



Avaliação do efeito solvatocrômico do corante ditizona no método colorimétrico para determinação do teor de metanol em etanol combustível

**Isadora Cavalcanti Bava
Jessica dos Santos Lima**

Projeto de Final de Curso

Orientadores:

**Rafael Cavalcante dos Santos, M.Sc.
Débora França de Andrade, D.Sc.
Luiz Antonio d'Avila, D.Sc.**

Janeiro de 2023

Avaliação do efeito solvatocrômico do corante ditizona no método colorimétrico para determinação do teor de metanol em etanol combustível

Isadora Cavalcanti Bava

Jessica dos Santos Lima

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Químico Industrial e Engenheiro de Bioprocessos.

Aprovado por:

Tatiana Félix Ferreira., D.Sc.

Tammy Caroline Lima de Jesus, M.Sc.

Donato Alexandre Gomes Aranda, D.Sc.

Orientado por:

Rafael Cavalcante dos Santos, M.Sc.

Débora França de Andrade, D.Sc.

Luiz Antonio d'Avila, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Janeiro de 2023

Bava, Isadora C., Lima, Jessica S.

Avaliação do efeito solvatocrômico da ditizona no método colorimétrico para determinação do teor de metanol em etanol combustível / Isadora Cavalcanti Bava e Jessica dos Santos Lima. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2023.

xvii, 92 p.; il.

(Monografia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2023.

Orientadores: Rafael Cavalcante dos Santos e Débora França de Andrade e Luiz Antonio d'Avila.

1. Adulteração. 2. Corante Solvatocrômico 3. Cromatografia Gasosa. 4. Metanol. 5. Etanol. 6. Ditizona. 7. Monografia. (Graduação – UFRJ/EQ). 8. Rafael Cavalcante dos Santos e Débora França de Andrade e Luiz Antonio d'Avila. I. Avaliação do efeito solvatocrômico da ditizona no método colorimétrico para determinação do teor de metanol em etanol combustível

AGRADECIMENTOS

Agradecimento mútuo pela parceria que foi fundamental para que nossos caminhos chegassem nesse momento e na construção desse trabalho.

Aos nossos pais, Carmina, Eduardo, Maria Luíza, André e Maurício, que nos incentivaram nos nossos estudos e nos dias em que parecia que não seria possível chegar até aqui. Sempre oferecendo conselhos e abraços que nos deram forças para seguir.

À minha irmã Letícia, e meus irmão Cristiano e Matheus, que sempre foram pessoas fundamentais quando precisei de apoio, uma palavra de conforto e que sempre acreditaram em mim.

À minha irmã Manuela, meu irmão Domenico, minhas avós Simone e Maria Izabel, e meu companheiro de vida Gabriel, que sempre estiveram ao meu lado dando todo o suporte e amor, sendo fundamentais para meu desenvolvimento.

Aos nossos amigos de faculdade e de vida, em especial, Emanuelle Rodrigues, Yasmin Aguiar, Pedro Brito, Eduarda Cabral, Letícia Lobo, Allyne Beltrão e Rafaela Albano que nos ouviram quando precisamos, ofereceram incentivos, parceria e motivação. Vocês são partes importantes da nossa conquista e da nossa trajetória.

Aos nossos orientadores, Cristiane Gimenes, Débora Andrade, Rafael Cavalcanti e Luiz Antonio d'Avila, por todo conhecimento que agregaram na nossa formação, toda cobrança que fez com que nosso trabalho desse certo mesmo com todos os problemas que houve no percurso. Nosso muito obrigada pela paciência, pela compreensão e pelo apoio.

Aos companheiros dos laboratórios LaDMAC-IQ/UFRJ e LABCOM-EQ/UFRJ em especial, Renan Muniz, Daniel Cozenday, Karina, Guilherme, Vanessa, Pamella, Daniel, Livia, Carol e Felipe por cada contribuição e sugestão a este trabalho, além de todas as conversas e risadas compartilhadas durante nossos cafés.

À todos os professores que se dedicaram a nos ensinar e nos desenvolver, que contribuíram para que nos tornássemos profissionais e seres humanos melhores.

À todos que participaram de forma direta ou indiretamente deste trabalho.

Resumo do Projeto de Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Químico Industrial e Engenheiro de Bioprocessos.

**AVALIAÇÃO DO EFEITO SOLVATOCRÔMICO DO CORANTE DITIZONA
NO MÉTODO COLORIMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR
DE METANOL EM ETANOL COMBUSTÍVEL**

Isadora Cavalcanti Bava

Jessica dos Santos Lima

Janeiro, 2023

Orientadores: Débora França de Andrade, D.Sc.; Rafael Cavalcante dos Santos, M.Sc.; Luiz Antonio d'Avila, D.Sc.

As consequências ambientais geradas pelo uso de combustíveis fósseis, atreladas à crise mundial do petróleo, fomentaram a demanda por fontes alternativas de energia, como os biocombustíveis. No Brasil, o etanol é o biocombustível mais utilizado pela população. No entanto, atualmente o etanol combustível vem sendo adulterado de forma fraudulenta com metanol, um álcool com alta toxicidade, causando danos aos consumidores. Uma das dificuldades de detectar essa adulteração é a semelhança físico-química entre esses dois álcoois, como por exemplo a densidade, que é muito semelhante para ambos, sendo aproximadamente $0,79 \text{ g/cm}^3$. Dessa forma, torna-se praticamente impossível identificar uma mistura desses álcoois por meio da análise de densidade, usualmente utilizada em postos de gasolina. A Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), a partir da Resolução nº 19, de 2015, estabelece que o teor máximo de metanol em etanol combustível não deve ser superior a 0,5%, em volume. Com a edição da Resolução ANP nº 696, de 31/08/2017, retificada em 03/10/2017, tornou-se obrigatória a análise do teor de metanol no etanol combustível pelos fornecedores de etanol combustível e distribuidores de combustíveis líquidos, visando coibir o uso do metanol como adulterador do etanol. Atualmente, o método de referência para a determinação de metanol em etanol é baseado na técnica de cromatografia em fase gasosa, NBR 16041/2015 (ANP, 2015). Um método alternativo por cromatografia líquida de alta eficiência foi desenvolvido (DIAS *et al.*, 2020) mas ambos requerem equipamentos utilizáveis em laboratório. Neste contexto, o objetivo principal deste projeto foi avaliar o emprego do corante solvatocrômico ditizona, mediante a utilização de

processamento de imagens digitais de testes colorimétricos, para a determinação de metanol em etanol combustível. Após a preparação das amostras, as mesmas foram colocadas em uma cubeta de vidro, numa câmara fotográfica com iluminação controlada, fotografadas por *smartphones* e as imagens tratadas através do software ImageJ, para análise das componentes de cor, no padrão RGB (*Red*, *Green* e *Blue*). Foi possível observar que o canal que apresentou melhor resposta, caracterizada pelo melhor coeficiente de determinação (R^2), foi o *Red* (vermelho). Além disso, a concentração de ditizona que apresentou melhor resposta colorimétrica foi de 0,005 g/L. Os resultados indicam a possibilidade de desenvolvimento de um método rápido, simples, de baixo custo, eficaz e adequado para uso em campo, para a determinação quantitativa de metanol em etanol, uma vez que foi possível verificar variação de cores, em função da quantidade de metanol em etanol.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE SOLVATOCHROMIC EFFECT OF DITHIZONE DYE IN THE COLORIMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF METHANOL CONTENT IN ETHANOL FUEL

The environmental consequences generated by the use of fossil fuels, coupled with the world oil crisis, have fostered the demand for alternative sources of energy, such as biofuels. In Brazil, ethanol is the biofuel most used by the population. However, ethanol fuel is currently being fraudulently adulterated with methanol, an alcohol with high toxicity, causing harm to consumers. One of the difficulties in detecting this adulteration is the physical-chemical similarity between these two alcohols, such as the density, which is very similar for both, being approximately 0.79 g/cm³. Thus, it is practically impossible to identify a mixture of these alcohols through density analysis, usually used in gas stations. The National Petroleum, Natural Gas and Biofuels Agency (ANP), through Resolution No. 19 of 2015, established that the maximum content of methanol in ethanol fuel should not exceed 0.5% by volume. With the edition of ANP Resolution No. 696 of 08/31/2017, rectified on 10/03/2017, the analysis of the methanol content in fuel ethanol by fuel ethanol suppliers and liquid fuel distributors became mandatory, aiming to curb the use of methanol as an ethanol adulterant. Currently, the reference method for the determination of methanol in ethanol is based on the gas chromatography technique, NBR 16041/2015 (ANP, 2015). An alternative method by high performance liquid chromatography has been developed (DIAS et al., 2020) but both require laboratory usable equipment. In this context, the main objective of this project was to evaluate the use of the solvatochromic dye dithizone, by using digital image processing of colorimetric tests, for the determination of methanol in fuel ethanol. After sample preparation, the samples were placed in a glass cuvette, in a photographic camera with controlled lighting, photographed by smartphones and the images processed using ImageJ software, for analysis of the color components, in the RGB pattern (Red, Green and Blue). It was possible to observe that the channel that presented the best response, characterized by the best determination coefficient (R^2), was Red (red). In addition, the concentration of dithizone that presented the best colorimetric response was 0.005 g/L. The results indicate the possibility of developing a fast, simple, low-cost, effective and suitable for field use

method for the quantitative determination of methanol in ethanol, since it was possible to verify color variation as a function of the amount of methanol in ethanol.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Conformidade das amostras analisadas pelo PMQC por estado em 2021 (ANP, 2022). 28
- Figura 2.** Mecanismo da reação da formação do aduto de Schiff: (1) Formas do Reagente de Schiff; (2) Intermediários carbinolamina formados pela adição de aldeído; (3) Intermediários imina formados por desidratação; (4) Adutos de Schiff formados mediante a formação dos grupos aminossulfônicos pela adição de HSO_3^- , resultando no deslocamento do íon sulfito para solução (MARTINS et al., 2015). 35
- Figura 3.** Representação esquemática do solvatocromismo negativo e positivo (CARDOZO, 2016). 36
- Figura 4.** Estruturas químicas de alguns corantes solvatocrômicos. A. Cloreto de azul do Nilo e respectiva alteração de cor quando dissolvido em solvente apolar e solvente polar. B. Azul de metileno. C. Ditizona. (CAVALCANTE DOS SANTOS et al., 2020) 37
- Figura 5.** Cores, comprimento de onda e frequência no espectro visível. (GOOGLE IMAGENS, 2022) 38
- Figura 6.** Absorção da luz pelos cones vermelho, verde e azul no olho humano como uma função do comprimento de onda (GONZALEZ et al., 2010; NAZARETH, 2022). 39
- Figura 7.** Cores primárias e secundárias de luz. Fonte: GOOGLE IMAGENS (2022) 40
- Figura 8.** Esquema do cubo de cores RGB (GONZALEZ et al., 2010; NAZARETH, 2022). 41
- Figura 9.** Cubo de cores RGB de 24 bits (Gonzalez et al., 2010). 41
- Figura 10.** Espaço de cor HSV (LOPES, 2013). 42
- Figura 11.** Testes de sucessivas diluições descritos no item 4.1.2. 46
- Figura 12.** Esquema do procedimento descrito na diluição 1 do item 4.1.6. 48
- Figura 13.** Esquema do procedimento descrito na diluição 2 do item 4.1.6. 49
- Figura 14a.** Representação esquemática da câmara fotográfica com iluminação controlada a base de LEDs de alta potência, para a aquisição das imagens digitais. 49

Figura 14b. Imagem da câmara fotográfica com iluminação controlada a base de LEDs de alta potência, empregada para a aquisição das imagens digitais. 50

Figura 15. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,05 g/L, em diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 50% e 100% volumétrica). 53

Figura 16. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,025 g/L, em diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 50% e 100% volumétrica). 54

Figura 17. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L, em diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 20%, 40%, 50%, 60%, 80% e 100% volumétrica). 55

Figura 18. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante ditizona na concentração de 0,005g/L, após adição de ditizona em soluções de metanol em etanol nas concentrações 0%, 20%, 40%, 60%, 80% e 100% volumétrica. 55

Figura 19. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica. 57

Figura 20. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica. Replicata 1 à esquerda e replicata 2 à direita. 57

Figura 21. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 9%, 18%, 27% e 36% volumétrica de metanol em etanol. Replicata 1 à esquerda e replicata 2 à direita. 58

Figura 22. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante ditizona na concentração de: 0,01g/L (diluição 1), à esquerda e 0,005 g/L (diluição 2) à direita, para baixas concentrações de metanol em etanol (concentração final de metanol 4%, 8%, 12%, 16%, 20% e 24% volumétrica para diluição 1, e 0%, 4,5%, 9%, 13,5%, 18%, 22,5% e 27% volumétrica para diluição 2). 59

Figura 23a. Teste de triplicata com corante A 68

Figura 23b. Teste de triplicata com corante B 68

Figura 23c. Teste de triplicata com corante C 69

Figura 24. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 30%, 60% e 100% volumétrica de metanol em etanol no dia 1 (corante 1). 70

Figura 25a. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 50% e 100% volumétrica de metanol em etanol no dia 7 (corante 1). 71

Figura 25b. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 50%, 100% volumétrica de metanol em etanol no dia 14 (corante 1). 71

Figura 25c. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 50%, 100% volumétrica de metanol em etanol no dia 21 (corante 1). 72

Figura 25d. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 27%, 45% e 90% volumétrica de metanol em etanol no dia 52 (corante 1). 73

Figura 26: Matrix de tonalidades de soluções de corante ditizona em diferentes misturas metanol/etanol, ao longo do tempo de estocagem, utilizada para avaliação de estabilidade do corante. 85

Figura 27. Coloração de soluções de corantes solvatocrômicos em metanol (MeOH) e etanol (EtOH), em baixas concentrações (< 1g.L⁻¹) e respectivos efeitos do pH sobre a cor das soluções. Ácido: pH ~ 2.0, Neutro: pH ~ 7.0, Alcalino: pH ~ 11.0. 86

Figura 28. Espectroscopia de UV-VIS de misturas de metanol em etanol, variando de 0 a 100% de teor volumétrico de metanol, avaliadas para o corante solvatocrômico ditizona. 87

Figura 29. Coloração das misturas de metanol em etanol contendo 0, 20, 40, 60, 80 e 100% de metanol, utilizando-se o corante solvatocrômico ditizona em meio neutro a 22°C. 88

Figura 30. Coloração das misturas de metanol em etanol contendo 0, 20, 40, 60, 80 e 100% de metanol, utilizando-se o corante solvatocrômico ditizona. 89

Figura 31: Fluxograma sistemático das etapas experimentais desenvolvidas no presente trabalho. Os ícones informam as etapas, assim como uma representação do resultados mais relevantes em cada seção. A numeração em cada ícone informa a sequência de apresentação dos resultados.

100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Especificações do etanol para comercialização (SENA, 2021).

