

---

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL  
UNIDADE DE DOURADOS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS NATURAIS**

**MONITORAMENTO *ON-LINE* E *IN SITU* DA REAÇÃO DE  
TRANSESTERIFICAÇÃO VIA ESPECTROSCOPIA DE  
FLUORESCÊNCIA**

Thaís Izida

**DOURADOS – MS  
FEVEREIRO/2014**

---

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL  
UNIDADE DE DOURADOS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS NATURAIS**

**MONITORAMENTO *ON-LINE* E *IN SITU* DA REAÇÃO DE  
TRANSESTERIFICAÇÃO VIA ESPECTROSCOPIA DE  
FLUORESCÊNCIA**

Acadêmica: Thaís Izida

Orientador: Prof. Dr. Sandro Marcio Lima

“Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Recursos Naturais, área de concentração em Recursos Naturais, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais.”

**DOURADOS – MS  
FEVEREIRO/2014**

Izida, Thais

Monitoramento *on line* e *in situ* da reação de transesterificação via espectroscopia de fluorescência/

Thais Izida. Dourados, MS: UEMS, 2014.

71 p.; 30 cm

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2014.

Orientador: Prof. Dr. Sandro Marcio Lima

1. Biodiesel 2. Reação de transesterificação 3. Espectroscopia de fluorescência. Título

“ Mais vale adquirir sabedoria do que ouro, mais vale ter entendimento do que prata. O inteligente procura saber mais, o insensato alimenta-se de tolices. ”

Provérbios, 16:16; 15:14

Dedico esse trabalho ao meu Senhor e Salvador Jesus Cristo,  
que me fez mais que vencedora!

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, ao Senhor Jesus Cristo, meu amado e adorado Senhor, que sempre esteve comigo, me fortalecendo e me guiando. Obrigada meu Deus pela vida de cada uma das pessoas que colaboraram para que esse trabalho fosse concluído, abençoe a vida de cada um.

Obrigada mãe e pai, Luzinete e Gerson, irmão, Fernando e tia Keiko, pela compreensão, pelo apoio, paciência, carinho, amor. Deus foi muito generoso comigo quando me deu uma família tão especial.

Obrigada aos meus colegas de turma, que todos possam seguir suas carreiras com muito sucesso. Aos professores do PGRN, excelentes profissionais, obrigada a todos.

Obrigada aos meus amigos de laboratório, Junior, Márcio, Fábio, Maryleide, Alex, Francylaine, Cristiane, Rafaella, Rogério, Cláudio, Ana Paula, Ana Kelly, Dinorah, Milleny e Warley, o Geof é o melhor ambiente de trabalho da UEMS por causa de todos vocês. E claro a minha amiga, e a melhor companheira de trabalho que eu já tive, Larissa, foram horas, dias e noites de muito trabalho e dedicação juntas. Sem esquecer dos agregados Thayne e Rafael, obrigada.

Obrigada ao Professor Dr. Luis Humberto da Cunha Andrade, pelas conversas, pela paciência, atenção, e por compartilhar comigo um pouco do seu amplo conhecimento. Obrigada ao meu orientador, professor Dr. Sandro Marcio Lima, foi uma honra ser sua orientanda, agradeço pela dedicação, amizade, conhecimento, compreensão e pela confiança. O GEOF não poderia ter melhores alicerces do que vocês.

Obrigada a Petrobrás pelo suporte financeiro.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

## Sumario

<b>Resumo</b> .....	viii
<b>Abstract</b> .....	ix
<b>Capítulo 1- Introdução</b> .....	1
1.1. Referências .....	3
<b>Capítulo 2- Fundamentação Teórica</b> .....	5
2.1. Biodiesel .....	5
2.2. Reação de Transesterificação .....	7
2.2.1. Tipo de Catalise .....	9
2.2.2. Razão Molar Álcool:Óleo .....	10
2.2.3. Pureza e Tipo de Reagentes .....	11
2.2.4. Temperatura e Tempo de Reação .....	11
2.2.5. Agitação .....	12
2.3. Cinética da Reação de Transesterificação .....	12
2.4. Espectroscopia de absorção no UV-Vis .....	14
2.5. Espectroscopia de fluorescência .....	16
2.6. Referências .....	20
<b>Capítulo 3- Materiais e Métodos</b> .....	25
3.1. Materiais .....	24
3.2. Síntese do Biodiesel .....	24
3.3. Espectroscopia de absorção o UV-Vis .....	25
3.4. Espectroscopia de fluorescência .....	26
<b>Capítulo 4- Análises Preliminares e Discussão</b> .....	29
4.1. Absorção UV-Vis e Fluorescência do Óleo de Soja, Biodiesel e Glicerol Total.....	29
4.2. Excitação em 360 nm .....	33
4.3. Excitação em 405 nm .....	35
4.4. Excitação em 445 nm .....	41
4.5. Excitação em 488 nm .....	42
4.6. Excitação em 532 nm e NaOH como Catalisador .....	43
4.7. Excitação em 532 nm e Metanol como Álcool.....	45
4.8. Referências .....	47

<b>Capítulo 5 - <i>On-line in situ</i> monitoring of the soybean oil and ethanol transesterification reaction by fluorescence spectroscopy.....</b>	<b>49</b>
<b>Capítulo 6 – Conclusões e Perspectivas Futuras.....</b>	<b>62</b>



## Resumo

Neste trabalho utilizamos a espectroscopia de fluorescência para monitorar a reação de transesterificação, que é atualmente o principal processo utilizado para produção de biodiesel, a fim de obter informações sobre o término e a eficiência na produção de éster da reação. Foram realizados vários monitoramentos com diferentes comprimentos de onda de excitação ( $\lambda_{exc}$ ), e também variando alguns parâmetros de reação como: tipo e quantidade de catalisador, e também o tipo de álcool. O objetivo foi avaliar a potencialidade da técnica e da metodologia estabelecida para monitorar *on-line* (em tempo real) e *in situ* (no local) o processo de produção mais empregado atualmente na indústria de biodiesel, para a validação e utilização na indústria no controle da produção do mesmo e também para contribuir com futuros estudos com biodiesel e de reações químicas de soluções em geral. Como principal resultado foi possível observar que, excitando a solução óleo de soja, etanol e KOH, durante a reação de transesterificação com  $\lambda_{exc} = 532$  nm, pudemos acompanhar a produção de glicerol total, subproduto da reação, que está diretamente relacionado com a produção de biodiesel. Esse estudo é de fundamental importância, pois propõe uma nova metodologia de caracterização do biodiesel que pode otimizar o processo de produção contribuindo também para reduzir custos no processo industrial, além de colaborar com futuras pesquisas com o biodiesel.

Palavras-chave: Biodiesel. Reação de Transesterificação. Espectroscopia de Fluorescência.

## Abstract

In this work, we used fluorescence spectroscopy to monitor the transesterification reaction, which is currently the main method used for biodiesel production, in order to obtain information about the steady-state time and efficiency in the ester production of the reaction. The reaction was monitored with different excitation wavelengths ( $\lambda_{exc}$ ), while also varying some reaction parameters such as: type of alcohol, catalyst and amount of catalyst. The aim of this study was to evaluate the potential of this technique and methodology established to monitor *on-line* (real time) and *in situ* (at the place) the most currently employed process in industry for biodiesel production. Besides, the goal still relies on the validation and use in industry to control of production, and also to contribute to future studies in biodiesel and chemical reactions of solutions in general. As a principal result, we observed that by exciting the solution soybean oil, ethanol and KOH, during the transesterification reaction at  $\lambda_{exc} = 532$  nm, it is possible to follow the yield of total glycerol, byproduct of the reaction that is directly related to the production of biodiesel. This study is of fundamental importance, because it proposes a new methodology for characterization of biodiesel that can optimize the production process, and also to help in reducing costs in the manufacturing process as well as to collaborate with future experiments into biodiesel.

Keywords: Biodiesel. Transesterification Reaction. Fluorescence Spectroscopy.

## CAPÍTULO 1

### Introdução

A diminuição de reservas petrolíferas, o aumento no preço do petróleo e a preocupação com os impactos ambientais causados pela utilização desse combustível são fatores que proporcionaram um avanço no desenvolvimento de fontes alternativas de energia. Nesse contexto, o biodiesel, que é um biocombustível renovável, economicamente viável, cuja matéria prima pode ser de origem vegetal ou animal, é um promissor substituto ao diesel mineral (KILLNER et al., 2011).

A determinação da qualidade do biodiesel é um aspecto de grande importância para o sucesso da sua comercialização. É necessário estabelecer adequadamente as características padrões dos compostos que formam sua mistura, bem como a análise do processo de produção do mesmo. A manutenção da oferta de um combustível de alta qualidade, que não apresente problemas operacionais, é um pré-requisito para a aceitação do biodiesel no mercado (KNOTHE et al., 2006).

Monitorar em tempo real a reação de transesterificação, que é industrialmente o processo mais empregado para produção de biodiesel, pode otimizar os parâmetros experimentais proporcionando melhores rendimentos e menores custos na produção de biodiesel. Os principais procedimentos analíticos utilizados para monitorar e quantificar a concentração dos compostos presentes na reação de transesterificação compreendem métodos cromatográficos e espectroscópicos (KILLNER et al., 2011). A cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (CG-FID) (FREEDMAN et al, 1986; DIASAKOU et al., 1998 ) e a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (DARNOKO et al., 2000; STAMENKOVIC et al., 2008; NOUREDDINI & ZHU, 1997), tem sido os métodos mais utilizados para monitorar a reação de transesterificação, pois apresentam alta precisão para quantificação de componentes minoritários. Entretanto, essas técnicas demandam um tempo significativamente alto de separação de componentes para análise e não são adaptáveis para o monitoramento *on-line* (em tempo real) e *in situ* (no local) da reação. Desta forma, as técnicas espectroscópicas aparentam ser mais apropriadas, pois são rápidas e adaptáveis para a reação de transesterificação, não necessitando de

coleta de alíquotas para análises posteriores, como mostram os trabalhos de Richard et al. (2013), Pinzi et al. (2012) e Lima et al. (2014), que utilizam a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) para monitorar a reação de transesterificação *on-line* e *in situ*. Há também trabalhos que usam outras técnicas para o monitoramento da reação, como ressonância magnética nuclear (NMR) (KLOFUTAR et al., 2010) e espectroscopia laser (BONI & SILVA, 2011). Alguns trabalhos analisam o comportamento de outros parâmetros como a viscosidade (ELLIS et al., 2008) e o pH (CLARK et al., 2013) durante a reação de transesterificação.

Esta dissertação teve como principal objetivo estudar a cinética da reação de transesterificação através da técnica de espectroscopia de fluorescência, a qual se mostrou ser uma técnica eficiente para caracterização de óleos e biodiesel (CHIMENEZ et al., 2012), de misturas diesel/biodiesel (SCHERER et al., 2011; CAIRES et al., 2014), óleo/diesel (TOMAZZONI et al., 2013), e para determinar quantidades de glicerol livre em biodiesel (LIMA et al., 2012). Métodos baseados na espectroscopia de fluorescência são promissores, pois combinam baixo custo, resultados rápidos e precisos e permitem medições *in situ* por sistemas portáteis (SCHERER et al., 2011).

O objetivo desse trabalho foi monitorar *on-line* e *in situ*, a reação de transesterificação, para a validação e utilização na indústria no controle da produção do mesmo e também para contribuir com futuros estudos com biodiesel e de reações químicas de soluções em geral.

A estrutura desta dissertação consiste em seis capítulos, de forma que: no Capítulo 2, denominado “Fundamentação Teórica”, foi feito um levantamento bibliográfico sobre os principais assuntos tratados na dissertação, como biodiesel, reação de transesterificação, cinética da reação de transesterificação, espectroscopia de absorção no UV-Vis e a espectroscopia de fluorescência. No Capítulo 3, “Materiais e Métodos”, estão descritos os materiais utilizados e as metodologias estabelecidas para análise dos compostos e para o monitoramento da reação de transesterificação. O Capítulo 4, cujo título é “Análises Preliminares e Discussão”, trata principalmente dos dados coletados em diferentes monitoramentos dos quais um deles é apresentado mais detalhadamente no Capítulo 5 na forma de artigo científico intitulado “*On-line in situ* of the soybean oil and ethanol transesterification reaction fluorescence spectroscopy”.

Por fim são apresentadas no Capítulo 6 dessa dissertação as considerações finais e perspectivas de trabalhos futuros nessa linha de pesquisa.

## 1.1.Referências

BONI, L.A.B.; SILVA, I.N.L. Monitoring the transesterification reaction with laser spectroscopy. **Fuel Processing Technology**, v. 92, p. 1001-1005, 2011.

CAIRES, A.R.L.; SCHERER, M.D.; SOUZA, J.E.; OLIVEIRA, S.L.; M'PEKO, J. The role of viscosity in the fluorescence behavior of the diesel/biodiesel blends. **Renewable Energy**, v. 63, p. 388-391, 2014.

CLARK, W.M.; MEDEIROS, N.J.; BOYD, D.J.; SNELL, J.R. Biodiesel transesterification kinetics monitored by pH measurement. **Bioresource Technology**, v.136, p. 771-774, 2013.

CHIMENEZ, T.A.; MAGALHÃES, K.F.; CAIRES, A.R.L.; OLIVEIRA, S.L. Fluorescence as an Analytical Tool for Assessing the Conversion of oil into biodiesel. **Journal of Fluorescence**, v. 22, p. 1177-1182, 2012.

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

DIASAKOU, M.; LOULOUDI, A.; PAPAYANNAKOS, N. Kinetics of the non-catalytic transesterification of soybean oil. **Fuel**, v. 77, p. 1297-1302, 1998.

ELLIS, N.; GUAN, F.; CHEN, T.; POON, C. Monitoring biodiesel production (transesterification) using in situ viscometer. **Chemical Engineering Journal**, v. 138, p. 200-206, 2008.

FREEDMAN, B.; BUTTERFIELD, R.; PRYDE, E. Transesterification kinetics of soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 63, p. 1375-1380, 1986.

KILLNER, M.H.M.; ROHWEDDER, J.J.R.; PASQUINI C. A PLS regression mode using NIR spectroscopy for on-line monitoring of the biodiesel production reaction. **Fuel**, v. 90, p. 3268-3273, 2011.

KNOTHE, G.; GERPEN, J.V.; KRAHL, J.; RAMOS, L.P. **Manual de Biodiesel**. 1ªed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 2006. 340p.

KLOFUTAR, B.; GOLOB, J.; LIKOZAR, B.; KLOFUTAR, C.; ZAGAR, E.; POLJANSEK, J. The transesterification of rapeseed and waste sunflower oils: mass-transfer and kinetics in a laboratory batch reactor and in an industrial scale reactor/separator setup. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 3333-3344, 2010.

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.

LIMA, M.B.; INSAUSTI, M.; DOMINI, C.E.; PISTONESI, M.F.; ARAUJO, M.C.U.; BAND, B.F. Automated flow-batch method for fluorescent determination of free glycerol in biodiesel samples using on-line extraction. **Talanta**, v. 89, p. 21-26, 2012.

NOUREDDINI, H.; ZHU, D. Kinetics of transesterification of Soybean Oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 74, p. 1457-1463, 1997.

PINZI, S.; ALONSO, F.; OLMO, J.G.; DORADO, M.P. Near infrared reflectance spectroscopy and multivariate analysis to monitor reaction products during biodiesel production. **Fuel**, v. 92, p. 354-359, 2012.

RICHARD, R.; LI, Y.; DUBREUIL, B.; THIEBAUD-ROUX, S.; PRAT, L. On-line Monitoring of the transesterification reaction carried out in microreactors using near infrared spectroscopy. **Fuel**, v. 104, p. 318-325, 2013.

SCHERER, M.D.; OLIVEIRA, S.L.; LIMA, S.M.; ANDRADE, L.H.C.; CAIRES, A.R.L. Determination of the biodiesel content in diesel/biodiesel blends: a method based on fluorescence spectroscopy. **Journal of Fluorescence**, v. 21, p. 1027-1031, 2011.

STAMENKOVIC, O.S.; TODORVIC, Z.B.; LAZIC, M.L.; VELJKOVIC, V.B.; SKALA, D.U. Kinetics of sunflower oil methanolysis at low temperatures. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1131-1141, 2008.

TOMAZZONI, G.; MEIRA, M.; QUINTELLA, C.M.; ZAGONEL, G.F.; COSTA, B.J.; OLIVEIRA, P.R.; PEPE, I.M.; NETO, P.R.C. Identification of vegetable oil or biodiesel added to diesel using fluorescence spectroscopy and principal component analysis. **Journal of the American Oil Chemists Society**, 2013.

## **CAPÍTULO 2**

### **Fundamentação Teórica**

Neste capítulo é apresentada uma breve revisão de literatura sobre o biodiesel, a reação de transesterificação, a cinética da reação de transesterificação e as técnicas de absorção no UV-Vis e espectroscopia de fluorescência.

#### **2.1. Biodiesel**

O biodiesel é um biocombustível que tem despertado grande interesse por ser uma alternativa para substituir parcial e/ou totalmente o diesel de petróleo, que é largamente utilizado no transporte, agricultura, comércio, e na indústria como gerador de energia (QIU et al., 2011). O biodiesel é miscível ao diesel de petróleo em qualquer proporção: no Brasil, ao invés de biodiesel puro são utilizadas misturas binárias designadas por acrônimos como B5, que representa a mistura de 5% de biodiesel no diesel de petróleo. Esse percentual mínimo, em volume, obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel, está em vigor no país desde o dia 1º de janeiro de 2010, de acordo com a resolução nº 6/ 2009 do CNPE, publicada em 26 de outubro de 2009. (KNOTHE et al., 2006; ANP, 2009).

Além de ser compatível com o diesel de petróleo praticamente em todas as suas propriedades, o biodiesel apresenta várias vantagens adicionais em comparação à este combustível fóssil (KNOTHE et al., 2006; SILVA, 2012): é derivado de matérias primas renováveis (óleos vegetais e gordura animal); é biodegradável; sua utilização reduz a emissão de gases de exaustão; tem alto ponto de fulgor, o que proporciona manuseio e armazenamento mais seguros; excelente lubrificidade, aumentando o tempo de vida dos motores do ciclo diesel; e possui elevado número de cetano, o que significa ter grande poder de auto-ignição e combustão.

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) define o biodiesel, através da lei nº 11.097 de 13 de janeiro de 2005, como (ANP, 2005): “Biocombustível derivado da biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil”. Quimicamente, o biodiesel é definido pelo Art 2º da resolução da ANP nº7 de 19 de março de 2008 como (ANP, 2008): “Combustível alternativo constituído por ésteres alquílicos de ácidos

carboxílicos de cadeia longa, proveniente de fontes renováveis como óleos vegetais, gorduras animal e/ou residual”.

Uma grande variedade de matérias-primas podem ser utilizadas para produção de biodiesel: os óleos vegetais, gorduras de origem animal, e óleos de descarte (óleos utilizados em frituras). Os maiores componentes de óleos vegetais e gordura animal são os triglicerídeos (TG). Quimicamente os TG são ésteres de ácidos graxos (AG) com glicerol (1,2,3-propanotriol). Os TG de óleos vegetais e gordura animal contêm, tipicamente, diferentes tipos de AG, o que diferencia o perfil de cada oleaginoso (KNOTHE et al., 2006).

Os óleos vegetais apresentam um comportamento satisfatório como combustível, porém, a viscosidade cinemática de óleos vegetais é cerca de uma ordem de magnitude superior à de combustíveis convencionais derivados do petróleo, o que pode causar má atomização do combustível na câmara de combustão do motor, acarretando sérios problemas operacionais como a ocorrência de depósitos em suas partes internas. A viscosidade cinemática do biodiesel é muito mais próxima daquela do diesel de petróleo por isso tem-se a necessidade de converter os óleos vegetais ou gorduras de animais em ésteres alquílicos de ácidos carboxílicos de cadeia longa (KNOTHE et al., 2006).

