espectrais entre modelos de calibração PLS1 em espectrômetros de RMN de média resolução através de métodos de transferência de calibração por DS, PDS e DWPDS. Os métodos de transferência de calibração foram otimizados pelo algoritmo de otimização por enxame de partículas (PSO) acoplado a função de desejabilidade (D).

4.2.2. Objetivos Específicos

- Verificar a possibilidade de transferência de calibração entre três configurações diferentes de espectrômetros (43, 60 e 80 MHz);
- Averiguar a aplicabilidade do algoritmo de otimização PSO para cada método;
- Comparar os métodos de transferência DS, PDS, DWPDS para cada dispositivo;
- Avaliar os valores de RMSEP, r_{pred}^2 e N_{trans} para cada método;
- Avaliar o efeito do tamanho da janela móvel para os métodos PDS e DWPDS.

4.3. MATERIAIS E MÉTODOS

4.3.1. Amostras de Gasolinas

Um conjunto de 186 amostras regulares de gasolina brasileira (gasolina com adição de 27% de etanol, v/v), coletadas durante 2016 e 2017 na região da cidade de Londrina, estado do Paraná (Brasil), foi utilizado neste trabalho. Todos os parâmetros de qualidade estudados foram previamente determinados pelo Laboratório de Pesquisa e Análise de Combustíveis da Universidade Estadual de Londrina antes que este conjunto de amostras nos fosse dado.

4.3.2. Instrumentação e Aquisição de Espectros

Os espectros de ^1H RMN-BC foram registados em três configurações diferentes de espectrômetros de RMN de bancada (*Spinsolve*, Magritek). Cada um deles equipado com ímãs permanentes para gerar campos magnéticos de 1,0, 1,4 e 1,9 T (43 MHz, 60 MHz e 80 MHz para a frequência de Larmor do próton, respectivamente) (Figura 27). Um espectrômetro de 60 MHz foi empregado como instrumento primário (denominado 60MHz^P) e os equipamentos de 43 e 80 MHz como secundários (denominados 43 MHz^S e 80 MHz^S, respectivamente). Além disso, outro espectrômetro de 60 MHz, denominado 60MHz^S, também foi empregado como instrumento secundário, somando um dispositivo primário e três dispositivos secundários.

Figura 27 – Configurações de espectrômetros de RMN de bancada utilizados.



Para a aquisição dos espectros, em todos os instrumentos diferentes, 700 μL de amostra foram inseridos diretamente em um tubo de vidro de RMN de 5 mm, sem qualquer solvente deuterado. Cada espectro foi adquirido após a aplicação de um único pulso de 90° RF. Antes da aquisição dos espectros, as amostras foram deixadas pelo menos durante 30 minutos num forno termostático, de modo a manter a temperatura da amostra entre $26,5^\circ\text{C}$ e $28,5^\circ\text{C}$, correspondendo à temperatura da sonda (Figura 28).

Figura 28 – Estabilizador de temperatura para tubos de RMN.



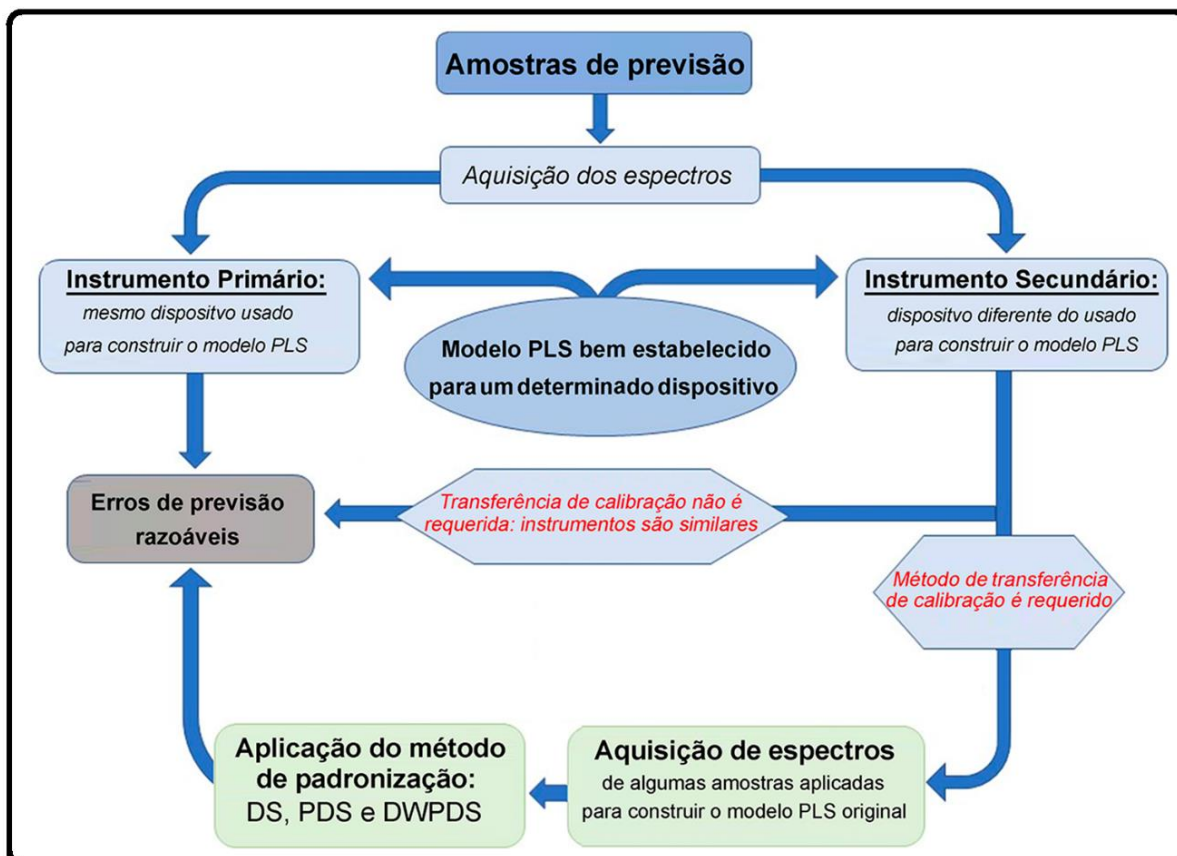
4.3.3. Análise Multivariada

As rotinas Gamma 3.0 (GAMMA, 2017) e PLS_Toolbox 8.1.1 (Eigenvector, US) foram aplicadas no *Matlab* 2015 (Mathworks, EUA) para o pré-processamento dos espectros, seleção de variáveis, desenvolvimento de modelos de calibração PLS e métodos de transferência de calibração. Três diferentes métodos de transferência de calibração foram avaliados: *Direct Standardization* (DS), *Piecewise Direct Standardization* (PDS) e *Double Window Piecewise Direct Standardization* (DWPDS).

O uso do algoritmo de transferência permite a aplicação contínua de um modelo de calibração PLS previamente desenvolvido no mesmo ou em outro espectrômetro, adquirindo espectros de poucas amostras de calibração em

ambos os espectrômetros. Essas amostras são denominadas amostras de transferência e todo o processo é ilustrado na Figura 29.

Figura 29 – Ilustração da aplicação de transferência de calibração quando necessário.



Anteriormente à transferência de calibração, e após o pré-processamento dos espectros três modelos diferentes de calibração PLS foram desenvolvidos utilizando o método *leave-one-out* para a validação interna para todos os espectrômetros testados. Foi construído um modelo para a massa específica (Mesp), um para a temperatura de destilação de 50% de recuperação (T50%) e o último para o ponto de ebulição final (PFE). A faixa espectral aplicada nos modelos PLS foi de $\delta = -2,00$ ppm a 10,00 ppm. Foram aplicadas correções de linha de base e fase zero a todos os espectros. Além disso, todos os espectros foram alinhados, de acordo com seu máximo em $\delta = 1,19$ ppm, e os espectros de 43 e 80 MHz foram interpolados para manter o mesmo número de pontos espectrais que o instrumento de 60 MHz (60MHz^P).

A etapa inicial para a padronização dos espectros é a compatibilização das regiões espectrais. Ou seja, é necessário que cada frequência das respostas instrumentais sejam correspondentes, que podem ser obtidas por interpolações. A interpolação dos dados foi realizada no *software Matlab* pela função "*interp1*" utilizando o método "*pchip*". Cabe ainda ressaltar, que a interpolação dos dados espectrais não alterou os valores dos modelos PLS construídos para cada dispositivo antes ou após a sua aplicação.

O conjunto amostral foi dividido em conjunto de calibração (125 amostras, 67% das amostras) e validação (61 amostras, 33% das amostras) pelo algoritmo de Kennard e Stone (KENNARD & STONE, 1969) e então os espectros de RMN foram utilizados como matriz **X** (variáveis independentes) e os parâmetros de qualidade, determinados por laboratório acreditado, como matriz **Y** no desenvolvimento do modelo PLS.

Para a definição da quantidade de variáveis latentes foi utilizada validação cruzada. A quantidade de variáveis latentes de cada modelo foi selecionada com base no menor valor na raiz quadrada do erro quadrático médio de validação cruzada (RMSECV), escolhendo o menor número de variáveis latentes possível.

Os modelos foram então construídos com os espectros pré-processados selecionando o modelo que apresentou o menor número de variáveis latentes e valores de RMSECV. Nessa etapa também foram excluídas as amostras anômalas (*outliers*) com base nos valores de resíduos com alta influência não modelados em **y**.

Para validar a calibração multivariada foram escolhidas figuras de mérito (FOM) como a raiz quadrada do erro quadrático médio para calibração e previsão (RMSEC e RMSEP), o bias, a elipse de confiança e o coeficiente de correlação ao quadrado (r^2).

Os instrumentos primário e secundários serão representados pelas letras P e S, respectivamente. E utilizaremos a notação $RMSEP_P^S$, que representará o valor de RMSEP obtido no instrumento S usando o modelo calibrado para o instrumento P; e $RMSEP_P^P$ o valor de RMSEP obtido no instrumento P usando o modelo calibrado no instrumento P. Se algum procedimento de transferência de calibração for utilizado, a notação $RMSEP_{P-T}^S$

será adotada, como DS, PDS e DWPDS.

4.3.4. Otimização por Enxame de Partícula (PSO)

O algoritmo PSO foi aplicado para otimizar o procedimento de transferência de calibração (KENNEDY & EBERHART, 1995; MEZURA-MONTES, & COELLO, 2011; PEDERSEN, 2010). O PSO foi ajustado para obter os menores valores de RMSEP e maiores valores de coeficiente de correlação para a predição (r^2_{pred}) quando um mínimo de amostras de transferência (N_{trans}) é usado. Assim, a função de desejabilidade (**D**) foi usada em conjunto com o algoritmo PSO em uma rotina no *Matlab* (DERRINGER & SUICH, 1980).