26

Tabela 2. Indicadores do programa de monitoramento da qualidade dos combustíveis (PMQC) da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) no ano de 2021 (Painel de Indicadores, ANP, 2022). 26

Tabela 3. Indicadores do programa de monitoramento da qualidade dos combustíveis (PMQC) da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) no ano de 2022 até o mês de julho (Painel de Indicadores, ANP, 2022). 27

Tabela 4. Resposta dos canais red, green e blue das soluções de concentração de 0,005g/L de ditizona nas misturas de metanol/etanol do teste de melhor concentração de ditizona, obtidas no processamento de imagem do software ImageJ. 61

Tabela 5. Resposta dos canais red, green e blue das soluções de concentração de 0,005g/L de ditizona nas misturas de metanol/etanol da confirmação do teste de melhor concentração de ditizona, obtidas no processamento de imagem do software ImageJ. 62

Tabela 6. Resposta dos canais red, green e blue das soluções de concentração de 0,005g/L de ditizona, previamente dissolvida em etanol, diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica de metanol em etanol. 63

Tabela 7. Resposta dos canais red, green e blue das soluções de concentração de 0,005g/L de ditizona, previamente dissolvida em etanol, diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica de metanol em etanol. Replicata 1 à esquerda e replicata 2 à direita. 64

Tabela 8. Resposta dos canais red, green e blue das soluções de concentração de 0,005g/L de ditizona diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 9%, 18%, 27% e 36% volumétrica de metanol em etanol, do teste em duplicata. Replicata 1 à esquerda e Replicata 2 à direita. 64

Tabela 9. Resposta dos canais red, green e blue RGB das soluções de concentração de 0,005 g/L de ditizona, do teste da viabilidade para baixas concentrações de metanol. 65

Tabela 10. Resposta dos canais red, green e blue da curva analítica na faixa de 0 a 100% volumétrica de metanol em etanol. 66

Tabela 11. Resultado do processamento de imagem RGB utilizando o ImageJ dos experimentos para obtenção da curva analítica de 0-36%. 67

Tabela 12. Resultados do teste de estabilidade do corante solvatocrômico ditizona (corante 1) em diferentes concentrações de metanol em etanol por um período de 52 dias. 73

Tabela 13. Resultados do teste de estabilidade do corante solvatocrômico ditizona (corante 2) em diferentes concentrações de metanol em etanol por um período de 45 dias. 77

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1. Número de não conformidades para cada característica analisada nas amostras pelo PMQC em 2021 (ANP, 2022). **Erro! Indicador não definido.**
- Gráfico 2. Curvas analíticas para a quantificação do teor de metanol em etanol combustível, usando os canais *Red*, *Green* e *Blue*, nas concentrações de 0 a 24% volumétrico de metanol em etanol, usando a diluição 1. **Erro! Indicador não definido.**
- Gráfico 3. Curvas analíticas para a quantificação do teor de metanol em etanol combustível, usando os canais *Red*, *Green* e *Blue*, nas concentrações de 0 a 27% volumétrico de metanol em etanol, usando a diluição 2. **Erro! Indicador não definido.**
- Gráfico 4. Curvas analíticas para a quantificação do teor de metanol em etanol combustível na faixa de 0 a 90% volumétrico de metanol em etanol, obtido a partir do processamento de imagem RGB. 71
- Gráfico 5. Curvas analíticas para a quantificação do teor de metanol em etanol combustível de 0 a 36% volumétrico de metanol em etanol, obtido a partir do processamento de imagem RGB. 72
- Gráfico 6. Resultados do canal *Red* do processamento de imagens dos testes de estabilidade para as concentrações 0% e 90% volumétrica de metanol para o corante 1. 78
- Gráfico 7. Resultados do canal *Red* do processamento de imagens dos testes de estabilidade para as concentrações 0% e 90% metanol para o corante 2. 82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
- CV - Coeficiente de Variação
- DB-5 - (5%-Fenil)-dimetilpolisiloxano
- DNPH - 2,4-dinitrofenil-hidrazina
- EtOH - Etanol
- EPE - Empresa de Pesquisa Energética
- FID - Detector por Ionização de Chama, no inglês *Flame Ionization Detector*
- FTIR - Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier, no inglês *Spectroscopy in the Infrared Region by Fourier Transform*
- GC-MS - Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas, no inglês *Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry*
- GC – Cromatografia Gasosa, no inglês *Gas Chromatography*
- GEE - Gases de Efeito Estufa
- ISO - *International Organization for Standardization*
- HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, no inglês *High Performance Liquid Chromatography*
- HPLC-RI - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Detector de Índice de Refração, no inglês *High Performance Liquid Chromatography coupled to a Refractive Index Detector*
- HSV – Matriz, Saturação e Valor no inglês *Hue, Saturation, Value*
- IAA - Instituto do Açúcar e do Alcool
- USGA - Usina Serra Grande Alagoas
- LC - Cromatografia Líquida, no inglês *Liquid Chromatography*
- LED - *Light-Emitting Diode*
- MS - Espectrometria de Massa, no inglês *Mass Spectrometry*
- MTBE - Éter metil-tercbutílico
- MeOH – Metanol

NARP-HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa Não-aquosa, no inglês *Non-aqueous Reverse Phase High Performance LiquidChromatography*

NBR - Norma Brasileira

NMR - Ressonância Magnética Nuclear, no inglês *Nuclear MagneticResonance* NP-

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Normal, no inglês *Normal Phase High Performance LiquidChromatography*

PMQC - Programa de Monitoramento da Qualidade dos Combustíveis

pH - Potencial Hidrogeniônico

PLS-DA - Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais, no inglês *PartialLeast Square DiscriminantAnalysis*

QAV - Querosene de Aviação

RGB - *Red, Green e Blue*

RI - Índice de Refração, no inglês *Refractive Index*

SVH - Sistema de Visão Humana

TENENGE - Técnica Nacional de Engenharia

UFGC-FID - Cromatografia gasosa ultrarrápida acoplada à detecção de ionização em chama, no inglês *Ultra-fastGasChromatographycoupledto Flame IonizationDetection*

UV-Vis - Ultravioleta-Visível, no inglês *Ultraviolet-visible*

SUMÁRIO

1. Introdução	18
2. Objetivo	20
a. 2.1. Objetivo Geral	20
b. 2.2. Objetivos Específicos	20
3. Revisão Bibliográfica	20
3.1. O etanol combustível	20
3.2. O metanol	22
3.3. A adulteração do etanol combustível por adição de metanol	23
3.4. Os métodos para a determinação de metanol e etanol combustível	28
3.4.1. A cromatografia gasosa (Método de referência)	29
3.4.2. A cromatografia líquida de alta eficiência	31
3.4.3. O teste colorimétrico empregando o reagente de Schiff	33
3.5. O efeito solvatocrômico	35
3.5.1. O emprego de corantes solvatocrômicos no desenvolvimento de métodos colorimétricos	37
3.6. A teoria de cor	38
3.6.1. O modelo RGB	40
3.6.2. O modelo HSV	42
3.7. O processamento de imagens digitais	44
3.7.1. O uso de imagens digitais em métodos colorimétricos	45
4. Material e Métodos	46
4.1. Definição das condições experimentais adequadas para a determinação de metanol em etanol combustível	46
4.1.1. Os reagentes	46
4.1.2. A definição da melhor concentração da solução de ditizona	46
4.1.3. O estudo da observação visual da coloração do corante ditizona	47
4.1.4. O estudo da viabilidade da utilização de uma solução de corante dissolvido em etanol	48

	17
4.1.5 O estudo da viabilidade do método em baixas concentrações de metanol em etanol combustível	48
4.2. A aquisição das imagens digitais	49
4.3. O estudo da linearidade do método em diferentes proporções de metanol em etanol e definição do melhor canal	50
4.4. A avaliação da estabilidade do corante solvatocrômico ditizona	51
4.4.1. O teste de estabilidade do corante 1	51
4.4.2. O teste de estabilidade do corante 2	52
5. Resultados e Discussões	52
5.1. A definição das condições experimentais adequadas para a determinação de metanol em etanol combustível	52
5.1.1 A definição da melhor concentração da solução de ditizona	52
5.1.2 O estudo da observação visual da coloração do corante ditizona	55
5.1.3 O estudo da viabilidade da utilização de uma solução de corante dissolvido em etanol	57
5.1.4 O estudo da viabilidade do método em baixas concentrações de metanol em etanol combustível	59
5.2. A aquisição das imagens digitais	61
5.3 O estudo da linearidade do método em diferentes proporções de metanol em etanol e definição do melhor canal	70
5.4 A avaliação da estabilidade do corante solvatocrômico ditizona	73
5.4.1 Teste de Estabilidade do Corante 1	73
5.4.2 Teste de Estabilidade do Corante 2	79
6. Conclusões	84
7. Perspectivas	85
8. Referências	86

1. Introdução

As consequências ambientais geradas pelo uso de combustíveis fósseis, atreladas à crise mundial do petróleo, fomentaram a demanda por fontes alternativas de energia, como os biocombustíveis. Os biocombustíveis podem ser definidos como combustíveis obtidos a partir de matéria orgânica ou fontes renováveis, como por exemplo, biogás, biomassa, etanol e biodiesel (AGARWAL, 2007). Em particular, o etanol tem desempenhado um papel importante na economia brasileira, como resultado do Programa Nacional do Álcool (Pró-Álcool), criado em 1975, que tinha como objetivo a redução da dependência de derivados de petróleo. Desde então o etanol foi inserido na matriz energética brasileira, sendo utilizado na sua forma hidratada (teor alcoólico mínimo de 96%) e na sua forma anidra (teor alcoólico mínimo de 99,3%) em blendas com gasolina A, formando a gasolina C, com teor alcoólico até 27%, de acordo com a disponibilidade no mercado. O etanol anidro é misturado à gasolina para baratear o combustível, aumentar sua octanagem e reduzir a emissão de poluentes. No entanto, atualmente o etanol combustível vem sendo adulterado de forma fraudulenta com metanol. A adulteração é caracterizada como a adição ilegal de qualquer substância a um determinado produto, levando, em geral, à não-conformidade de sua especificação. É uma prática comum no Brasil, principalmente no que tange o segmento de combustíveis automotivos. Como principais consequências, podemos citar: (i) danos aos componentes do motor, prejudicando seu desempenho; (ii) aumento das emissões veiculares de escapamento, lesando o meio ambiente e a população; (iii) impacto negativo na economia (VEMPATAPU; KANAUJIA, 2017). A adulteração é realizada a fim da obtenção de vantagens econômicas, devido à disponibilidade e ao menor custo do metanol em relação ao etanol. Deve-se destacar que essa adulteração lesa o consumidor em vários aspectos, como o maior risco para saúde, uma vez que o metanol possui toxicidade mais elevada que o etanol, e um maior consumo de combustível decorrente do menor poder calorífico do metanol (aproximadamente a 40% menor do valor referente ao etanol). Uma das dificuldades em detectar a fraude é a semelhança do metanol e o etanol,

sendo praticamente impossível identificar uma mistura de ambos por meio da análise de densidade, que é usualmente utilizada em postos de combustíveis. Tanto o metanol, quanto o etanol, possuem densidade muito semelhante, sendo $0,79 \text{ g/cm}^3$ e $0,789 \text{ g/cm}^3$, respectivamente. O método de referência para a determinação do teor de metanol em etanol ou gasolina, descrito na Resolução ANP nº 19, de 15 de abril de 2015, é detalhado na norma brasileira NBR 16041/2015, emitida pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), baseado na técnica de cromatografia em fase gasosa (ANP, 2015). A ANP, a partir da Resolução nº 19 de 2015, estipula a técnica de cromatografia gasosa para identificação de metanol em etanol combustível, sendo a quantidade máxima permitida de 0,5% de metanol em etanol. Com a edição da Resolução ANP nº 696, de 31/08/2017, retificada em 03/10/2017, tornou-se obrigatória a análise do teor de metanol no etanol combustível pelos fornecedores de etanol combustível e distribuidores de combustíveis líquidos, devendo os certificados de qualidade e boletins de conformidade contemplar essa característica em todo o produto comercializado a partir de 10/03/2018 (data limite especificada na Resolução ANP nº 712, de 27/11/2017). Tal obrigatoriedade foi estabelecida com o intuito de se coibir o uso do metanol como adulterador do etanol. Desta forma, métodos que identificam a presença de metanol com base na norma ISO 1388-8 (*Ethanol for industrial use — Methodsoftest*), são utilizados pelos fornecedores de etanol combustível e distribuidores de combustíveis líquidos como um teste rápido para a verificação da presença de metanol em etanol combustível. É importante ressaltar que caso seja utilizada a norma ISO 1388-8, qualquer mudança de coloração, de incolor para azul no tubo de ensaio da amostra (indicativo da presença de metanol) ou ainda a obtenção de resultados inconclusivos, exige a confirmação pelo método cromatográfico ABNT NBR 16041/2015. (Diário oficial da União, 158, 1, 74)

Portanto, o presente estudo busca o desenvolvimento de um método analítico rápido, simples, de baixo custo, eficaz e adequado para uso em campo, para a determinação quantitativa de metanol em etanol combustível.

2. Objetivo

a. 2.1. Objetivo Geral

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar o emprego do corante solvatocrômico ditizona, mediante a utilização de processamento de imagens digitais de testes colorimétricos, para a determinação de metanol em etanol combustível.

b. 2.2. Objetivos Específicos

Dentre os objetivos específicos do presente projeto, podemos destacar:

- 1) Empregar o corante solvatocrômico ditizona em diferentes concentrações, utilizando misturas de metanol em etanol com diferentes proporções, para a verificação de diferenças significativas de cor das soluções;
- 2) Definição das condições experimentais adequadas para a determinação de metanol em etanol combustível e
- 3) Avaliação da estabilidade das soluções do corante solvatocrômico ditizona.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. O etanol combustível

O etanol, também conhecido como álcool etílico, é um composto orgânico da família dos álcoois representado pela fórmula molecular $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$. Ele é um biocombustível produzido a partir da fermentação do amido ou de outros açúcares, de origem vegetal. Além disso, existem dois tipos básicos de etanol: o anidro e o hidratado. A diferença entre eles é a concentração de água: no hidratado, a água pode chegar a 5% volumétrica e, no anidro, a 0,5% volumétrica. O etanol anidro, por ser praticamente um álcool puro, é usualmente destinado às finalidades como produção de solventes e tintas. O etanol hidratado pode ser usado diretamente como combustível, pois contém mais água na composição.

Os primeiros usos práticos desse álcool deram-se entre os anos 1920 e 1930. Em 1925, a Estação Experimental de Combustíveis e Minérios foi responsável por testar um automóvel adaptado para funcionar com álcool etílico hidratado. Dois anos depois, a Usina Serra Grande Alagoas (USGA) foi a primeira do país a produzir etanol combustível, porém com a queda dos preços do petróleo, o empreendimento não pôde prosseguir. Em 1933, o governo de Getúlio Vargas criou o Instituto do Açúcar e do Álcool (IAA) e, pela Lei nº 737, tornou obrigatória a mistura de etanol na gasolina. Outras experiências utilizando o etanol como combustível foram desenvolvidas ao longo dos anos, mas foi em 1974, que a Técnica Nacional de Engenharia (TENENGE) organizou uma equipe de tecnologia para desenvolver uma escuderia de competição automobilística para testar e aprimorar o motor a álcool no Brasil.

Em 14 de Novembro de 1975 o decreto nº 76.593 criou o Programa Nacional do Álcool (Proálcool), instituiu e consolidou o uso do álcool hidratado como combustível. O principal objetivo desse programa era a redução da dependência nacional em relação ao petróleo importado. Naquele momento, o Brasil importava, aproximadamente, 80% do petróleo consumido, o que correspondia a cerca de 50% da balança comercial. Àquela época, ainda não havia a percepção da influência da emissão de CO₂ durante a queima de combustíveis fósseis no bem-estar da humanidade. Embora cientistas já viessem alertando o público e os governos quanto às consequências do aumento da densidade de gases de efeito estufa (GEE) na atmosfera, nenhum país adotou qualquer medida restritiva.

Apesar dos aumentos sucessivos do preço internacional do petróleo, o etanol não era economicamente competitivo, exigindo subsídios para sua penetração no mercado nacional. Esses incentivos duraram, basicamente, até o fim do regime militar, em 1984. Durante a segunda metade da década de 80, iniciou-se novo período, sem subsídios, quando o Governo tentou diminuir seu papel no setor. Em 1990, durante o governo Collor, extinguiu-se o IAA e os subsídios à produção de açúcar foram retirados. O Brasil voltou a ser um grande exportador de açúcar.

A partir de 2003, começaram a ser produzidos veículos flex-fuel, e foi então que o setor sucroalcooleiro ganhou novo impulso. Com significativa contribuição do etanol, o Brasil alcançou autonomia quanto a combustíveis líquidos. Este biocombustível tornou-se altamente competitivo em relação à gasolina tanto no mercado interno, quanto no externo, devido à redução de cerca de 70% dos custos de produção do álcool e do aumento do preço internacional do petróleo.

Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial de etanol combustível, com 29,6% da produção mundial segundo o Renewable Fuels Association (2021a), quase que totalmente de cana-de-açúcar, embora nas últimas safras tenha-se observado importante crescimento da utilização do milho para produção de etanol, mesmo diante da menor demanda por etanol e do preço recorde do milho em 2020. Até 2010 o Brasil era o maior exportador de etanol combustível do mundo, no entanto, atualmente quase toda a produção brasileira de etanol é destinada ao mercado interno. Segundo a ANP, em 2020 o Brasil produziu 32,8 milhões de m³ de etanol, e as exportações do combustível atingiram somente 2,7 milhões de m³. Hoje, o Brasil e os Estados Unidos lideram juntos a produção industrial de etanol, representando em conjunto 84% da produção mundial em 2019.