O biodiesel pode ser obtido a partir das reações de esterificação, de transesterificação e do craqueamento térmico (SILVA, 2012). Desses processos, a reação de transesterificação é a mais empregada, e por isso escolhido para ser estudado nesse trabalho e será descrita mais detalhadamente no próximo item.

Fatores como: a disponibilidade, o custo, as propriedades de armazenamento, e o desempenho como combustível determinam qual o potencial da matéria-prima para ser adotada na produção de biodiesel (KNOTHE et al., 2006). Atualmente, para a produção em larga escala de biodiesel, é utilizado o óleo de colza na Europa, o óleo de soja no Estados Unidos e o óleo de palma no sudeste asiático (MANH et al., 2011)

Devido à soja ter uma produção agrícola tecnológica já bem desenvolvida no Brasil, classificando o país como o segundo maior produtor mundial do grão e, o fato de que todo país que inicia um programa de biocombustíveis sempre se baseia nas opções de produto já em pleno desenvolvimento comercial, atualmente tem-se o óleo de soja como a principal matéria-prima utilizada na produção de biodiesel no país. Não sendo uma boa opção do ponto de vista do balanço energético, da ocupação de terras e da inclusão social, mas por



sua disponibilidade e desenvolvimento torna-se economicamente viável predominando sobre outras matérias-primas (KNOTHE et al., 2006; MENDOW et al., 1012).

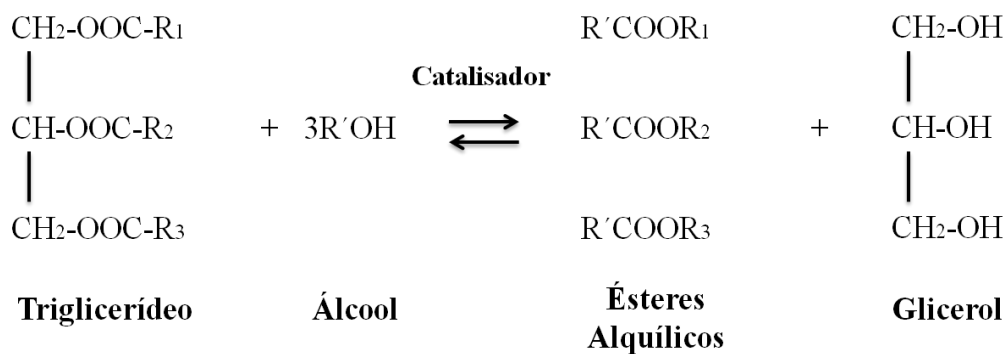
Frequentemente utiliza-se o metanol (álcool metílico) para a produção de biodiesel devido ao seu menor preço em relação a outros alcoóis, no entanto, em alguns países como no Brasil o crescimento da produção e o consumo de etanol (álcool etílico) ocasionaram a redução no preço do mesmo em relação ao metanol. Quando o etanol é usado na produção de biodiesel, resultando no éster etílico, este apresenta inúmeras vantagens em comparação ao éster metílico: além de ter origem renovável, possui maior poder de dissolução em óleos vegetais e baixa toxicidade (MENDOW et al., 2012; RICHARD et al., 2013).

O Brasil possui um grande potencial para produção de biodiesel com óleo de soja e álcool etílico derivado de cana-de-açúcar. Faz-se então necessário a busca para aprimorar os processos de produção do biodiesel, aperfeiçoando a utilização desses produtos gerando economia e qualidade do mesmo.

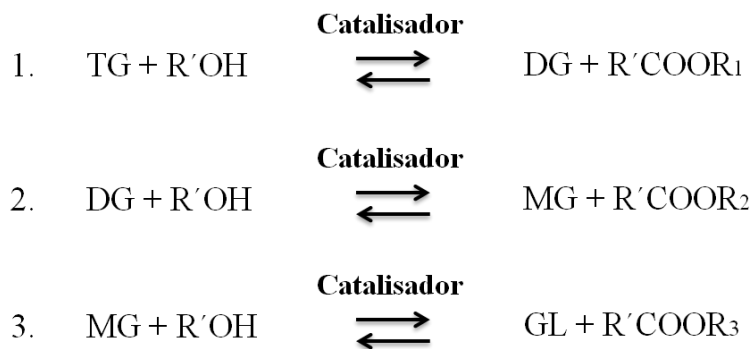
## **2.2. Reação de Transesterificação**

A reação de transesterificação, também chamada de alcoolize, consiste na reação de um triglicerídeo (TG), contido nos óleos e gorduras, com um álcool de cadeia curta, na presença de um catalisador, para formar ésteres alquílicos de ácidos carboxílicos de cadeia longa (ou ésteres alquílicos de ácidos graxos) que é o biodiesel, e o glicerol total como subproduto (MA & HANNA, 1999; FUKUDA et al., 2001; VELJKOVIC et al., 2012).

A reação ocorre em três etapas reversíveis, a saber: conversão de triglicerídeos (TG) em diglicerídeos (DG); de DG em monoglicerídeos (MG); e MG em glicerol total (GL), sendo que em todas as etapas da reação há a produção de ésteres (KUMAR et al. 2013; RICHARD et al., 2013). O termo glicerol total atribui-se à soma do teor de glicerol livre com o teor de TG, DG, e MG não transesterificados (MONTEIRO et al., 2008; VALDEZ et al., 2012). Nas Figuras 2.1. (a) e (b) estão descritos os esquemas da equação geral e das etapas da reação de transesterificação (FUKUDA et al. 2001).



(a)



(b)

**Figura 2.1.** (a) Esquema da equação geral da reação de transesterificação, com  $R_{(1-3)}$  representando os ácidos graxos e  $R'OH$  o álcool; (b) Esquema das três etapas da reação de transesterificação.

Devido a reação de transesterificação ser lenta é necessária a utilização de um catalisador para a conversão de triglicerídeos em ésteres. Assim, a função do catalisador é aumentar a velocidade e o rendimento de ésteres na reação de transesterificação (MA & HANNA, 1999). Vários catalisadores básicos, ácidos ou enzimáticos têm sido empregados. Utiliza-se preferencialmente a catálise básica por ser barata, conduzir mais rapidamente a reação, e demandar baixas temperaturas (em torno de 60°C) em comparação a catalise ácida, que requer temperaturas maiores que 100°C para que a reação ocorra (KILLNER et al., 2011; ARZAMENDI et al., 2006; MEHER et al. 2006).

O álcool, agente da reação de transesterificação, deve conter de 1 a 8 átomos de carbono (SPRULES & PRICE, 1950). Os alcoóis que podem ser utilizados na reação são o metanol, etanol, propanol, butanol e álcool amílico (MA & HANNA, 1999).

Estequiometricamente, para a reação de transesterificação é necessário 3:1 de razão molar álcool:óleo para que a reação seja completa, porém, devido a reversibilidade da reação, na prática é necessário uma razão molar maior (KUMAR et al., 2013). Uma razão molar com excesso de álcool equilibra a reação e direciona-a para que não haja o processo de reversibilidade, resultando em uma melhor conversão de ésteres em um intervalo de tempo menor (MA & HANNA, 1999; FREEDMAN et al., 1984; KUČEK et al., 2007).

Vários aspectos como o tipo de catalise (e de catalisador), razão molar álcool:óleo, pureza e tipo de reagentes, temperatura e tempo de reação, e agitação influenciam no rendimento da reação de transesterificação (SCHUCHARDT et al., 1998).

### *2.2.1. Tipo de Catalise*

As catalises podem ser alcalinas, ácidas, ou heterogêneas (MA & HANNA, 1999, MEHER et al., 2006). A catalise alcalina é mais rápida do que a catalise ácida, necessitando de menores razões molares álcool:óleo, utilizando menores quantidades de catalisadores, geralmente entre 0,4% e 1%, dependendo das condições da reação e da qualidade das matérias-primas, sendo portanto a mais usada comercialmente (KNOTHE et al., 2006). Catalisadores alcalinos incluem: hidróxidos, metóxidos, etóxidos, amidos ou hidretos de sódio ou potássio (SPRULES & PRICE, 1950).

Aumentando a quantidade de catalisador, aumenta-se o rendimento de ésteres e a velocidade de conversão ((FAN et al., 2012), porém altas concentrações (maiores que 1% em relação a massa do óleo utilizado na reação) de catalisadores alcalinos, podem levar a formação de emulsões que reduzem o rendimento de biodiesel pois complicam a separação do mesmo com o glicerol e o próprio catalisador (GEORGOGIANNI et al., 2008, GEORGOGIANNI et al., 2009). Reações com concentrações de hidróxido de sódio de 1,0% (LIFKA & ONDRUSCHKA, 2004), 1,5% (STAVARACHE et al., 2005), ou 2,5% (GEORGOGIANNI et al., 2009) e hidróxido de potássio de 1,25% (HINGU et al., 2010) e 1,5% (HANH et al., 2009) apresentam grande formação de sabão com baixo rendimento de ésteres (VELJKOVIC et al., 2012).

Entretanto, se o óleo utilizado possuir um alto teor de ácidos graxos livres e de água, a catalise ácida é mais indicada. Os catalisadores ácidos podem ser o ácido sulfúrico, fosfórico, clorídrico ou ácido sulfônico orgânico (MEHER et al., 2006; SPRULES & PRICE, 1950; FREEDMAN et al., 1984).

O uso de catalisadores heterogêneos tais como ácidos fortes e enzimas imobilizadas podem proporcionar muitas vantagens: simplifica significativamente o processo de separação e purificação dos produtos, pois o produto final ocupa uma fase diferente do catalisador e gera um produto mais puro que dispensa posteriores etapas de lavagem; reduz problemas ambientais, pois o glicerol apresenta uma maior pureza e sua recuperação é facilitada; favorece a recuperação e reutilização do catalisador, diminuindo também os custos do processo. São particularmente úteis para os processos com matérias-primas que têm um alto teor de ácidos graxos livres (AGL), pois, podem catalisar simultaneamente a transesterificação e a esterificação. No entanto, a síntese heterogênea de biodiesel ocorre mais lentamente do que a homogênea, porque a reação consiste em um sistema trifásico em que a transferência de difusão de massa geralmente limita a taxa de reação global (SILVA, 2012; MA & HANNA, 1999).

Dentre as catálises heterogêneas pode-se citar a catálise que apresenta todas as vantagens citadas anteriormente. Porém a utilização de catalises enzimática não é viável no ponto de vista econômico devido ao alto custo das lípases e a inativação das lípases por contaminação da matéria-prima e por alcoóis polares de baixa massa molar (KNOTHE et al., 2006).

### 2.2.2. Razão Molar Álcool:Óleo

Uma das variáveis mais importantes que afetam o rendimento de ésteres na reação de transesterificação é a razão molar de álcool em relação ao óleo.

Como já foi dito, a relação estequiométrica para a transesterificação requer um nível de três moles de álcool e um mol de triglicerídeo para um rendimento de três moles de ésteres de ácidos graxos e um mol de glicerol, porém, é necessária uma razão molar com excesso de álcool para equilibrar a reação e evitar a reversibilidade.

Entretanto, a razão molar alta de álcool para o óleo vegetal interfere na separação com o glicerol, porque há um aumento da solubilidade. Quando o glicerol permanece em solução, ele ajuda a conduzir o equilíbrio da reação para trás, em direção à reversibilidade, baixando o rendimento de ésteres (MEHER et al., 2006).

### *2.2.3. Pureza e Tipo de Reagentes*

Quantidades de ácidos graxos livres e teor de umidade são parâmetros fundamentais para determinar a viabilidade do processo de transesterificação de óleos e gorduras. É necessário um valor de AGL inferior a 3% na oleagenosa utilizada para realizar uma reação via catálise básica. Quanto mais elevada for a acidez do óleo, menor é a eficiência da conversão de ésteres. Ambos, o excesso, bem como uma quantidade insuficiente de catalisador, podem causar a formação de sabão (MEHER et al., 2006). Ma et al. (1998) estudaram os efeitos de AGL e água na transesterificação de sebo bovino com metanol. Os resultados mostraram que o teor de água no sebo bovino deve ser mantido abaixo de 0,06% em relação a sua massa, e a quantidade de AGL deve ser mantida abaixo de 0,5%, a fim de obter a melhor conversão, sendo o teor de água a variável mais crítica do que a quantidade de AGL.

Portanto, os materiais de partida utilizados para a reação alcalina deve atender a certas especificações. Os triglicerídeos devem ter um valor baixo de AGL e todo material deve ser substancialmente anidro (MEHER et al., 2006).

### *2.2.4. Temperatura e Tempo de Reação*

A taxa de conversão de ésteres aumenta com o tempo de reação (MA & HANNA, 1999; MEHER et al., 2006). Freedman et al. (1984) estudaram a transesterificação dos óleos de amendoim, semente de algodão, girassol e soja, com metanol razão molar 6:1, 0,5% metóxido de sódio como catalisador, mantendo a temperatura de 60 °C. Um rendimento aproximado de 80% foi observado após 1 minuto de reação para os óleos de soja e girassol. Após 1 hora, a conversão era quase a mesma para todos os quatro óleos (93-98%). Ma et al. (1998) estudaram também o efeito do tempo de reação de transesterificação do sebo bovino com metanol. A reação foi muito lenta durante o primeiro minuto, devido a mistura e a dispersão de metanol no sebo de boi. De um a cinco minutos a reação prossegue muito rapidamente, atingindo a produção máxima de ésteres metílicos com quinze minutos de reação.

A transesterificação pode ocorrer em temperaturas diferentes, dependendo do óleo usado. Freedman et al.(1984) estudaram também a transesterificação do óleo refinado com metanol e NaOH, com três temperaturas diferentes. Após seis minutos, a produção de éster foi de 94, 87 e 64% para 60, 45, e 32°C respectivamente, o que indica claramente a

influência da temperatura na taxa de rendimento de éster da reação (MA & HANNA, 1999).

### 2.2.5. Agitação

Um fator particularmente importante no processo de transesterificação é a velocidade de agitação das fases álcool e TG (óleo). As fases TG e álcool não são miscíveis e formam duas camadas líquidas no início da reação. É normalmente utilizada uma agitação mecânica para aumentar o contato entre esses reagentes, resultando no aumento da taxa de transferência de massa. Portanto, variações na velocidade de agitação alteram a cinética da reação de transesterificação no início da reação (NOUREDDINI & ZHU, 1997).

## 2.3. Cinética da Reação de Transesterificação

Entender a cinética da reação de transesterificação é essencial para o desenvolvimento de processos de produção de biodiesel, pois fornece dados valiosos para o projeto e operação de reatores, otimização, controle e avaliação da viabilidade industrial de novos processos e desenvolvimento de novos catalisadores. Um conhecimento quantitativo da cinética da reação de transesterificação é necessário para atingir os objetivos citados anteriormente através da modelagem cinética, que é voltada para derivar modelos matemáticos que descrevem a velocidade da reação de transesterificação. O modelo cinético ajuda a prever a taxa da reação de transesterificação e a produção de biodiesel de acordo com as condições de reação (tipo de catalise, razão molar álcool:óleo, pureza de reagentes, temperatura, tempo de reação e agitação) adotadas (VELJKOVIC et al., 2012).

Como dito anteriormente, a reação de transesterificação pode ser dividida em três passos (TG, DG, MG, GL, éster (E) e álcool (A) representam a concentração de triglicerídeos, diglicerídeos, monoglicerídeos, glicerol total, éster e álcool, respectivamente, e  $K_{1-6}$  são constantes de taxa): com o TG reagindo com uma molécula de A e produzindo um DG e um E; na sequência, o DG reage com um A para produzir outro E e um MG; e finalmente, o MG reagindo com outro A para formar o terceiro E e o produto residual GL. Esses três passos podem ser equacionados da seguinte forma:



Para simular a cinética da reação de transesterificação, diferentes autores consideram equações de taxa para cada etapa da reação, descrevendo o seguinte conjunto de equações diferenciais (FREEDMAN et al., 1986; RICHARD et al., 2013; DIASAKOU et al., 1998; DARNOKO & CHERYAN, 2000; STAMENKOVIC et al., 2008; MARCHETTI et al., 2007; WENZEL et al., 2006; KOMERS et al. 2002):

$$\frac{dTG}{dt} = -K_1 TG(t) A(t) + K_2 DG(t) E(t) \quad (2.4)$$

$$\frac{dDG}{dt} = K_1 TG(t) A(t) - K_2 DG(t) E(t) - K_3 DG(t) A(t) + K_4 MG(t) E(t) \quad (2.5)$$

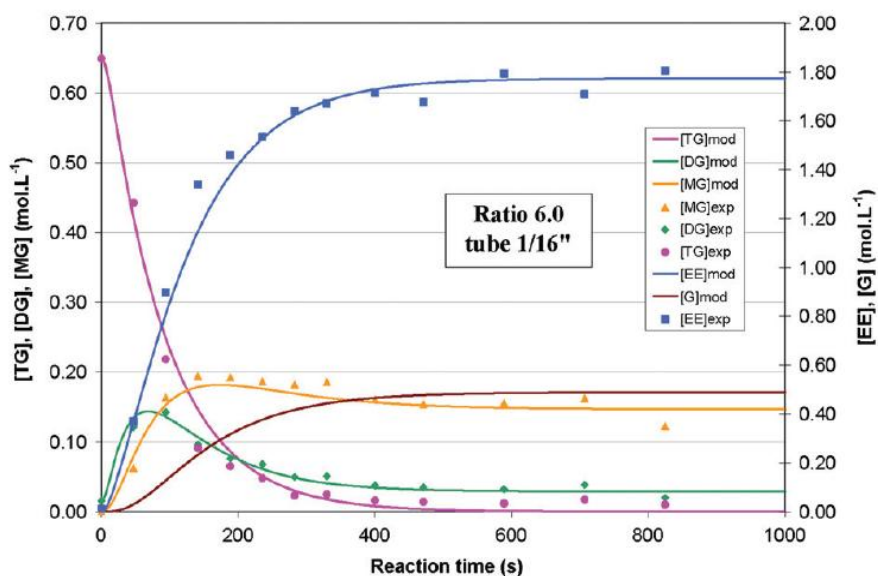
$$\frac{dMG}{dt} = K_3 DG(t) A(t) - K_4 MG(t) E(t) - K_5 MG(t) A(t) + K_6 GL(t) E(t) \quad (2.6)$$

$$\begin{aligned} \frac{dE}{dt} = & K_1 TG(t)A(t) - K_2 DG(t)E(t) + K_3 DG(t)A(t) - K_4 MG(t)E(t) + \\ & K_5 MG(t)A(t) - K_6 GL(t)E(t) \end{aligned} \quad (2.7)$$

$$\frac{dA}{dt} = -\frac{dE}{dt} \quad (2.8)$$

$$\frac{dGL}{dt} = K_5 MG(t) A(t) - K_6 GL(t) E(t) \quad (2.9)$$

É difícil comparar as constantes de taxa de um trabalho com o outro porque cada um foi realizado em diferentes condições, e estabeleceram diferentes metodologias para análise das equações de taxa (RICHARD et al., 2013). Contudo, mostram que é possível estabelecer metodologias de análise para condições específicas de cada reação estudada.



**Figura 2.2.** Evolução da concentração de compostos da reação de transesterificação em função do tempo de reação. Fonte: RICHARD et al. (2013).