Desta forma, o PSO apresenta três respostas diferentes: \hat{Y}_1 , \hat{Y}_2 e \hat{Y}_3 que representam RMSEP, r^2_{pred} e N_{trans} , respectivamente. Para executar a rotina foram aplicadas algumas restrições às variáveis x_1 , x_2 e x_3 , representadas por N_{trans} , j_1 e j_2 , respectivamente, que dependem do método de padronização estudado (DS, PDS ou DWPDS). A Tabela 6 apresenta todos os limites superiores e inferiores aplicados para cada método de transferência. Estes valores dos limites aplicados às variáveis foram definidos com base em testes preliminares.

Tabela 6 – Limites superiores e inferiores aplicados às variáveis na rotina do PSO para cada método de padronização.

| Método | N_{trans} | | j_1 | | j_2 | |
|--------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | L_I | L_S | L_I | L_S | L_I | L_S |
| DS | 1 | 12 | - | - | - | - |
| PDS | 1 | 12 | 3 | 101 | - | - |
| DWPDS | 1 | 12 | 5 | 101 | 3 | 101 |

L_I - Limite inferior. L_S - Limite superior. j_1 - largura da primeira janela móvel. j_2 - largura da segunda da janela móvel.

Para a função **D** algumas restrições nos valores dos limites superiores, inferiores e alvos para as respostas foram impostos de acordo com o parâmetro de qualidade avaliado, que são apresentados na Tabela 7. A escolha dos valores dos limites aplicados à função de desejabilidade também foram

definidos com base em testes preliminares.

Tabela 7 – Limites superior e inferior aplicados à função de desejabilidade.

| \hat{Y}_n | T50% | | | PFE | | | Mesp | | |
|--------------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|------|
| | L_I | L_S | Alvo | L_I | L_S | Alvo | L_I | L_S | Alvo |
| RMSEP | 0,9 | 1,6 | 0,9* | 4,5 | 6,0 | 4,5* | 0,8 | 1,8 | 0,8* |
| r^2_{pred} | 0,8 | 1 | 1* | 0,8 | 1 | 1* | 0,8 | 1 | 1* |
| N_{trans} | 1 | 12 | 1* | 1 | 12 | 1* | 1 | 12 | 1* |

*Para maximização: o valor do alvo é igual ao limite superior; para minimização: o valor do alvo é igual ao limite inferior; e para um valor intermediário: o valor do alvo deve ser entre os limites superior e inferior.

Foram ainda atribuídos pesos / importância a cada desejabilidade individual (d_i), ou seja, as respostas avaliadas (RMSEP, r^2_{pred} e N_{trans}). Baseados em testes preliminares foram analisadas as seguintes combinações que são apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 – Pesos / importância atribuídos a cada desejabilidade individual (d_i).

| RMSEP | r^2_{pred} | N_{trans} |
|-------|--------------|-------------|
| 11 | 1 | 11 |
| 11 | 1 | 21 |
| 21 | 1 | 21 |

Cada rotina PSO foi executada empregando um tamanho de enxame de 30 partículas, com uma tolerância de 1×10^{-3} , após cinco interações subsequentes em que o erro foi estabilizado.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 30 apresenta quatro espectros da mesma amostra de gasolina adquirida nos quatro espectrômetros diferentes utilizados neste trabalho. Os espectros podem ser divididos em diferentes regiões, conforme proposto por Pinto et al. (2016). Estas regiões são: compostos aromáticos ($\delta = 6,7$ a $8,0$ ppm), compostos olefínicos ($\delta = 4,6$ a $6,5$ ppm), compostos com heteroátomos como O e N ($\delta = 3,0$ a $4,5$ ppm), prótons α - e β - de compostos aromáticos ($\delta = 2,15$ a $2,8$ ppm), prótons alílicos ($\delta = 1,85$ a $2,1$ ppm) e uma mistura de compostos naftênicos e parafínicos ($\delta = 0,5$ a $1,85$ ppm).

Como descrito anteriormente por Linck et al. (2013) e colaboradores, à medida que a intensidade do campo magnético diminui, a relação entre o acoplamento J e uma diferença de frequência típica entre prótons interagentes pertencentes a diferentes grupos químicos começa a aumentar, causando finalmente a sobreposição de grupos vizinhos no espectro. Fato que pode ser observado na Figura 30. No entanto, todos os grupos químicos representados ainda podem ser distinguidos para todos os espectrômetros diferentes, além da sobreposição espectral.

A Tabela 9 apresenta o desempenho dos instrumentos primário e secundários quando usados para construir os modelos PLS. É importante mencionar que os espectros das mesmas amostras foram registradas novamente nos instrumentos 60 MHz^P e 43 MHz^S após transcorridos 30 dias da aquisição dos primeiros testes. Essas réplicas também foram avaliadas através da construção de modelos PLS para verificar a capacidade preditiva dos modelos após esse tempo.

Figura 30 – (a) Espectros de ^1H RMN-BC de uma mesma amostra de gasolina comum brasileira, adquiridos em espectrômetros de: 43 MHz^S (linha preta), 60 MHz^P (verde), 60 MHz^S (azul) e 80 MHz^S (linha vermelha). **(b)** Regiões espectrais expandidas a partir dos espectros.

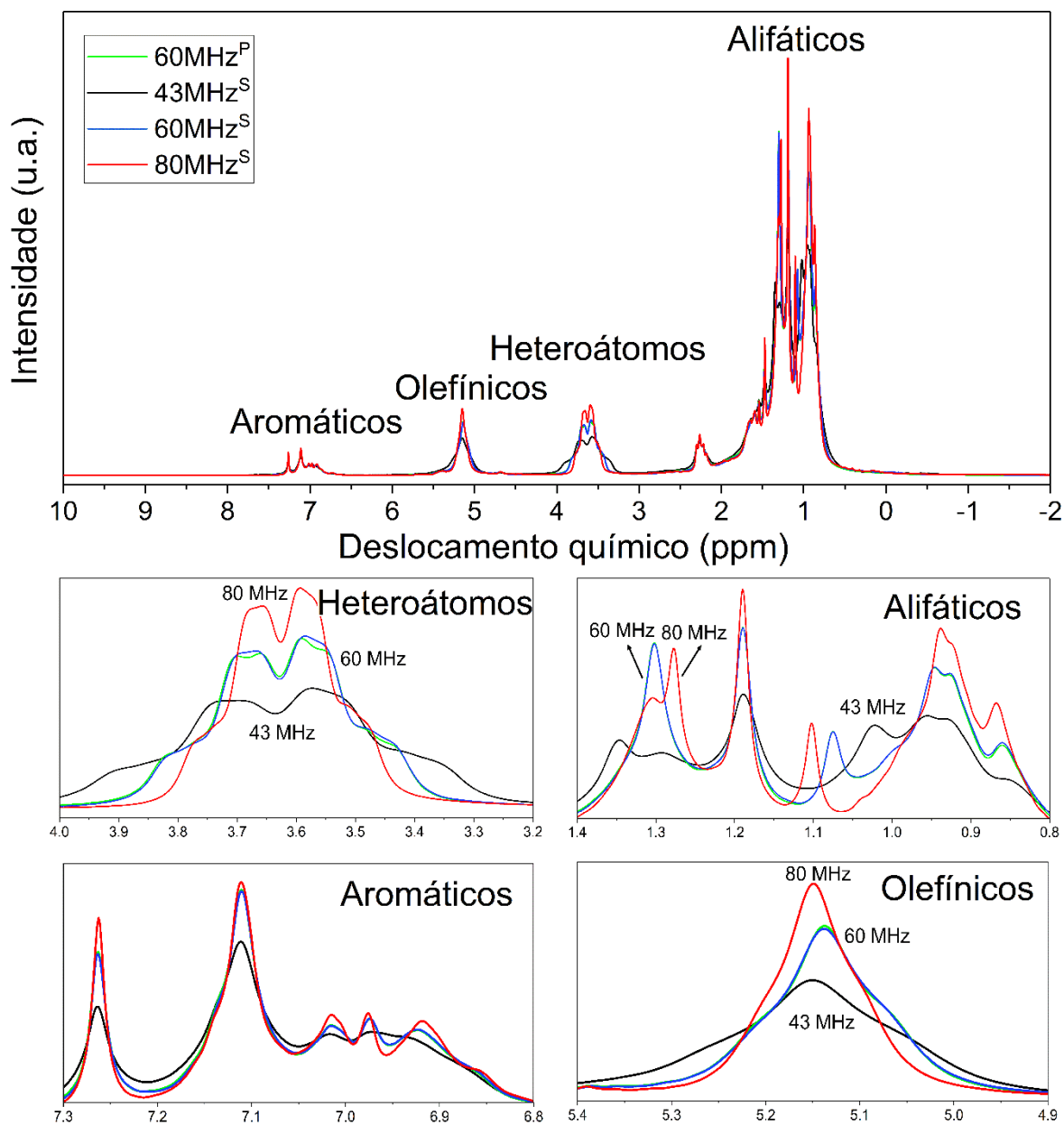


Tabela 9 – Performances de cada instrumento quando aplicado para construir os modelos PLS para prever T50%, PFE e Mesp da gasolina comercial.

| Dispositivo | T50% | | | | | PFE | | | | | Mesp | | | | |
|----------------------|------|-------|-------|--------------|------|-----|-------|-------|--------------|------|------|-------|-------|--------------|------|
| | VL | RMSCV | RMSEP | r^2_{pred} | Erro | VL | RMSCV | RMSEP | r^2_{pred} | Erro | VL | RMSCV | RMSEP | r^2_{pred} | Erro |
| 60 MHz ^P | 7 | 0,952 | 1,08 | 0,920 | 7,12 | 9 | 4,57 | 5,11 | 0,881 | 6,51 | 9 | 1,16 | 1,13 | 0,991 | 2,21 |
| 43 MHz ^S | 7 | 0,944 | 1,03 | 0,928 | 6,76 | 9 | 4,64 | 5,25 | 0,878 | 6,42 | 9 | 1,12 | 1,00 | 0,994 | 2,00 |
| 60 MHz ^S | 7 | 0,909 | 1,09 | 0,917 | 7,28 | 9 | 4,63 | 5,01 | 0,882 | 6,62 | 9 | 1,11 | 1,10 | 0,992 | 2,20 |
| 80 MHz ^S | 7 | 1,05 | 1,01 | 0,926 | 6,66 | 9 | 4,78 | 5,66 | 0,851 | 7,02 | 9 | 1,06 | 1,12 | 0,992 | 2,17 |
| *60 MHz ^P | 7 | 0,961 | 1,08 | 0,916 | 7,04 | 9 | 4,69 | 5,32 | 0,865 | 6,79 | 9 | 1,18 | 1,10 | 0,992 | 2,11 |
| *43 MHz ^S | 7 | 0,879 | 1,00 | 0,925 | 6,65 | 9 | 5,47 | 4,81 | 0,889 | 6,45 | 9 | 1,01 | 1,10 | 0,992 | 2,22 |

VL - Número de variáveis latentes usadas no modelo PLS. RMSCV - Erro Quadrático Médio de Validação Cruzada. RMSEP - Erro Quadrático Médio de Predição. Erro - Porcentagem do erro relativo médio de previsão sobre o valor da faixa do parâmetro. r^2_{pred} - Coeficiente de Correlação para a Predição. *Espectros das mesmas amostras foram registradas novamente nos instrumentos 60 MHz^P e 43 MHz^S após transcorrido 30 dias da aquisição dos primeiros testes. T50% e PFE são expressos em °C e Mesp expressa em kg/m³ à 20 °C.