3.2. O metanol

O metanol é um composto orgânico, cuja fórmula é CH₃OH e líquido à temperatura ambiente, que possui propriedades bem semelhantes ao etanol, porém com toxicidade bem superior. Segundo o Informe Técnico de 2019 da Empresa de Pesquisa Energética (EPE), a produção mundial de metanol é de aproximadamente 80 milhões de toneladas por ano, tendo uma capacidade instalada total de 128 milhões de toneladas, em 2018. Cerca de 60% da demanda global por metanol deriva dos produtos químicos industriais e são utilizados na fabricação de bens de consumo (METHANOL INSTITUTE, 2018). O metanol é um álcool muito importante para a indústria química, é utilizado para a síntese de formaldeído e ácido acético, por exemplo, que são muito utilizados na produção de pisos e revestimentos, solventes e aditivos.

Atualmente o metanol tem como base de sua produção os combustíveis fósseis, o carvão e a biomassa. Os processos consistem na formação do gás de síntese que é composto por uma mistura de hidrogênio (H₂), monóxido de carbono (CO) e dióxido de carbono (CO₂). Também pode ser produzido pela oxidação direta do metano ou pela conversão redutiva do CO₂ atmosférico com hidrogênio, utilizando efluentes industriais ou da atmosfera. Isto torna possível uma nova fonte de energia alternativa, diminuindo a necessidade dos recursos não renováveis, originando a “Economia do Metanol” (GOEPPERT *et al.*, 2018). A economia baseada em

hidrogênio tem diversas limitações, como por exemplo a questão financeira, pois a tecnologia do hidrogênio ainda não possui uma ampla gama de aplicações economicamente viáveis, e as dificuldades em ampliar a capacidade produtiva. A economia baseada em metanol fornece um meio mais eficiente de armazenamento de energia e este pode ser usado como um conveniente combustível e também como matéria para hidrocarbonetos artificiais e derivados (OLAH, 2005).

No Brasil, o metanol desempenha um papel vital na produção de biodiesel, sendo utilizado na reação de transesterificação com triacilgliceróis. O biodiesel, por sua vez, é um biocombustível que pode ser usado como combustível em misturas com o óleo diesel. Vale lembrar que o biodiesel apresenta um grau de poluição ao meio ambiente bem menor, em comparação ao óleo diesel, uma vez que não possui compostos do elemento enxofre, que são em grande parte responsáveis pelo agravamento de problemas ambientais, tais como o aquecimento global, o efeito estufa e a chuva ácida.

3.3. A adulteração do etanol combustível por adição de metanol

Tanto o metanol, quanto o etanol, são líquidos incolores, com odor característicos semelhantes e sabor abrasador. As semelhanças físico-químicas entre esses dois alcoóis são muitas, dentre elas, o estado físico, a cor, o cheiro, a boa solubilidade em água, o ponto de ebulição semelhante, sendo 64,7°C do metanol e 78,3°C do etanol. Além disso, ambos são inflamáveis em qualquer estado da matéria, e possuem densidades muito semelhantes, sendo próximas a 0,79 g/cm³. As reações de combustão de ambos os alcoóis podem ser completas ou incompletas, eles não sofrem dissociação iônica. Neste contexto, a adulteração de etanol combustível por metanol vem sendo muito realizada e é de difícil detecção devido à similaridade dos álcoois.

É importante ressaltar que a adulteração é caracterizada como a adição ilegal de qualquer substância a um determinado produto, levando, em geral, à não-conformidade de sua especificação. É uma prática bastante comum no segmento de combustíveis automotivos realizada a fim da obtenção de vantagens econômicas, devido à disponibilidade e ao menor custo do metanol em relação ao etanol.

Deve-se destacar que essa adulteração lesa o consumidor em vários aspectos, como um maior consumo de combustível decorrente do menor poder calorífico do metanol (aproximadamente a 40% menor do valor referente ao etanol). Além disso, a alta toxicidade do metanol para saúde humana e para o meio ambiente, seu potencial como adulterador, além da sua inflamabilidade e de produzir uma chama limpa e incolor que dificulta o combate de incêndio, o controle de qualidade do etanol se torna fundamental.

Para atender às normas de qualidade, a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) implementou em 1998 o Programa de Monitoramento da Qualidade dos Combustíveis (PMQC), que é regulamentado pela Resolução ANP nº 8/2011. O programa busca fornecer indicadores de conformidade dos combustíveis às especificações estabelecidas, em particular os incisos que tratam da garantia de qualidade e do suprimento de combustíveis ao mercado nacional. Atuando como elemento que promove ações de garantia da qualidade por parte das empresas ou instituições do mercado, além de orientar, como já mencionado, as ações de fiscalização da própria ANP e de órgãos conveniados.

Atualmente, as especificações do etanol comercializado são regulamentadas na Resolução ANP nº 907, de 18 de novembro de 2022 que regulamenta as especificações (Tabela 1) do etanol combustível é de suma importância. Esta resolução, define três tipos de etanol: 1) Anidro Combustível, (EAC) - Teor de etanol mínimo de 98,0% volume 2) Hidratado Combustível, (EHC) - Teor de etanol mínimo de 94,5% volume, e 3) Hidratado Combustível Premium, (EHCP2) - Teor de etanol mínimo de 96,3% volume.

Tabela 1. Especificações do etanol para comercialização (SENA, 2021).

Característica	Unidade	Limite			Método de Análise
		EAC	EHC	EHCP2	NBR
Massa específica	Kg.m ⁻³	791,5 máx.	805,2 a	799,7 a	5992
			811,2	802,8	15639
Teor alcoólico	% massa	99,3 mín.	92,5 a 94,6	95,5 a 96,5	5992
					15639
Teor de etanol, mín	% volume	98,0	94,5	96,3	16041
Teor de água, máx	% massa	0,7	7,5	4,5	15531
					15888
Teor de metanol, máx	% volume	0,5			16041

A Resolução ANP nº 696, de 31/08/2017 em 03/10/2017, inclui o metanol na definição de solvente e adequando seus atos normativos, tornou obrigatória a análise do teor de metanol no etanol combustível pelos fornecedores e distribuidores, devendo os certificados de qualidade e boletins de conformidade contemplarem essa característica em todo o produto comercializado.

Segundo o painel dinâmico do Programa de Monitoramento de Qualidade dos Combustíveis, compartilhado pela ANP em 2021, mais de 75 mil análises foram realizadas e constatadas 97,3% de conformidade, ou seja, dentro das especificações (Tabela 2). Sendo a principal característica de não-conformidade a massa específica ou teor de etanol. Essa não-conformidade pode ter origem na adição de outros solventes, como água e metanol, com intuito de aumentar o volume do produto comercializado (SENA, 2021). Até julho de 2022, a proporção de conformidade se manteve dentre as amostras coletadas (Tabela 3).

Tabela 2. Indicadores do programa de monitoramento da qualidade dos combustíveis (PMQC) da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) no ano de 2021 (Painel de Indicadores, ANP, 2022).

Produto	Amostras Coletadas	Amostras Conformes	Amostras Não Conformes	% Conformidade
Etanol	21.257	20.866	391	98,2%
Gasolina	28.006	27.584	422	98,5%
Óleo Diesel	26.409	25.216	1.193	95,5%
Total	75.672	73.666	2.006	97,3%

Tabela 3. Indicadores do programa de monitoramento da qualidade dos combustíveis (PMQC) da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) no ano de 2022 até o mês de julho (Painel de Indicadores, ANP, 2022).

Produto	Amostras Coletadas	Amostras Conformes	Amostras Não Conformes	% Conformidade
Etanol	9.019	8.828	191	97,9%
Gasolina	12.062	11.887	175	98,5%
Óleo Diesel	11.156	10.679	477	95,7%
Total	32.237	31.394	843	97,4%

Em 2021, de acordo com o Painel Dinâmico da Fiscalização do Abastecimento, da ANP, de todas as autuações de infrações feitas, 17% (que representa mais de 900 ocorrências) foi referente a comercializar ou armazenar produto não conforme com a especificação. As autuações de interdições, esse número representa 26%. Dentre as características analisadas nas amostras coletadas pelo PMQC, aproximadamente 0,02% estavam não conformes quanto ao teor de metanol (Gráfico 1).

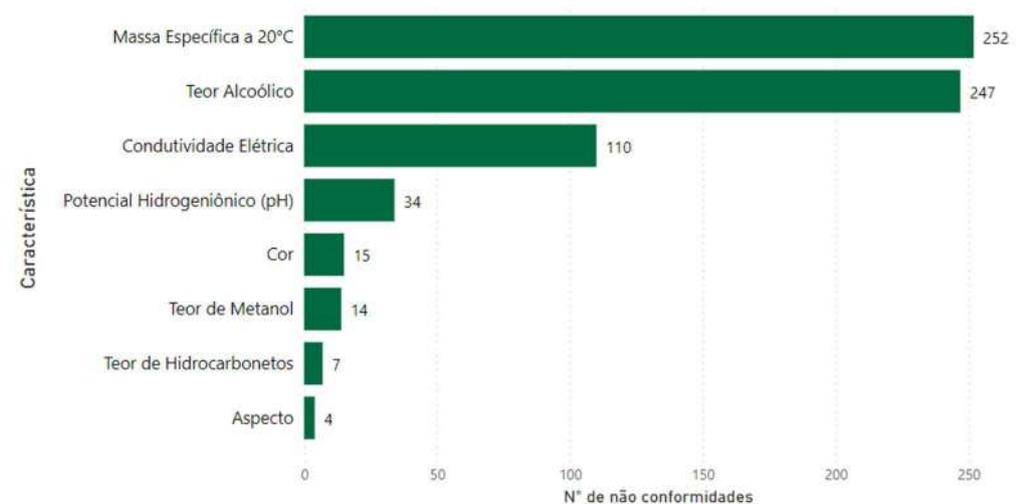


Gráfico 1. Número de não conformidades para cada característica analisada nas amostras pelo PMQC em 2021 (ANP, 2022).

Importante ressaltar que atualmente o PMQC não alcança todo o território nacional devido ao término de alguns contratos e dificuldade em contratar novos laboratórios qualificados. Na Figura 1, as áreas cinzas representam as que não possuem cobertura pelo programa. As áreas em azul indicam a qualidade do combustível para cada estado, sendo quanto mais escuro o azul, maior o percentual de conformidade.

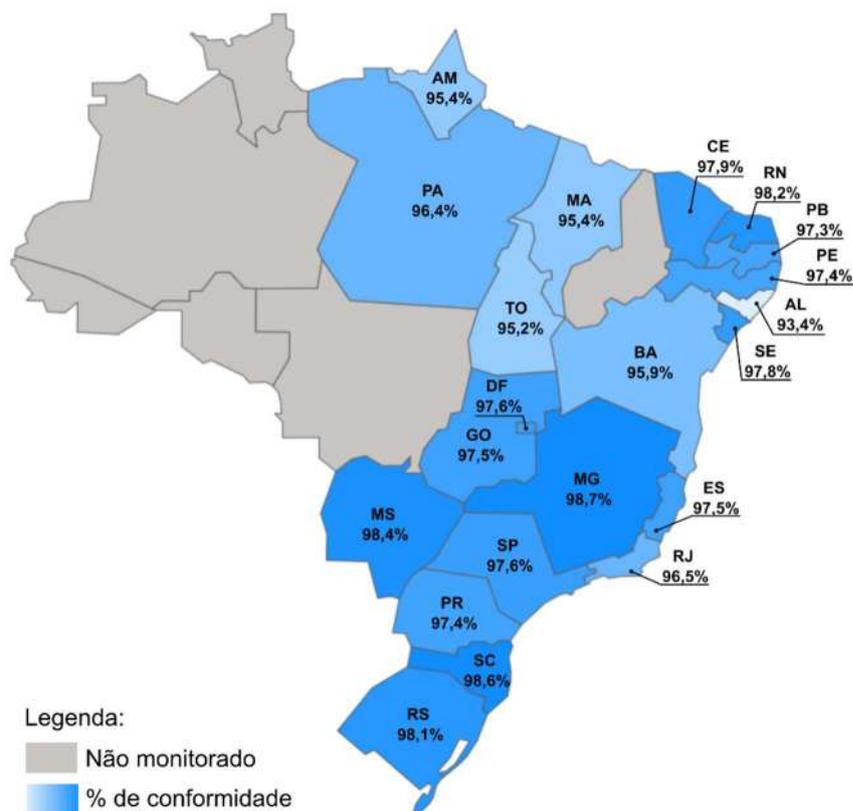


Figura 1. Conformidade das amostras analisadas pelo PMQC por estado em 2021 (ANP, 2022).

Em 17 de julho de 2022, a revista Quatro Rodas da editora Abril, reportou uma ação de fiscalização da ANP realizada em todo o território nacional Brasileiro, onde São Paulo se destacou pelo número de autuações referente a qualidade dos combustíveis vendidos. Foram registrados diversos postos com bico e tanques lacrados pela adulteração de etanol combustível com metanol.

3.4. Os métodos para a determinação de metanol e etanol combustível

Várias técnicas analíticas foram relatadas na literatura para a determinação do teor de metanol em etanol combustível, dentre elas podemos destacar: 1) cromatografia gasosa (MOREIRA; WORDS, 2003; NESPECA *et al.*, 2018; WANG; WANG; CHOONG, 2004a, 2004b, WIEDEMANN; D'AVILA), 2) teste colorimétrico empregando o reagente de Schiff (MARTINS, 2015), 3) cromatografia líquida de alta

eficiência (CLAE) (DIAS, 2020), 4) espectroscopia raman (WIRASUTA, 2019), 5) sensor a gás quimiorresistente (van denBroek, 2019), 6) voltametria cíclica (Pereira, 2013), 7) ressonância magnética nuclear (RMN) (Kock, 2019) e por fim, 8) spot-test baseado em imagens digitais (SOARES, 2019). Dentre as diferentes técnicas descritas na literatura para a determinação do teor de metanol em etanol combustível, iremos abordar com mais detalhes as técnicas da cromatografia gasosa (método de referência), da cromatografia líquida de alta eficiência e o teste colorimétrico empregando o reagente de Schiff.

3.4.1. A cromatografia gasosa (Método de referência)

A cromatografia gasosa (CG) é amplamente empregada nas análises para a determinação da qualidade de combustíveis. Atualmente, a técnica é referência para a quantificação do teor de metanol e/ou etanol em amostras de etanol combustível.

O método ABNT NBR 16041 utiliza um cromatógrafo gasoso e um detector por ionização de chama (FID), coluna capilar de sílica fundida e camada porosa à base de estireno/divinilbenzeno (tipo Q), de alta temperatura, com dimensões 10 m x 0,32 mm x 10 µm e retentor de partículas (particletrap) de 2,5 m x 0,32 mm, conectado à coluna. O gás de arraste é o nitrogênio (N₂) com vazão de 30 mL.min⁻¹, volume de injeção de 0,5 µL com vazão Split 1:50. A programação do aquecimento da coluna se inicia em 85 °C com aumento de 35 °C.min⁻¹ até 260 °C, permanecendo nesta temperatura até 11 minutos para amostras de etanol combustível (23 minutos no caso de amostras de gasolina). O tempo total de análise é de 18 e 30 minutos para etanol combustível e gasolina, respectivamente. A temperatura do detector é de 280°C e a do injetor, de 250 °C (ABNT, 2015b).

Em 2003, Moreira e colaboradores empregaram a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-MS) para melhorar a detecção de combustíveis adulterados, em especial, a gasolina. Os resultados mostraram que as amostras adulteradas e o tipo de solvente orgânico usado na adulteração pode ser detectado por comparação de perfis cromatográficos. No entanto, uma única análise de CG pode detectar uma gasolina adulterada e, assim, diminuir o número de amostras adulteradas aprovadas dentro da especificação. A fase estacionária utilizada foi uma coluna capilar revestida com DB-5, de dimensões 60 m x 0,25 mm.

O gás de arraste escolhido foi o hélio (He), volume de injeção de 1,0 µL com vazão Split 1:70. A programação de aquecimento da coluna se inicia em 40 °C com aumento de 4 °C.min⁻¹ até 220 °C. O tempo total de análise foi de 18 e 30 minutos para etanol combustível e gasolina, respectivamente. A temperatura do detector e do injetor foi mantida em 270°C (MOREIRA, WORDS, 2003; DIAS 2018).