Na Figura 2.2, tem - se um dos resultados obtidos por Richard et al. (2013), no qual foi monitorada por NIR uma reação de transesterificação do óleo de girassol com etanol, com razão molar de 6:1 etanol:óleo de girassol. São ilustrados as concentrações dos diferentes compostos que envolvem a reação, TG, DG, MG, G e EE (Éster Etilico) em função do tempo de reação. O termo "mod" refere-se aos dados obtidos pelo modelo matemático estabelecido no trabalho para encontrar a concentração desses compostos através dos espectros obtidos durante a reação por NIR. O termo "exp" é a concentração em  $\text{mol.L}^{-1}$  obtida experimentalmente pela CG-FID através de alíquotas coletadas no decorrer da reação.

#### 2.4. Espectroscopia de absorção no UV-Vis

A espectroscopia de absorção no UV-Vis é baseada na lei de Beer-Lambert, que define que a fração da intensidade de radiação transmitida através da amostra ( $I(\lambda)$ ), depende da intensidade de radiação incidente ( $I_0(\lambda)$ ), do coeficiente de absorção ( $\alpha$ ) e do caminho óptico ( $L$ ) percorrido pela radiação, de acordo com a seguinte relação:

$$\frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)} = e^{-\alpha L} \quad (2.10)$$

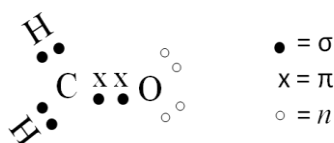


Para absorvância temos:

$$A = \log\left(\frac{I_0(\lambda)}{I(\lambda)}\right) = \alpha L(0,434) \quad (2.11)$$

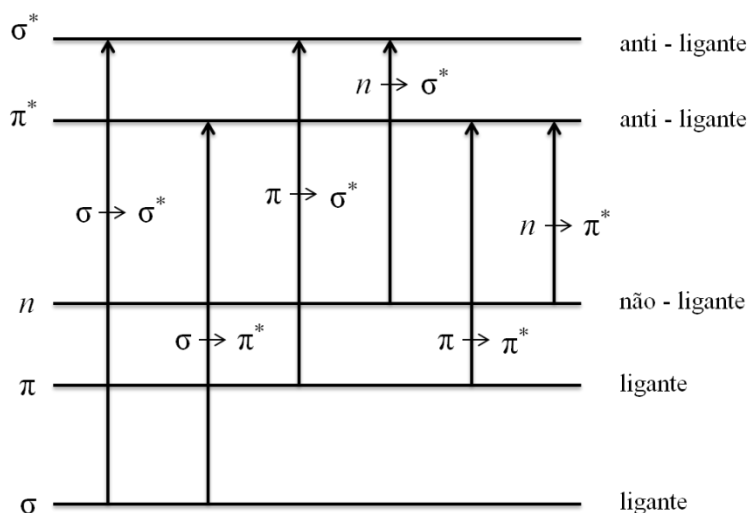
Utiliza-se, largamente a espectroscopia de absorção molecular nas regiões espectrais do ultravioleta (200-400 nm) e do visível (400-800 nm) para a determinação quantitativa de várias espécies inorgânicas, orgânicas e biológicas (HOLLER et al., 2009). Nesta região espectral os fótons possuem uma alta energia, suficiente para provocar transições eletrônicas, possibilitando a técnica de ser utilizada para identificar e determinar diversos materiais, caracterizando quantitativamente a concentração de substâncias em solução (CHIMENEZ, 2011; SCHERER, 2011; HOLLER et al., 2009; SILVA, 2012).

Os elétrons que contribuem para a absorção por uma molécula orgânica dividem-se em dois tipos: aqueles que participam diretamente na formação de ligação entre átomos, estando, portanto, associados a mais de um átomo, e elétrons não-ligantes que estão comumente localizados em átomos. Os orbitais moleculares com ligações simples são chamados orbitais sigma ( $\sigma$ ), os orbitais pi ( $\pi$ ) são formados pela superposição paralela de orbitais p atômicos, e os orbitais anti-ligantes sigma e pi são designados por  $\sigma^*$  e  $\pi^*$ . Elétrons não-compartilhados são descritos pelo símbolo  $n$ . Como exemplo a Figura 2.3 apresenta os três tipos de elétrons no formaldeído.



**Figura 2.3.** Tipos de orbitais moleculares no formaldeído.

A Figura 2.4 ilustra as posições relativas dos níveis de energia referentes aos orbitais ligantes, anti-ligantes e não ligantes, e as possíveis transições que podem ocorrer em moléculas orgânicas. As transições que ocorrem com maior frequência são aquelas em que necessitam de menor quantidade de energia para ocorrer, que são principalmente as do tipo  $n \rightarrow \pi^*$  e  $\pi \rightarrow \pi^*$  (HOLLER et al., 2009; CHIMENEZ, 2011; SILVA, 2012).



**Figura 1.4.** Figura representativa das transições eletrônicas possíveis com a excitação de uma molécula.

Portanto, todos os compostos orgânicos são capazes de absorver radiação, pois todos contêm elétrons de valência que podem ser excitados para níveis mais energéticos. A maioria das aplicações da espectroscopia de absorção no UV-Vis para compostos orgânicos baseiam-se nas transições de elétrons  $n$  ou  $\pi$  para o estado excitado  $\pi^*$ , uma vez que as energias necessárias para esses processos levam as bandas de absorção para a região UV-Vis. Ambas as transições  $n \rightarrow \pi^*$  e  $\pi \rightarrow \pi^*$  exigem a presença de um grupo funcional insaturado para fornecer os orbitais  $\pi$ . Moléculas que possuem esses grupos funcionais e que são capazes de absorver radiação ultravioleta-visível são chamadas de cromóforas (HOLLER et al., 2009; STREITWIESER, 1992; SILVA, 2012).

O espectro de moléculas orgânicas contendo cromóforos geralmente é complexo porque as sobreposições das transições vibracionais às transições eletrônicas levam a uma combinação de linhas sobrepostas. O resultado é uma banda larga de absorção, que frequentemente aparece como uma banda contínua. Apesar da complexidade dos espectros dificultar as análises, conclusões qualitativas e semiquantitativas podem ser obtidas a partir de considerações sobre orbitais moleculares (HOLLER et al., 2009; SILVA, 2012).

## 2.5. Espectroscopia de fluorescência

A luminescência molecular consiste na emissão de radiação eletromagnética proveniente das moléculas que foram excitadas. Três tipos de métodos ópticos

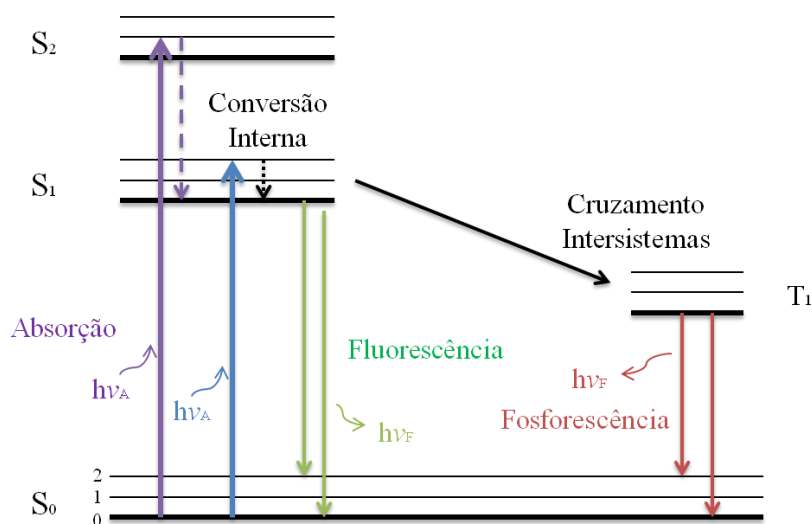
relacionados entre si são conhecidos como métodos de luminescência molecular: fluorescência, fosforescência e quimiluminescência. A fluorescência e a fosforescência são similares, pois a excitação é feita por absorção de fótons. Por esse motivo são frequentemente mencionados pelo termo mais genérico: fotoluminescência. Diferem entre si pela mudança de spin eletrônico que ocorre na fosforescência, fazendo com que a radiação emitida se mantenha por vários segundos ou mais, e não ocorre na fluorescência que apresenta tempo de vida curto, com a luminescência cessando quase imediatamente. A quimiluminescência está baseada no espectro de emissão de uma espécie excitada que é formada no decorrer de uma reação química.

A luminescência possui alta sensibilidade, com limites de detecção frequentemente de uma a três ordens de grandeza melhores que os encontrados em espectroscopia de absorção óptica. Este aumento de sensibilidade é devido principalmente à seletividade da técnica, já que, na fluorescência, a luz de excitação que incide na amostra seleciona a espécie que será excitada de acordo com os níveis de energia disponíveis no material. Outra vantagem é a sua extensa faixa de concentração linear, que também é significativamente maior que nos métodos de absorção. Devido à sua alta sensibilidade, os métodos luminescentes quantitativos estão sujeitos a efeitos de interferência das matrizes da amostra. Por isso, muitas vezes as medidas de luminescência são combinadas com técnicas de separação, como a cromatografia e eletroforese (HOLLER et al., 2009; SILVA, 2012). A fluorescência é o fenômeno luminescente mais comum que a fosforescência, competindo eficientemente com processos de desativação não radiativos do estado excitado. Por este fato, é possível observar facilmente a fluorescência na temperatura ambiente e diretamente em solução (HOLLER et al., 2009, LAKOWICZ, 2006). As taxas de emissão de fluorescência são tipicamente  $10^8 \text{ s}^{-1}$ , e o tempo de vida é perto de 10 ns, tempo de vida de muitos fluoróforos (substâncias fluorescentes).

Na fluorescência as espécies atômicas ou moleculares do material são excitadas por radiações eletromagnéticas em várias regiões espectrais, quando retornam ao estado fundamental, fornecem um espectro de radiações que são emitidas em comprimentos de onda superiores ao fixado para a excitação (HOLLER et al., 2009; SCHERER, 2011; BANNWART, 2009, SILVA 2012).

Os processos que ocorrem entre a absorção e a emissão de luz são frequentemente ilustrados pelo diagrama de Jablonski, apresentado na Figura 2.5. O diagrama mostra esquematicamente as diferentes formas de decaimento para elétrons excitados, através do

qual é possível visualizar que a energia de emissão é tipicamente menor do que a de absorção, e que a fluorescência ocorre tipicamente a energias mais baixas ou comprimentos de onda mais longos (LAKOWICZ, 2006).



**Figura 2.5.** Diagrama de Jablonski (LAKOWICZ, 2006).

Na Figura 2.5 a linha horizontal grossa mais inferior representa a energia do estado fundamental da molécula, que é normalmente um estado *singlete* (S<sub>0</sub>), ou seja, um estado eletrônico no qual todos os spins eletrônicos estão emparelhados. Às linhas grossas superiores são níveis de energia para os estados fundamentais vibracionais de três estados eletrônicos *singletes* excitados. À linha da direita representa a energia do primeiro estado eletrônico *tripleto* (T<sub>1</sub>), estado em que os spins dos dois elétrons (do estado excitado e do estado fundamental) ficaram desemparelhados e são paralelos. Conversão interna descreve processos intermoleculares pelos quais uma molécula passa para um estado eletrônico de energia menor sem emissão de radiação. O cruzamento intersistemas é um processo no qual o spin de um elétron excitado é invertido resultando em uma mudança na multiplicidade da molécula.

Dados espectrais de fluorescência são geralmente apresentados como espectros de emissão. Um espectro de emissão de fluorescência é um gráfico de intensidade de fluorescência em relação ao comprimento de onda (nm) ou número de onda (cm<sup>-1</sup>). Os espectros de emissão variam amplamente e dependem da estrutura química do fluoróforo e do solvente em que está dissolvido (LAKOWICZ, 2006).

A fluorescência ocorre em sistemas químicos gasosos, líquidos e sólidos, simples ou complexos, permitindo a determinação de uma variedade de espécies orgânicas e inorgânicas, a níveis de traço (em pequenas concentrações) (HOLLER et al., 2009, SILVA 2012).

A espectroscopia de fluorescência pode ser aplicada através de três modos diferentes de aquisição dos espectros: emissão, excitação e varredura sincronizada. A emissão é obtida quando se fixa um comprimento de onda de excitação, coletando o espectro de fluorescência em função do comprimento de onda. Os espectros de excitação são obtidos através da medida da intensidade de fluorescência, fixando o comprimento de onda de emissão e variando o de excitação. Já os espectros de varredura sincronizada são coletados variando tanto o comprimento de onda de excitação quanto o de emissão, mantendo uma diferença constante entre esses comprimentos de onda (SCHERER, 2011; HOLLER et al., 2009; SILVA, 2012).

A fluorescência é hoje uma metodologia dominante usada extensivamente na área de biotecnologia, citometria de fluxo, diagnósticos médicos, sequenciamento de DNA, ciência forense e análise genética (LAKOWICZ, 2006). Além disso, como já destacado na introdução dessa dissertação, atualmente é uma técnica eficiente para ser utilizada como ferramenta para caracterização de óleos e biodiesel, que são os compostos de estudo desse trabalho.

## 2.6. Referências

ANP. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Resolução CNPE N° 6, de 16 de setembro de 2009.** Disponível em < [http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/folder\\_resolucoes/resolucoes\\_cnpe/2009/rcnpe%206%20-%202009.xml?f=templates\\$fn=document-frame.htm\\$3.0\\$q=\\$x=\\$nc=9975](http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/folder_resolucoes/resolucoes_cnpe/2009/rcnpe%206%20-%202009.xml?f=templates$fn=document-frame.htm$3.0$q=$x=$nc=9975)>. Acesso em: 23 jan, 2014.

ANP. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005.** Disponível em < [http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/leis/2005/lei%2011.097%20%202005.xml?f=templates\\$fn=default.htm&sync=1&vid=anp:10.1048/enu](http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/leis/2005/lei%2011.097%20%202005.xml?f=templates$fn=default.htm&sync=1&vid=anp:10.1048/enu)>. Acesso em: 24 dez, 2013.

ANP. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Art. 2º da resolução nº 7, de 19 de março de 2008.** Disponível em < <http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll?f=templates&fn=default.htm&vid=anp:10.1048/enu>>. Acesso em: 24 dez, 2013.

ARZAMENDI, G.; ARGUINARENA, E.; CAMPO, I.; GANDÍA, L.M. Monitoring of biodiesel production: simultaneous analysis of the transesterification products using size-exclusion chromatography. **Chemical Engineering Journal**, v. 122, p. 31-40, 2006.

BANNWART, E.S. **Avaliação da Termo-Oxidação de Óleos Refinados de Milho com e sem Antioxidante via Propriedades Térmicas, Ópticas e Termo-Ópticas.** 2009. 111p. Dissertação (Pós-Graduação em Física) – Universidade Estadual de Maringá. Maringá-PR.

CHIMENEZ, T. A. **Espectroscopia de Fluorescência como Ferramenta para Caracterização de Biodiesel e Monitoramento de Processos de Degradação.** 2011. 66p. Dissertação (Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Ciência Ambiental)-Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS.

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

DIASAKOU, M.; LOULOUDI, A.; PAPAYANNAKOS, N. Kinetics of the non-catalytic transesterification of soybean oil. **Fuel**, v. 77, p. 1297-1302, 1998.

FAN, X.; WANG, X.; CHEN, F. Ultrasonically assisted production of biodiesel from crude cottonseed oil. **International Journal of Green Energy**, v. 7, p. 117-121, 2012.

FIGUEIREDO, M.S. **Estudo das Propriedades Ópticas e Termo-Ópticas do Biodiesel e suas Misturas.** 2009. 106p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada)-Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Campo Grande-MS.

FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. **Journal of Biocience and Bioengineering**, v. 92, p. 405-416, 2001.

FREEDMAN, B.; PRYDE, E.H.; MOUNTS, T.L. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 61, p. 1638-1643, 1984.

FREEDMAN, B.; BUTTERFIELD, R.; PRYDE, E. Transesterification kinetics of soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 63, p. 1375-1380, 1986.

GEORGOGIANNI, K.G.; POMONIS, P.J.; KONTOMINAS, M.G.; AVLONITIS, D.; GERGIS, V. Alkaline conventional and in situ transesterification of cottonseed oil for the production of biodiesel. **Energy & Fuels**, v. 22, p. 2110-2115, 2008.

GEORGOGIANNI, K.G.; KATSOULIDIS, A.K.; POMONIS, P.J.; MANOS, G.; KONTOMINAS, M.G. Transesterification of rapeseed oil for the production of biodiesel using homogeneous and heterogeneous catalysts. **Fuel Processing Technology**, v. 90, p. 1016-1022, 2009.

GEORGOGIANNI, K.G.; KATSOULIDIS, A.K.; POMONIS, P.J.; KONTOMINAS, M.G. Transesterification of soybean frying oil to biodiesel using heterogeneous catalysts. **Fuel processing Technology**, v. 90, p. 671-676, 2009.

HANH, H.D.; DONG, N.T.; STARVARACHE, C.; OKITSU, K.; MAEDA, Y.; NISHINURA, R. Methanolysis of triolein by low frequency ultrasonic irradiation. **Energy Conversion and Management**, v. 49, p. 276-280, 2009.

HINGU, S.M.; GOGATE, P.R.; RATHOD, V.K. Synthesis of biodiesel from waste cooking oil using sonochemical reactor. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, p. 827-832, 2010.

HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A.; CROUCH, S.R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.1056p.

KILLNER, M.H.M.; ROHWEDDER, J.J.R.; PASQUINI, C. A PLS regression mode using NIR spectroscopy for on-line monitoring of the biodiesel production reaction. **Fuel**, v. 90, p. 3268-3273, 2011.

KNOTHE, G.; GERPEN, J.V.; KRAHL, J.; RAMOS, L.P. **Manual de Biodiesel**. 1ª ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 2006. 340p.

KNOTHE, G. Analyzing Biodiesel: Standards and Other Methods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, p. 823-833, 2006.

KOMERS, K.; SKOPAL, F.; STLOUKAL, R.; MACHEK, J. Kinetics and mechanism of the KOH – catalyzed methanolysis of rapeseed oil for biodiesel production. **European Journal Lipid Science Technology**, v. 104, p. 728-137, 2002.

KUCEK, K.T.; OLIVEIRA, M.A.F.C.; WILHEM, H.M.; RAMOS, L.P. Ethanolysis of refined soybean oil assisted by sodium and potassium hydroxides. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 82, p. 385-392, 2007.

KUMAR, R.; TIWARI, P.; GARG, S. Alkali transesterification of linseed oil for biodiesel production. **Fuel**, v. 104, p. 553-560, 2013.

LAKOWICZ, J. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3ª Ed. Sigapura: Editora Springer, 2006. 960p.

LEITE R.C.C.; LEAL, M.R.L.V. **O biocombustível no Brasil**. *Novos Estudos*, v. 78, p. 15-21, 2007.

LEUNG, D.Y.C.; WU, X.; LEUNG, M.K.H. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. **Applied Energy**, v. 87, p. 1083-1095, 2010.

LIFKA, J.; ONDRUSCHKA, B. Influence of mass transfer on the production of biodiesel. **Chemical Engineering Technology**, v. 27, p. 1156-1159, 2004.

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

MA, F.; CLEMENTS, L.D.; HANNA, M.A. The effect of catalyst, free fatty acids, and water on transesterification of beef tallow. **Industrial Agricultural Products Center – Publications & Information**. Paper 12; 1998.

MANH, D.V.; CHEN, Y.; CHANG, C.; CHANG, M.; CHANG, C. Biodiesel production from Tung oil and blended oil via ultrasonic transesterification process. **Journal of the Taiwan intitute of chemical engineers**, v. 42, p. 640-644, 2011.

MARCHETTI, J.M.; MIGUEL, V.U.; ERRAZU, A.F. Possible methods for biodiesel production. **Renewable & sustainable energy reviews**, v. 11, p. 1300-1311, 2007.