A partir da Tabela 9, pode-se notar que os desempenhos de todos os instrumentos aplicados são muito próximos quando todo o conjunto de amostras de calibração (125 amostras) é aplicado para construir um novo modelo PLS em cada novo dispositivo. No entanto, se alguém pretende usar diretamente um modelo PLS construído anteriormente em um espectrômetro diferente para prever qualquer propriedade de novas amostras, o procedimento de transferência de calibração pode ser necessário. Este fato é apresentado na Tabela 10, onde os modelos PLS, desenvolvidos com instrumento de 60MHz^P, foram aplicados para prever os parâmetros de qualidade de novas amostras (conjunto de validação) cujos espectros foram adquiridos em três dispositivos diferentes (dispositivos secundários).

Uma deterioração visível nos desempenhos de previsão dos modelos PLS são apresentados na Tabela 10, quando comparada à Tabela 9. Essa piora se deve ao intercâmbio de dispositivos de RMN, que podem / devem alterar significativamente o campo magnético e sua homogeneidade, além das mudanças nas propriedades da amostra por efeitos de envelhecimento também podem ocorrer devido a alterações nos parâmetros de aquisição e manutenção do *hardware* (MONAKHOVA & DIEHL, 2016).

Para superar todos esses problemas, a transferência de modelos de calibração PLS, previamente desenvolvidos no dispositivo primário, foi estudada por três técnicas de transferência de calibração: DS, PDS e DWPDS.

Com o objetivo de estimar as possíveis situações no cenário de instrumentos de RMN de baixo campo, foi passado de um campo magnético mais baixo para um mais alto e vice-versa, por esse motivo o instrumento de 60MHz^P foi definido como primário e os 80 MHz^S e 43 MHz^S como secundários.

No nosso caso, o objetivo de usar o método de transferência de calibração é a aplicação direta de um modelo de calibração PLS estabelecido em qualquer dispositivo RMN similar com o mesmo ou diferente campo magnético. Esta prática poderia evitar o trabalho laborioso e maciço de construir um novo modelo de calibração PLS, especialmente quando se pensa em todo o tempo necessário para tomar todos os espectros de amostras de calibração mais uma vez.

Tabela 10 – Performances do modelo PLS construído com o instrumento 60MHz^P quando aplicado para prever as propriedades de amostras usando espectros adquiridos em um dispositivo secundário.

| Dispositivo secundário | T50% (7) ^a | | | PFE (9) ^a | | | Mesp (9) ^a | | |
|------------------------|-----------------------|--------------|--------|----------------------|--------------|--------|-----------------------|--------------|--------|
| | RMSEP | r^2_{pred} | Erro | RMSEP | r^2_{pred} | Erro | RMSEP | r^2_{pred} | Erro |
| 43 MHz ^S | 44,57 | 0,882 | 372,62 | 125,99 | 0,819 | 201,96 | 102,64 | 0,987 | 240,44 |
| 60 MHz ^S | 1,12 | 0,912 | 7,31 | 4,70 | 0,892 | 5,81 | 1,25 | 0,991 | 2,46 |
| 80 MHz ^S | 7,91 | 0,902 | 58,77 | 131,43 | 0,836 | 216,43 | 25,28 | 0,978 | 58,79 |

^aNúmero de variáveis latentes usadas no modelo PLS.

Como critério, o primeiro passo para realizar a transferência de calibração é a seleção do número de amostras de transferência do conjunto de calibração, essas amostras devem ser representativas no espaço experimental e descrever as diferenças instrumentais. Esse procedimento é fundamental para o sucesso do processo, se isto não acontecer, os parâmetros de transferência calculados levarão a padronizações duvidosas (HONORATO et al., 2007). As amostras de transferência foram selecionadas pelo método de alavancagem. Inicialmente foram selecionadas 30 amostras de transferência, porém, observou-se que até 12 amostras para o método DS os valores de RMSEP para ambos os instrumentos se equiparavam (Figura 31). As amostras de transferência selecionadas e seus respectivos valores físico-químicos determinados são apresentadas na Tabela 11 e os seus espectros na Figura 32.

A Figura 31 apresenta os valores de RMSEP e r^2_{pred} encontrados para a aplicação do método DS na transferência de calibração do dispositivo secundário para o primário, de acordo com o número de amostras de transferência utilizadas. Na maioria dos casos, os valores de RMSEP e r^2_{pred} aproximam-se da aplicação do instrumento primário quando menos de 12 amostras de transferência foram utilizadas. Para fins de comparação são apresentados os valores de RMSEP_P^S do modelo desenvolvido no equipamento primário e os espectros registrados no secundário sem a padronização (linha tracejada vermelha) e o erro RMSEP_P^P de predição da calibração dos dados do instrumento primário aos conjuntos de predição no primário (linha tracejada azul).

Figura 31 – Valores de RMSEP e r^2_{pred} para cada parâmetro aplicando o método DS para transferência de calibração do modelo PLS do dispositivo de 60 MHz^P para os dispositivos de 43 MHz^S e 80 MHz^S, de acordo com o número de amostras de transferência. Onde (- o -) indica o RMSEP e (- □ -) indica o r^2_{pred} .

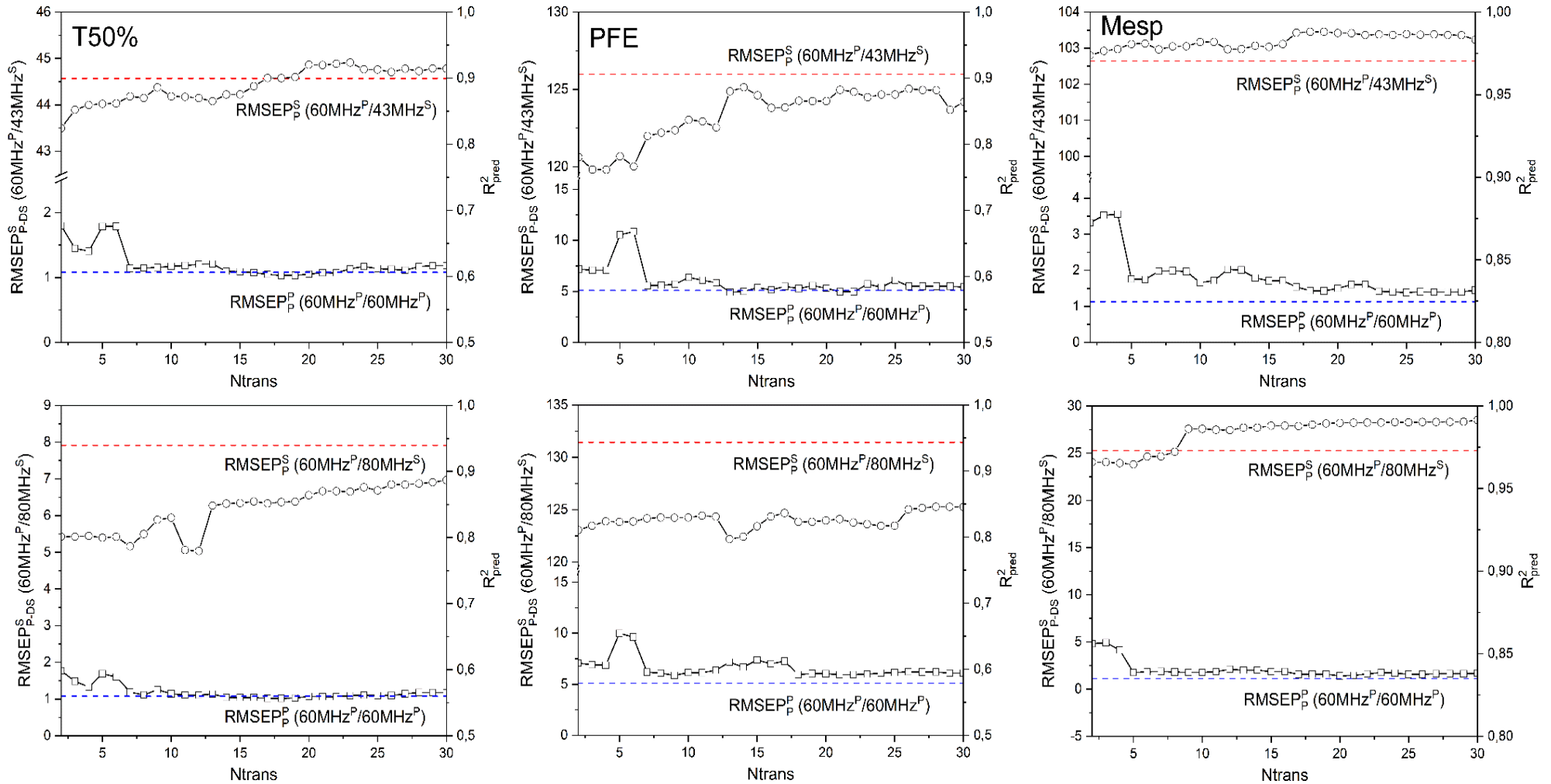
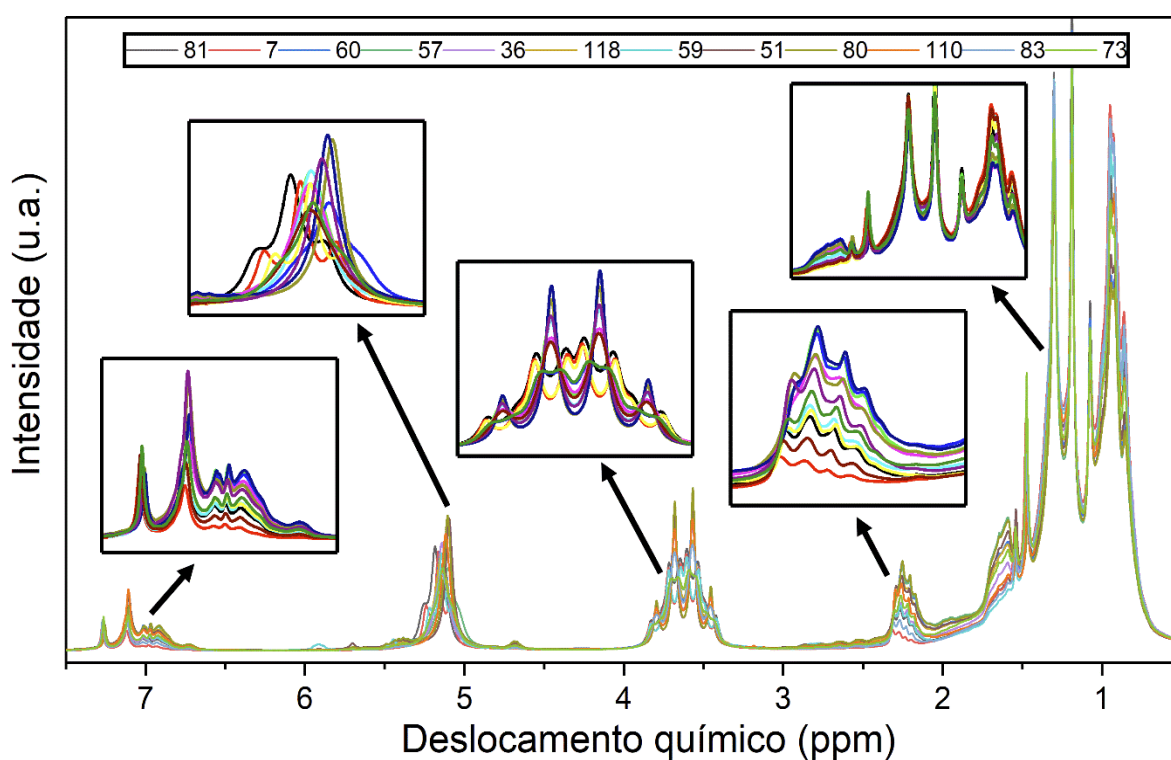