Em 2004, Wang e colaboradores apresentaram um método analítico por cromatografia gasosa, usando acetonitrila como padrão interno para a determinação simultânea de metanol e etanol em bebidas alcoólicas. O perfil cromatográfico apresentou tempo de retenção de 3,06 min para o metanol e 4,21 min para o padrão interno. A faixa linear da curva analítica de metanol foi ampla, variando de 2,0 a 20,0 mg.mL⁻¹, com coeficiente de determinação (R^2) próximo de 1,0 ($R^2 = 0,999$). A adição de padrão de metanol ao vinho e ao uísque apresentou valores de recuperação de 101% a 107% e 94% a 103%, respectivamente. Além disso, o método apresentou boa precisão, com coeficiente de variação (CV) baixo (CV < 3,7%). O método proposto não necessita de uma etapa de pré-tratamento das amostras e o tempo de análise é de 9 min (WANG; WANG; CHOONG, 2004a). Vale mencionar que o método proposto poderia ser aplicável à análise de etanol combustível, cuja composição é similar à de bebidas alcoólicas e os efeitos de matriz seriam mínimos. (DIAS, 2018)

Nespecaet *al.*, (2018) desenvolveram um método analítico rápido para a detecção de adulteração de gasolina por solventes orgânicos, por meio da cromatografia gasosa ultrarrápida, com detecção por ionização de chama (UFGC-FID), associada à análise discriminante com calibração multivariada por mínimos quadrados parciais (PLS-DA). O espaço amostral foi composto por 171 amostras de gasolina C (i.e., contendo etanol em sua composição) e 171 amostras de gasolina adulterada com solventes diferentes na faixa de concentração de 2,0 a 10,0% volumétrica. A fase estacionária empregada foi uma coluna capilar revestida com DB-5 (5,0 m x 0,10 mm, 0,40 µm). O gás de arraste escolhido foi o hidrogênio (H₂), volume de injeção de 0,1 µL com vazão Split 1:500. A programação de aquecimento da coluna se inicia em 40 °C, sendo mantida por 0,60 min, com aumento de 100 °C.min⁻¹ até 250 °C, mantida por 0,15 min. O tempo total de análise foi de 2,85 min por amostra. A temperatura do detector e do injetor foi mantida em 270 °C. O método PLS-DA foi desenvolvido com três variáveis latentes e forneceu coeficientes de correlação, R^2 , próximos a 0,99, indicando correta discriminação das amostras. Portanto, o método desenvolvido proporcionou um método alternativo automatizado para a detecção de

adulterantes no monitoramento da qualidade da gasolina (NESPECA *et al.*, 2018; DIAS 2018).

3.4.2. A cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida (CL) é uma técnica de separação aplicável a diversos ramos, como por exemplo, no controle de qualidade das indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. Além disso, essa técnica ocupa um papel essencial em laboratórios de pesquisa, podendo ser empregada no estudo de liberação de princípios ativos, adsorção de poluentes orgânicos emergentes no meio ambiente, expressão genética de proteínas, etc (CABALLERO; FINGLAS; TOLDRÁ, 2016; FANALI *et al.*, 2017).

A técnica apresenta como principais características: o alto poder de resolução, as separações em menor tempo possível, o monitoramento contínuo, a análise repetitiva e reprodutível e a possibilidade de automatização do processo de análise e processamento de dados (BRANDÃO; BRAGA; SUAREZ, 2012). Dependendo da natureza, da estrutura química e da massa molecular dos analitos, é possível selecionar o tipo de cromatografia líquida mais adequado. Neste contexto, diferentes tipos de CL foram desenvolvidos para fornecer informações qualitativas e quantitativas sobre as amostras em estudo (LOZANO-SÁNCHEZ *et al.*, 2018; DIAS, 2018).

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) são realizadas em colunas, que são consideradas o “coração do sistema”. A escolha apropriada da fase estacionária está relacionada a diversos fatores como dimensões (comprimento, diâmetro interno), natureza físico-química, tamanho e forma das partículas, dentre outros (LANÇAS, 2016). A técnica de CLAE pode ser acoplada a diferentes sistemas de detecção, tais como espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), espectrometria de massa (MS), espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) para analisar misturas complexas de compostos por meio da separação, identificação e quantificação.

Após quase um século de pesquisa, a técnica de CLAE contribuiu muito para se obter conhecimento detalhado sobre a composição dos derivados de petróleo (VEMPATAPU; KANAUIA, 2017). Chen *et al.*,(1998) desenvolveram um método por

CLAE para determinar o teor de metanol em uma solução de água-etanol. O método se baseia na derivatização do metanol. O derivado obtido foi separado em coluna de diolLiChrospher com n-hexano-diclorometano (9:1, % volumétrica) como fase móvel. Vários parâmetros que afetam a partição/derivatização do metanol foram investigados. O intervalo linear para a determinação do metanol foi de 2 a 20 mmol.mL⁻¹; o limite de detecção de metanol foi de cerca de 0,10 mmol.mL⁻¹. Além disso, o método foi satisfatoriamente aplicado ao ensaio de metanol em licores comerciais (CHEN *et al.*, 1998; DIAS 2018).

Em 2004, Kamiński *et al.*, empregaram a cromatografia líquida de alta eficiência em fase normal (CLAE-FN) para a determinação de alcenos, hidrocarbonetos aromáticos e saturados presentes na gasolina, utilizando uma coluna de aminopropil como fase estacionária e n-hexano ou n-heptano como fase móvel. Para determinar os alcenos, utilizou-se como detector o arranjo de diodos (DAD), com integração na faixa de 207 a 240 nm, a fim de eliminar a necessidade de separação entre alcenos e saturados, visto que os hidrocarbonetos saturados não absorvem radiação ultravioleta acima de 200 nm. Para determinar o teor de hidrocarbonetos aromáticos, utilizou-se como detector o índice de refração (IR). O método proposto apresenta como vantagens: a aplicação em outros combustíveis como gasóleo e querosene de aviação (QAV) e a determinação de oxigenados, como etanol e éter metil-tercbutílico (MTBE), presentes na gasolina (KAMINSKI; KARTANOWICZ; PRZYJAZNY, 2004; DIAS 2018).

Saczka *et al.*, (2006) aplicaram a CLAE por detecção eletroquímica para a análise de aldeídos e cetonas em etanol combustível. A oxidação eletroquímica de 5-hidroximetilfurfural, 2-furfuraldeído, butiraldeído, acetona e metil-etil-cetona derivatizada com 2,4-dinitrofenil-hidrazina (DNPH) no eletrodo de carbono vítreo apresenta uma onda bem definida em +0,94 V; +0,99 V; +1,29 V; +1.15 V e +1.18 V, respectivamente, que são a base para a sua determinação no detector eletroquímico. Os compostos carbonilados derivatizados foram separados por uma coluna de fase reversa sob condições isocráticas com uma fase móvel composta por uma mistura binária de metanol/LiClO₄ na concentração de 1,0 x 10⁻³ mol.L⁻¹ (80:20, % volumétrica), com vazão de 1,1 mL.min⁻¹. O potencial ótimo para a detecção eletroquímica de aldeídos-DNPH e cetonas-DNPH foi de +1,0 V vs. Ag/AgCl. A curva analítica dos aldeídos-DNPH e cetonas-DNPH apresentou linearidade na faixa de 5,0 a 400,0 ng.mL⁻¹, com limites de detecção de 1,7 a 2,0 ng.mL⁻¹ e limites de quantificação de 5,0 a 6,2 ng.mL⁻¹, volume de injeção de 20 µL. A metodologia

proposta foi simples, rápida (15 min por análise) e apresentou valores de recuperação superiores a 95% (SACZK *et al.*, 2006).

Avila e colaboradores (AVILA *et al.*, 2018) desenvolveram um método por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa não-aquosa (CLAE-FRNA) para a quantificação seletiva de etanol combustível em gasolina. No trabalho proposto, a separação cromatográfica foi obtida em 15 min em uma coluna C18 (octadecilsilano), utilizando como fase móvel metanol e detecção por índice de refração. O método proposto apresentou incerteza expandida (0,56% volumétrica) menor que o atual método de referência (1,0% volumétrica), baseado na norma NBR 13992:2015. Além disso, vale ressaltar que o teor de metanol não foi determinado (ABNT, 2015a).

Dias *et al.*, (2020) desenvolveram um método baseado na cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de índice de refração (CLAE-IR) para a determinação de metanol em gasolina com etanol e em etanol combustível. A análise quantitativa de metanol em gasolina e em etanol é relatada empregando a HPLC-RI, com coluna C18 (250x4.6mm.5micrometros), usando água deionizada como fase móvel (0,6 mL/min). O método mostrou bom desempenho analítico em termos de linearidade para a concentração de metanol variando de 0,5 a 4,5% volumétrica (coeficiente de determinação, $R^2=0,999$) e de 4,0 a 12,0% volumétrica ($R^2=0,998$). Os valores de recuperação (exatidão) variaram de 98,6% a 103,2%. Os resultados indicaram que o método desenvolvido é acurado e adequado para a determinação de metanol em gasolina com etanol e etanol combustível. Sendo assim, o método proposto se mostrou simples, rápido, acurado, preciso e sensível, se mostrando, portanto, um método alternativo às técnicas baseadas em CG.

3.4.3. O teste colorimétrico empregando o reagente de Schiff

Descoberto pelo químico alemão Hugo Schiff (1834-1915) por volta da década de 1860, o Reagente de Schiff (também conhecido como Reativo de Schiff ou Teste de Schiff) é um reagente que é geralmente usado para distinguir aldeídos e cetonas em uma solução. Esse reagente consiste basicamente em uma solução de corante de fucsina ($C_{20}H_{19}N_3 \cdot HCl$) que foi descolorada por dióxido de enxofre (SO_2)

(<https://www.engquimicasantosp.com.br/2018/12/reagente-schiff-teste-aldeido-cetona.html>)

A metodologia desenvolvida por Deniges (1910) consiste na oxidação seletiva de metanol para o correspondente aldeído. Posteriormente, a detecção do formaldeído formado é realizada por identificação colorimétrica usando o reagente de Schiff (ROBINS *et al.*, 1980), sendo este utilizado em análises orgânicas qualitativas para a identificação de grupos funcionais aldeídos. Vale lembrar que a metodologia desenvolvida por Deniges (1910) foi posteriormente aprimorada por Chapin (1921) e inclusive já foi normatizada para a análise de álcool na indústria (Norma ISO 1388/8-1981).

O método colorimétrico de Deniges (1910) para a detecção de metanol na presença de etanol pode ser dividido em três etapas: 1) a oxidação lenta da amostra diluída com água na presença de solução de permanganato de potássio acidificado com ácido fosfórico, de modo a formar apenas formaldeído a partir do metanol; 2) posterior adição de uma solução de ácido oxálico acidificada com ácido sulfúrico, para consumir o excesso de permanganato e formar o íon Mn^{2+} , deixando a solução incolor; e 3) adição do reagente de Schiff na amostra tratada, para observar a formação ou não formação de cor na amostra. O reagente de Schiff nas condições utilizadas apenas reage com formaldeído, gerando uma cor azul-violeta, a qual varia com a concentração de formol na amostra e com o tempo. Nas condições utilizadas o reagente de Schiff não reage com o acetaldeído formado a partir da oxidação do etanol, de modo que, na ausência de metanol na amostra, no final do teste a amostra permanece incolor. O mecanismo da reação é complexo, conforme apresentado na Figura 2, havendo a possibilidade do reagente de Schiff reagir com o formaldeído nas proporções de 1:1 e 1:2, interferindo na estequiometria da reação. A reação depende fortemente da acidez do meio e da presença de sulfito, em que ambos influenciam diretamente na atividade do reagente de Schiff (MARTINS *et al.*, 2015).

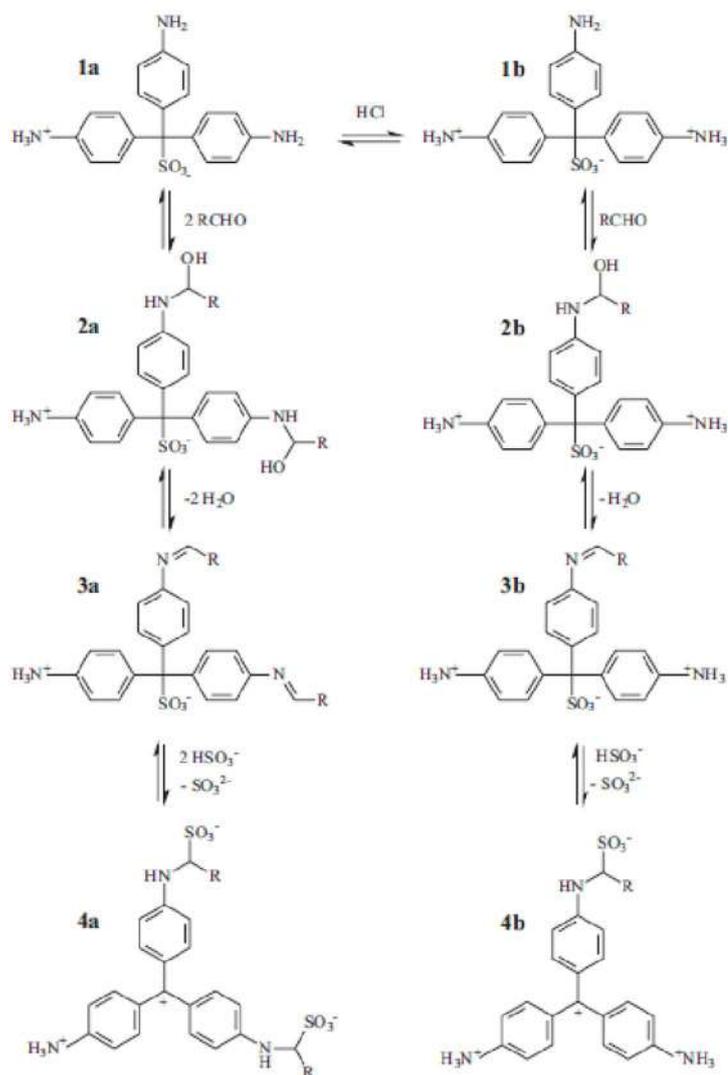


Figura 2. Mecanismo da reação da formação do aduto de Schiff: (1) Formas do Reagente de Schiff; (2) Intermediários carbinolamina formados pela adição de aldeído; (3) Intermediários imina formados por desidratação; (4) Adutos de Schiff formados mediante a formação dos grupos aminossulfônicos pela adição de HSO_3^- , resultando no deslocamento do íon sulfito para solução (MARTINS *et al.*, 2015).

3.5. O efeito solvatocrômico

O espectro de absorção na região do UV-Vis de muitos compostos pode ser influenciado pelo meio em que eles se encontram. Assim, uma mudança na polaridade do solvente pode causar uma alteração na posição, intensidade e forma das bandas

de absorção desses compostos. Esse fenômeno é conhecido como solvatocromismo. Essas alterações são um resultado das mudanças nas forças de interações soluto-solvente (tais como íon-dipolo, dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido), as quais, acima de tudo, tendem a alterar a diferença de energia entre o estado fundamental e o estado excitado das moléculas que contêm um grupo cromóforo (NANDI, 2015).

Se com o aumento da polaridade, o estado fundamental for melhor estabilizado pela solvatação que o estado excitado, tem-se a ocorrência de um solvatocromismo negativo e a transição entre esses estados é deslocada para o azul. Por outro lado, se a melhor estabilização ocorrer no estado excitado com o aumento da polaridade, trata-se de um solvatocromismo positivo com transição entre os estados se deslocando para o vermelho (CARDOZO, 2016). Pode-se observar esses dois tipos de solvatocromismo na Figura 3:



Figura 3. Representação esquemática do solvatocromismo negativo e positivo (CARDOZO, 2016).

3.5.1. O emprego de corantes solvatocrômicos no desenvolvimento de métodos colorimétricos

Na Figura 4 são apresentadas as estruturas químicas de três corantes conhecidos por apresentar efeito solvatocrômico. O corante cloreto de azul do Nilo A (Figura 4.A) apresenta coloração azul em meios mais polares e coloração vermelha em meios contendo solventes apolares (TAJALLI *et al.*, 2008). Além disso, apresenta alteração de cor mediante alteração do valor de pH (MADSEN *et al.*, 2013). Os corantes azul de metileno (Figura 4.B, cor violácea em meios polares) e ditizona (Figura 4.C, cor esverdeada em meios polares) também exibem solvatocromismo, conforme mostrado por MAHMOOD *et al.*, (2013) e NTOI *et al.*, (2017), respectivamente.