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

MENDOW, G.; VEIZAGA, N.S.; SÁNCHEZ, B.S.; QUERINI, C.A. Biodiesel production by two-stage transesterification with ethanol by washing with neutral water and water saturated with carbon dioxide. **Bioresource Techonology**, v. 118, p. 598-602, 2012.

MONTEIRO, M.R.; AMBROZIN, A.R.; LIÃO, L.M.; FERREIRA, A. G. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. **Talanta**, v. 77, p. 593-605, 2008.

NOUREDDINI, H.; ZHU, D. Kinetics of transesterification of Soybean Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 74, p. 1457-1463, 1997.

QIU, F.; LI, Y.; YANG, D.; LI, X.; SUN, P. Biodiesel production from mixed soybean oil and rapessed oil. **Applied Energy**, v. 88, p. 2050-2055, 2011.

RICHARD, R.; THIEBAUD-ROUX, S.; PRAT, L. Modelling the Kinetics of transesterification reaction of sunflower oil with ethanol in microrestors. **Chemical Engineering Science**, v. 87, p. 258-269, 2013.

RICHARD, R.; LI, Y.; DUBREUIL, B.; THIEBAUD-ROUX, S; PRAT, L. On-line Monitoring of the transesterification reaction carried out in microreactors using near infrared spectroscopy. **Fuel**, v. 104, p. 318-325, 2013.

SCHERER, M.D. **Caracterização óptica do diesel, biodiesel, óleo e suas misturas: Desenvolvimento de uma metodologia alternativa para a quantificação do teor de biodiesel na mistura diesel/biodiesel**. 2011. 98p. Dissertação (Mestrado em Ciência



eTecnologia Ambiental-Ciência Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados-MS.

SCHUCHARDT, U.L.F.; SERCHELI, R.; VARGAS, R.M. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian chemical society**, v. 9, p. 199-210, 1998.

SILVA, F.R. **Produção de Ésteres Metílicos Utilizando Catalisadores à Base de Bismuto**. 2009. 120p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química). Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba-PR.

SILVA, M.V. **Uso da Espectroscopia Óptica e Espectrometria de Lente Térmica no Estudo de Blendas Óleo-Biodiesel e Biodiesel-Diesel**. 2012. 98p. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais) - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS). Dourados-MS.

SPRULES, F.J.; PRICE, D. **Production of fatty esters**. Patente dos Estados Unidos, v. 2, p. 366-494, 1950.

STAMENKOVIC, O.S.; TODORVIC, 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.

STAVARACHE, C.; VINATORU, M.; NISHIMURA, R.; MAEDA, Y. Fatty acids methyl esters from vegetable oil by means of ultrasonic energy. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 12, p. 367-372, 2005.

STREITWIESER, A.; HEATHCOCK, C.H.; KOSOWER, E.M. **Introduction to Organic Chemistry**. 4 ed. New York: Macmillan, 1992.

VALDEZ, H.C.; AMADO, R.S.; SOUZA, F.C.; D'ELIA, E. Determinação de glicerol livre e total em amostras de biodiesel por método enzimático com detecção calorimétrica. **Química Nova**, v. 35, p. 601-607, 2012.

VELJKOVIC, V.B.; AVRAMOVIC, J.M.; STAMENKOVIC, O.S. Biodiesel production by ultrasound-assisted transesterification: State of the art and the perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 1193-1209, 2012.

WENZEL, B.; TAIT, M.; MÓDENES, A.; KROUMOV, A. Modelling chemical kinetics of soybean oil transesterification process for biodiesel production: an analysis of molar ratio between alcohol and soybean oil temperature changes on the process conversion rate. **Bioautomation**, v. 5, p. 13-22, 2006.

## CAPÍTULO 3

### Materiais e Métodos

Os materiais utilizados, bem como a metodologia estabelecida para reação de transesterificação e para a aquisição de espectros dos compostos utilizados na mesma são apresentados nesse capítulo.

#### 3.1. Materiais

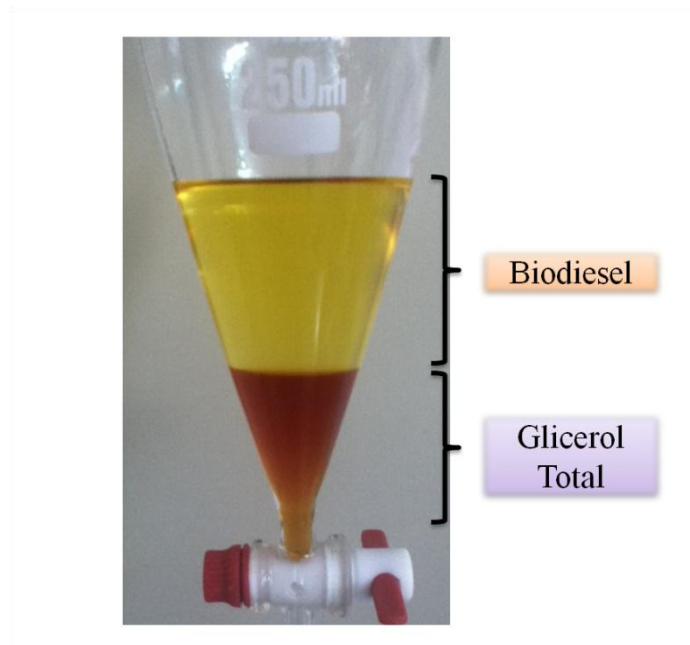
Como matéria prima para a reação de transesterificação foi utilizado o óleo de soja refinado da marca SADIA<sup>®</sup> adquirido no comércio local. Os reagentes usados durante a síntese foram adquiridos em companhias locais, todos da marca Vetec: etanol 99.8% (P.A.), Metanol 99.8% (P.A.), hidróxido de sódio (KOH) e hidróxido potássio (NaOH) ambos 85% (em pó); e água destilada para lavagem do biodiesel.

#### 3.2. Síntese do Biodiesel

Para síntese do biodiesel foi utilizada a razão molar 20:1 de álcool:óleo em todas as reações e de acordo com a reação foram variados: tipo de álcool e de catalisador, quantidade de catalisador, volume da solução (óleo+álcool) e tempo de reação.

As reações foram mantidas em torno de 60°C de temperatura, com agitação magnética de 600 rpm. Na reação, primeiro o óleo foi aquecido até 60 °C, em seguida foi adicionado ao mesmo a solução álcool+catalisador (óxido ou metóxido de potássio ou sódio dependendo do álcool e do catalisador). Inicialmente obteve-se uma solução não homogênea com duas fases distintas, o óleo e o álcool+catalisador, e depois, em um curto espaço de tempo de alguns segundos, a solução se torna turva. Após a turbidez, a solução se torna homogênea e o estudo da fluorescência começou a ser controlada, conforme se verá a seguir. Após a reação, a solução foi destilada para remover o excesso de álcool e foi então colocada em um funil de decantação. Quando a produção de éster e glicerol total foi considerável, a solução separou em duas fases dentro do funil como mostra a Figura 3.1: a fase menos densa, que são os ésteres (biodiesel) ficam na parte superior; e o glicerol total, que é mais denso, fica depositado no fundo do funil. O glicerol total foi retirado e

armazenado em um frasco de âmbar, envolto a papel alumínio em temperatura de 8°C. O mesmo processo de armazenamento ocorreu com o biodiesel que passou por um processo de lavagem com água destilada para remover qualquer resíduo da reação.

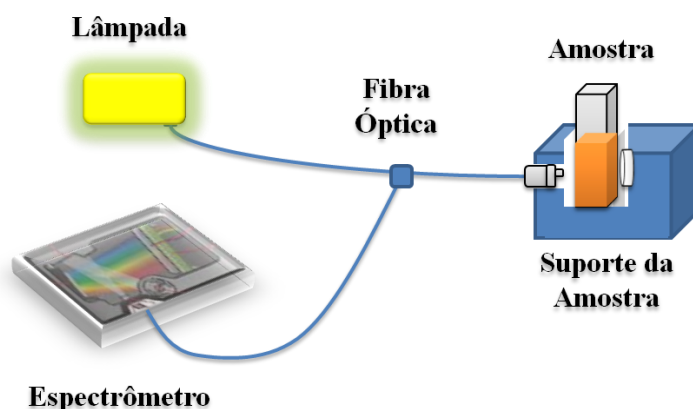


**Figura 3.1.** Separação de fases: biodiesel e glicerol total.

### **3.3. Espectroscopia de absorção no UV-Vis**

Os espectros de absorção foram coletados no aparato apresentado esquematicamente na Figura 3.2, constituído de uma fibra óptica bifurcada, um suporte para cubeta com espelhos nas extremidades, um espectrômetro portátil HR4000 da Ocean Optics, uma lâmpada Deutério/Tungstênio para excitar as amostras e uma cubeta de 0,5 mm. O óleo de soja foi diluído em hexano na proporção de volume de 2,4%; o biodiesel e o glicerol total foram diluídos em etanol nas proporções de volume de 2,3% e 2.4% respectivamente.

Na coleta de espectros a radiação foi transmitida até a amostra pela fibra óptica, e a luz transmitida foi refletida por um espelho após a cubeta, retornando pela mesma fibra até o espectrômetro, cujos dados foram processados em um micro computador.

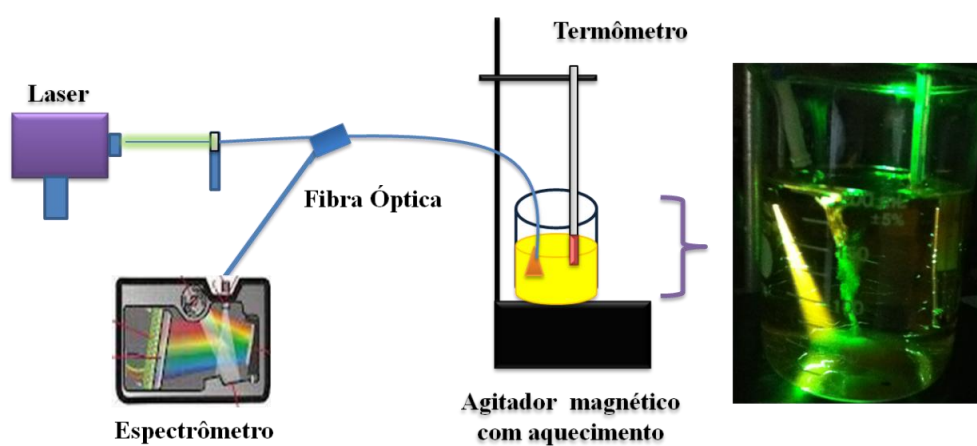


**Figura 3.2.** Esquema do aparato experimental para coleta de espectros de absorção no UV-Vis.

### 3.4. Espectroscopia de fluorescência

Para coleta dos espectros de fluorescência foram usados três lasers distintos para diferentes monitoramentos *on line* e *in situ* da reação de transesterificação: laser de Diodo-YAG emitindo em 532 nm, lasers de Diodo emitindo em 405 e 445 nm e um laser de Ar<sup>+</sup> emitindo nos comprimentos de onda de 360 nm e 488 nm; uma fibra óptica bifurcada, um espectrômetro portátil HR4000 da Ocean Optics, um termômetro de mercúrio e um agitador magnético com controle de temperatura. O esquema do aparato experimental é descrito na Figura 3.3.

Várias reações de transesterificação foram monitoradas, com os diferentes comprimentos de onda de excitação ( $\lambda_{exc}$ ), mantendo a potência do laser em 37 mW, variando volume de óleo e álcool, tipos de álcool e catalisador, quantidade de catalisador com concentração em porcentagem equivalente a massa do óleo, tempo de reação e quantidade de espectros coletados, de acordo com a Tabela 1.



**Figura 3.3.** Esquema do aparato experimental para coleta de espectros de fluorescência durante a reação de transesterificação.

**Tabela 1.** Reações de transesterificação monitoradas *on line* e *in situ* com a espectroscopia de fluorescência.

<b>Reação #</b>	<b>Catalisador</b>	$\lambda_{exc}$ (nm)	<b>Catalisador (Qtd.) (%)</b>	<b>Catalisador (Qtd.) (g)</b>	<b>Tempo de Reação (min.)</b>	<b>Espectros Coletados (Qtd.)</b>
1	KOH	360	0,75	0,669	60	720
2	KOH	360	0,75	0,669	120	3600
3	KOH	405	0,25	0,223	80	2400
4	KOH	405	0,50	0,446	80	2400
5	KOH	405	0,625	0,557	80	2400
6	KOH	405	0,75	0,669	80	2400
7	KOH	405	1,00	0,891	80	2400
8	KOH	405	1,25	1,114	80	2400
9	KOH	445	0,75	0,669	120	3600
10	KOH	488	0,75	0,669	120	3600
11	NaOH	532	0,75	0,669	66	1980
12	KOH	532	1,00	0,891	110	3300
13	KOH	532	0,75	0,669	110	3300
14	KOH	532	0,50	0,445	110	3300

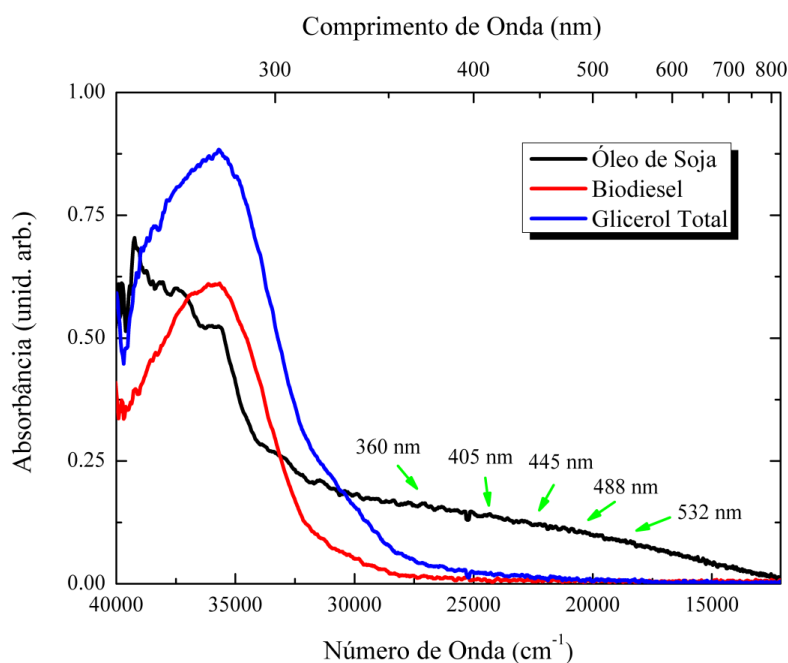
## CAPÍTULO 4

### Análises Preliminares e Discussão

Nesse capítulo será apresentado e discutido os dados obtidos com a espectroscopia de absorção UV-Vis, e também os dados obtidos com a espectroscopia de fluorescência em diferentes monitoramentos da reação de transesterificação com diferentes  $\lambda_{exc}$ , variando a concentração de catalisador e o tipo de álcool e catalisador.

#### 4.1. Absorção UV-Vis e Fluorescência do Óleo de Soja, Biodiesel e Glicerol Total

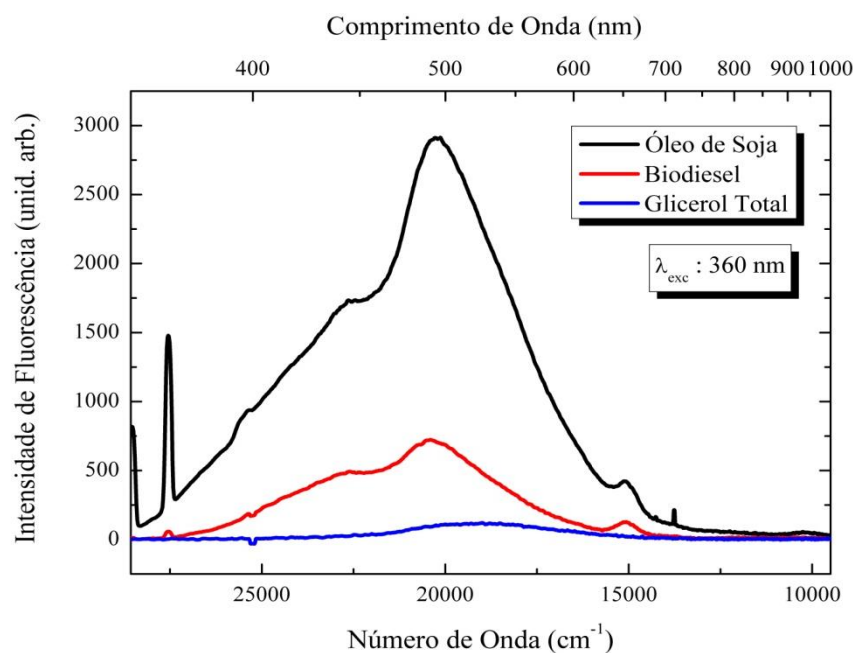
Inicialmente foi produzido um biodiesel sem o monitoramento com a fluorescência, dessa produção foram coletadas amostras dos três principais componentes da reação de transesterificação: óleo de soja, biodiesel já lavado e o glicerol total subproduto da reação e mensuradas as absorções UV-Vis de cada um (Figura 4.1).



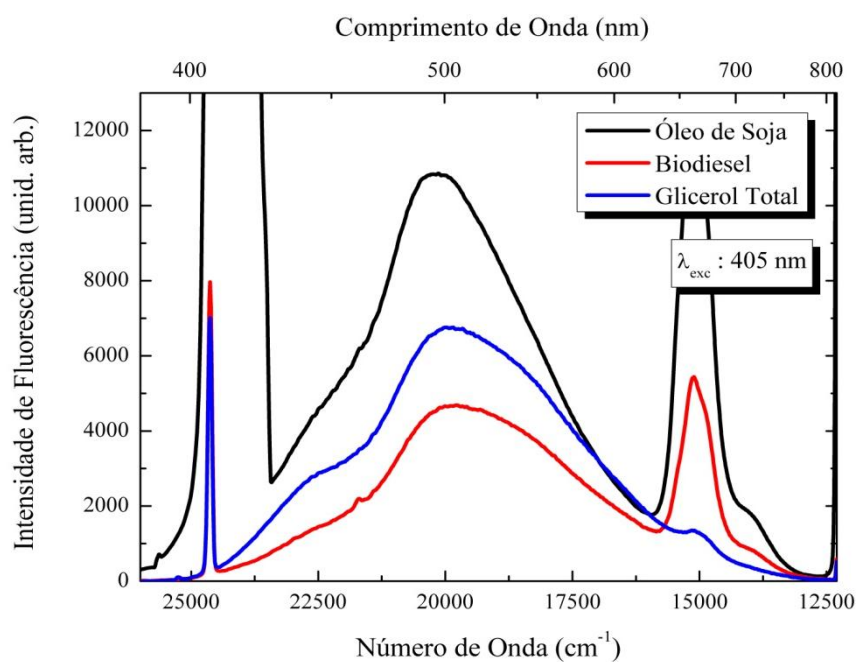
**Figura 4.1.** Absorção dos principais componentes da reação de transesterificação, óleo de soja, biodiesel já lavado, e o glicerol subproduto da reação.

Estão indicados na Figura 4.1 os  $\lambda_{exc}$  utilizados para medir a fluorescência desses mesmos componentes. O grupo carbonila de ésteres triglicéridos é responsável pela absorção entre as regiões de 265 a 300 nm, e os compostos carotenoides que incluem o  $\beta$ -caroteno, um dos antioxidantes naturais do óleo de soja, absorvem nas regiões entre 400 e 500 nm (ELSARK et al., 1993).