Tabela 11 – Amostras de transferência selecionadas de acordo com os maiores valores de alavancagem.

| Ordem* | Nome N _{trans} | T50% (°C) | PFE (°C) | Mesp 20 °C (kg/m ³) |
|-----------------|-------------------------|-----------|----------|---------------------------------|
| 1 ^a | 81 | 72,14 | 201,99 | 749,00 |
| 2 ^a | 7 | 63,00 | 173,74 | 718,20 |
| 3 ^a | 60 | 71,28 | 202,1 | 744,60 |
| 4 ^a | 57 | 72,38 | 210,02 | 748,40 |
| 5 ^a | 36 | 62,2 | 154,20 | 711,20 |
| 6 ^a | 118 | 69,51 | 193,84 | 732,20 |
| 7 ^a | 59 | 67,30 | 183,97 | 727,50 |
| 8 ^a | 51 | 72,12 | 199,03 | 744,80 |
| 9 ^a | 80 | 68,95 | 196,90 | 742,20 |
| 10 ^a | 110 | 64,50 | 163,60 | 716,20 |
| 11 ^a | 83 | 66,91 | 185,92 | 730,00 |
| 12 ^a | 73 | 67,80 | 184,90 | 727,80 |

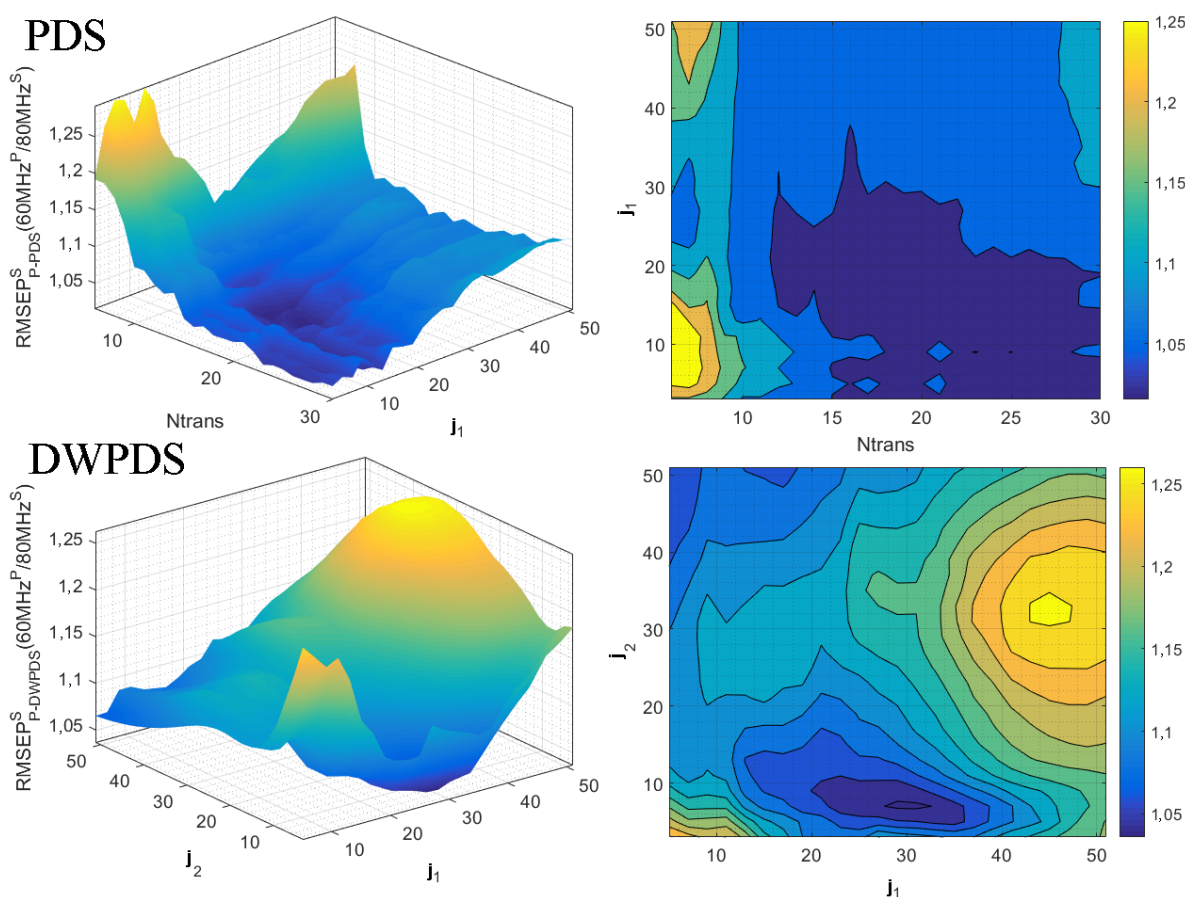
*Ordem de seleção das amostras de acordo com maior alavancagem.

Figura 32 – Espectros das amostras de transferência selecionadas de acordo com os maiores valores de alavancagem.



A Figura 33, apresenta os valores de RMSEP para o parâmetro T50% após a aplicação dos métodos PDS e DWPDS (7 amostras de transferência) em função do número de amostras de transferência e tamanho móvel das janelas j_1 e j_2 . De modo geral, os valores de RMSEP do instrumento secundário se assemelham ao primário com um número inferior de amostras de transferência para os métodos PDS e DWPDS quando comparado ao DS.

Figura 33 – Valores de RMSEP para os métodos PDS e DWPDS (7 amostras de transferência) em função do número de amostras de transferência e tamanho móvel das janelas (j_1 e j_2) para o parâmetro T50% no equipamento secundário de 80 MHz. Figuras 3D (esquerda) e 2D (direita).



A Tabela 12 apresenta todos os melhores resultados encontrados para a aplicação de DS, PDS e DWPDS na transferência de calibração dos dispositivos secundários para o primário. É importante mencionar que o método de otimização de enxame de partículas (PSO) foi usado para testar todas essas três metodologias. Entre as combinações testadas dos pesos / importância para as

respostas RMSEP, r^2_{pred} e N_{trans} (Tabela 8), a combinação que apresentou os melhores resultados é quando se atribui uma importância de 11 para RMSEP, 1 para r^2_{pred} e 21 para N_{trans} . Os resultados das demais combinações se encontram no **Anexo C**. O objetivo do uso de PSO foi obter os valores de RMSEP e r^2_{pred} , na aplicação do novo dispositivo, próximos aos determinados para o instrumento primário usando o menor número possível de amostras de transferência. Esse tipo de otimização é de suma importância, uma vez que testar todas as possibilidades exigiria muito processamento de computador.

De acordo com a Tabela 12, os valores de RMSEP e r^2_{pred} determinados para todos os dispositivos secundários estão próximos do primário. Este fato é observado para todas as três técnicas de transferência de calibração testadas. No entanto, menos amostras de transferência são necessárias na aplicação da técnica DWPDS, o que é de considerável importância se alguém pretende ignorar o trabalho laborioso de coletar mais espectros das amostras de calibração.

Outra preocupação importante em coletar espectros de amostras de calibração em um novo instrumento para construir um modelo de calibração PLS, para o mesmo parâmetro de qualidade determinado por um dispositivo anterior, é a dificuldade inerente de manter um grande número de amostras de calibração e transportá-las para um laboratório diferente.

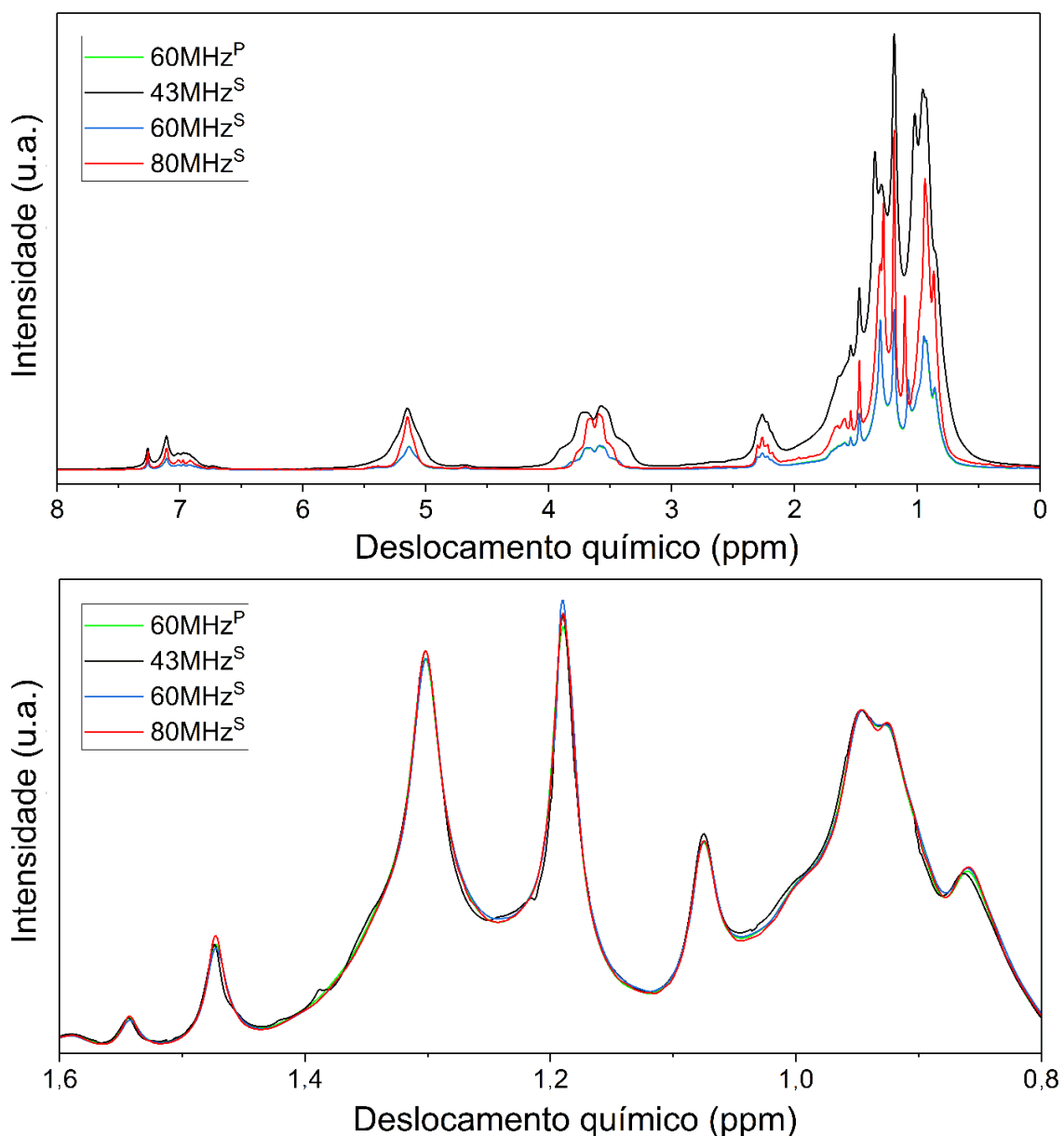
A Figura 34 apresenta a aplicação do algoritmo de transferência de calibração no espectro. É fácil notar uma enorme diferença na forma espectral para o mesmo espectro de amostra adquirido em diferentes campos magnéticos. No entanto, todos os espectros parecem convergir para o formato do espectro primário após a aplicação da transferência de calibração, o que torna possível usar um modelo de calibração desenvolvido em diferentes dispositivos.