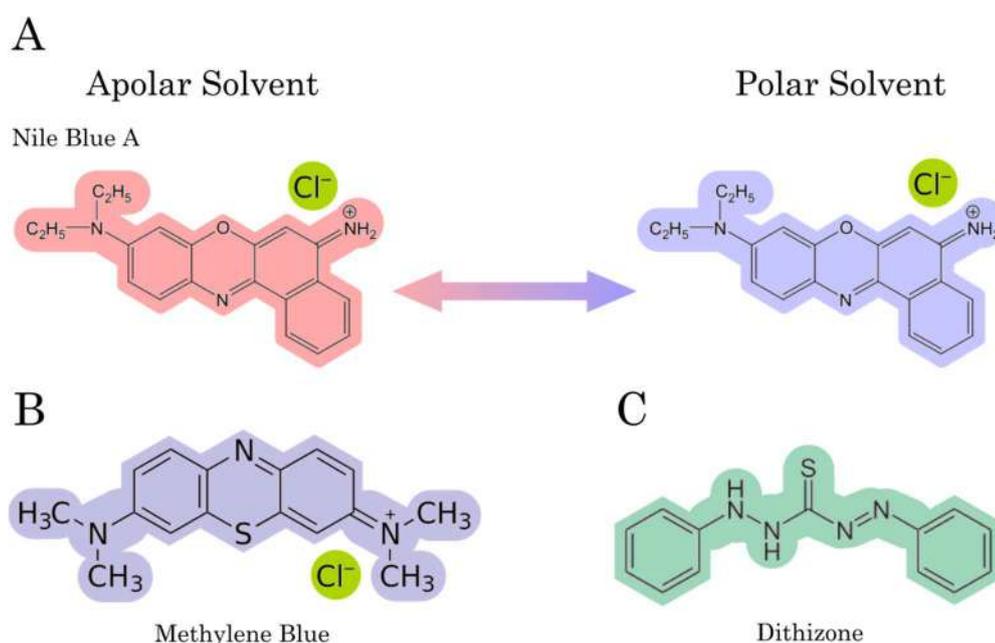


Figura 4. Estruturas químicas de alguns corantes solvatocrômicos. A. Cloreto de azul do Nilo e respectiva alteração de cor quando dissolvido em solvente apolar e solvente polar. B. Azul de metileno. C. Ditizona. (CAVALCANTE *et al.*, 2020)

BUDAG (2006) utilizou corantes solvatocrômicos para a análise de etanol combustível em gasolina. O autor determinou a concentração do etanol combustível em gasolina a olho nu, demonstrando a facilidade da detecção por meio de um método de baixo custo. Além disso, outros autores também publicaram estudos de análise da

qualidade de combustíveis, por meio da utilização de corantes solvatocrômicos. em diferentes aplicações, tais como: 1) adulteração de gasolina (ISOPPO *et al.*, 2020; GOTOR *et al.*, 2018; TANAKA *et al.*, 2011; FLUMIGNAN *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2011), 2) octanagem da gasolina (HUBERT *et al.*, 1995), 3) adulteração de óleo diesel (GOTOR *et al.*, 2017), 4) composição de misturas de biodiesel: óleo diesel e bioetanol: óleo diesel (EL SEOUD *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2019) e 5) composição de misturas de bioetanol: água e bioetanol: gasolina (GALGANO *et al.*, 2012).

3.6. A teoria de cor

Teoria das cores são os estudos e experimentos relacionados com a associação entre a luz e a natureza das cores. Leonardo Da Vinci, Isaac Newton, Goethe e outros estudiosos inicialmente buscavam saber como acontecia o processo de formação das cores. Em 1666, Newton estudou o fenômeno de difração, ao observar a passagem da luz branca por um prisma de vidro, o feixe de luz resultante consiste em um espectro contínuo de cores variando do violeta ao vermelho. A luz cromática percebida corresponde ao espectro de energia eletromagnética na região do visível (380nm a 740nm) e a luz branca é formada por sete cores presentes ao longo desse espectro, conforme exibido na Figura 5 (NAZARETH, 2022)

Cor	Comprimento de onda	Frequência
vermelho	~ 625-740 nm	~ 480-405 THz
laranja	~ 590-625 nm	~ 510-480 THz
amarelo	~ 565-590 nm	~ 530-510 THz
verde	~ 500-565 nm	~ 600-530 THz
ciano	~ 485-500 nm	~ 620-600 THz
azul	~ 440-485 nm	~ 680-620 THz
violeta	~ 380-440 nm	~ 790-680 THz

Figura 5. Cores, comprimento de onda e frequência no espectro visível. (GOOGLE IMAGENS, 2022)

A percepção do ser humano em relação às cores difere seguindo o número de cones presentes no sistema de visão humana (SVH) individual (COSTA, 2015). Os

cones são os sensores dos olhos e podem ser divididos em três principais categorias: vermelho, verde e azul. Estudos comprovam que 65% dos cones existentes no SVH são sensíveis à luz vermelha, 33% à luz verde e apenas 2%, à luz azul (GONZALEZ *et al.*, 2010). Pode-se observar na Figura 6 as curvas experimentais médias da absorção da luz pelos cones vermelho, verde e azul do olho humano (NAZARETH, 2022).

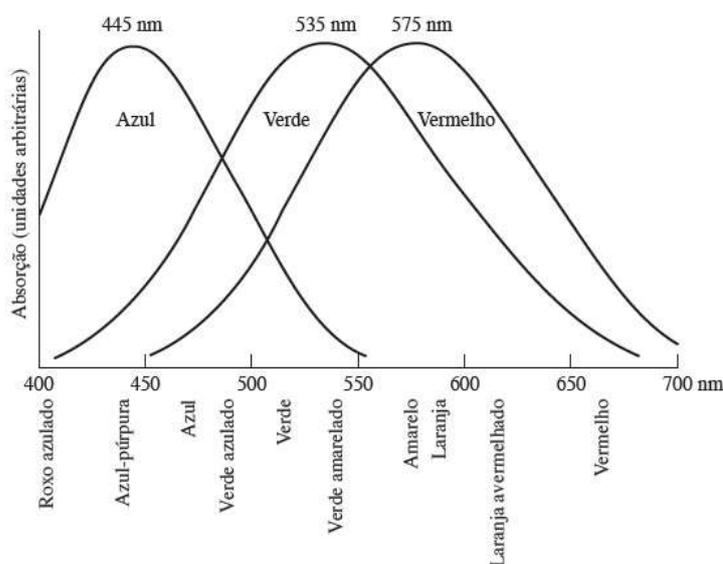


Figura 6. Absorção da luz pelos cones vermelho, verde e azul no olho humano como uma função do comprimento de onda (GONZALEZ *et al.*, 2010; NAZARETH, 2022).

Por conta dessas características, o vermelho (Red), o verde (Green) e o azul (Blue) formam o conjunto das cores primárias e as demais cores são uma combinação dessas três. Na Figura 7, pode-se observar que a combinação das cores primárias forma as cores secundárias, onde o vermelho e o azul formam o magenta, o verde e o azul formam o ciano e o vermelho e o verde formam o amarelo.

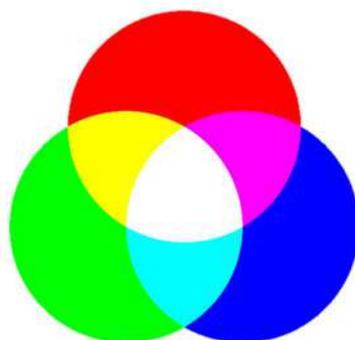


Figura 7. Cores primárias e secundárias de luz. Fonte: GOOGLE IMAGENS (2022)

As cores podem ser estudadas por meio de diferentes sistemas, sendo os mais comuns o RGB e o HSV. Estes são modelos que estudam as imagens ou vídeos digitais e seu processamento através da visão computacional de alto nível. Do ponto de vista da engenharia, busca entender e automatizar tarefas que o sistema visual humano pode realizar, como métodos para aquisição, processamento, análise e compreensão de imagens digitais e extração de dados de alta dimensão do mundo real para produzir informações numéricas ou simbólicas. É um estudo antigo, mas que nos tempos atuais tem ficado em maior evidência devido ao avanço de tecnologias capazes de utilizar um conjunto com técnicas de aprendizado de máquina e estruturas de otimização complexas (KLETEE, 2014).

3.6.1. O modelo RGB

O objetivo de um modelo de cor é facilitar e especificar de forma padronizada as cores por meio de um sistema de coordenadas e um subespaço onde cada cor é representada por um único ponto (GONZALEZ *et al.*, 2010).

O modelo RGB é associado diretamente às superfícies emissoras de luz. Por isso é utilizado em equipamentos eletrônicos, como monitores de televisão, computador e câmeras fotográficas. A cor é expressa como um triploto RGB (red, green, blue), onde cada componente pode variar de zero a um valor máximo definido. Se todos os componentes estiverem em zero, o resultado será preto; se todos estiverem no máximo, o resultado será o branco. Em computadores, os valores dos

componentes geralmente são armazenados como números inteiros sem sinal no intervalo de 0 a 255, o intervalo equivalente a um único byte (GONZALEZ et al., 2010).

Como podemos ver na Figura 8, o modelo é baseado em um sistema de coordenadas cartesianas onde o subespaço de interesse é um cubo unitário, com os valores normalizados. As cores são pontos no cubo, definidas por vetores que saem da origem (NAZARETH, 2022).

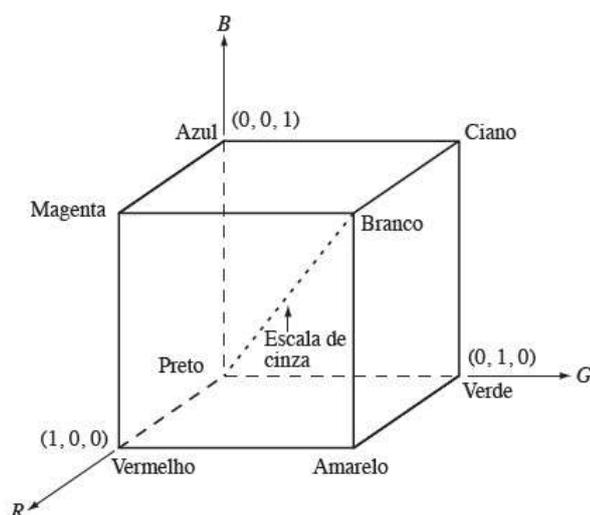


Figura 8. Esquema do cubo de cores RGB (GONZALEZ *et al.*, 2010; NAZARETH, 2022).

Uma imagem, quando representada pelo modelo RGB, é composta por três componentes de imagem para cada cor primária que se combinam na tela do monitor. Quando cada componente da imagem é uma imagem de 8 bits, diz-se que cada pixel de cores RGB tem profundidade de 24 bits e, nessas condições, tem-se uma

imagem colorida ou uma imagem full-color (GONZALEZ *et al.*, 2010), como pode-se observar na Figura 9.



Figura 9. Cubo de cores RGB de 24 bits (Gonzalez *et al.*, 2010).

3.6.2. O modelo HSV

No modelo HSV, as variáveis que o compõem são a matiz ou cor (H, hue), a saturação (S, saturation) e o valor (V, value) e também são representados no espaço como ilustrado na Figura 10. Este é um modelo mais intuitivo, pois é mais fácil para o

SVH descrever uma cor em função de tonalidades do que de uma combinação de vermelho, verde e azul (NAZARETH, 2022).

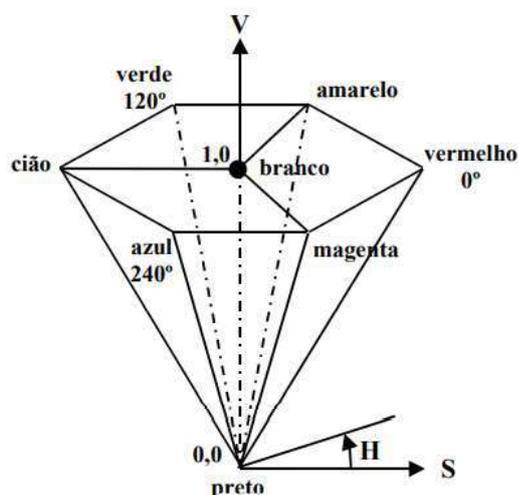


Figura 10. Espaço de cor HSV (LOPES, 2013).

A matiz representa a cor dominante que é percebida pelo observador. Nos vértices do hexágono se localizam as cores primárias que estão posicionadas de acordo com os ângulos correspondentes, segundo o Tabela 4.

Tabela 4. Ângulos correspondentes às cores no espaço HSV (LOPES, 2013).

Cor	Ângulo
Vermelho	0°
Amarelo	60°
Verde	120°
Ciano	180°

Azul	240°
Magenta	300°

A saturação corresponde a quantidade de luz branca presente em uma cor. Pode-se dizer que uma cor pura no espectro é uma cor totalmente saturada [$S=1$], enquanto cores com rosa (vermelho e branco) e lilás (violeta e branco) são menos saturadas. Logo, a saturação de uma cor varia de maneira inversamente proporcional à quantidade de luz branca adicionada. Já o valor é relativo ao brilho da cor e varia de 0 a 1, onde 0 corresponde a brilho nulo e 1, brilho máximo (GONZALEZ *et al.*, 2010; LOPES, 2013).

3.7. O processamento de imagens digitais

As técnicas de registro, processamento e análise de imagens digitais têm sido aplicadas aos mais diversos campos da ciência, engenharia e indústria. A facilidade de implementação das técnicas de análise de fotografias, a diversidade de softwares e aplicativos para celulares e smartphones e o baixo custo associado às câmeras fotográficas e dispositivos similares para registro de imagens fizeram com que este campo do conhecimento se tornasse uma tendência, nas investigações acadêmicas e aplicações industriais (OLIVEIRA, 2015).

Na área química, o processamento de imagens digitais tem sido empregado como uma alternativa aos métodos espectroscópicos e encontra grande aplicação na detecção de cor em processos ou reações colorimétricas. O baixo custo associado a técnica de processamento de imagens e a utilização de dispositivos portáteis para geração de imagens tornam a metodologia bastante atrativa, inclusive para exploração no ensino de química e engenharia química, conforme mostram diversos trabalhos descritos na literatura (KOHL *et al.*, 2006; SOLDAT *et al.*, 2009; BYOUNG-YOUNG, 2012; KEHOE *et al.*, 2013; RICE *et al.*, 2014; BLATCHLY, *et al.*, 2014; MORAES *et al.*, 2014; KOENIG *et al.*, 2014; CAPITÁN-VALLNEY *et al.*, 2015; CAMPOS *et al.*, 2015; DAMASCENO *et al.*, 2015; KOESDJOJO *et al.*, 2015;

KNUTSON *et al.*, 2015; MORAES *et al.*, 2015; MONTANGERO, 2015; COLZANI *et al.*, 2017 e VOLMER *et al.*, 2017).

A extração dos valores de RGB (*Red, Green e Blue*) das imagens digitais utilizando softwares, como, por exemplo, o Adobe Photoshop e ImageJ são simples, mas extrair os valores de RGB manualmente de todas as imagens é um trabalho tedioso e demorado (OLIVEIRA, 2015).

3.7.1. O uso de imagens digitais em métodos colorimétricos

As imagens digitais de testes colorimétricos vêm sendo descritas na literatura, usando câmera de *Smartphone*, e os resultados são geralmente quantificados pelo sistema RGB, usando o aplicativo *PhotoMetrixPRO* (SOARES *et al.*, 2017; BÖCK, *et al.*, 2018; HELFER *et al.*, 2018, SOARES, ROCHA, 2019; MARINHO *et al.*, 2019; SOARES *et al.*, 2019) ou *Color Grab* (LIMA *et al.*, 2017 e ACEVEDO *et al.*, 2018), disponível gratuitamente. Em sistemas computacionais, as imagens exibidas são formadas por um conjunto de entidades fundamentais, cada uma denominada pixel (contração de Picture Element); cada pixel é definido por um vetor de posição no plano (coordenadas x e y) e o valor representativo de uma cor sólida (monocromática). A cor de cada pixel, por sua vez, está associada a um espaço vetorial. O espaço RGB (*Red, Green and Blue*) é o mais utilizado para representação de cores em sistemas computacionais. Nele a cor de cada pixel está associada às coordenadas de posição de um ponto nesse espaço, limitado em cada coordenada (R,G,B), ao intervalo [0,1] (HUNT, 2004).

Em 2018, Soares e colaboradores desenvolveram um simples e barato “spot test” baseado em imagens digitais feitas por uma câmera de celular para a determinação de metanol em biodiesel. O procedimento foi baseado na oxidação do metanol ao formaldeído e na subsequente reação com o reagente de *Schiff*, resultando num produto com a coloração violeta. Os sinais analíticos foram baseados

na medida de radiação refletida no canal G (sistema RGB), o qual se refere à cor complementar do produto de reação (SOARES *et al.*, 2018).

4. Material e Métodos

4.1. Definição das condições experimentais adequadas para a determinação de metanol em etanol combustível

Os parâmetros iniciais da metodologia e os reagentes utilizados foram definidos a partir de testes preliminares apresentados no APÊNDICE A (pág.91).