A fluorescência desses mesmos componentes nos  $\lambda_{exc}$  indicados tem o perfil como indicado nas Figuras 4.2. (a), (b), (c), (d) e (e).

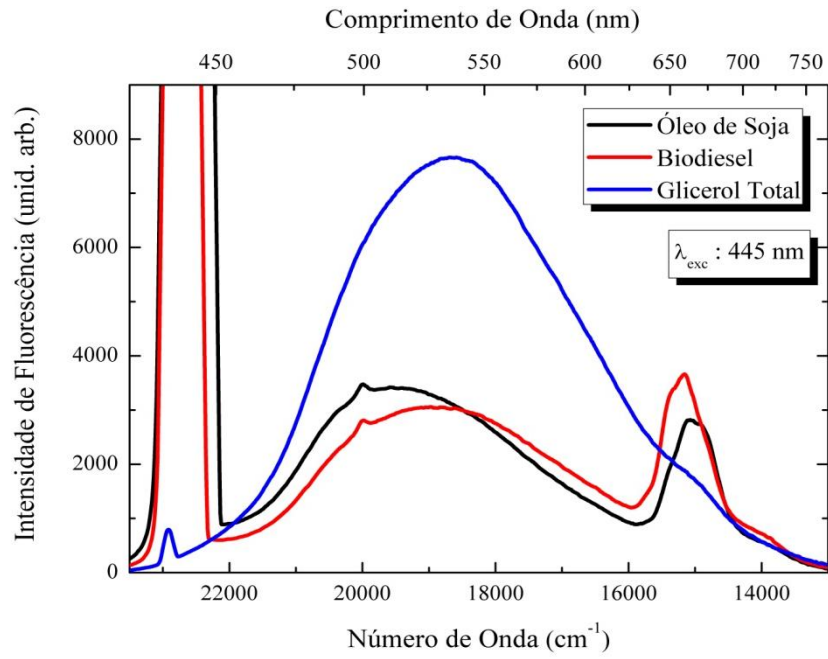


(a)

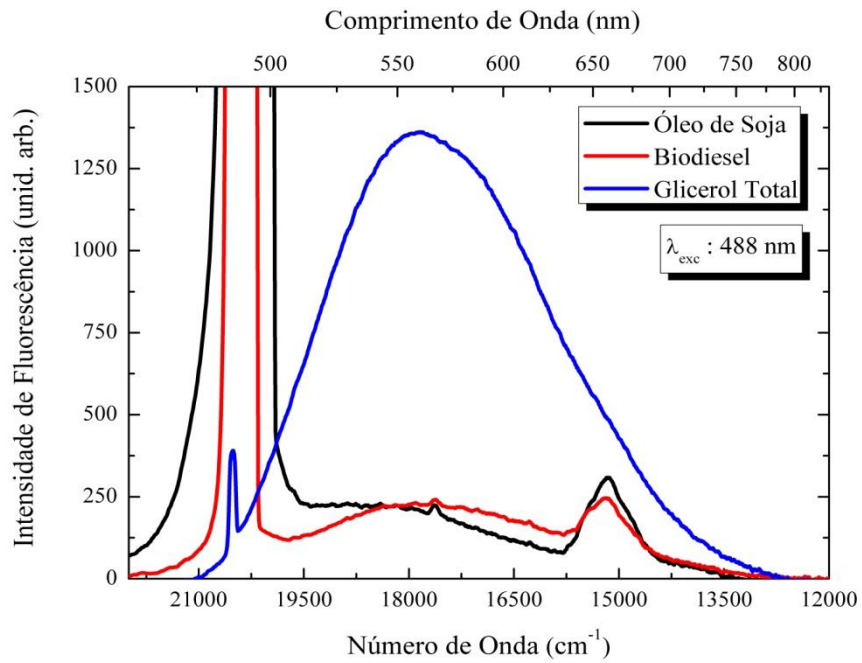


(b)

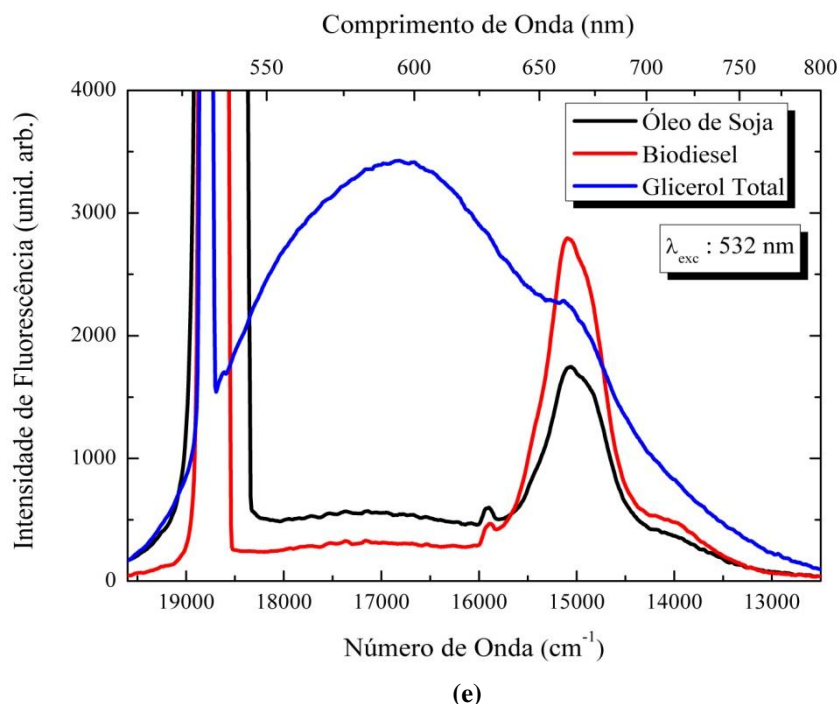




(c)



(d)



**Figura 4.2.** Fluorescência do óleo de soja, biodiesel e glicerol com  $\lambda_{exc} = 360$  nm (a), 405 nm (b), 445 nm (c), 488 nm (d), e 532 nm (e).

É sabido que os espectros de emissão de fluorescência variam amplamente dependendo da estrutura química do fluoróforo e do solvente em que este está dissolvido (LAKOWICZ, 2006). Ve-se que essa variação também ocorre dependendo do  $\lambda_{exc}$  em que a amostra foi submetida, como pode-se perceber através das Figuras 4.2 (a) à (e) em que a fluorescência para cada um dos componentes é diferente para cada  $\lambda_{exc}$ . As linhas observadas à esquerda em todos os espectros de todas as figuras correspondem ao espalhamento do laser, variam de 27777 (360 nm) à 18796  $\text{cm}^{-1}$  (532 nm) de acordo com o laser utilizado para excitação.

Na Figura 4.2(a) o espectro do óleo é mais intenso que do biodiesel e este é mais intenso que do glicerol total que quase não luminesce com essa excitação. Essa redução na emissão do óleo quando comparada com o biodiesel já fora observado para o óleo de soja e também para outros óleos por Chimenez et al. (2012).

Com a excitação em 405 nm (Figura 4.2 (b)), todas os componentes apresentam intensos e largos espectros de emissão, havendo uma diferença significativa principalmente entre a forma dos espectros do óleo e do biodiesel. O espectro do glicerol total por sua vez é mais intenso que o espectro do biodiesel nessa excitação. Porém, de

maneira geral, todos apresentam emissão consideráveis e concorrentes em posição, o que dificulta o monitoramento das partes.

Na excitação de 445 nm (Figura 4.2 (c)) o glicerol total emite mais intensamente que o óleo e o biodiesel. Ademais, o máximo do biodiesel coincide com o do glicerol total, o que talvez seja o problema de usar essa excitação para monitorar a reação, pois impossibilita relacionar as emissões do biodiesel e do glicerol total como componentes distintos. Comportamento semelhante percebe-se na excitação em 488 nm (Figura 4.2(d)), porém com o espectro do glicerol total mais intenso, e do óleo e do biodiesel com intensidades menores do que na excitação com 445 nm.

Finalmente, os espectros observados com excitação de 532 nm na Figura 4.2 (e), mostram que o glicerol total é bem mais largo e intenso que todas as outras partes, e os máximos do glicerol total e do biodiesel não coincidem, indicando uma viabilidade maior para monitorar a reação de transesterificação com essa excitação.

As bandas entre as regiões de  $16666\text{ cm}^{-1}$  (600 nm) à  $12500\text{ cm}^{-1}$  (800 nm) para todas as amostras de óleo de soja e biodiesel são atribuídas a clorofila (KONGBONGA et al., 2011; KYRIAKIDIS & SKARKALIS, 2000; VENTURA et al., 2013) provavelmente provenientes do grão da soja.

A seguir é apresentado o monitoramento da reação de transesterificação em cada um desses  $\lambda_{\text{exc}}$ , considerando as características fluorescentes dos componentes que envolvem a reação em cada um deles.

#### **4.2. Excitação em 360 nm**

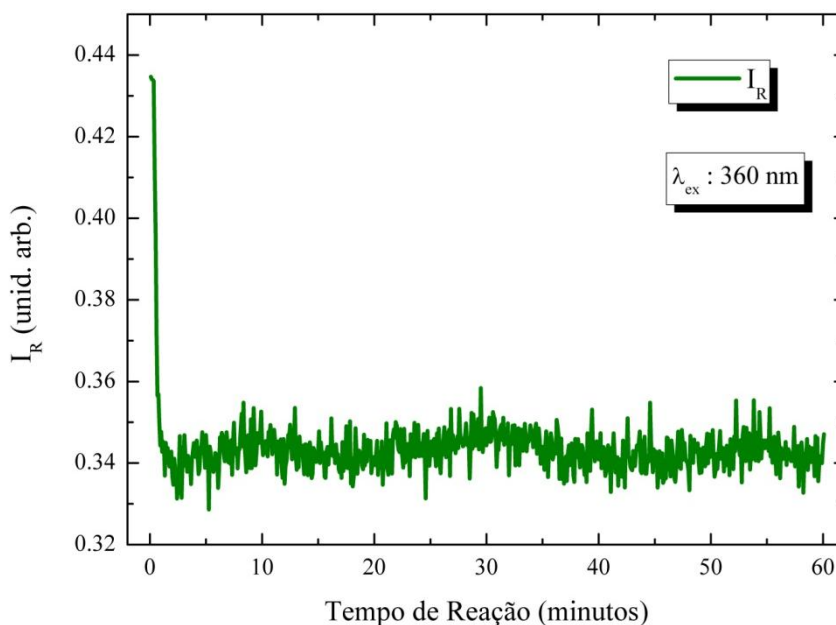
Para a análise dos espectros obtidos durante a Reação #1 da Tabela 1, foram selecionados os pontos de máxima intensidade de emissão das bandas observadas nos espectros do óleo de soja e do biodiesel: 439 e 490 nm respectivamente.

Vários fatores podem influenciar na fluorescência da solução durante a reação, um deles é a temperatura que como já foi dito manteve-se em torno de 60°C. Porém, mesmo pequenas variações da mesma podem alterar o espectro de fluorescência. Para ter uma boa indicação de como as intensidades de 439 e 490 nm variam durante a reação e para minimizar ou excluir a contribuição nos sinais observados de fluorescência devido à variação de temperatura, foi estabelecida a seguinte relação entre essas emissões:

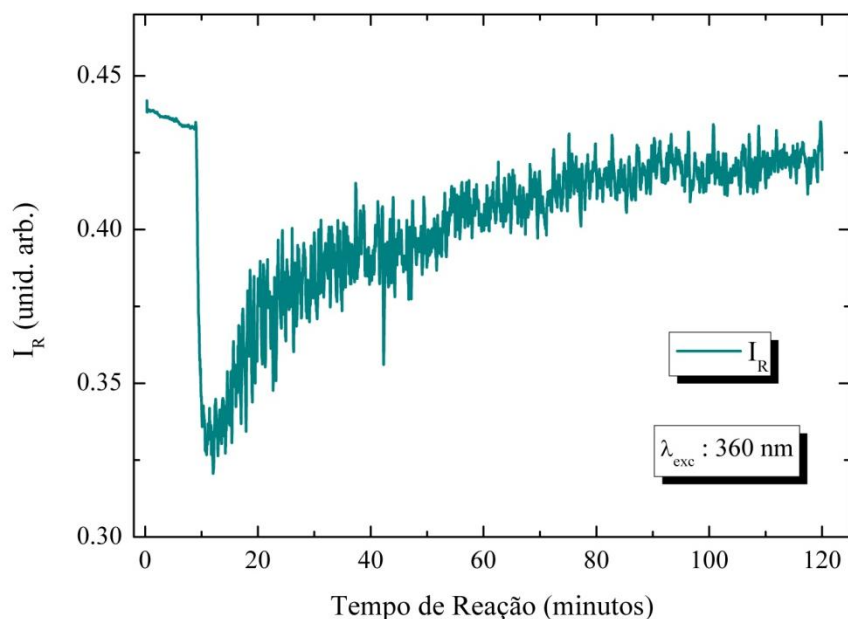
$$I_R(t) = \frac{I_{490\text{ nm}}(t)}{I_{490\text{ nm}}(t) + I_{439\text{ nm}}(t)} \quad (4.1)$$

A Equação 1, mostra como as emissões em 490 nm e 439 nm foram relacionadas nos 720 espectros coletados durante a reação, essa relação foi denominada  $I_R$  (Intensidade Relativa), e a curva encontrada é apresentada na Figura 4.3.(a). A princípio o comportamento visto em  $I_{360}$  foi associado à variação de viscosidade do decorrer da reação de transesterificação por apresentar um perfil semelhante ao obtido por Ellis et al. (2008) que monitoram a reação de transesterificação usando *in situ* um viscosímetro. Esse trabalho mostra o decaimento da viscosidade logo nos primeiros minutos de reação. Chimenez et al. (2012) relatam que a emissão de alguns fluoróforos pode depender da viscosidade da solução. Mas para confirmar essa hipótese outros monitoramentos seriam necessários.

No entanto, não foi possível obter novamente biodiesel monitorando a reação de transesterificação com  $\lambda_{\text{exc}} = 360$  nm. A separação de fase do biodiesel e glicerol total, que é o primeiro indício da formação de ésteres na reação, não ocorreu em outros seis monitoramentos realizados, a  $I_R$  obtida para a reação #2 da Tabela 1 teve o perfil ilustrado na Figura 4.3 (b). Nessa reação, diferentemente da reação anterior, o monitoramento se deu desde o período de aquecimento do óleo, de 0 a 8 minutos de reação.



(a)



(b)

**Figura 4.3.**  $I_R$  do monitoramento da (a) reação #1 e (b) reação #2 da Tabela 1.

Uma explicação para a dificuldade de se obter biodiesel excitando a solução com  $\lambda_{exc} = 360 \text{ nm}$  seria que a radiação incidente estaria alterando as propriedades de algum composto da mistura, já que a radiação ultravioleta é um agente que provoca a oxidação do óleo e também do biodiesel (FANTAS et al. 2011). Com isso, a energia de excitação no UV pode interferir na própria cinética da reação de transesterificação.

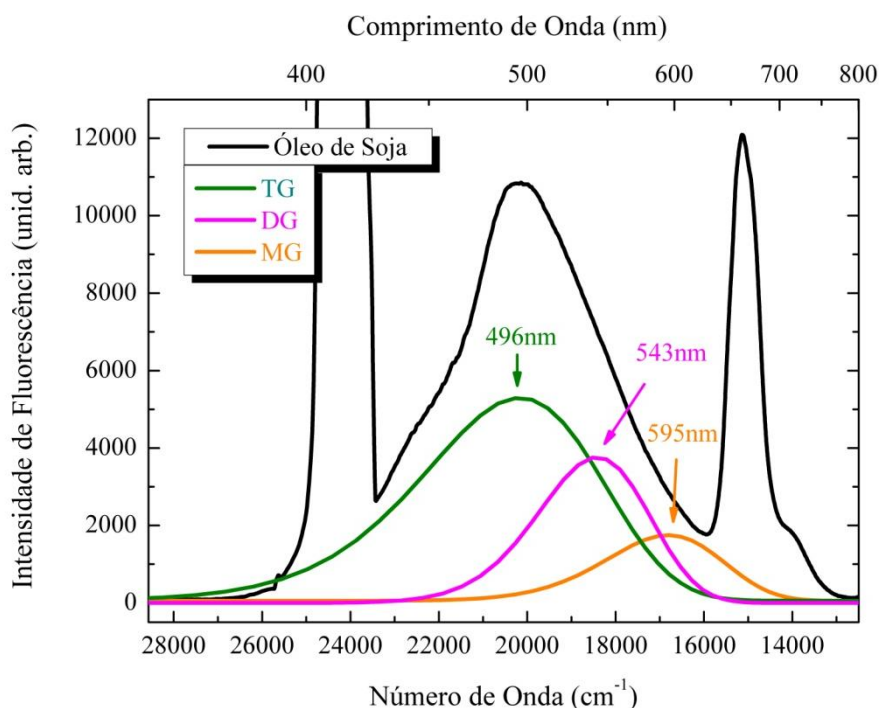
A diferença observada entre as curvas de  $I_{360}$  das partes (a) e (b) indicam que com a fluorescência é possível afirmar quando houve ou não eficiência na reação de transesterificação.

### 4.3. Excitação em 405 nm

A Figura 4.4 mostra a deconvolução do espectro de fluorescência do óleo de soja. Espera-se que esse espectro seja representativo de todas as partes que constituem o óleo de soja, ou seja, tri-, di-, monoglicerídeos e glicerol. Nota-se um bom ajuste com três curvas gaussianas com máximos de emissão localizados em 496 nm, 543 nm e 595 nm, as quais podem indicar as diferentes partes: triglicerídeos (TG), diglicerídeos (DG) e monoglicerídeos (MG). A diferença entre a fluorescência entre esses componentes e outros compostos lipídicos foram apresentadas e discutidas no trabalho de Chen et al. (2011).

Contudo, isso mostra a dificuldade de separar a contribuição das partes usando 405 nm como comprimento de onda de excitação.

O procedimento adotado para analisar estas supostas emissões de TG, DG, MG expostos na Figura 4.4 e também do glicerol total (GL), exposto na Figura 4.2.(b), foi uma normalização baseada na contribuição de todos esses componentes para a fluorescência emitida da solução ao longo da reação de transesterificação.