Tabela 12 – Resultados obtidos para a transferência de calibração dos modelos PLS desenvolvidos no dispositivo primário para os secundários pelas técnicas DS, PDS e DWPDS utilizando o algoritmo PSO*.

| PLS / DS | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|-----------------------|--------------------|----------------|----------------|-------|--------------------------------|----------------------|--------------------|----------------|----------------|-------|--------------------------------|-----------------------|--------------------|----------------|----------------|-------|--------------------------------|
| Dispositivo | T50% (7) ^a | | | | | | PFE (9) ^a | | | | | | Mesp (9) ^a | | | | | |
| | Secundário | N _{trans} | j ₁ | j ₂ | RMSEP | r ² _{pred} | Erro | N _{trans} | j ₁ | j ₂ | RMSEP | r ² _{pred} | Erro | N _{trans} | j ₁ | j ₂ | RMSEP | r ² _{pred} |
| 43 MHz ^S | 7 | - | - | 1,14 | 0,912 | 7,80 | 7 | - | - | 5,56 | 0,844 | 6,72 | 5 | - | - | 1,76 | 0,981 | 3,16 |
| 60 MHz ^S | 7 | - | - | 1,19 | 0,897 | 7,66 | 7 | - | - | 5,68 | 0,837 | 6,68 | 5 | - | - | 1,78 | 0,981 | 3,28 |
| 80 MHz ^S | 4 | - | - | 1,33 | 0,876 | 8,94 | 9 | - | - | 5,86 | 0,827 | 7,11 | 5 | - | - | 1,76 | 0,981 | 3,10 |
| PLS / PDS | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Dispositivo | T50% (7) ^a | | | | | | PFE (9) ^a | | | | | | Mesp (9) ^a | | | | | |
| | Secundário | N _{trans} | j ₁ | j ₂ | RMSEP | r ² _{pred} | Erro | N _{trans} | j ₁ | j ₂ | RMSEP | r ² _{pred} | Erro | N _{trans} | j ₁ | j ₂ | RMSEP | r ² _{pred} |
| 43 MHz ^S | 4 | 41 | - | 0,93 | 0,934 | 6,24 | 6 | 41 | - | 5,08 | 0,872 | 6,35 | 7 | 29 | - | 1,03 | 0,993 | 2,04 |
| 60 MHz ^S | 2 | 5 | - | 1,07 | 0,913 | 7,39 | 7 | 31 | - | 5,29 | 0,861 | 7,10 | 8 | 3 | - | 1,21 | 0,992 | 2,46 |
| 80 MHz ^S | 5 | 81 | - | 1,10 | 0,909 | 7,36 | 6 | 37 | - | 5,77 | 0,839 | 7,62 | 5 | 5 | - | 1,33 | 0,988 | 2,64 |
| PLS / DWPDS | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Dispositivo | T50% (7) ^a | | | | | | PFE (9) ^a | | | | | | Mesp (9) ^a | | | | | |
| | Secundário | N _{trans} | j ₁ | j ₂ | RMSEP | r ² _{pred} | Erro | N _{trans} | j ₁ | j ₂ | RMSEP | r ² _{pred} | Erro | N _{trans} | j ₁ | j ₂ | RMSEP | r ² _{pred} |
| 43 MHz ^S | 3 | 51 | 3 | 1,08 | 0,917 | 7,47 | 7 | 47 | 13 | 5,06 | 0,879 | 6,43 | 5 | 43 | 85 | 1,16 | 0,991 | 2,38 |
| 60 MHz ^S | 2 | 5 | 3 | 1,04 | 0,914 | 7,31 | 2 | 5 | 3 | 4,92 | 0,877 | 6,47 | 2 | 57 | 17 | 1,25 | 0,991 | 2,55 |
| 80 MHz ^S | 4 | 5 | 5 | 1,15 | 0,899 | 7,39 | 5 | 37 | 101 | 5,46 | 0,848 | 6,42 | 3 | 71 | 85 | 1,23 | 0,990 | 2,49 |

*Melhor combinação de importância atribuída as respostas (11 para RMSEP; 1 para r²_{pred}; 21 para N_{trans}). ^aVL - Número de variáveis latentes. N_{trans} - Número de amostras de transferência. j₁ - Tamanho móvel da janela um. j₂ - Tamanho móvel da janela dois. RMSEP - Erro Quadrático Médio de Predição. r²_{pred} - Coeficiente de Correlação para a Predição. Erro - Porcentagem do erro relativo médio de previsão sobre o valor da faixa do parâmetro. T50% e PFE são expressos em °C e Mesp expressa em kg/m³ à 20 °C.

Figura 34 – (a) Espectro de uma mesma amostra adquiridos em espectrômetros de diferentes campos magnéticos. **(b)** região ampliada do espectro após a aplicação do método de padronização DWPDS com resultados otimizados mostrados na Tabela 12 para a massa específica.



Como pode ser visto na Figura 34, a aplicação do método de padronização DWPDS, com menos de 7 amostras de transferência usadas, permite alcançar espectros bastante similares ao instrumento primário quando as amostras foram adquiridas no secundário. É a razão pela qual esta transferência de calibração pode atingir valores RMSEP razoáveis com uma pequena quantidade de amostras de transferência.

4.5. CONCLUSÃO

Foi demonstrado que todas as técnicas de transferência aqui estudadas podem ser utilizadas em conjuntos de dados espectrais de RMN de média resolução. Todos os métodos apresentaram uma diminuição significativa nos valores dos erros de predição quando comparados aos modelos PLS sem a padronização. Entre os métodos avaliados o DWPDS necessitou menor número de amostras de transferência, e conseqüentemente menores valores de erros quando comparados ao DS e PDS.

Os métodos de padronização avaliados permitiram concluir que é possível fazer a transferência entre dispositivos de RNM similares com a mesma ou diferente intensidades de campo magnéticos de forma satisfatória. Abrindo a possibilidade para estudos na padronização de espectros de RMN de média resolução.

O uso do algoritmo PSO foi uma ferramenta de suma importância para determinação das melhores condições para cada método avaliado. Uma vez que testar todas as possíveis possibilidades uma a uma consumiria grande quantidade de tempo e trabalho, visto a quantidade de variáveis avaliadas.

REFERÊNCIAS

ABBASZAADEH, A.; GHOBADIAN, B.; OMIDKHAH, M. R.; NAJAFI, G. Current biodiesel production technologies: A comparative review. **Energy Conversion and Management**, v. 63, p. 138–148, 2012.

AGUIAR, L. M. **Aplicação de técnicas espectroscópicas de baixo custo LF NMR e NIR no monitoramento da qualidade de combustíveis de transporte**. 2017. 72f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ALAM, T. M.; ALAM, M. K.; MCINTYRE, S. K.; VOLK, D. E.; NEERATHILINGAM, M.; LUXON, B. A. Investigation of Chemometric Instrumental Transfer Methods for High-Resolution NMR. **Analytical Chemistry**, 2009, 81, 4433–4443.

ANDERSON, L. A.; FRANZ, A. K. Real-Time Monitoring of Transesterification by ¹H NMR Spectroscopy: Catalyst Comparison and Improved Calculation for Biodiesel Conversion. **Energy Fuels**, v. 26, p. 6404–6410, 2012.

ANGILELLI, K. G. **Difusão multicomponente no processo de desidratação osmótica de pedações de melão: Influência do coeficiente de película**. 2012. 48f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

ANGILELLI, K. G.; ORIVES, J. R.; SILVA, H. C.; COPPO, R. L.; MOREIRA I.; BORSATO, D. Multicomponent Diffusion during Osmotic Dehydration Process in Melon Pieces: Influence of Film Coefficient. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, p. 329-337, 2015.

ANP, Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – Gasolina. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/wwwanp/petroleo-derivados/155-combustiveis/1855-gasolina>. Acesso em 20 de jul. 2017.

ARAUJO, T. A.; BARBOSA, A. M. J.; VIANA, L. H.; FERREIRA, V. S. Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples. **Fuel**, v. 90, p. 707-712, 2011.

BAMBASE, M. E.; NAKAMURA, N.; TANAKA, J.; MATSUMURA, M. Kinetics of hydroxide-catalyzed methanolysis of crude sunflower oil for the production of fuel-grade methyl esters. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 82, p. 273–280, 2007.

BERGO, M. C. J. **Transferência de calibração na discriminação de mogno e espécies semelhantes utilizando NIRS e PLS-DA**. 133f. 2014. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

BEZERRA, M. A.; DOS SANTOS, Q. O.; SANTOS, A. G.; NOVAES, C. G.; FERREIRA, S. L. C.; DE SOUZA, V. S. Simplex optimization: A tutorial approach and recent applications in analytical chemistry. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 45–54, 2016.

BONA, E.; BORSATO, D.; SILVA, R. S. S. F.; HERRERA, R. P. Software for optimization using a sequential simplex method. **Acta Scientiarum**, v. 22, p. 1201–1206, 2000.