As etapas experimentais desenvolvidas neste trabalho estão sistematizadas na ilustração apresentada no APÊNDICE B (pág.100)

4.1.1 Os reagentes

Foram utilizados os solventes etanol (Bioscience, grau HPLC), metanol (Bioscience, grau HPLC) e o corante solvatocrômico ditizona (Inlab).

4.1.2 A definição da melhor concentração da solução de ditizona

Foram realizados testes de sucessivas diluições de uma solução de ditizona em diferentes concentrações de metanol em etanol, conforme pode ser observado na figura 11, e descrito a seguir:

Primeira diluição: Conforme testes realizados (APÊNDICE A), três soluções foram preparadas nas concentrações de 0,05 g/L de ditizona nas misturas de 0%, 50% e 100% volumétrica de metanol em etanol. Foram pesadas 3 amostras de 0,5mg de ditizona e transferidas para 3 tubos de ensaio, onde foram acrescentados utilizando pipeta volumétrica, 10 mL de misturas de etanol com metanol.

Segunda diluição: Preparou-se uma nova diluição com concentração final de ditizona de 0,025 g/L. Foi transferido 1 mL de cada solução 0,05 g/L para três tubos de ensaio contendo 1 mL de soluções 0% volumétrica de metanol, 50% volumétrica de metanol e 100% volumétrica de metanol.

Terceira diluição: Testou-se uma diluição de 1:5 das amostras de concentração 0,025 g/L, completando o volume de uma alíquota de 1 mL de cada solução para 5 mL, resultando numa concentração final de cerca de 0,005 g/L. Nesta concentração, testou-se também as proporções 20%, 40%, 60% e 80% volumétrica de metanol em etanol repetindo o procedimento.

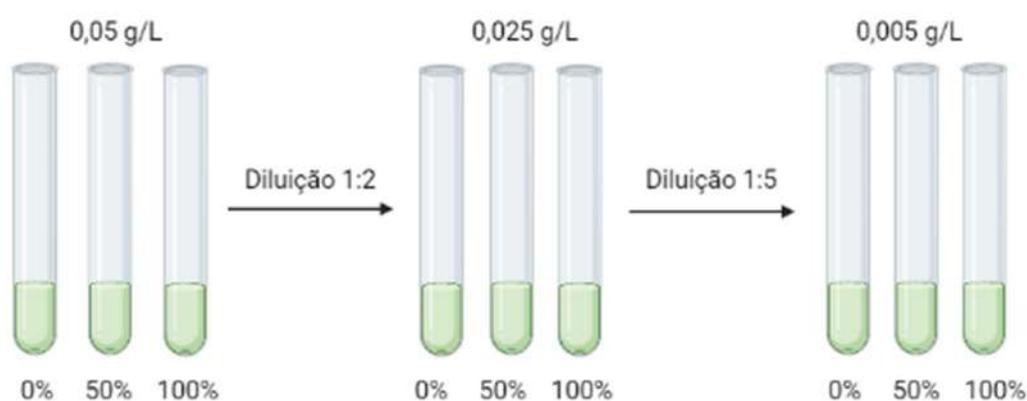


Figura 11. Testes de sucessivas diluições descritos no item 4.1.2.

4.1.3 O estudo da observação visual da coloração do corante ditizona

Pesou-se, em 6 tubos de ensaio, aproximadamente 1 mg, do corante ditizona e acrescentou-se 20 mL das misturas de metanol em etanol nas seguintes proporções: 0%, 20%, 40%, 60%, 80% e 100% volumétrica. Em seguida, realizou-se uma diluição de 1:10, resultando em soluções com cerca de 0,005 g/L de ditizona

4.1.4 O estudo da viabilidade da utilização de uma solução de corante dissolvido em etanol

Foram preparados 50 mL de uma solução do corante ditizona em etanol na concentração de 0,05 g/L. Concomitantemente, preparou-se em 4 tubos de ensaio contendo 9 mL de solução de metanol em etanol nas proporções 0%, 30%, 60% e 100% volumétrica. Nesses tubos de ensaio foram acrescentados 1 mL da solução do corante ditizona em etanol, resultando em uma diluição de 1:10, tendo a concentração final de cerca de 0,005 g/L de ditizona.

Com a adição de 1 mL da solução do corante, as proporções finais de metanol em etanol foram, respectivamente, 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica.

O procedimento foi repetido em duplicata das soluções de metanol em etanol, utilizando duas soluções diferentes de corante. Pesou-se duas amostras de 2,5 mg de ditizona, que foram dissolvidas em 50 mL de etanol, obtendo-se duas soluções de 0,05 g/L. Cada solução de corante foi utilizada em uma replicata das soluções de metanol com etanol.

4.1.5 O estudo da viabilidade do método em baixas concentrações de metanol em etanol combustível

Para o estudo da viabilidade do método proposto em baixas concentrações de metanol em etanol combustível, preparou-se uma solução do corante ditizona em etanol na concentração de 0,05 g/L. Foram adicionados 1 mL desta solução do corante em 5 diferentes tubos de ensaio contendo 9 mL das misturas de metanol em etanol, nas proporções 0%, 10%, 20% 30% e 40% volumétrica. O experimento foi realizado em duplicata.

Para a determinação de metanol em etanol em baixas concentrações (inferior a 24% volumétrica), repetiu-se o procedimento utilizando diferentes teores de metanol em etanol. Foi realizada mediante a preparação de uma solução mãe de concentração 0,05 g/L. Esta solução foi preparada pesando-se 1,25 mg de ditizona e solubilizando em etanol, em um balão volumétrico de 25 mL.

Para o preparo da curva analítica nas concentrações de 0%, 4,5%, 9%, 13,5%, 18%, 22,5% e 27% volumétrica de metanol em etanol, usando o corante solvatocrômico ditizona foram reservados 7 tubos de ensaio. A cada tubo de ensaio, acrescentou-se 9 mL das mesmas soluções de metanol em etanol nas proporções citadas anteriormente, e em seguida adicionou-se 1 mL da solução de ditizona em etanol na concentração de 0,05 g/L (diluição final de 1:10 e concentração final de 0,005 g/L). Essa diluição pode ser observada na figura 12.

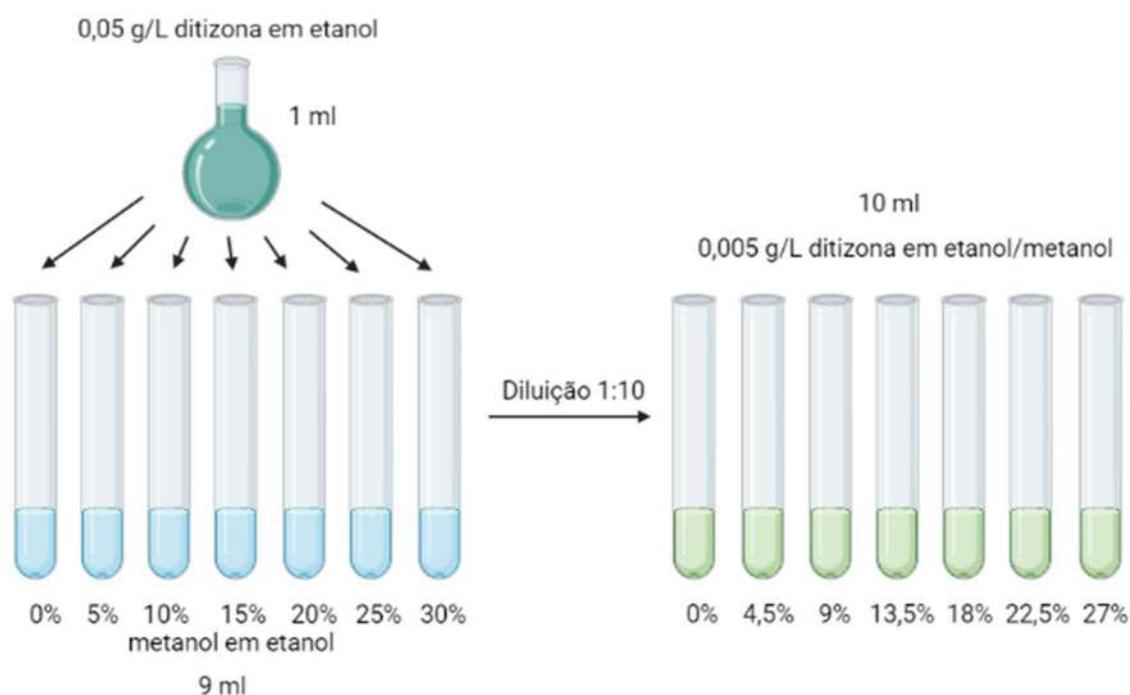


Figura 12. Esquema do procedimento descrito na diluição 2 do item 4.1.6.

4.2. A aquisição das imagens digitais

As imagens digitais foram adquiridas com um *smartphone iPhone 11* da marca *Apple*, empregando uma câmara fotográfica com iluminação controlada, conforme mostra a Figura 13a e 13b.

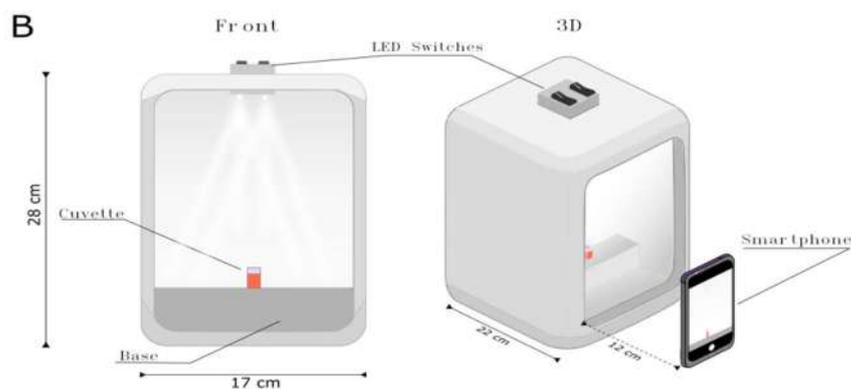


Figura 13a. Representação esquemática da câmara fotográfica com iluminação controlada a base de LEDs de alta potência, para a aquisição das imagens digitais (Cavalcante *et al.*, 2020).



Figura 13b. Imagem da câmara fotográfica com iluminação controlada a base de LEDs de alta potência, empregada para a aquisição das imagens digitais.

Todas as imagens digitais foram tratadas usando o *software ImageJ*, onde foram obtidos os valores dos canais R (*Red*), G (*Green*) e B (*Blue*).

4.3. O estudo da linearidade do método em diferentes proporções de metanol em etanol e definição do melhor canal

Para a determinação da linearidade do método proposto fez-se necessária a construção de duas curvas analíticas para a quantificação do teor de metanol em etanol combustível. A curva analítica 1 foi feita na faixa de concentração de 0 a 90% volumétrica de metanol em etanol (0%, 27%, 54% e 90% volumétrica) e a curva

analítica 2 na faixa de concentração de 0% a 36% volumétrica de metanol em etanol (0%, 9%, 18%, 27% e 36% volumétrica). Cada concentração das curvas analíticas foi feita em duplicata.

As imagens digitais foram obtidas segundo procedimento descrito no item 4.2 (A aquisição das imagens digitais). Todas as imagens digitais foram tratadas usando o *software ImageJ*, onde foram obtidos os valores dos canais R (*Red*), G (*Green*) e B (*Blue*).

A partir dos resultados obtidos pelo *software ImageJ*, foram feitas as curvas analíticas utilizando o Excel.

4.4. A avaliação da estabilidade do corante solvatocrômico ditizona

O teste de estabilidade consistiu no preparo de uma solução 0,05 g/L de ditizona em etanol, que foi mantida armazenada na geladeira em frascos de vidro âmbar, e testada por sucessivas semanas para a observação da constância dos resultados. Foram preparadas duas soluções do corante solvatocrômico ditizona denominadas neste trabalho de corante 1 e corante 2.

4.4.1. O teste de estabilidade do corante 1

No dia 1, a solução do corante 1 foi preparada pesando-se 2,5 mg de ditizona e dissolvendo-se a mesma em 50 mL de etanol, resultando numa solução de concentração final de 0,05 g/L.

O corante foi testado neste dia (dia 1) em soluções de metanol em etanol nas proporções de 0%, 30%, 60% e 100% volumétrica. Foram adicionados 9 mL de cada solução de metanol em etanol, em 4 tubos de ensaio, e em seguida adicionou-se 1 mL de solução do corante solvatocrômico resultando numa concentração final de 0,005 g/L de ditizona.

Após os dias 7, 14 e 21, foram repetidos os testes das soluções de corante, adicionando 1 mL desta a 9 mL das soluções 0%, 50% e 100% volumétrica de metanol em etanol. Após 52 dias foi feito o teste nas proporções de 0%, 30%, 50% e 100% volumétrica. Por fim, após 82 dias, foram preparadas 4 soluções de metanol em

etanol, nas proporções 0%, 30%, 50% e 100% volumétrica e, a uma alíquota de 9 mL de cada, foi adicionado 1 mL da solução do corante ditizona.

4.4.2. O teste de estabilidade do corante 2

No dia 1, a solução do corante 2 foi preparada pesando-se 2,5 mg de ditizona e dissolvendo-se a mesma em 50 mL de etanol, resultando numa concentração final de 0,05 g/L.

No mesmo dia, foi feito o teste em duplicata em soluções de metanol em etanol nas proporções de 0%, 30%, 60% e 100% volumétrica, onde foram adicionados 9 mL de cada em 4 tubos de ensaio e em seguida, adicionou-se 1 mL de solução do corante solvatocrômico.

Após os dias 7 e 14 foram repetidos os testes das soluções de corante, adicionando 1 mL desta a 9 mL das soluções 0%, 50% e 100% volumétrica de metanol em etanol. Após 45 dias foi feito o teste nas proporções de 0%, 30%, 50% e 100% volumétrica. Por fim, 75 dias depois, foram preparadas 4 soluções de metanol em etanol 0%, 30%, 50% e 100% e, a uma alíquota de 9 mL de cada, foi adicionado 1 mL da solução de ditizona.

5. Resultados e Discussões

5.1. A definição das condições experimentais adequadas para a determinação de metanol em etanol combustível

5.1.1 A definição da melhor concentração da solução de ditizona

Para a determinação da melhor concentração do corante solvatocrômico ditizona a ser empregada para o desenvolvimento do método colorimétrico para análise de metanol em etanol combustível, fez-se os experimentos conforme procedimento descrito no item 4.1.2 (página 45), e os resultados estão apresentados na Figura 14.

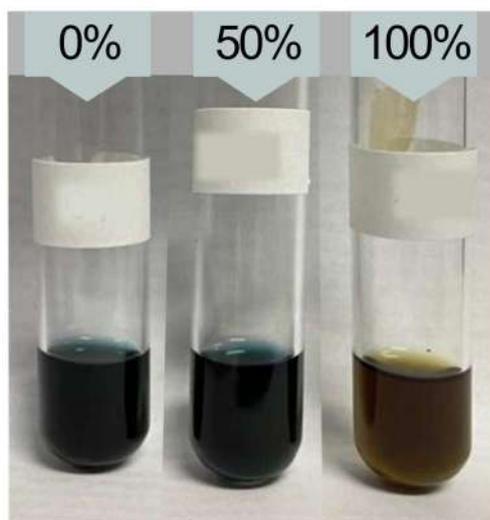


Figura 14. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,05 g/L, em diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 50% e 100% volumétrica).

Os resultados apresentados na Figura 14 (primeira diluição) mostraram uma coloração muito intensa nas três diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 50% e 100% volumétrica). Sendo assim, fez-se necessário realizar nova diluição (diluição 2), uma vez que os tubos de ensaio apresentaram coloração muito intensa e buscava-se uma diferença visível de cor de forma visual, entre as três diferentes concentrações de metanol em etanol testadas.

A Figura 15 apresenta os resultados da solução do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,025 g/L, em diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 50% e 100% volumétrica).