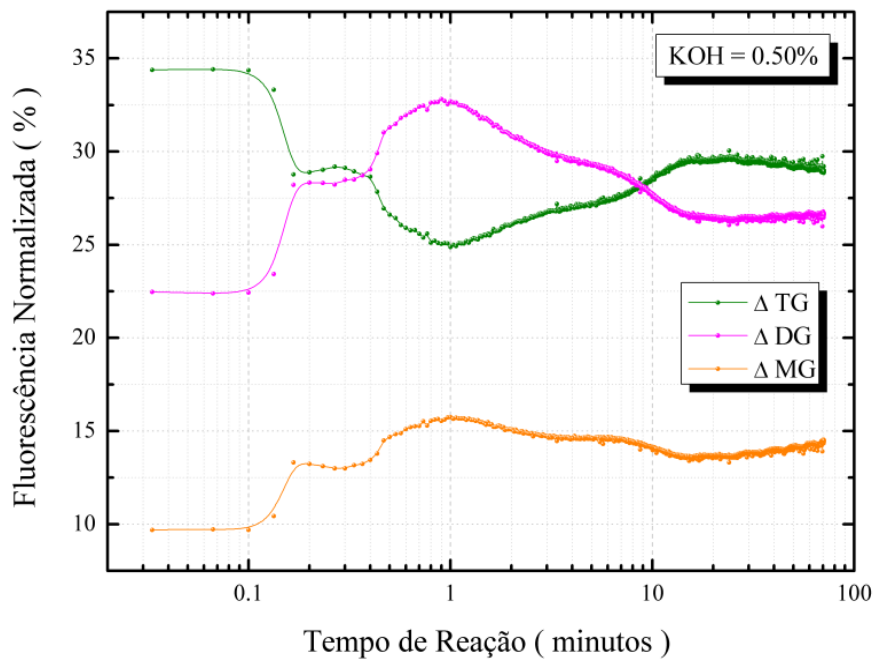
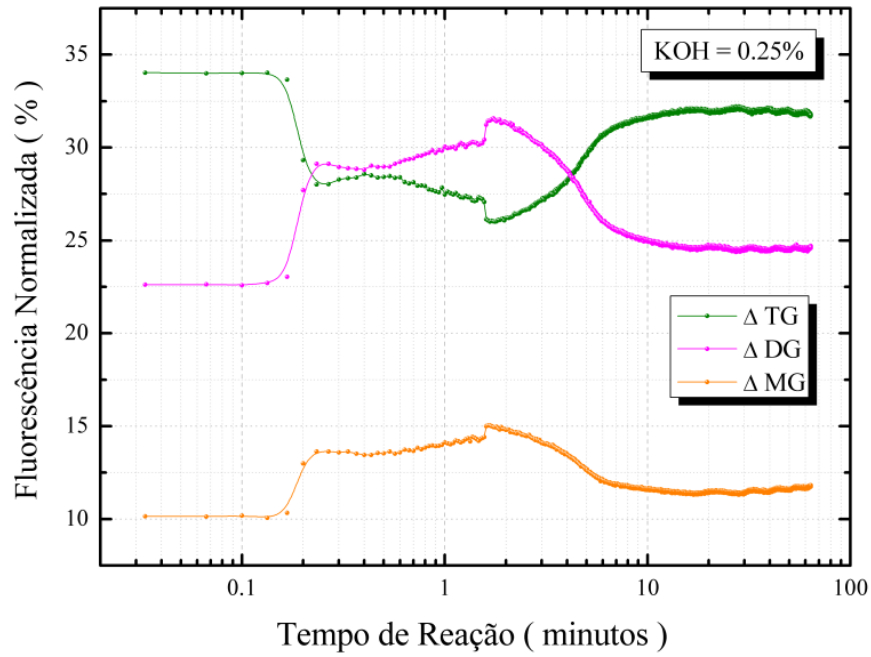
**Figura 4.4.** Deconvolução do espectro de fluorescência do óleo de soja obtido com excitação em 405 nm.

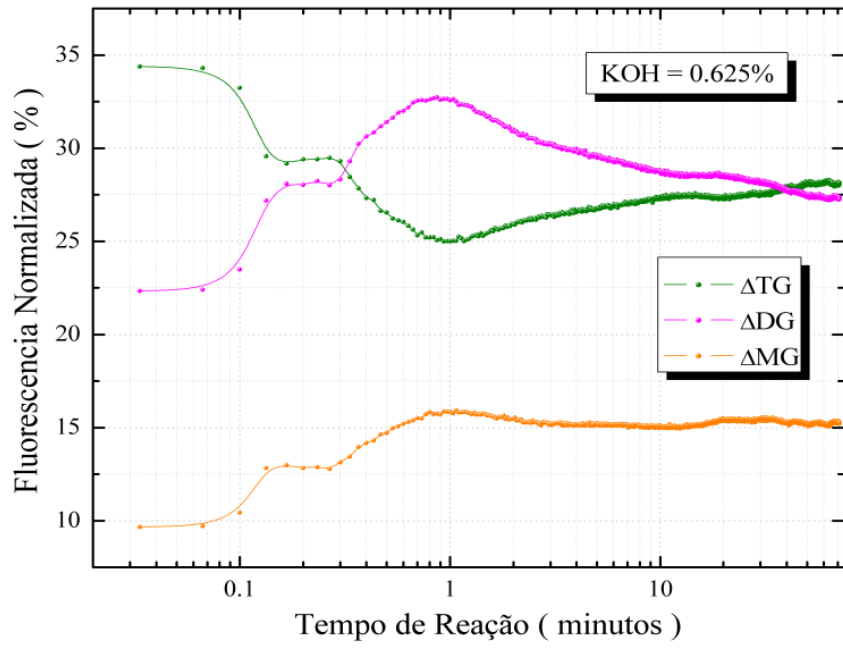
Foram realizados seis monitoramentos distintos com  $\lambda_{exc} = 405$  nm correspondentes as reações #3 à #8 da Tabela 1, variando a quantidade de catalisador, que é um dos fatores que influenciam diretamente a reação de transesterificação (SCHUCHARDT et al., 1998). As Figuras 4.5 (a) à (f) ilustram os comportamentos de TG, DG, MG e GL, obtidos à partir da normalização feita baseado nas emissões das bandas de cada componente, que relaciona todas essas emissões como descrito nas Equações (4.2) à (4.5). Nessa relação consideramos a soma da emissão de cada componente, já que todos eles contribuem com a fluorescência da solução, e atribuímos um percentual de contribuição a cada um deles.

$$SOMA(t) = TG_{496}(t) + DG_{543}(t) + MG_{595}(t) + GL_{503}(t) \quad (4.2)$$

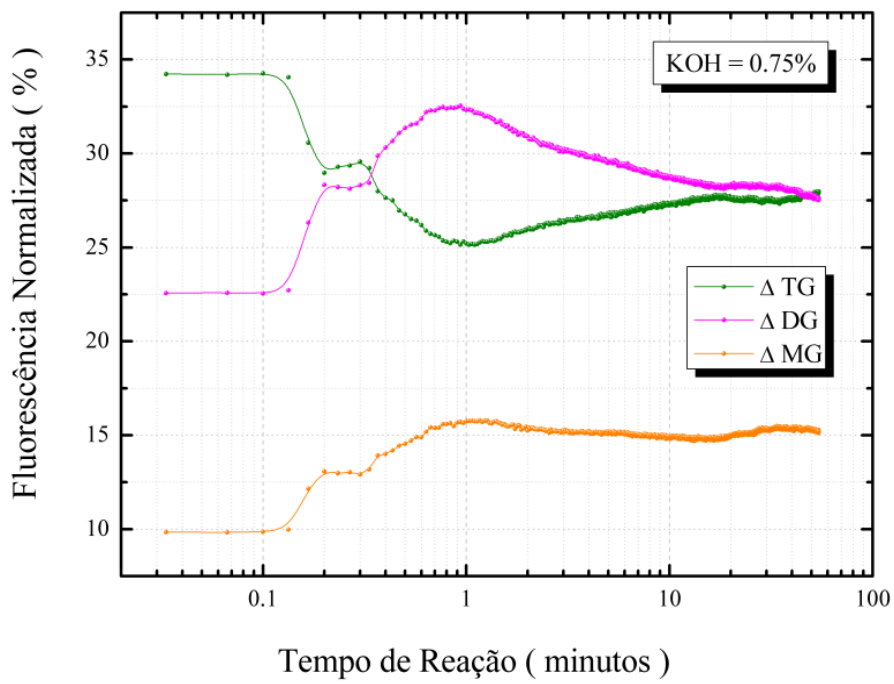
$$\Delta TG(t) = \frac{TG_{496}(t)}{SOMA(t)} \times 100 \% \quad (4.3) \quad \Delta DG(t) = \frac{DG_{543}(t)}{SOMA(t)} \times 100 \% \quad (4.4)$$

$$\Delta MG(t) = \frac{MG_{595}(t)}{SOMA(t)} \times 100 \% \quad (4.5)$$



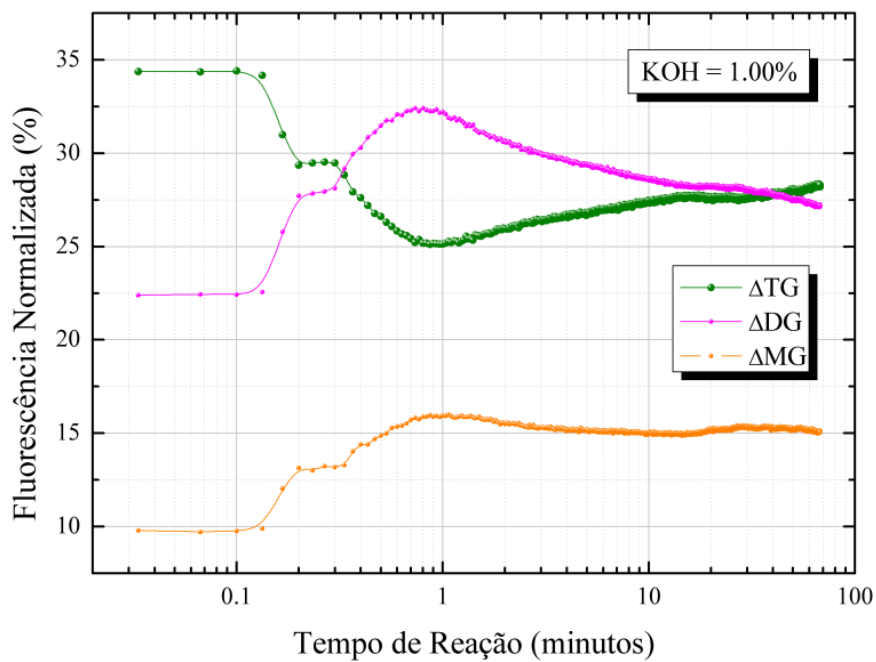


(c)

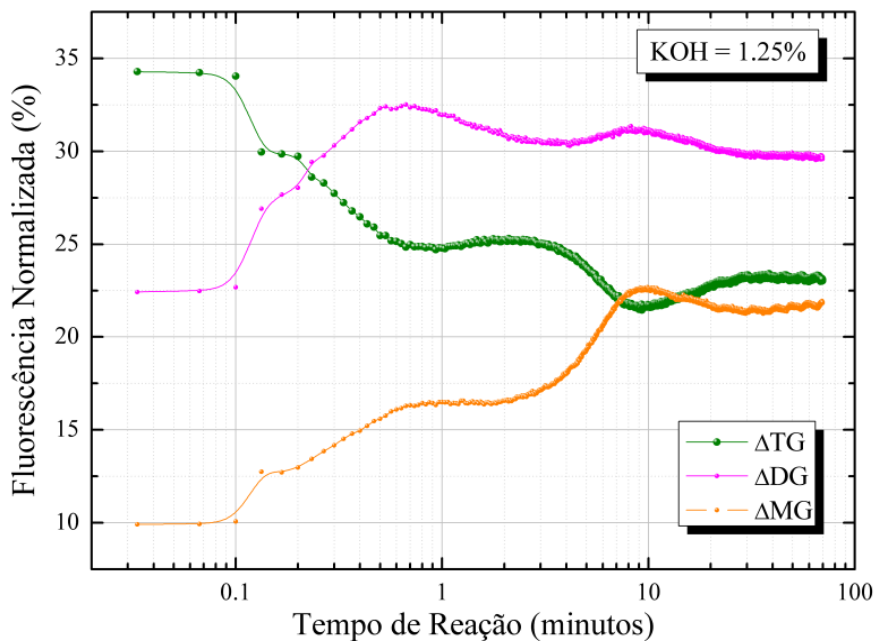


(d)





(e)



(f)

**Figura 4.5.** Fluorescência normalizada dos monitoramentos da (a) reação #3, (b) reação #4, (c) reação #5, (d) reação #6, (e) reação #7e (f) reação #8 da Tabela 1, descrevendo o comportamento de TG, DG e MG para cada reação de transesterificação com diferentes quantidades de catalisador.

Das seis reações, excluindo a reação com 0,25% de catalisador, todas apresentaram o primeiro indicio de formação de ésteres na solução, ou seja, separaram em duas fases após retirado o álcool em excesso da solução, biodiesel e glicerol total.

Nota-se pelos gráficos que todas as curvas apresentam o mesmo comportamento no primeiro minuto de reação, com decaimento de TG e aumento de DG e MG. As curvas da reação com 0,25% de catalisador diferem amplamente das outras no final da reação, como já dito anteriormente. De fato não houve a separação de fases na solução, o que nos indica que a reação não ocorreu, ou que a produção de éster e o subproduto glicerol total foi muito pequena. Provavelmente isso é devido à pouca quantidade de catalisador, já que a função do catalisador é aumentar a velocidade e o rendimento de ésteres na reação de transesterificação (MA & HANNA, 1999). Essa diferença nas curvas obtidas nessa reação com 0,25% de catalisador, indica que a fluorescência da solução no decorrer da reação de transesterificação pode nos dar importantes informações sobre a formação de ésteres na reação.

Outra reação em que as curvas de TG, DG e MG diferem no final da reação das demais reações monitoradas é a reação com 1,25% de catalisador. Nela observamos a separação de fases na solução, porém, já na primeira lavagem houve a formação de sabão quando a solução entrou em contato com a água destilada. Sabendo que altas concentrações de catalisadores alcalinos, podem levar a formação de emulsões (sabões) que reduzem o rendimento de biodiesel, pois complicam a separação do mesmo com o glicerol e o próprio catalisador (GEORGOGIANNI et al., 2008; GEORGOGIANNI et al., 2009), conclui-se que para esse volume de óleo a concentração de KOH foi muito alta, e que a fluorescência da solução pode indicar a possível formação de sabão nessa alta concentração de catalisador. Nas demais reações monitoradas, com 0,50%, 0,625%, 0,75% e 1,00%, houve a separação de fases da solução, e pouca formação de sabão durante as lavagens, o que indica uma considerável produção de ésteres nas mesmas.

Apesar dos resultados obtidos através de monitoramentos de diferentes reações de transesterificação, com diferentes concentrações de catalisador, e o fato da fluorescência nos dar indícios de produção e formação de ésteres, e formação de sabão durante a mesma, o estudo do monitoramento da reação de transesterificação com  $\lambda_{exc} = 405$  nm ainda não pode ser concluído pelo fato de todos os componentes da reação terem emissões de fluorescência intensas nesse  $\lambda_{exc}$ . As regiões selecionadas para as emissões de TG, DG, e MG teriam que ser feitas em padrões desses componentes para obter exatidão sobre as

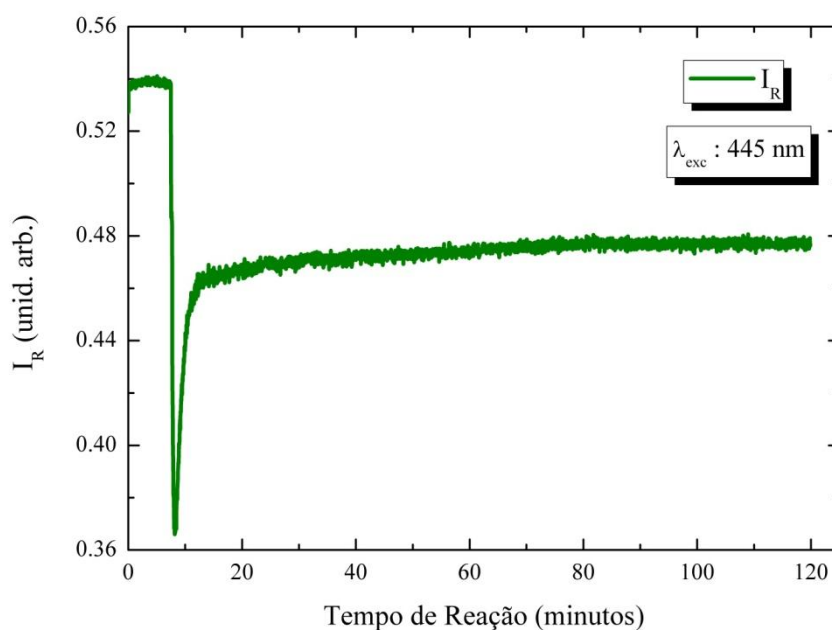
regiões de emissão de cada um desses compostos, o que não foi possível ser feito até o momento.

#### 4.4. Excitação em 445 nm

Uma única reação foi monitorada com esse comprimento de onda de excitação, a reação #9 da Tabela 1. A fim de minimizar efeitos da temperatura e ter uma melhor percepção do comportamento dos componentes que envolvem a reação, as emissões máximas dos espectros de fluorescência do óleo de soja em 512 nm e do glicerol total em 536 nm foram escolhidos por apresentar maior sinal de fluorescência do que o biodiesel e pela sua produção poder ser associada com a produção de éster. Assim, a intensidade relativa para interpretar os dados de fluorescência com excitação em 445 nm foi dada por:

$$I_R(t) = \frac{I_{512\text{ nm}}(t)}{I_{536\text{ nm}}(t) + I_{512\text{ nm}}(t)} \quad (4.6)$$

A Figura 4.6, corresponde a  $I_R$  encontrada a partir da relação entre as emissões em 512 e 536 nm, nos 3600 espectros coletados com a espectroscopia de fluorescência durante a reação #9 da Tabela 1.



**Figura 4.6.**  $I_R$  do monitoramento da reação #9 da Tabela 1.

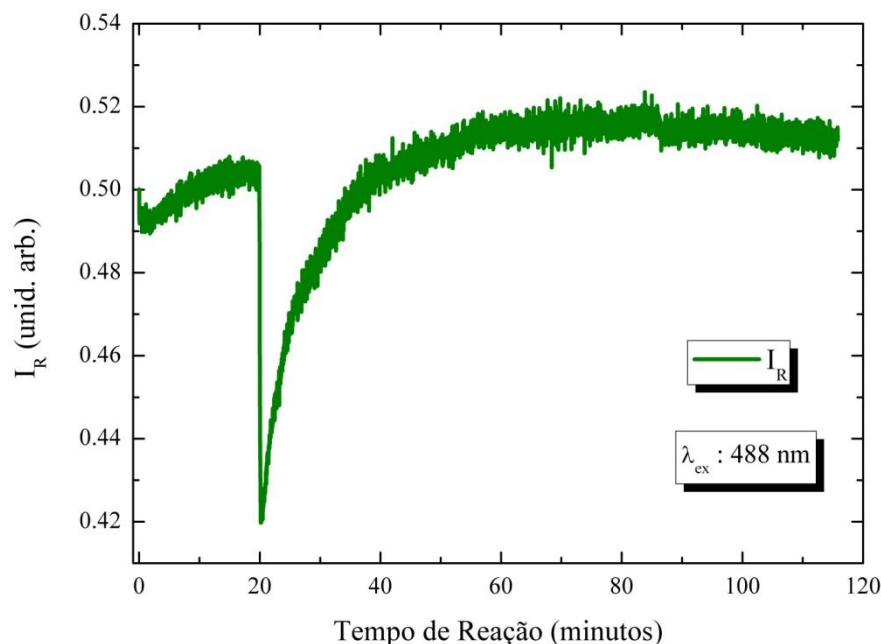
A curva de  $I_R$  não mostra muitas variações, nela pode-se observar o período de aquecimento do óleo, até 8 minutos de reação, o período em que a solução fica turva devido às duas fases distintas formadas pela adição de etóxido de potássio ao óleo, até 8,25 minutos, e o período em que a reação ocorre já com uma solução homogênea, não apresentando variações a olho nu. Na reação em questão a solução separou fases após retirado o álcool em excesso, e também não reagiu com a água destilada das lavagens formando sabões. Outros monitoramentos seriam necessários para compreender quais informações essa curva indica, e também se a metodologia adotada é eficiente.