- BONA, E.; SILVA, R. S. S. F.; BORSATO, D.; SILVA, L. H. M.; FIDELIS, D. A. S. Multicomponent diffusion modeling and simulation in Prato cheese salting during brine at rest: The finite element method approach. **Journal of Food Engineering**, v. 79, p. 771–778, 2007.
- BORSATO, D.; MOREIRA, M. B.; MOREIRA, I.; PINA, M. V. R.; SILVA, R. S. S. F.; BONA, E. Saline distribution during multicomponent salting in pre-cooked quail eggs. **Food Science and Technology, Campinas**, v. 32, p. 281–288, 2012.
- BORDIN, M. S. P.; BORSATO, D.; CREMASCO, H.; GALVAN, D.; SILVA, L. R. C.; ROMAGNOLI, E. S.; ANGILELLI, K. G. Mathematical modeling of multicomponent NaCl and KCl diffusion process during the salting of pre-cooked champignon mushrooms. **Food Chemistry**, v. 273, p. 99–105, 2019.
- BRERETON, R. G. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. **Analyst**, v. 125, p. 2125–2154, 2000.
- BUOSI, G. M.; SILVA, E. T.; SPACINO, K.; SILVA, L. R. C.; FERREIRA, B. A. D.; BORSATO, D. Oxidative stability of biodiesel from soybean oil: Comparison between synthetic and natural antioxidants. **Fuel**, v. 181, p. 759–764, 2016.
- CHOI, W.; LEE, S. H.; KIM, C. T.; JUN, S. A finite element method based flow and heat transfer model of continuous flow microwave and ohmic combination heating for particulate foods. **Journal of Food Engineering**, v. 149, p. 159–170, 2015.
- DABDOUB, M. J.; BRONZEL, J. L.; RAMPIN, M. A. Biodiesel: a critical overview on the current status and perspectives at the academy and industry. **Química Nova**, v. 32, p. 776–792, 2009.
- 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.
- DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, p. 214–219, 1980.
- DICKINSON, E. J. F.; EKSTRÖM, H.; FONTES, E. COMSOL Multiphysics®: Finite element software for electrochemical analysis. A mini-review. **Electrochemistry Communications**, v. 40, p. 71–74, 2014.
- FERRARI, C. C.; HUBINGER, M. D. Evaluation of the mechanical properties and diffusion coefficients of osmodehydrated melon cubes. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43, p. 2065–2074, 2008.
- FERRARI, R. A.; SOUZA, W. L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**, v.32, p. 106–111, 2009.
- FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria - Conceitos, Métodos e Aplicações**, Editora: Unicamp, Campinas, 2015.
- FEUDALE, R. N.; WOODY, N. A.; TAN, H.; MYLES, A. J.; BROWN, S. D.; FERRE J. Transfer of multivariate calibration models: a review. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 64, p. 181–192, 2002.
- FLUMIGNAN, D. L.; SEQUINEL, R.; HATANAKA, R. R.; BORALLE, N.; OLIVEIRA, J. E. Multivariate calibrations on ¹H NMR profiles for prediction of physicochemical parameters of Brazilian commercial gasoline. **Fuel**, v. 99, p. 180–187, 2012.

FREEDMAN, B.; BUTTERFIELD, R. O.; PRYDE, E. H. Transesterification Kinetics of Soybean Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 63, p. 1375–1380, 1986.

GALANTE, R. M. **Modelagem e simulação de um reator tubular contínuo para a produção de biodiesel**. 2012. 146 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2012.

GALVAN, D.; CHENDYNSKI, L. T.; MANTOVANI, A. C. G.; QUADRI, M. B.; KILLNER, M.; CREMASCO, H.; BOSATO, D. Mathematical modeling of the transesterification reaction by finite elements: Optimization of kinetic parameters using the simplex sequential method. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2019. No prelo.

GALVAN, D.; ORIVES, J. R.; COPPO, R. L.; SILVA, E. T.; ANGILELLI, K. G.; BORSATO, D. Determination of the kinetics and thermodynamics parameters of biodiesel oxidation reaction obtained from an optimized mixture of vegetable oil and animal fat. **Energy & Fuels**, v. 27, p. 6866–6871, 2013.

GAMMA – rotinas para análise multivariada, desenvolvido por Evandro Bona – Versão: 25/03/2017.

GANESAN, D.; RAJENDRAN, A.; THANGAVELU, V. An overview on the recent advances in the transesterification of vegetable oils for biodiesel production using chemical and biocatalysts. **Reviews in Environmental Science Biotechnology**, v. 8, p. 367–394, 2009.

GIL, V. M. S.; GERALDES, C. F. G. C. **Ressonância magnética nuclear: Fundamentos, métodos e aplicações**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002.

GISLASON, J.; CHAN, H.; SARDASHTI, M. Calibration Transfer of Chemometric Models Based on Process Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v. 55, p. 1553–1560, 2001.

GOLDEMBERG, J.; LUCON, O. Energias renováveis: um futuro sustentável. **Revista USP**, v. 72, p. 6–15, 2007.

HAN, W.; CHAROENWAT, R.; DENNIS, B. H. Numerical investigation of biodiesel production in capillary microreactor. In: Proceedings of the ASME 2011 International Design Engineering Technical Conferences & Computers and Information in Engineering Conference - IDETC/CIE 2011, 31st., 2011, Washington, DC, USA. **Anais...** Washington, 2011. p. 253-258.

HARRINGTON, E. C. The Desirability Function. **Industrial Quality Control**, v. 21, p. 494–498, 1965.

HONORATO, F. A.; NETO, B. B.; MARTINS, M. N.; GALVAO, R. K. H.; PIMENTEL, M. F. Transferência de Calibração em Métodos Multivariados. **Química Nova**, v. 30, p. 1301–1312, 2007.

JIN, F.; KAWASAKI, K.; KISHIDA, H.; TOHJI, K.; MORIYA, T.; ENOMOTO, H. NMR spectroscopic study on methanolysis reaction of vegetable oil. **Fuel**, v. 86, p. 1201–1207, 2007.

- KENNARD, R. W.; STONE, L. A. Computer aided design of experiments. **Technometrics**, v. 11, p. 137–148, 1969.
- KENNEDY, J.; EBERHART, R. **Particle Swarm Optimization**. Proceedings of the IEEE International Conference on Neural Networks. Perth, Australia, p. 1942–1945, 1995.
- KILLNER, M. H. M.; DANIELI, E.; CASANOVA, F.; ROHWEDDER, J. J. R.; BLÜMICH, B. Mobile compact ^1H NMR spectrometer promises fast quality control of diesel fuel. **Fuel**, v. 203, p. 171–178, 2017.
- KILLNER, M. H. M.; LINCK, Y. G.; DANIELI, E.; ROHWEDDER, J. J. R.; BLÜMICH, B. Compact NMR spectroscopy for real-time monitoring of a biodiesel production. **Fuel**, v. 139, p. 240–247, 2015.
- KILLNER, M. H. M.; ROHWEDDER, J. J. R.; PASQUINI, C. A PLS regression model using NIR spectroscopy for on-line monitoring of the biodiesel production reaction. **Fuel**, v. 90, p. 3268–3273, 2011.
- LIMA, D. R. **Produção de ésteres etílicos (biodiesel) a partir da transesterificação básica de óleo residual**. 2008. 165 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade de Campinas. Campinas, 2008.
- LIMA, K. P. **Criação e atualização de modelos de calibração multivariada para determinação de carbono orgânico no solo por espectroscopia NIR**. 39f. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.
- LIMA, S. M.; SILVA, B. F. A.; PONTES, D. V.; PEREIRA, C. F.; STRAGEVITCH, L.; PIMENTEL, M. F. In-line monitoring of the transesterification reactions for biodiesel production using NIR spectroscopy. **Fuel**, v. 115, p. 46–53, 2014.
- LINCK, Y. G.; KILLNER, M. H. M.; DANIELI, E.; BLUMICH, B. Mobile Low-Field ^1H NMR Spectroscopy Desktop Analysis of Biodiesel Production. **Applied Magnetic Resonance**, v. 44, p. 41–53, 2013.
- MARINI, F.; WALCZAK, B. Particle swarm optimization (PSO). A tutorial. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 149, p. 153–165, 2015.
- MARTINS, M. N. **Transferência de Calibração de Instrumentos Para Análise Espectrométrica Empregando Seleção de Variáveis, Reamostragem e Combinação de Modelos**. 112f. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências de Engenharia Eletrônica e Computação) – Instituto Tecnológico de Aeronáutica, São José dos Campos, 2006.
- MARTINS, M. N.; GALVÃO, R. K. H.; PIMENTEL, M. F. Multivariate Calibration Transfer Employing Variable Selection and Subbagging. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v. 21, p. 127–134, 2010.
- MEZURA-MONTES, E.; COELLO, C. A. Constraint-handling in nature-inspired numerical optimization: Past, present and future. **Swarm and Evolutionary Computation**, v. 4, p. 173–194, 2011.
- MONAKHOVA, Y. B.; DIEHL, B. W. K. Transfer of multivariate regression models between high-resolution NMR instruments: application to authenticity control of sunflower lecithin. **Magnetic Resonance Chemistry**, v. 54, p. 712–717, 2016.

- NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Ed. da UNICAMP, 1996.
- NIEVA–ECHEVARRÍA, B.; GOICOECHEA, E.; MANZANOS, M. J.; GUILLÉN, M. D. A method based on ^1H NMR spectral data useful to evaluate the hydrolysis level in complex lipid mixtures. **Food Research International**, v. 66, p. 379–387, 2014.
- NELDER J. A.; MEAD, D. R. A simplex method for function minimization. **The Computer Journal**, v.7, p. 308–313, 1965.
- NOUREDDINI, H.; ZHU, D. Kinetics of Transesterification of Soybean Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 74, p. 1457–1463, 1997.
- NOVAES, C. G.; YAMAKI, R. T.; PAULA, V. F.; NASCIMENTO JÚNIOR, B. B.; BARRETO, J. A.; VALASQUES, G. S.; BEZERRA, M. A. Otimização de Métodos Analíticos Usando Metodologia de Superfícies De Resposta - Parte I: Variáveis de Processo. **Revista Virtual de Química**, v.9, p. 1184–1215, 2017.
- OLIVEIRA, F. C.; COELHO, S. T. History, evolution, and environmental impact of biodiesel in Brazil: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 75, p. 168–179, 2017.
- OKULLO, A. A.; TEMU, A. K. Modelling the Kinetics of Jatropha Oil Transesterification. **Energy and Power Engineering**, v. 7, p. 135–143, 2015.
- PAPONG, S.; CHOM-IN, T.; NOKSA-NGA, S.; MALAKUL, P. Life cycle energy efficiency and potentials of biodiesel production from palm oil in Thailand. **Energy Policy**, v. 38, p. 226–233, 2010.
- PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, p. 198–219, 2003.
- PAVIA, D. L.; LAMPMA, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução a Espectroscopia**, São Paulo, Cengage Learning, 2010.
- PEDERSEN, M. E. **Good Parameters for Particle Swarm Optimization**. Luxembourg: Hvas Laboratories, 2010.
- PEREIRA, L. S. A. **Transferência de calibração de misturas de pós para comprimidos intactos: um novo uso em análise farmacêutica para uma ferramenta quimiométrica conhecida**. 51 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.
- PIMENTA, C. D.; SILVA, M. B.; SALOMON, V. A. P.; PENTEADO, R. B.; GOMES, F. M. Aplicação das metodologias Desirability e Simplex para otimização das propriedades mecânicas em arames de aço temperados. **Production**, v. 25, p. 598–610, 2015.
- PINTO, V. S.; GAMBARRA-NETO, F. F.; FLORES, I. S.; MONTEIRO, M. R.; LIÃO, L. M. Use of ^1H NMR and chemometrics to detect additives present in the Brazilian commercial gasoline. **Fuel**, v. 182, p. 27–33, 2016.
- QIAN, W.; WU, J.; YANG, L.; LIN, X.; CHEN, Y.; CHEN, X.; XIONG, J.; BAI, J.; YING, H. Computational simulations of breakthrough curves in cAMP adsorption processes in ion-exchange bed under hydrodynamic flow. **Chemical Engineering Journal**, v. 197, p. 424–434, 2012.