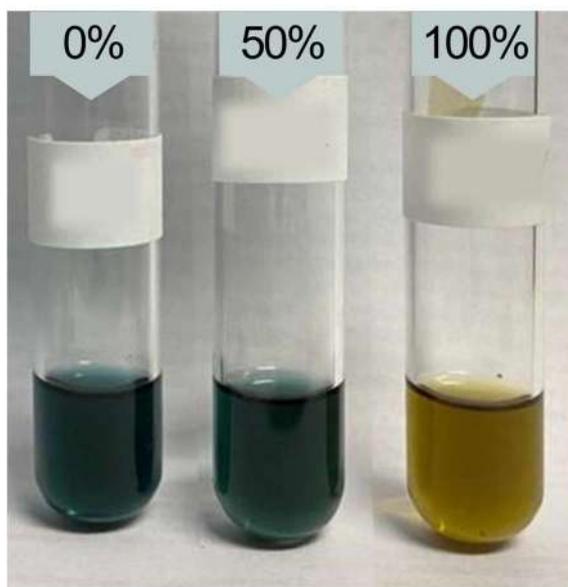


Figura 15. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,025 g/L, em diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 50% e 100% volumétrica).

Os resultados apresentados na Figura 15 (segunda diluição) ainda mostraram uma coloração intensa nas três diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 50% e 100% volumétrica). Sendo assim, fez-se necessário realizar nova diluição (diluição 3), uma vez que com a diluição 2, ainda não foi possível a observação de nítida da cor de forma visual, entre as três diferentes concentrações de metanol em etanol testadas.

A Figura 16 apresenta os resultados da solução do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L, em diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 20%, 40%, 50%, 60%, 80% e 100% volumétrica). As diluições de 0%, 50% e 100% foram oriundas das sucessivas diluições realizadas, enquanto as demais diluições de metanol foram preparadas posteriormente, por isso é possível observar diferentes volumes no tubo de ensaio.

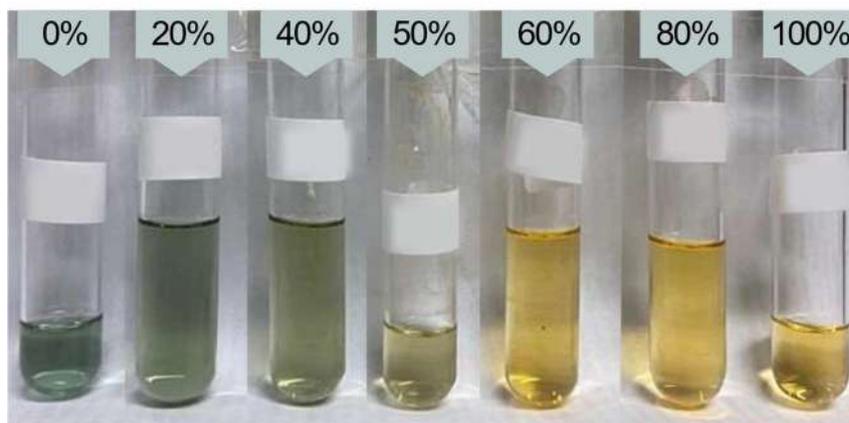


Figura 16. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L, em diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 20%, 40%, 50%, 60%, 80% e 100% volumétrica).

Os resultados apresentados na Figura 16 (terceira diluição) mostraram:

1. uma boa distinção de cor nas três diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 50% e 100% volumétrica).
2. não se observou, uma grande diferença de cor entre as concentrações 60%, 80% e 100% volumétrica
3. observou-se diferença de cor entre as concentrações de 20% e 40% em relação à solução 0% metanol.
4. observou-se também diferença na tonalidade entre as concentrações de 20% e 40%.

5.1.2 O estudo da observação visual da coloração do corante ditizona

Para o desenvolvimento do método colorimétrico para análise de metanol em etanol combustível, fez-se os experimentos conforme procedimento descrito no item 4.1.3 (página 45), cuja soluções foram preparadas a partir da adição de ditizona sólida nas soluções de metanol em etanol, e os resultados estão apresentados na Figura 17.

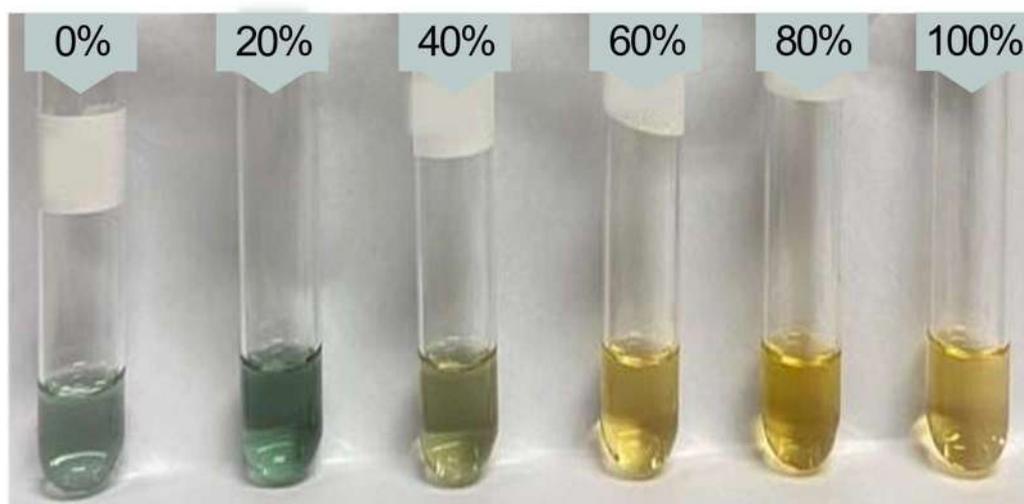


Figura 17. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante ditizona na concentração de 0,005g/L, após adição de ditizona em soluções de metanol em etanol nas concentrações 0%, 20%, 40%, 60%, 80% e 100% volumétrica.

A partir dos resultados apresentados na Figura 17, pode-se observar que:

1. as tonalidades das soluções destoam das observadas na Figura 16, obtidas a partir da mesma metodologia.
2. de 0% a 60% volumétrica de metanol em etanol, houve um gradiente de cor que representa o aumento da concentração de metanol na mistura.
3. observa-se que a partir da concentração de 60% volumétrica de metanol em etanol, não houve mudança significativa observada na coloração.
4. Observou-se de forma mais nítida a diferença de coloração entre as concentrações de 0%, 20% e 40% de metanol.

Importante ressaltar que, se o etanol combustível estiver adulterado com uma concentração superior a 60% volumétrica de metanol, o método proposto será capaz de identificá-la de forma qualitativa. No entanto, o objetivo do presente trabalho é conseguir determinar a adulteração de etanol com metanol em quantidades mais próximas das especificadas pela resolução da ANP (0,5%v/v).

5.1.3 O estudo da viabilidade da utilização de uma solução de corante dissolvido em etanol

Os experimentos realizados até o momento, foram realizados pesando-se o corante e o dissolvendo diretamente nas misturas de metanol em etanol. Contudo, este procedimento necessita da pesagem do corante para cada análise. Como objetiva-se desenvolver um método simples e rápido que possa ser futuramente empregado em análise de campo (análise em postos de distribuição), optou-se por mudar a estratégia e tentar usar uma solução mãe do corante previamente preparado em etanol, uma vez que evitaria a etapa de pesagem do corante no campo.

Para o estudo da viabilidade do emprego do corante ditizona, dissolvido em etanol, para a determinação de metanol em etanol combustível, fez-se os experimentos conforme procedimento descrito no item 4.1.4 (página 47), e os resultados estão apresentados na Figura 18.

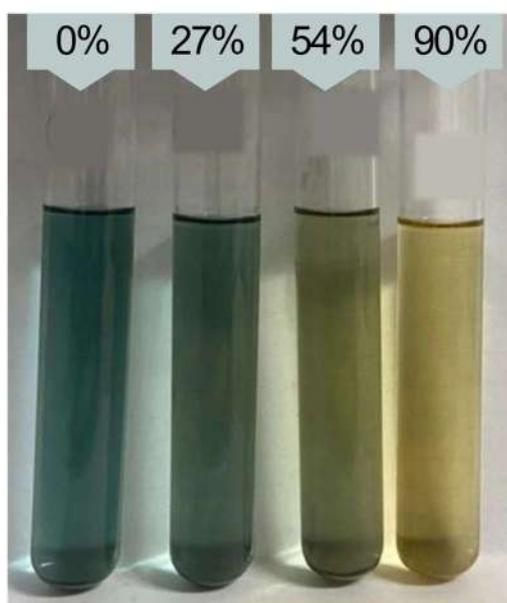


Figura 18. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica.

A partir dos resultados apresentados na figura 18, foi possível observar:

1. de 0% a 90% volumétrica de metanol em etanol, houve um gradiente de cor que representa o aumento da concentração de metanol na mistura.
2. a cor na concentração de 54% de metanol ainda apresentou uma coloração esverdeada, diferentemente dos experimentos anteriores, sem a ditizona previamente dissolvida em etanol, que demonstraram uma cor amarelada.
3. diferença mais nítida de coloração entre as concentrações de 0%, 27% e 54% de metanol.
4. também foi observada uma alteração na tonalidade entre as concentrações 0% e 27%.

Estes experimentos foram realizados em duplicata e os resultados estão apresentados na figura 19.

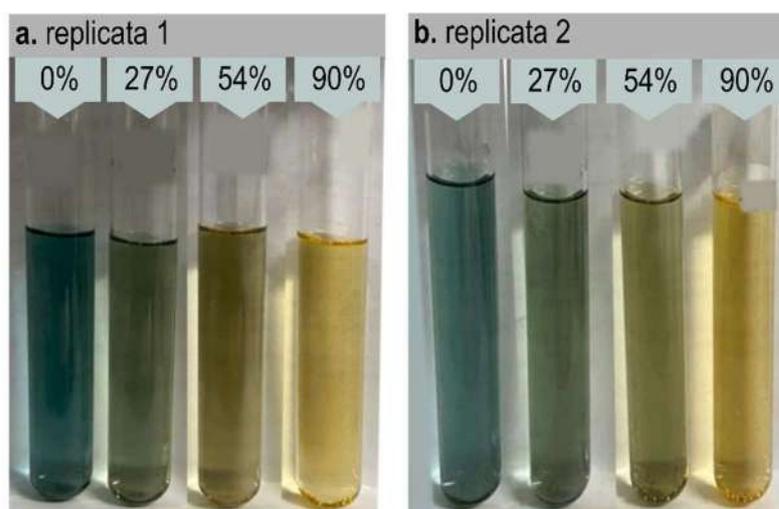


Figura 19. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica. **a.**Replicata 1. **b.**replicata 2.

Os resultados apresentados na Figura 19, mostram que a coloração das replicatas 1 e 2, nas diferentes concentrações estudadas (0%, 27%, 54% e 90% volumétrica de metanol em etanol) são visualmente semelhantes, indicando então uma repetibilidade da metodologia.

5.1.4 O estudo da viabilidade do método em baixas concentrações de metanol em etanol combustível

Objetivando verificar a viabilidade do método para baixas concentrações de metanol, uma vez que a especificação da ANP é de 0,5 % v/v de metanol, realizou-se os experimentos na faixa de 0 a 36% volumétrica de metanol em etanol, conforme descrito no item 4.1.5, e os resultados estão apresentados na Figura 20.

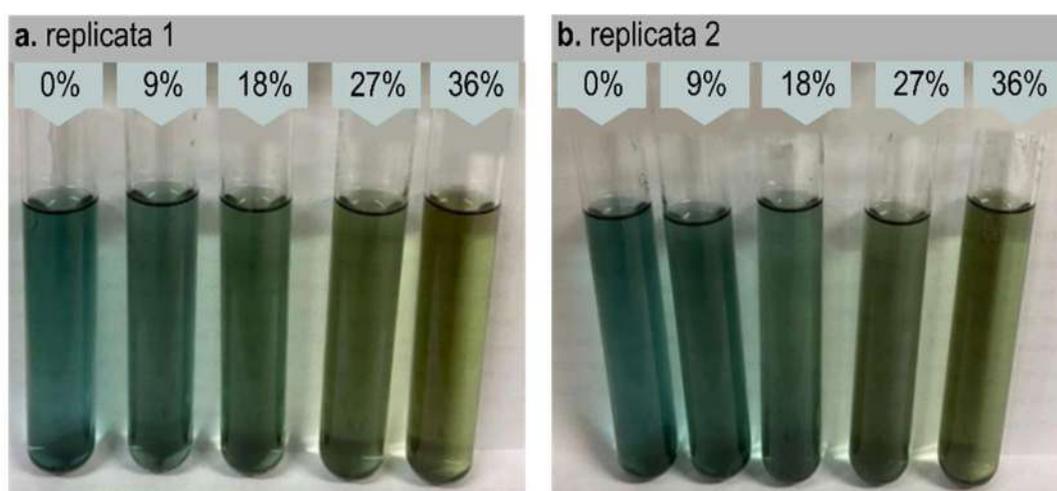


Figura 20. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 9%, 18%, 27% e 36% volumétrica de metanol em etanol. **a.**replicata 1..**b.**replicata 2.

Os resultados apresentados na Figura 20 demonstram:

1. Início da variação de cor na concentração de 18% de metanol em etanol
2. variação na cor mais acentuada das soluções com concentração de 27% e 36% volumétrica de metanol em etanol em relação a 0 %

3. ambas as replicatas nesse experimento apresentaram gradiente de coloração e tonalidade semelhantes.

Na busca de uma melhor visualização da variação de coloração para as concentrações inferiores a 27% volumétrica de metanol em etanol, buscou-se realizar um teste em concentrações diferentes da mistura de metanol em etanol. O experimento foi realizado conforme descrito no item 4.1.6, fazendo duas diluições, conforme apresentado na Figura 21.

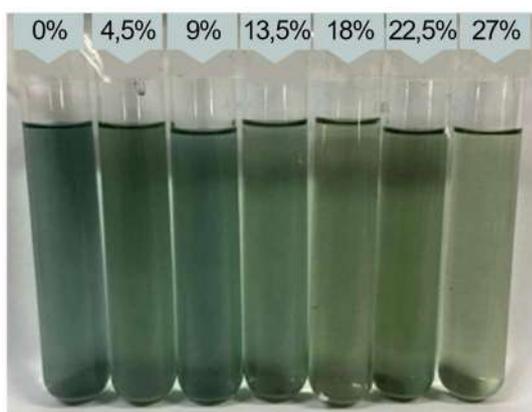


Figura 21. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante ditizona na concentração de 0,005 g/L, para baixas concentrações de metanol em etanol (concentração final de metanol 0%, 4,5%, 9%, 13,5%, 18%, 22,5% e 27% volumétrica para diluição 2).

A partir dos resultados apresentados na Figura 21, pode-se observar que:

1. apresentou pouca variação, porém foi possível observar a presença do tom esverdeado com o aumento da concentração de metanol
2. o experimento realizado confirmou o observado nos demais testes onde concentrações acima de 18% volumétrico de metanol em etanol apresentaram a coloração esverdeada.

Foram adquiridas as imagens digitais de todas as amostras contidas nos tubos de ensaio, conforme procedimento descrito no item 4.2 (página 48).

5.2. A aquisição das imagens digitais

Os resultados discutidos anteriormente foram obtidos pela visualização direta das analistas da variação da coloração das soluções. Neste tópico, para avaliar os experimentos de forma analítica, utilizou-se o *software ImageJ* e obteve-se os resultados por meio dos canais que compõem as cores primárias *red*(vermelho), *green*, (verde) e *blue* (azul).

Em relação ao teste de melhor concentração de ditizona descrito no item 4.1.2, é possível observar os valores dos canais *red*, *green* e *blue*, obtidos pelo *software Image J*, na Tabela 4. Para fins de melhor interpretação dos resultados, a Figura 16 (item 5.1.1) também se encontra abaixo:

Tabela 4. Resposta dos canais *red*, *green* e *blue* das soluções de concentração de 0,005g/L de ditizona nas misturas de metanol/etanol do teste de melhor concentração de ditizona correspondente a figura 16 (item 5.1.1), obtidas no processamento de imagem do *software ImageJ*.

Proporção MeOH/EtOH	Red	Green	Blue
0%	69,161	81,82	74,381
20%	79,314	87,577	76,369
40%	101,369	105,138	81,359
50%	138,517	132,968	96,602
60%	170,594	146,606	80,674
80%	177,089	150,086	75,946
100%	161,196	133,655	68,489

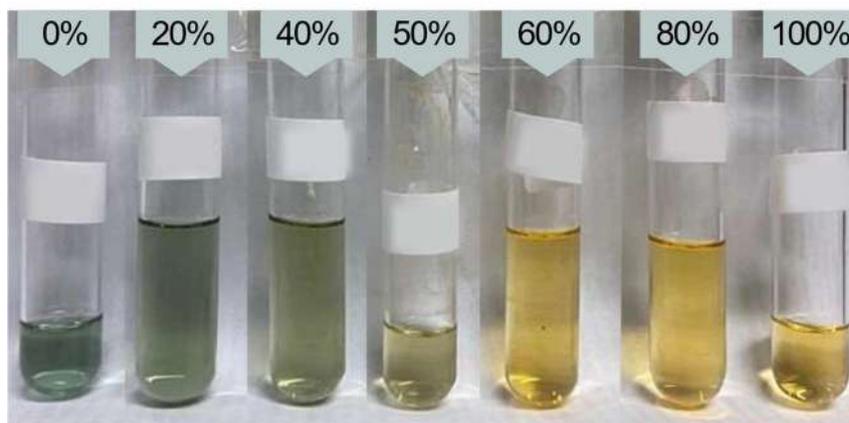


Figura 16. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L, em diferentes concentrações de metanol em etanol (0%, 20%, 40%, 50%, 60%, 80% e 100% volumétrica).