#### 4.5. Excitação em 488 nm

Como no monitoramento com  $\lambda_{exc} = 445$  nm, o estudo monitorando em  $\lambda_{exc} = 488$  nm também foi feito uma única vez, sendo a correspondente reação #10 da Tabela 1. Também seguindo a mesma metodologia de análise, assim como descrito na Equação 7, as emissões máximas dos espectros de fluorescência do óleo de soja em 545 nm e do glicerol total em 567 nm foram relacionados através da expressão:

$$I_R(t) = \frac{I_{567\text{ nm}}(t)}{I_{545\text{ nm}}(t) + I_{567\text{ nm}}(t)} \quad (7)$$

A Figura 4.7 corresponde a  $I_R$  encontrada a partir da relação entre as emissões em 567 nm e 545 nm, nos 3600 espectros coletados com a espectroscopia de fluorescência durante a reação #10 da Tabela 1. Não considerando o período de aquecimento do óleo entre o tempo zero e aproximadamente 19 minutos e o momento no qual o álcool com o catalisador é inserido no óleo, nota-se pela figura que a  $I_R$  inicialmente aumenta, após o momento de turbidez, e depois mostra uma tendência a decair para tempos longos de transesterificação. Na reação em questão a solução não separou fases após retirado o álcool em excesso, ou seja, não foi observada a produção de éster e conseqüentemente de glicerol total. Assim como nos outros monitoramentos seriam necessárias repetições para compreender quais informações essa curva indica, e também porque a reação não ocorreu.



**Figura 4.7.**  $I_R$  do monitoramento da reação #10 da Tabela 1.

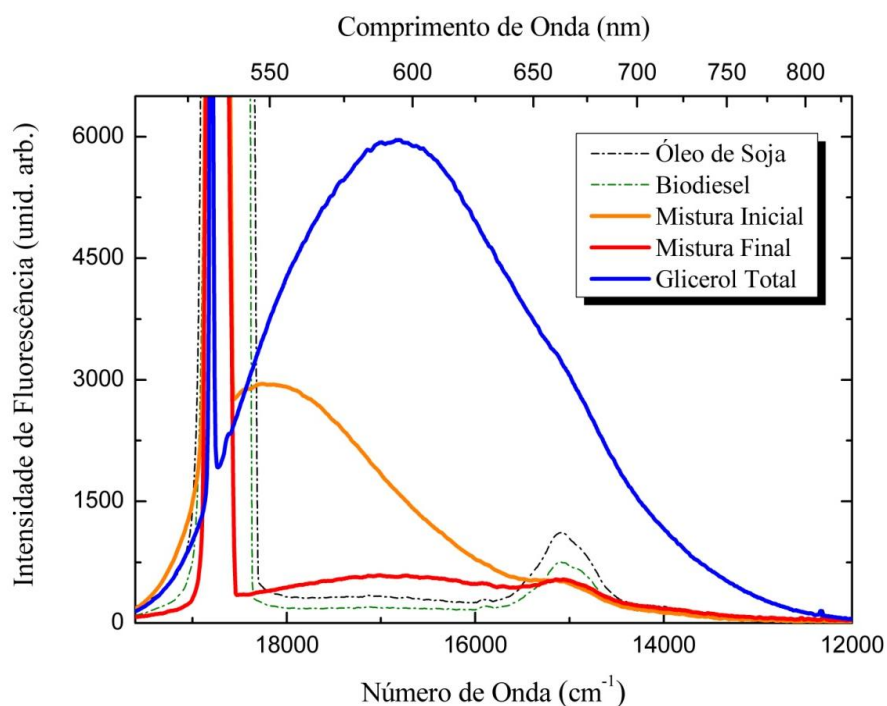
#### 4.6. Excitação em 532 nm e NaOH como Catalisador

Os monitoramentos realizados com  $\lambda_{exc} = 532 \text{ nm}$ , nas mesmas condições dos monitoramentos já expostos nesse capítulo, são apresentados e discutidos no artigo apresentado no capítulo 5 a seguir. Com intuito de avaliar a influência não só da concentração de catalisador, mas também do tipo de catalisador na reação de transesterificação, e se o monitoramento da reação em  $\lambda_{exc} = 532 \text{ nm}$  é eficiente para observar essa influência, uma reação de transesterificação utilizando o óleo de soja como matéria prima, o etanol como álcool reagente e NaOH como catalisador foi monitorada.

Na Figura 4.8 tem-se os espectros de fluorescência do óleo de soja, biodiesel, glicerol total, e espectros de fluorescência denominados mistura inicial e final para a excitação em 532 nm, obtidos a partir das amostras da reação #12. Como mistura inicial entende-se como o primeiro espectro após o período de turbidez (período em que a solução óleo, álcool e catalisador ainda não é homogênea), e mistura final o último espectro obtido no monitoramento, antes de ser retirado da solução o álcool em excesso (momento em que além do álcool, tem-se o biodiesel formado e o glicerol total como uma única solução homogênea). Considerando que no monitoramento com  $\lambda_{exc} = 532 \text{ nm}$  da reação de transesterificação o que se observa é a produção de glicerol total, já que é o componente

com maior intensidade de fluorescência entre os outros, decidiu-se relacionar as emissões em 589 (mistura final) e 550 nm (mistura inicial), de acordo com a equação:

$$I_R(t) = \frac{I_{589 \text{ nm}}(t)}{I_{550 \text{ nm}}(t) + I_{589 \text{ nm}}(t)} \quad (4.8)$$

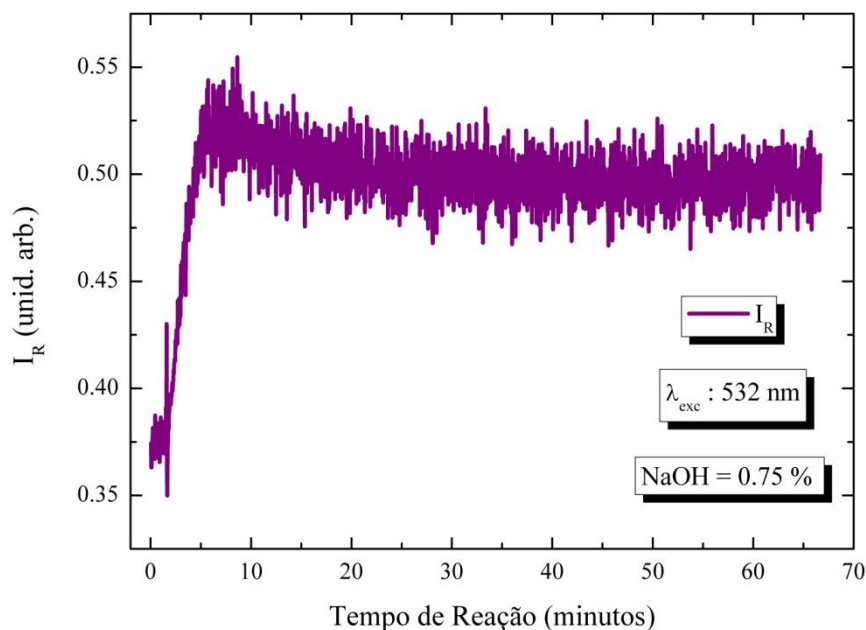


**Figura 4. 8.** Espectros de fluorescência do óleo de soja, biodiesel, misturas inicial e final e glicerol total com  $\lambda_{\text{exc}} = 532 \text{ nm}$ , obtidos na reação #12.

A Figura 4.9 corresponde ao  $I_R$  encontrado a partir da relação entre as emissões em 589 e 550 nm, nos 2250 espectros coletados com a espectroscopia de fluorescência durante a reação #11 da Tabela 1.

A curva de  $I_R$  tem um aumento inicialmente, mas depois decai e se mantém constante, o que mostra que nesse caso não podemos considerar que estamos observando a produção de glicerol total no decorrer da reação como será destacado no artigo. O sinal de fluorescência de ambas as emissões se mantém baixo e semelhante. Nessa reação a solução separou fases depois de retirado o álcool em excesso, e apresentou formação de sabão durante a lavagem com água destilada, o que indica excesso de catalisador, considerando que a massa molar do NaOH é menor do que a do KOH isso é justificado, já que a concentração de 0,75% de catalisador foi sempre estabelecida para reações utilizando o

KOH como catalisador. Portanto, para o monitoramento com  $\lambda_{exc} = 532$  nm, não foram obtidos dados significativos quando NaOH foi utilizado como catalisador.



**Figura 4.9.**  $I_R$  do monitoramento da reação #11 da Tabela 1, utilizando NaOH como catalisador da reação.

#### 4.7. Excitação em 532 nm e Metanol como Álcool

Diferentemente do monitoramento anterior, com o intuito de avaliar a influência não só da concentração e do tipo de catalisador, mas também do tipo de álcool utilizado como reagente na reação de transesterificação, e se o monitoramento da reação em  $\lambda_{exc} = 532$  nm é eficiente para observar essa influência, foi monitorada uma reação de transesterificação utilizando o óleo de soja como matéria prima, o metanol como álcool reagente e KOH como catalisador. Esse monitoramento apresentou alguns problemas que dificultaram a observação da reação.

Devido ao metanol ser mais volátil que o etanol (KNOTHE et al., 2006), mesmo utilizando uma razão molar 20:1 de óleo:metanol, o álcool em excesso evapora muito rápido, provocando a separação de fases logo nos primeiros minutos de reação, o que não viabiliza a percepção do sinal de fluorescência do glicerol total, já que conforme a produção do mesmo aumenta durante a reação, o mesmo vai se depositando ao fundo da solução, pela sua densidade ser maior, separando a solução em duas fases, como ocorre quando o álcool em excesso é retirado da reação. O glicerol total depositado ao fundo do

balão, não dilui mais com o resto da solução, o que para a metodologia de fluorescência que está sendo explorada nesta pesquisa inviabiliza o monitoramento do mesmo.

Outra dificuldade encontrada é devido a alta volatilização do metanol: a solução apresenta pequenas borbulhas no decorrer de toda a reação, semelhantes ao período em que considerou-se como turbidez, na qual o sinal fluorescente é de difícil percepção, pois a mistura fica completamente opaca para a radiação visível usada para a excitação, de maneira que o espalhamento da radiação é significativo fazendo com que a fluorescência seja muito pequena, não sendo possível acompanhar sua variação com precisão.

Por essas razões a metodologia proposta precisa ser aprimorada para monitoramentos com o metanol como álcool reagente.



#### 4.8. Referências

CHEN, W.; SOMMERFELD, M.; HU, Q. Microwave-assisted Nile red method for *in vivo* quantification of neural lipids in microalgae. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 135-141, 2011.

CHIMENEZ, T.A.; MAGALHÃES, K.F.; CAIRES, A.R.L.; OLIVEIRA, S.L. Fluorescence as an Analytical Tool for Assessing the Conversion of oil into biodiesel. **Journal of Fluorescence**, v. 22, p. 1177-1182, 2012.

ELLIS, N.; GUAN, F.; CHEN, T.; POON, C. Monitoring biodiesel production (transesterification) using in situ viscometer. **Chemical Engineering Journal**, v. 138, p. 200-206, 2008.

ELSARK, N. S.; RIZK, L.F.; DOSS, H. R. U. V. spectra parameters to investigate the influences of intensifications of soybean with sorghum and maize on the physical properties of soybean seed oils. **Grasas y Aceites**, v. 44, p. 243-248, 1993.

FANTAS, M.B.; ALBUQUERQUE, A.R.; BARROS, A.K.; FILHO, M.G.R.; FILHO, N.R.A.; SINFRÔNIO, F.S.M.; ROSENHAI, R.; SOLEDADE, L.E.B.; SANTOS, I.M.G.; SOUZA, A.G. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. **Fuel**, v. 90, p. 773-778, 2011.

GEORGOGIANNI, K.G.; POMONIS, P.J.; KONTOMINAS, M.G.; AVLONITIS, D.; GERGIS, V. Alkaline conventional and in situ transesterification of cottonseed oil for the production of biodiesel. **Energy & Fuels**, v. 22, p. 2110-2115, 2008.

GEORGOGIANNI, K.G.; KATSOULIDIS, A.K.; POMONIS, P.J.; MANOS, G.; KONTOMINAS, M.G. Transesterification of rapeseed oil for the production of biodiesel using homogeneous and heterogeneous catalysts. **Fuel Processing Technology**, v. 90, p. 1016-1022, 2009.

KNOTHE, G.; GERPEN, J.V.; KRAHL, J.; RAMOS, L.P. **Manual de Biodiesel**. 1ª ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 2006. 340p.

KONGBONGA, Y.G.M.; GHALIA, H.; ONANA, M.B.; MAJDI, Y.; LAKHDAR, Z.B.; MEZLINI, H.; SEVESTRE-GHALIA, S. Characterization of vegetable oils by fluorescence spectroscopy. **Food and Nutrition Science**, v. 2, p. 692-699, 2011.

KYRIAKIDIS, N.B.; SKARKALIS, P. Fluorescence spectra measurement of olive oil and other vegetable oils. *Journal of AOAC International*, v. 83, p. 1435-1439, 2000.

LAKOWICZ, J. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3ª Ed. Singapura: Editora Springer, 2006. 960p.

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

SCHUCHARDT, U.L.F.; SERCHELI, R.; VARGAS, R.M. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian chemical society**, v. 9, p. 199-210, 1998.

VENTURA, M.; SIMIONATTO, E.; ANDRADE, L.H.C.; SIMIONATTO, E.L.; RIVA, D.; LIMA S.M. The use of thermal lens spectroscopy to asses oil-biodiesel blends. **Fuel**, v. 103, p. 506-511, 2013.

## CAPÍTULO 5

### **On-line in situ monitoring of the soybean oil and ethanol transesterification reaction by fluorescence spectroscopy<sup>1</sup>**

T. Izida, L. Bussler, J.R. Silva, L.H.C. Andrade, and S.M. Lima\*

*Grupo de Espectroscopia Óptica e Fototérmica, Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, CP 351, Dourados, MS, Brazil*

The transesterification reaction is globally the most widely used methodology for the production of biodiesel. Monitoring of the transesterification reaction in real time can help to optimize experimental parameters in order to maximize yields while minimizing the costs of biodiesel production. In this work, fluorescence spectroscopy was used for the on-line in situ monitoring of the transesterification reaction of soybean oil with ethanol. An excitation wavelength at 532 nm was used, and the results indicated that this energy pump excited the total glycerol byproduct, which is associated with the production of alkyl esters. The methodology used was able to optimize the production process, enabling determination of the best time to stop the reaction.

Keywords: Fluorescence; biodiesel; transesterification kinetics; total glycerol; reaction monitoring.

---

<sup>1</sup> Artigo submetido ao periódico *Fuel*, o qual tem estrato Qualis A1 na CAPES para a área Interdisciplinar e possui Fator de Impacto 3,357 (ano base 2012).

## 1. Introduction

The importance of biodiesel as an alternative energy source is well known. Renewable feedstocks such as vegetable oils or animal fats make biodiesel a promising substitute for mineral diesel. Globally, the main chemical process used to produce biodiesel is the transesterification reaction (Meher et al., 2006; Ma and Hanna, 1999). This consists of reacting lipids (vegetable oil or animal fat), which are essentially composed of triglycerides (TG), with a short chain alcohol (such as ethanol) in the presence of a catalyst (basic, acidic, or enzymatic). The reaction results in a blend of alkyl esters of fatty acids (biodiesel), together with glycerol, which is a reaction byproduct. The complete reaction can occur within minutes, depending on the conditions used, and proceeds in three reversible steps: conversion from TG to diglycerides (DG); DG to monoglycerides (MG); and MG to glycerol. In all stages, there is production of esters.

Understanding the reaction kinetics of biodiesel production is not straightforward, mainly because the process is highly dependent on various experimental factors, including the type of catalyst, alcohol/oil molar ratio, reactant purity, temperature, and time of reaction (Meher et al., 2006; Ma and Hanna, 1999). For this reason, tracking of the transesterification reaction in real time has attracted research interest in the last few years. A good understanding of the reaction can help in the optimization of experimental parameters, leading to improved biodiesel yields and lower production costs.

The main analytical procedures used to monitor and quantify the concentrations of the compounds involved in the transesterification reaction include chromatography and/or spectroscopic methods (Knothe, 2006). Gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID) (Freedman et al., 1986) and high performance liquid chromatography (HPLC) (Noureddini and Zhu, 1997; Holcafeck et al., 1999) have been the most widely

used methods to monitor the transesterification reaction, due to their high precision for the quantification of minor components. However, these techniques are not suitable for on-line in situ monitoring of the reactions. Spectroscopic techniques such as near-infrared spectroscopy (NIRS) (Richard et al., 2011; Pinzi et al., 2012; Killner et al., 2011) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) (Trevisan et al., 2008) appear to be more appropriate, since they are sufficiently fast for the transesterification reaction and do not require the collection of samples for further analyses. There have also been studies that have used other techniques to monitor the reaction, involving the observation of different physical, dielectric, optical, and chemical parameters (Boni and Silva, 2011; Koc, 2009; Campos et al., 2014; Clark et al., 2013; Ellis et al., 2008).

Fluorescence spectroscopy has recently been presented as a tool for assessing the conversion of oil into biodiesel (Chimenez et al., 2012). It was found that for a variety of different vegetable oils, the best excitation wavelength for generation of intense oil and biodiesel fluorescence signals was in the UV region (~358 nm). It was also observed that the biodiesel fluorescence spectra were smaller by ~40%, compared to the oil spectra, while maintaining the same peak positions. The glycerin extracted from the reactions showed fluorescence equivalent to only ~10% of the total luminescence of the oil. These large differences observed in the fluorescence spectra of biodiesel, oil, and glycerin could potentially be exploited in the development of new spectroscopic methodologies.

Considering Brazil's potential for biodiesel production from soybean oil and ethanol, as well as the importance of developing new methodologies to monitor the biodiesel production process, in this work fluorescence spectroscopy was used for on-line in situ monitoring of the transesterification reaction employing soybean oil and ethanol. A broad and intense fluorescence response was obtained for excitation wavelength at 532 nm.

The fluorescence time dependence suggests that the methodology can be used to monitor the production of total glycerol byproduct, which is related to the ester production.

## 2. Materials and Method

Biodiesel was prepared by transesterification using the ethylic route, with potassium hydroxide (KOH) from Vetec (85%) as the catalyst. The ethanol/oil molar ratio used in the reaction was 20:1, corresponding to a 1:1 ratio of the volumes of oil and ethanol, and the total volume was 200 mL. KOH was dissolved in absolute ethanol from Vetec (99.8%) and then added to refined soybean oil (Sadia<sup>®</sup>) pre-heated at 60 °C. The solution was agitated for 100 min using a magnetic stirrer at 600 rpm. After the transesterification, the sample was distilled in a rotary evaporator at low pressure to remove the excess of ethanol. The sample was then left to stand for 24 h at room temperature for phase separation of the raw biodiesel and total glycerol.