- RIZZI, M.; FURTADO, J. C.; COSTA, A. B.; GERBASE, A. E.; FERRÃO, M. F. Método do enxame de partículas para otimização de modelos de regressão multivariada empregados na determinação de biodiesel em blendas biodiesel/óleo vegetal/diesel. **Revista Virtual de Química**, v. 8, p. 1877–1892, 2016.
- SAJJADI, B.; AZIZ, A. R. A.; BAROUTIAN, S.; IBRAHIM, S. Investigation of convection and diffusion during biodiesel production in packed membrane reactor using 3D simulation. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, p. 1493–1504, 2014a.
- SAJJADI, B.; RAMAN, A. A. A.; BAROUTIAN, S.; IBRAHIM, S.; SHAH, R. S. S. R. E. 3D Simulation of fatty acid methyl ester production in a packed membrane reactor. **Fuel Processing Technology**, v. 118, p. 7–19, 2014b.
- SILVA, N. L.; RIVERA, E. C.; BATISTELLA, C. B.; LIMA, D. R.; FILHO, R. M.; MACIEL, M. R. W. Biodiesel production from vegetable oils: Operational strategies for large scale systems. **Computer Aided Chemical Engineering**, v. 25, p. 1101–1106, 2008.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, 6 ed. New York: Editora J.C., 2000.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5 ed. Bookman, Porto Alegre, 2002.
- SPENDLEY, W.; HIMSWORTH, F. R.; HEXT, G. R. Sequential application of simplex designs in optimization and evolutionary operation. **Technometrics**, v. 4, p. 441–461, 1962.
- STAMENKOVIC, O. S.; TODOROVIC, Z. B.; LAZIC, M. L.; VELJKOVIC, V. B.; SKALA, D. U. Kinetics of sunflower oil methanolysis at low temperatures. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1131–1140, 2008.
- VICENTE, G.; MARTÍNEZ, M.; ARACIL, J. Kinetics of *Brassica carinata* Oil Methanolysis. **Energy & Fuels**, v. 20, p. 1722–1726, 2006.
- VICENTE, G.; MARTÍNEZ, M.; ARACIL, J.; ESTEBAN, E. Kinetics of Sunflower Oil Methanolysis. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 44, p. 5447–5454, 2005.
- WANG, Y.; LYSAGHT, M. J.; KOWALSKI, B. R. Improvement of multivariate calibration through instrument standardization. **Analytical Chemistry**, v. 64, p. 562–564, 1992.
- WANG, Y.; VELTKAMP, D. J.; KOWALSKI, B. R. Multivariate instrument standardization. **Analytical Chemistry**, v. 63, p. 2750–2756, 1991.
- WANG, Z. Y.; DEAN, T.; KOWALSKI, B. R. Additive background correction in multivariate instrument standardization. **Analytical Chemistry**, v. 67, p. 2379–2385, 1995.
- WANG, Z.; ISAKSSON, T.; KOWALSKI, B. R. New Approach for Distance Measurement in Locally Weighted Regression. **Analytical Chemistry**, v. 66, p. 249–260, 1994.
- WESTAD, F.; MARINI, F. Validation of chemometric models – A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 17, p. 14–24, 2015.

WISE, B. M.; GALLAGHER, N. B.; BRO, R.; SHAVER, J. M.; WINDIG, W.; KOCH, R.S. **Chemometrics Tutorial for PLS_Toolbox and Solo**. Eigenvector Research, Inc.: Wenatchee, WA, 2006.

WOLD, S.; SJOSTROM, M.; ERIKSSON, L. PLS-regression: A basic tool of chemometrics. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 58, p. 109–130, 2001.

WONG, J. H.; SUAREZ, V.; GUARACHI, J.; CALDERÓN, A.; ROJAS-TRIGOS, J. B.; JUÁREZ, A. G.; MARÍN, E. Heat transfer monitoring by means of the hot wire technique and finite element analysis software. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 83, p. 264–267, 2014.

ANEXOS

ANEXO A

Conversão molar dos compostos presentes na reação de transesterificação obtidos segundo as equações propostas fundamentadas em dados espectrais de ^1H RMN-AC empregando 0,50% de NaOH.

| % cat. m/m | Tempo (min) | Conversão molar (%) ^a | | | | | | | |
|---------------|----------------|----------------------------------|--------|--------|----------|-------|-------|----------|--------|
| | | TG | 1,3-DG | 1,2-DG | DG total | 1-MG | 2-MG | MG total | FAME |
| 0,50 | 3 | 98,503 | 0,458 | 0,380 | 0,838 | 0,465 | 0,148 | 0,613 | 0,047 |
| | 7 | 97,893 | 0,834 | 0,447 | 1,281 | 0,708 | 0,000 | 0,708 | 0,118 |
| | 10 | 97,979 | 0,417 | 0,467 | 0,883 | 0,926 | 0,076 | 1,002 | 0,135 |
| | 14 | 97,780 | 0,607 | 0,643 | 1,250 | 0,809 | 0,000 | 0,809 | 0,162 |
| | 18 | 93,997 | 2,556 | 1,041 | 3,598 | 0,742 | 0,180 | 0,922 | 1,483 |
| | 22 | 77,700 | 6,400 | 2,350 | 8,750 | 2,270 | 0,160 | 2,430 | 10,850 |
| | 26 | 60,788 | 10,427 | 3,774 | 14,201 | 3,737 | 0,185 | 3,922 | 21,088 |
| | 30 | 45,987 | 10,533 | 3,700 | 14,233 | 4,483 | 0,377 | 4,860 | 34,933 |
| | 34 | 31,281 | 10,607 | 3,645 | 14,252 | 5,216 | 0,571 | 5,786 | 48,681 |
| | 38 | 26,967 | 9,390 | 3,367 | 12,757 | 5,367 | 0,497 | 5,863 | 54,433 |
| | 42 | 22,313 | 8,242 | 3,114 | 11,356 | 5,547 | 0,433 | 5,981 | 60,351 |
| | 46 | 20,417 | 7,633 | 2,767 | 10,400 | 5,633 | 0,327 | 5,960 | 63,333 |
| | 50 | 18,416 | 6,988 | 2,426 | 9,414 | 5,746 | 0,227 | 5,973 | 66,197 |
| | 54 | 17,333 | 6,800 | 2,370 | 9,170 | 5,233 | 0,283 | 5,517 | 68,033 |
| | 58 | 16,200 | 6,603 | 2,317 | 8,920 | 4,700 | 0,363 | 5,063 | 69,733 |
| | 62 | 15,165 | 6,411 | 2,273 | 8,684 | 4,257 | 0,427 | 4,684 | 71,467 |

^aValor médio da triplicata das reações.

Conversão molar dos compostos presentes na reação de transesterificação obtidos segundo as equações propostas fundamentadas em dados espectrais de ^1H RMN-AC empregando 0,75% de NaOH.

| % cat. m/m | Tempo (min) | Conversão molar (%) ^a | | | | | | | |
|------------|-------------|----------------------------------|--------|--------|----------|-------|-------|----------|--------|
| | | TG | 1,3-DG | 1,2-DG | DG total | 1-MG | 2-MG | MG total | FAME |
| 0,75 | 3 | 98,122 | 0,782 | 0,341 | 1,122 | 0,679 | 0,001 | 0,680 | 0,076 |
| | 7 | 94,765 | 2,298 | 0,767 | 3,065 | 0,720 | 0,028 | 0,748 | 1,422 |
| | 10 | 83,399 | 6,552 | 2,316 | 8,868 | 1,437 | 0,093 | 1,530 | 6,203 |
| | 14 | 53,010 | 11,228 | 4,226 | 15,454 | 5,201 | 0,496 | 5,698 | 25,838 |
| | 18 | 26,381 | 9,588 | 3,372 | 12,960 | 7,705 | 0,537 | 8,242 | 52,417 |
| | 22 | 20,100 | 7,820 | 2,583 | 10,403 | 6,693 | 0,523 | 7,217 | 62,400 |
| | 26 | 13,745 | 6,151 | 1,808 | 7,959 | 5,698 | 0,516 | 6,215 | 72,082 |
| | 30 | 12,167 | 5,597 | 1,520 | 7,117 | 5,353 | 0,470 | 5,823 | 74,933 |
| | 34 | 10,673 | 4,925 | 1,229 | 6,154 | 4,967 | 0,436 | 5,403 | 77,770 |
| | 38 | 9,800 | 4,553 | 1,190 | 5,743 | 4,637 | 0,439 | 5,075 | 79,290 |
| | 42 | 8,909 | 4,213 | 1,155 | 5,368 | 4,336 | 0,445 | 4,781 | 80,941 |
| | 46 | 8,417 | 3,950 | 1,103 | 5,053 | 4,053 | 0,367 | 4,420 | 81,967 |
| | 50 | 8,008 | 3,696 | 1,054 | 4,751 | 3,787 | 0,287 | 4,075 | 83,167 |
| | 54 | 7,683 | 3,533 | 0,903 | 4,437 | 3,723 | 0,230 | 3,953 | 83,927 |
| | 58 | 7,333 | 3,370 | 0,748 | 4,118 | 3,680 | 0,167 | 3,847 | 84,667 |
| | 62 | 6,999 | 3,221 | 0,604 | 3,825 | 3,632 | 0,110 | 3,742 | 85,434 |

^aValor médio da triplicata das reações.

ANEXO B

Concentrações molar dos glicerídeos, metanol, glicerol e FAME para diferentes tempos de reação, com 0,50 de NaOH a 20°C.

| Tempo (s) | Concentrações molar ^a | | | | | |
|-----------|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | [TG] | [DG] | [MG] | [GL] | [FAME] | [MeOH] |
| 0 | 1,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 6,0000 |
| 3 | 0,9850 | 0,0084 | 0,0061 | 0,0005 | 0,0014 | 5,9780 |
| 7 | 0,9789 | 0,0128 | 0,0071 | 0,0012 | 0,0035 | 5,9695 |
| 10 | 0,9798 | 0,0100 | 0,0088 | 0,0014 | 0,0041 | 5,9671 |
| 14 | 0,9778 | 0,0125 | 0,0081 | 0,0016 | 0,0049 | 5,9665 |
| 18 | 0,9400 | 0,0360 | 0,0092 | 0,0148 | 0,0445 | 5,9011 |
| 22 | 0,7770 | 0,0875 | 0,0243 | 0,1112 | 0,3255 | 5,5303 |
| 26 | 0,6079 | 0,1420 | 0,0392 | 0,2109 | 0,6327 | 5,1469 |
| 30 | 0,4599 | 0,1423 | 0,0486 | 0,3492 | 1,0480 | 4,7129 |
| 34 | 0,3128 | 0,1425 | 0,0579 | 0,4868 | 1,4604 | 4,2813 |
| 38 | 0,2697 | 0,1276 | 0,0586 | 0,5441 | 1,6330 | 4,1228 |
| 42 | 0,2231 | 0,1136 | 0,0598 | 0,6035 | 1,8105 | 3,9563 |
| 46 | 0,2042 | 0,1040 | 0,0596 | 0,6322 | 1,9000 | 3,8801 |
| 50 | 0,1842 | 0,0941 | 0,0597 | 0,6620 | 1,9859 | 3,8005 |
| 54 | 0,1733 | 0,0917 | 0,0552 | 0,6798 | 2,0410 | 3,7586 |
| 58 | 0,1620 | 0,0892 | 0,0506 | 0,6982 | 2,0920 | 3,7150 |
| 62 | 0,1516 | 0,0868 | 0,0468 | 0,7147 | 2,1440 | 3,6755 |

^aValor médio da triplicata das reações.

Concentrações molar dos glicerídeos, metanol, glicerol e FAME para diferentes tempos de reação, com 0,75% de NaOH a 20°C.

| Tempo (s) | Concentrações molar ^a | | | | | |
|-----------|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | [TG] | [DG] | [MG] | [GL] | [FAME] | [MeOH] |
| 0 | 1,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 6,0000 |
| 3 | 0,9812 | 0,0112 | 0,0068 | 0,0008 | 0,0023 | 5,9729 |
| 7 | 0,9477 | 0,0306 | 0,0075 | 0,0142 | 0,0427 | 5,9117 |
| 10 | 0,8340 | 0,0887 | 0,0153 | 0,0620 | 0,1861 | 5,6946 |
| 14 | 0,4935 | 0,1521 | 0,0605 | 0,2939 | 0,8816 | 4,8452 |
| 18 | 0,2638 | 0,1296 | 0,0824 | 0,5242 | 1,5725 | 4,1330 |
| 22 | 0,2010 | 0,1040 | 0,0722 | 0,6228 | 1,8720 | 3,8832 |
| 26 | 0,1375 | 0,0796 | 0,0621 | 0,7208 | 2,1625 | 3,6337 |
| 30 | 0,1217 | 0,0712 | 0,0582 | 0,7489 | 2,2480 | 3,5656 |
| 34 | 0,1067 | 0,0615 | 0,0540 | 0,7777 | 2,3331 | 3,4973 |
| 38 | 0,0980 | 0,0574 | 0,0508 | 0,7938 | 2,3787 | 3,4596 |
| 42 | 0,0891 | 0,0537 | 0,0478 | 0,8094 | 2,4282 | 3,4225 |
| 46 | 0,0842 | 0,0505 | 0,0442 | 0,8211 | 2,4590 | 3,3978 |
| 50 | 0,0801 | 0,0475 | 0,0407 | 0,8317 | 2,4950 | 3,3760 |
| 54 | 0,0768 | 0,0444 | 0,0395 | 0,8393 | 2,5178 | 3,3588 |
| 58 | 0,0733 | 0,0412 | 0,0385 | 0,8470 | 2,5400 | 3,3408 |
| 62 | 0,0700 | 0,0382 | 0,0374 | 0,8543 | 2,5630 | 3,3239 |

^aValor médio da triplicata das reações.

ANEXO C

Resultados obtidos para a transferência de calibração dos modelos PLS desenvolvidos no dispositivo primário para os secundários pelas técnicas DS, PDS e DWPDS utilizando o algoritmo PSO atribuindo diferentes pesos / importância a cada respostas avaliadas (RMSEP, r^2_{pred} e N_{trans}).

| PLS / DS | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------------------------|-----------------------|-------|-------|-------|--------------|----------------------|-------|-------|-------|--------------|-----------------------|-------|-------|-------|--------------|
| Pesos ^b RMSEP: r^2 : N_{trans} | Dispositivo Secundário | T50% (7) ^a | | | | | PFE (9) ^a | | | | | Mesp (9) ^a | | | | |
| | | N_{trans} | j_1 | j_2 | RMSEP | r^2_{pred} | N_{trans} | j_1 | j_2 | RMSEP | r^2_{pred} | N_{trans} | j_1 | j_2 | RMSEP | r^2_{pred} |
| 11:1:11 | 43 MHz ^S | 7 | - | - | 1,14 | 0,912 | 7 | - | - | 5,56 | 0,844 | 5 | - | - | 1,76 | 0,981 |
| 21:1:21 | | 7 | - | - | 1,14 | 0,912 | 7 | - | - | 5,56 | 0,844 | 5 | - | - | 1,76 | 0,981 |
| 11:1:11 | 60MHz ^S | 7 | - | - | 1,19 | 0,897 | 7 | - | - | 5,68 | 0,837 | 5 | - | - | 1,78 | 0,981 |
| 21:1:21 | | 7 | - | - | 1,19 | 0,897 | 7 | - | - | 5,68 | 0,837 | 5 | - | - | 1,78 | 0,981 |
| 11:1:11 | 80MHz ^S | 4 | - | - | 1,33 | 0,876 | 9 | - | - | 5,86 | 0,827 | 5 | - | - | 1,76 | 0,981 |
| 21:1:21 | | 4 | - | - | 1,33 | 0,876 | 9 | - | - | 5,86 | 0,827 | 5 | - | - | 1,76 | 0,981 |

| PLS / PDS | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------------------------|-----------------------|-------|-------|-------|--------------|----------------------|-------|-------|-------|--------------|-----------------------|-------|-------|-------|--------------|
| Pesos ^b RMSEP: r^2 : N_{trans} | Dispositivo Secundário | T50% (7) ^a | | | | | PFE (9) ^a | | | | | Mesp (9) ^a | | | | |
| | | N_{trans} | j_1 | j_2 | RMSEP | r^2_{pred} | N_{trans} | j_1 | j_2 | RMSEP | r^2_{pred} | N_{trans} | j_1 | j_2 | RMSEP | r^2_{pred} |
| 11:1:11 | 43 MHz ^S | 4 | 35 | - | 0,96 | 0,933 | 6 | 41 | - | 5,08 | 0,872 | 7 | 29 | - | 1,03 | 0,993 |
| 21:1:21 | | 4 | 41 | - | 0,93 | 0,934 | 6 | 47 | - | 4,79 | 0,886 | 7 | 31 | - | 1,03 | 0,993 |
| 11:1:11 | 60MHz ^S | 4 | 75 | - | 1,05 | 0,918 | 8 | 5 | - | 5,04 | 0,879 | 8 | 3 | - | 1,21 | 0,992 |
| 21:1:21 | | 2 | 5 | - | 1,07 | 0,913 | 8 | 7 | - | 5,00 | 0,881 | 8 | 3 | - | 1,21 | 0,992 |
| 11:1:11 | 80MHz ^S | 5 | 79 | - | 1,10 | 0,908 | 7 | 39 | - | 5,80 | 0,829 | 5 | 5 | - | 1,33 | 0,988 |
| 21:1:21 | | 5 | 83 | - | 1,10 | 0,909 | 6 | 39 | - | 5,89 | 0,842 | 5 | 5 | - | 1,33 | 0,988 |

| PLS / DWPDS | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------------------------|-----------------------|-------|-------|-------|--------------|----------------------|-------|-------|-------|--------------|-----------------------|-------|-------|-------|--------------|
| Pesos ^b RMSEP: r^2 : N_{trans} | Dispositivo Secundário | T50% (7) ^a | | | | | PFE (9) ^a | | | | | Mesp (9) ^a | | | | |
| | | N_{trans} | j_1 | j_2 | RMSEP | r^2_{pred} | N_{trans} | j_1 | j_2 | RMSEP | r^2_{pred} | N_{trans} | j_1 | j_2 | RMSEP | r^2_{pred} |
| 11:1:11 | 43 MHz ^S | 4 | 35 | 3 | 1,04 | 0,919 | 7 | 55 | 3 | 4,83 | 0,896 | 7 | 33 | 3 | 1,06 | 0,993 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------|--------------------|---|----|----|------|-------|---|-----|----|------|-------|---|-----|----|------|-------|
| 21:1:21 | | 4 | 49 | 3 | 1,10 | 0,917 | 7 | 101 | 3 | 5,39 | 0,860 | 7 | 5 | 3 | 1,06 | 0,992 |
| 11:1:11 | 60MHz ^S | 2 | 5 | 27 | 1,02 | 0,917 | 3 | 5 | 45 | 5,24 | 0,887 | 5 | 101 | 25 | 1,21 | 0,991 |
| 21:1:21 | | 2 | 15 | 15 | 1,03 | 0,918 | 2 | 5 | 3 | 4,92 | 0,877 | 2 | 67 | 3 | 1,28 | 0,989 |
| 11:1:11 | 80MHz ^S | 5 | 5 | 51 | 1,08 | 0,907 | 6 | 13 | 99 | 5,29 | 0,860 | 3 | 71 | 61 | 1,22 | 0,989 |
| 21:1:21 | | 5 | 5 | 69 | 1,08 | 0,908 | 6 | 31 | 17 | 5,15 | 0,874 | 6 | 83 | 55 | 1,16 | 0,990 |

^a VL - Número de variáveis latentes. ^b As combinações dos pesos / importância avaliadas para as respostas podem ser visualizadas na Tabela 8. N_{trans} - Número de amostras de transferência. j_1 - Tamanho móvel da janela um. j_2 - Tamanho móvel da janela dois. RMSEP - Erro Quadrático Médio de Predição. r^2_{pred} - Coeficiente de Correlação para a Predição. Erro - Porcentagem do erro relativo médio de previsão sobre o valor da faixa do parâmetro. T50% e PFE são expressos em °C e Mesp expressa em kg/m³ à 20 °C.