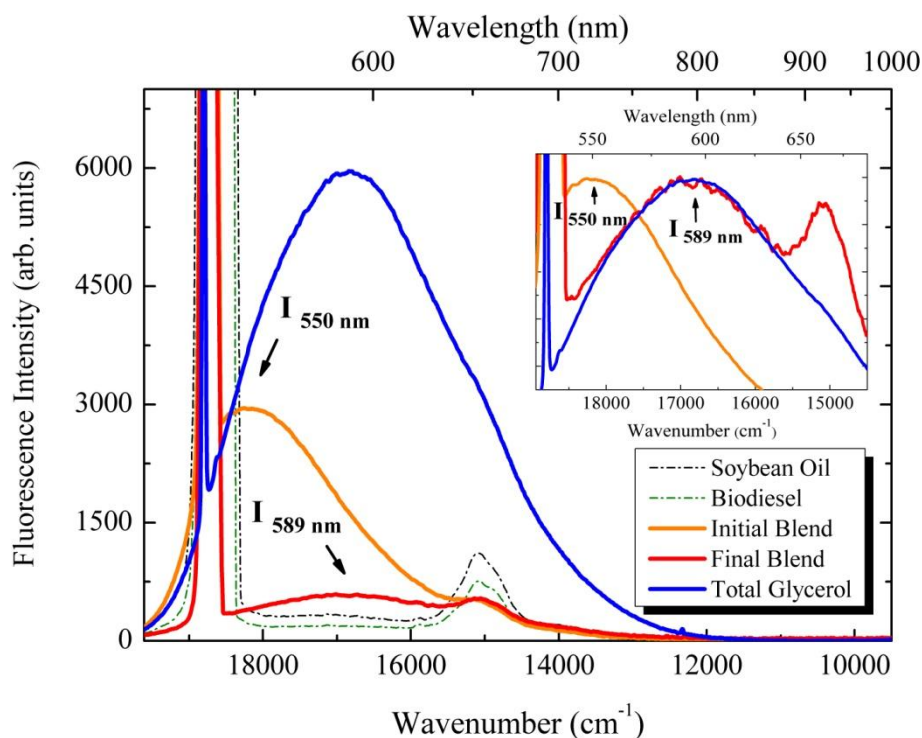
The transesterification reactions were monitored on-line in situ during approximately 100 min, and fluorescence spectra in the visible region were collected every 2 s. The solution was irradiated at 532 nm using an excitation power of 37 mW. The fluorescence signal was transmitted through an optical fiber to a portable spectrometer (Model HR4000, Ocean Optics). The spectra were recorded using SpectraSuite software (Ocean Optics), for subsequent analysis. The monitoring was developed in three reactions with different catalyst mass: 0.89, 0.66 and 0.44g (reactions #1, #2 and #3, respectively). These masses correspond to 1.00, 0.75 and 0.50% with respect to the oil mass.

### 3. Results and discussion

Fig. 1 shows the fluorescence spectra for soybean oil, biodiesel, total glycerol, initial and final blends of oil, and potassium ethoxide. In this work, the term “initial blend” refers to the spectrum obtained after the heated soybean oil and potassium ethoxide became homogeneous (oil + ethoxide solution), immediately after the end of the known turbidity period, which lasted approximately 15 s. The term “final blend” refers to the last spectrum obtained at the end of the reaction, after 100 min. Total glycerol is the densest solution obtained from the blend decantation, containing catalyst residues and glyceride compounds derived from the reaction. The biodiesel fraction corresponds to the products free from total glycerol, after repeated washing procedures. The straight line at around  $18870\text{ cm}^{-1}$  ( $\sim 530\text{ nm}$ ) in all the spectra corresponded to elastic laser line scattering, and the emission band at around  $17000\text{ cm}^{-1}$  ( $\sim 670\text{ nm}$ ), which was most pronounced for soybean oil and biodiesel, was due to chlorophyll (Kongbonga et al., 2011).

All the spectra were obtained under the same experimental conditions so that their intensities could be compared. It is interesting to note that the fluorescence intensity for total glycerol was significantly higher than the intensities for soybean oil, the initial and final blends, and biodiesel. In addition, total glycerol produced the broadest of all the spectra, and exhibited a red shift of the maximum emission when compared to the “initial blend” spectrum, as can be observed in the Fig. 1 inset, where the spectra were normalized in order to facilitate visual inspection. It can be seen that the “final blend” spectrum was directly related to the spectrum for total glycerol, with both showing a broad band with a maximum at  $16978\text{ cm}^{-1}$  ( $589\text{ nm}$ ). This observation, together with the red shift of 39 nm with respect to the position of the maximum for the “initial blend” (at 550 nm), indicated that the fluorescence spectrum obtained by exciting at 532 nm could provide a measure of

catalyst consumption and, consequently, the total glycerol production during the transesterification reaction. On this basis, the emission intensities at 550 and 589 nm was selected in order to monitor the transesterification reaction.



**Fig. 2.** Fluorescence spectra for soybean oil, biodiesel, initial and final blends, and total glycerol obtained with excitation at 532 nm and power of 37 mW. The inset shows the normalized fluorescence spectra for comparison of the maximum intensities observed for total glycerol and the initial and final blends.

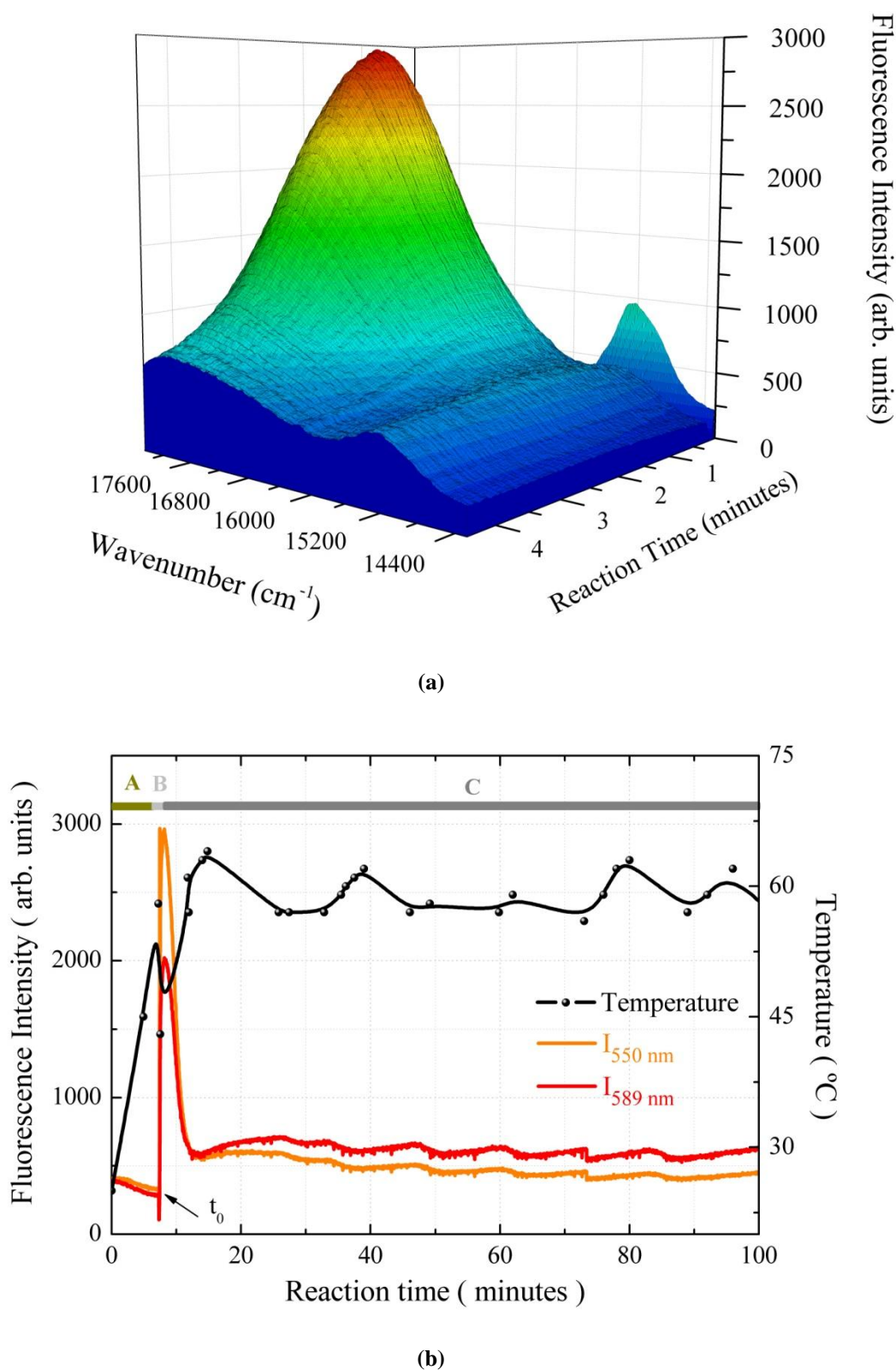
Fluorescence spectroscopy was performed on-line in situ during the transesterification reaction, retrieving spectra every 2 s from the moment that the oil was heated until the end of the reaction. Fig. 2(a) shows the fluorescence spectra obtained during reaction #1, as a function of time, for the first 4 min. In this figure, the first spectrum (time zero) corresponds to the “initial blend” spectrum shown in Fig. 1. It can be noted that the fluorescence intensity decreased rapidly in this time period, which is an indicative of changes in physical, chemical, and optical properties, such as pH (Clark et al., 2013), viscosity (Ellis et al., 2008), refractive index (Boni and Silva, 2011), and the consumption of catalyst (Mendow et al., 2011), as expected for the transesterification



reaction. It is well known that in these first minutes there is an intense production of ester and total glycerol.

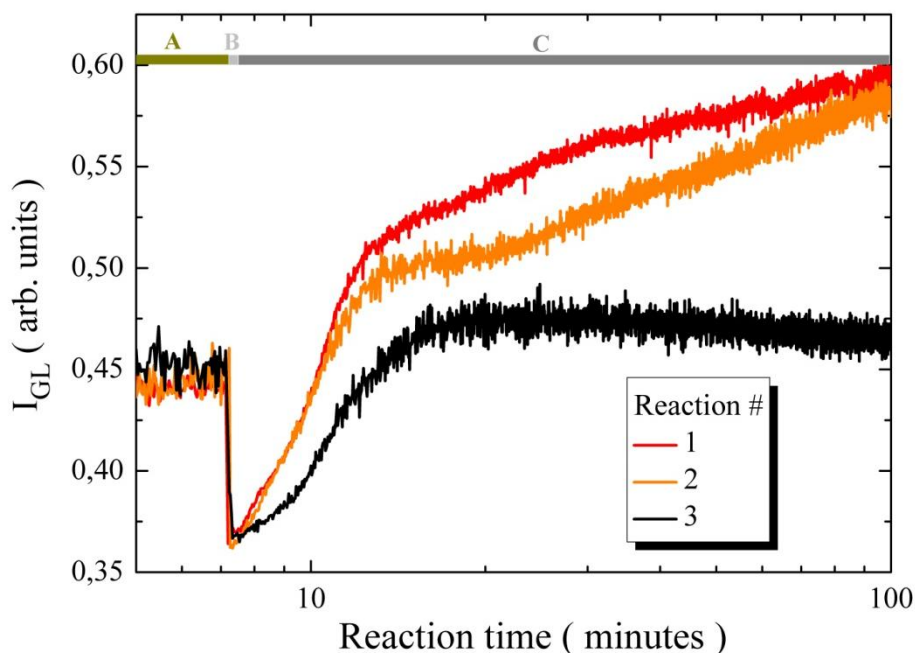
Fig. 2(b) shows the emission intensities at 550 and 589 nm ( $I_{550\text{nm}}$  and  $I_{589\text{nm}}$ , respectively), as a function of reaction time, together with the behavior of the temperature during the reaction. The three stages of the reaction are indicated: A) the oil was heated from room temperature to 60 °C; B) potassium ethoxide was added to the heated oil, at which point the solution became turbid; and C) the post-turbid period, when the fluorescence intensity was considered to provide information on the production of total glycerol. During period A, there were small decreases in the emission intensities that accompanied the increase in the oil temperature from room temperature to 55 °C. No measurements were considered during the period of turbidity (stage B), because the blend became opaque to visible radiation, so that light scattering significantly affected the fluorescence signal. During period C, the observed oscillations in the emission intensities during the reaction were reflected in the behavior of the temperature, as shown in the figure. In order to better visualize the production of total glycerol by the fluorescence signal, the relative intensity at  $I_{589\text{nm}}$  ( $I_{GL}$ ) was determined by:

$$I_{GL}(t) = \frac{I_{589\text{nm}}(t)}{I_{589\text{nm}}(t) + I_{550\text{nm}}(t)} \quad (1)$$



**Fig. 2.** (a) Fluorescence spectra as a function of the transesterification time for reaction #1. (b) Fluorescence intensities at 550 and 589 nm (indicated as  $I_{550 \text{ nm}}$  and  $I_{589 \text{ nm}}$ ) and temperature, as a function of the transesterification time.

Fig. 3 shows the curves obtained for  $I_{GL}$ , for the three reactions developed. In the case of reaction #1, which employed a high concentration of KOH,  $I_{GL}$  rapidly increased in the first few minutes, reflecting the consumption of catalyst during the reaction (Mendow et al., 2011). There was then a slow increase in  $I_{GL}$ , until the maximum value (~0.6) reached between 80 and 90 min. This saturation in the  $I_{GL}$  value provided an indication that the transesterification reaction was ending, and could therefore be interrupted. In order to explore the influence of catalyst concentration on the reaction kinetics, reaction #2 was performed using a KOH concentration 25% lower than employed in reaction #1. The  $I_{GL}$  curve obtained showed that there was a very fast initial increase, as observed for reaction #1, after which the reaction was slower, reaching a maximum  $I_{GL}$  value (~0.58) after 100 min. This behavior indicated that the transesterification was influenced by the amount of catalyst, but that the reaction kinetics was slow due to the low concentrations employed. Since the mass of oil used in both reactions was the same, the concentrations of total glycerol produced were also expected to be the same. In fact, the  $I_{GL}$  values obtained at the end of reactions #1 and #2 were almost identical. In reaction #3, the same ethanol/oil ratio was maintained and the amount of KOH was reduced to 50% of the amount used in reaction #1. In this case, the reaction kinetics did not increase rapidly in the first few minutes, when compared to reactions #1 and #2. After around 10 min of reaction,  $I_{GL}$  reached a maximum value of 0.47, which remained almost constant until the end of the reaction. Since  $I_{GL}$  was directly related to the production of total glycerol (and, consequently, to ester production), it was expected that biodiesel would not be produced in this case. This was confirmed by the fact that after distillation of the solution, there was no phase separation of the blend, indicating that the small mass of catalyst used in the reaction was insufficient to produce esters.



**Fig. 3.** Normalized fluorescence signal proportional to the total glycerol,  $I_{GL}(t)$  from Eq. (1), as a function of the transesterification time, for the reactions #1, #2 and #3.

## 4. Conclusions

The results showed that it is possible to assess total glycerol production during transesterification reactions by observing the fluorescence spectra. When an excitation wavelength of 532 nm is used, the fluorescence of total glycerol is significantly more intense than that of oil or biodiesel, so it can be used to monitor the reaction. The on-line in situ observation of total glycerol enables identification of the exact moment that the reaction can be stopped, optimizing the production process, and consequently reducing costs. The methodology employed can also provide information on the effectiveness of the reaction.

## Acknowledgments

The authors thank PETROBRÁS, CAPES, FINEP, and CNPq for their financial support.

## **.References**

Boni, L.A.B., Silva, I.N.L., 2011. Monitoring the transesterification reaction with laser spectroscopy. *Fuel Process. Technol.* 92(5), 1001-1005. doi: [10.1016/j.fuproc.2010.12.022](https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2010.12.022)

Campos, D.C. et al., 2014. Investigation of dielectric properties of the reaction mixture during the acid-catalyzed transesterification of Brazil nut oil for biodiesel production. *Fuel* 117(b), 957-965. doi: [10.1016/j.fuel.2013.10.037](https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.10.037)

Chimenez, T.A. et al., 2012. Fluorescence as an analytical tool for assessing the conversion of oil into biodiesel. *J. Fluoresc.* 22, 1177-1182. doi: [10.1007/s10895-012-1057-x](https://doi.org/10.1007/s10895-012-1057-x)

Clark, W.M. et al., 2013. Biodiesel transesterification kinetics monitored by pH measurement. *Bioresour. Technol.* 136, 771-774. doi: [10.1016/j.biortech.2013.03.089](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.089)

Ellis, N. et al., 2008. Monitoring biodiesel production (transesterification) using in situ viscometer. *Chem. Eng. J.* 138(1-3), 200-206. doi: [10.1016/j.cej.2007.06.034](https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.06.034)

Freedman, B. et al., 1986. Transesterification kinetics of soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 63(10), 1375-1380.

Holcafeck, M. et al., 1999. Analytical monitoring of the production of biodiesel by high-performance liquid chromatography with various detection methods. *J. Chrom. A.* 858, 13-31. doi: [10.1016/S0021-9673\(99\)00790-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00790-6)

Killner, M.H.M. et al., 2011. A PLS regression mode using NIR spectroscopy for on-line monitoring of the biodiesel production reaction. *Fuel* 90, 3268-3273. doi: [10.1016/j.fuel.2011.06.025](https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.06.025)

Knothe, G., 2006. Analyzing biodiesel: standards and other methods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 83(10), 823-833.

Koc, A.B., 2009. Ultrasonic monitoring of glycerol settling during transesterification of soybean oil. *Bioresour. Technol.* 100(1), 19-24. doi: [10.1016/j.biortech.2008.05.037](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.037)

Kongbonga, Y.G.M. et al., 2011. Characterization of vegetable oils by fluorescence spectroscopy. *Food Nutr. Sci.* 2, 692-699. doi: [10.4236/fns.2011.27095](https://doi.org/10.4236/fns.2011.27095)

Ma, F., Hanna, M., 1999. Biodiesel production: a review. *Bioresour. Technol.* 70, 1-15.

Meher, L.C. et al, 2006. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. *Renew. Sust. Energy Rev.* 10, 248-268. doi: [10.1016/j.rser.2004.09.002](https://doi.org/10.1016/j.rser.2004.09.002)

Mendow, G. et al., 2011. Ethyl ester production by homogeneous alkaline transesterification: influence of the catalyst. *Bioresour. Technol.* 102(11), 6385-6391. doi: [10.1016/j.biortech.2011.01.072](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.072)

Mendow, G. et al., 2011. Biodiesel production by two-stage transesterification with ethanol. *Bioresour. Technol.* 102(22), 10407-10413. doi: [10.1016/j.biortech.2011.08.052](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.052)

Noureddini, H., Zhu, D., 1997. Kinetics of transesterification of soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74(11), 1457-1463.

Pinzi, S. et al., 2012. Near infrared reflectance spectroscopy and multivariate analysis to monitor reaction products during biodiesel production. *Fuel* 92(1), 354-359. doi: [10.1016/j.fuel.2011.07.006](https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.07.006)

Richard, R. et al., 2011. On-line monitoring of the transesterification reaction between triglycerides and ethanol using near infrared spectroscopy combined with gas

chromatography. *Bioresour. Technol.* 102(12), 6702-6709. doi:  
10.1016/j.biortech.2011.03.111

Trevisan, M.G. et al., 2008. Evolving factor analysis-based method for correcting monitoring delay in different batch runs for use with PLS: On-line monitoring of a transesterification reaction by ATR-FTIR. *Talanta* 74(4), 971-976. doi:  
10.1016/j.talanta.2007.08.004

## CAPÍTULO 6

### Conclusões e Perspectivas Futuras

De acordo com os resultados obtidos, é possível afirmar que a espectroscopia de fluorescência é uma técnica que tem potencial para estudos com biodiesel, e pode ser utilizada como ferramenta para analisar a reação de transesterificação *in situ* e *on-line*.

Excitando a solução óleo de soja + etanol + hidróxido de potássio com comprimento de onda de excitação de 532 nm, é possível avaliar a produção de glicerol total observando os espectros de fluorescência durante a reação de transesterificação. Com esse comprimento de onda de excitação, a fluorescência do glicerol total é significativamente mais intensa que do biodiesel e apropriada para monitorar a reação. Além disso, a observação *in situ* e *on line* da produção de glicerol total torna possível conhecer o exato momento onde a reação pode ser interrompida, pois atinge a produção máxima. A presente metodologia para caracterização de biodiesel pode otimizar o processo de produção, e contribuir para reduzir custo em processos industriais, além de auxiliar futuras pesquisas com biodiesel e outras reações químicas.

Pretende-se no futuro explorar outros comprimentos de onda de excitação, encontrando metodologias que possam caracterizar não só o glicerol total, mas os demais compostos que envolvem a transesterificação, e em conjunto elaborar modelos para análises quantitativas destes no decorrer da reação.