Na Tabela 4, é possível notar que:

1. há um aumento dos valores para os canais *red* e *green*, conforme aumenta a concentração de metanol em etanol até 80 %, condizentes com o gradiente de cor observado visualmente.
2. houve uma variação expressiva da leitura para as concentrações 20% e 40%, confirmando o observado na Figura 17.

No experimento descrito no item 4.1.3, onde se reproduz o método dentro das mesmas concentrações, obteve-se os resultados apresentados na Tabela 5 após o processamento de imagens. Para fins de melhor interpretação dos resultados, a Figura 17 (item 5.1.2) também se encontra abaixo:

Tabela 5. Resposta dos canais *red*, *green* e *blue* das soluções de concentração de 0,005g/L de ditizona nas misturas de metanol/etanol da confirmação do teste de melhor concentração de ditizona correspondente a figura 17 (item 5.1.2), obtidas no processamento de imagem do *software ImageJ*.

Proporção MeOH/EtOH	Red	Green	Blue
0%	172,997	182,673	161,728
20%	147,512	164,424	140,573
40%	170,176	173,201	140,886
60%	187,182	182,787	143,043
80%	203,363	191,735	135,546
100%	202,84	194,703	144,863

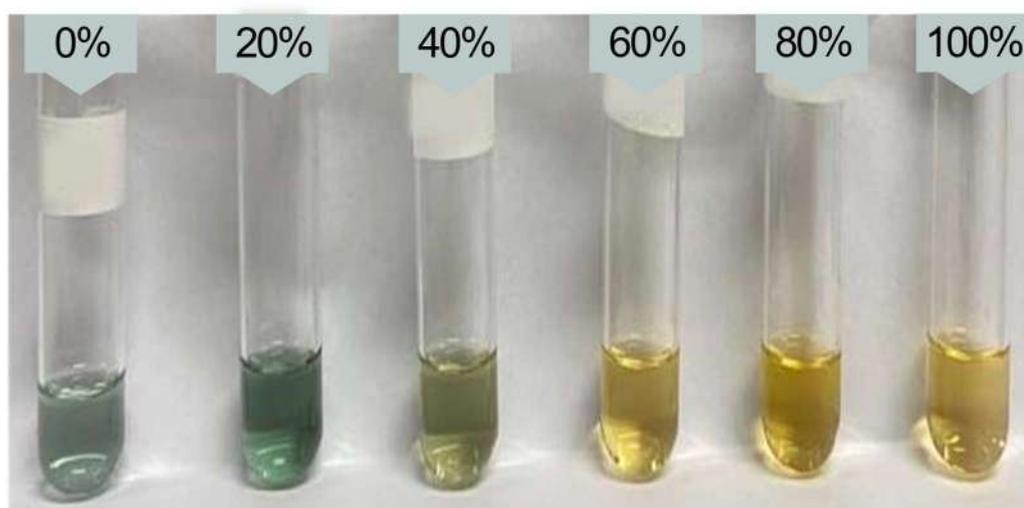


Figura 17. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante ditizona na concentração de 0,005g/L, após adição de ditizona em soluções de metanol em etanol nas concentrações 0%, 20%, 40%, 60%, 80% e 100% volumétrica.

Nos resultados da Tabela 5, observa-se que:

1. os valores de RGB apresentaram um crescimento para os canais *rede green*, até a concentração de 80% volumétrica de metanol conforme o esperado.
2. os valores RGB obtidos destoam dos apresentados na Tabela 4, consistente com a diferença de coloração observada, mesmo que tenha sido realizado a mesma metodologia.
3. é possível observar também, uma variação dos caracteres entre as concentrações 20% e 40% volumétrica de metanol, variação que foi percebida.

A partir da inconsistência dos resultados das Tabelas 4 e 5, dos experimentos descritos no item 4.1.2 e 4.1.3, respectivamente, observa-se uma sensibilidade na reprodução do método utilizando a ditizona sólida. A dificuldade da dissolução da

ditizona na solução de metanol em etanol e a pesagem e transferência de pequenas massas do corante, são fatores que dificultam a reprodutibilidade do método e possivelmente foram fatores que levaram aos dados inconsistentes obtidos.

A partir da alteração da metodologia para prévia dissolução da ditizona em etanol, conforme descrito no item 4.1.4., o crescimento dos caracteres nos canais *rede green* se mantiveram até a concentração de 90% volumétrica conforme Tabela 6. Para fins de melhor interpretação dos resultados, a Figura 18 (item 5.1.3) também se encontra abaixo:

Tabela 6. Resposta dos canais *red*, *greene blue* das soluções de concentração de 0,005g/L de ditizona, previamente dissolvida em etanol, diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica de metanol em etanol, correspondente a figura 18 (item 5.1.3).

Proporção EtOH/MeOH	Red	Green	Blue
0%	113,485	151,781	147,547
27%	128,080	155,117	143,590
54%	147,795	158,960	136,604
90%	170,169	165,588	123,403

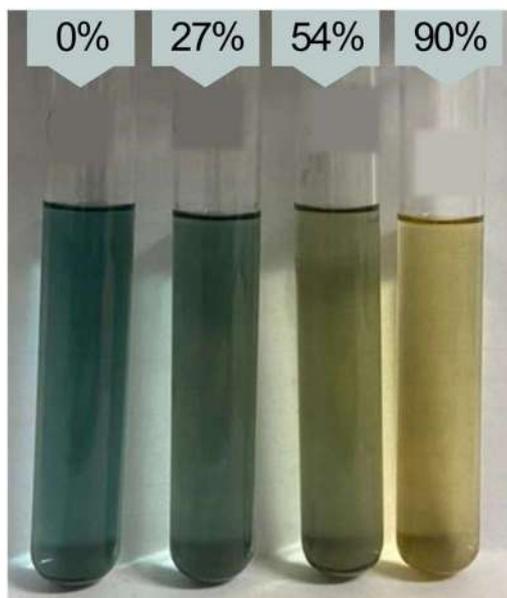


Figura 18. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica.

Os resultados confirmam o gradiente de coloração observado, que apresentou alteração para todas as concentrações estudadas. Com a alteração do procedimento, foi possível observar:

1. uma mudança dos resultados visuais de coloração que ficaram nítidos no processamento de imagem.
2. o canal *blue*, observa-se um decréscimo na intensidade da resposta, passando de 147,5 (concentração de 0% volumétrica de metanol em etanol), para 123,4 (concentração de 90% volumétrica de metanol em etanol).
3. os demais canais seguem com crescimento dos caracteres conforme o aumento da concentração de metanol, porém com intensidades bem distintas das obtidas no método utilizando a ditizona sólida.

A Tabela 7 apresenta os resultados das duplicatas verdadeiras das soluções de concentração de 0,005g/L de ditizona previamente dissolvida em etanol, e diluída em soluções 0%, 30%, 60% e 100% volumétrica de metanol em etanol, obtendo as concentrações finais de 0%, 27%, 54% e 90%. Para fins de melhor interpretação dos resultados, a Figura 19 (item 5.1.3) também se encontra abaixo:

Tabela 7. Resposta dos canais *red*, *green* *blue* das soluções de concentração de 0,005g/L de ditizona, previamente dissolvida em etanol, diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica de metanol em etanol. Replicata 1 à esquerda e replicata 2 à direita, correspondente a Figura 19 (item 5.1.3).

Proporção EtOH/MeOH	Replicata 1			Replicata 2		
	Red	Green	Blue	Red	Green	Blue
0%	126,416	147,993	137,823	108,158	141,666	127,535
27%	143,138	157,193	143,256	149,232	155,157	132,821
54%	149,852	163,452	134,335	161,333	160,995	136,429
90%	174,291	168,767	132,481	180,368	170,171	119,186

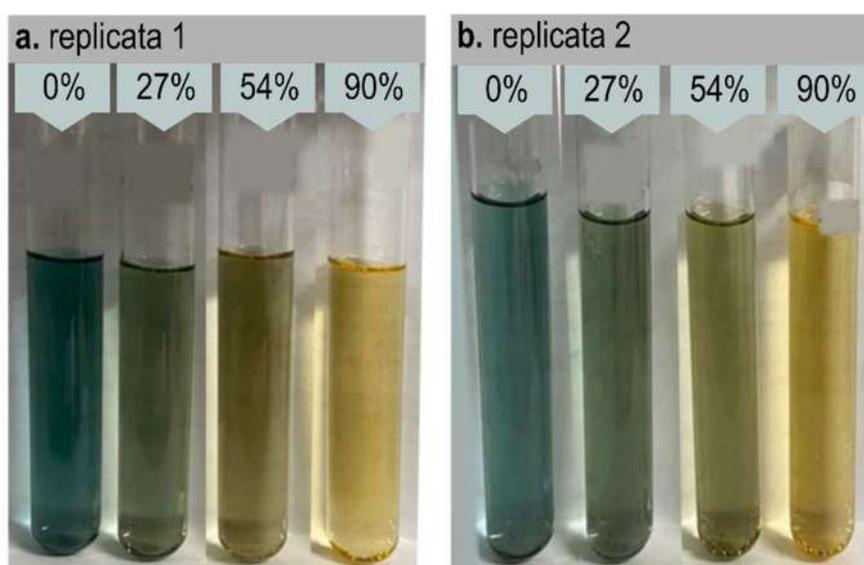


Figura 19. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica. Replicata 1 à esquerda e replicata 2 à direita.

De acordo com os resultados da Tabela 7, observa-se que:

1. todos os canais demonstraram uma variação da intensidade de resposta à cor em relação à concentração do metanol igualmente aos resultados apresentados na Tabela 6, que foram obtidos através da mesma metodologia.

2. O canal *blue* nos experimentos em duplicata demonstrou não ter resultados consistentes, uma vez que não apresentou um perfil decrescente nas leituras.
3. para um possível desenvolvimento de metodologia o canal vermelho demonstrou ser mais compatível para ser utilizado.

Os resultados apresentados nas Tabelas 6 e 7, obtidos nos experimentos com a dissolução prévia da ditizona, indicam uma maior variação, diferença da maior concentração para a menor concentração, no canal R (*red*) e depois para o canal G (*green*).

A avaliação do reconhecimento de imagens para concentrações de baixo teor de metanol em etanol também foi avaliada. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 8. Para fins de melhor interpretação dos resultados, a Figura 20 (item 5.1.3) também se encontra abaixo:

Tabela 8. Resposta dos canais *red*, *greene blue* das soluções de concentração de 0,005g/L de ditizona diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 9%, 18%, 27% e 36% volumétrica de metanol em etanol, do teste em duplicata. Replicata 1 à esquerda e Replicata 2 à direita, correspondente a figura 20 (item 5.1.4), reproduzida abaixo

Proporção EtOH/MeOH	Replicata 1			Replicata 2		
	Red	Green	Blue	Red	Green	Blue
0%	95,444	143,984	139,377	97,273	145,44	145,643
9%	129,573	153,823	138,626	124,16	151,146	135,817
18%	125,118	155,212	143,168	119,933	154,578	132,773
27%	129,441	153,382	128,962	134,203	155,156	124,092
36%	134,825	152,3	128,726	139,29	158,193	126,144

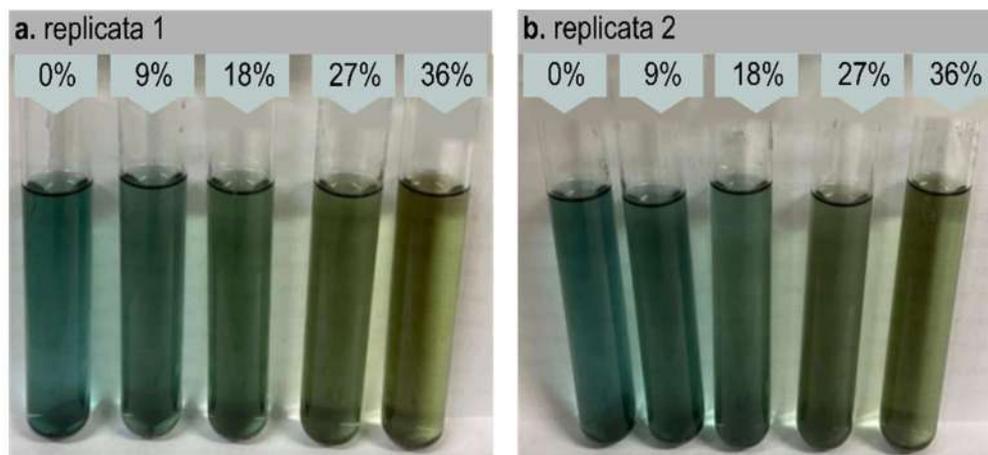


Figura 20. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante solvatocrômico ditizona na concentração de 0,005 g/L diluída em soluções de metanol em etanol, nas concentrações finais de 0%, 9%, 18%, 27% e 36% volumétrica de metanol em etanol. Replicata 1 à esquerda e replicata 2 à direita.

Os resultados dos canais *Red*, *Green* e *Blue* obtidos para faixa de 0 a 36% de metanol apresentados na Tabela 8 mostram que:

1. as respostas dos canais foram semelhantes entre as replicatas.
2. conforme observado no resultado visual, pôde-se observar e distinguir, na leitura RGB, os valores para as concentrações de 0%, 18% e 27%.
3. Assim como nos experimentos para altas concentrações, o canal vermelho (*Red*) apresentou a melhor linearidade e melhor diferença entre a maior concentração quando comparado a menor concentração.

A Tabela 9 avalia as concentrações da ditizona na faixa de 0% a 27. Para esta faixa muito estreita a metodologia, visualmente também foi possível observar distinção de cor a partir do teor de 18% de metanol. Dentro do processamento de imagem, é possível observar um sutil crescimento dos caracteres para os canais *red* e *green*, porém existe uma certa inconsistência entre os resultados para os teores acima de 22,5%. Para fins de melhor interpretação dos resultados, a Figura 21 (item 5.1.4) também se encontra abaixo:

Tabela 9. Resposta dos canais *red*, *green* e *blue* RGB das soluções de concentração de 0,005 g/L de ditizona, do teste da viabilidade para baixas concentrações de metanol, correspondente a figura 21 (item 5.1.4).

Proporção EtOH/MeOH	Red	Green	Blue
0,0%	132,829	153,333	146,636
4,5%	140,9	159,019	145,424
9,0%	136,295	158,178	146,204
13,5%	140,897	158,706	146,612
18,0%	142,806	156,86	142,128
22,5%	133,697	155,395	129,382
27,0%	141,807	157,838	145,103

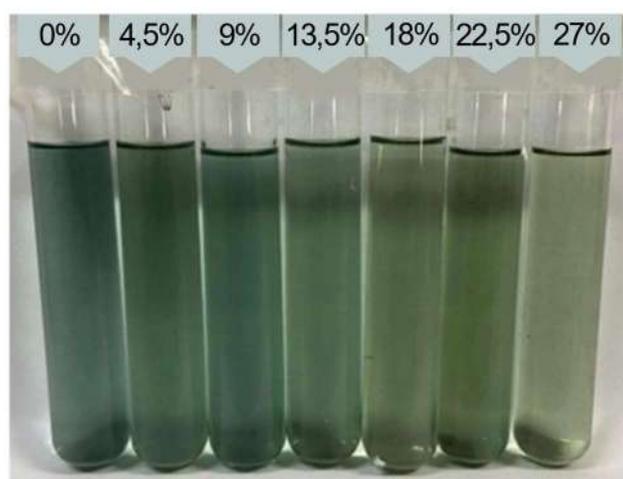


Figura 21. Tubos de ensaio mostrando as soluções do corante ditizona na concentração de 0,005 g/L, para baixas concentrações de metanol em etanol (concentração final de metanol 0%, 4,5%, 9%, 13,5%, 18%, 22,5% e 27% volumétrica para diluição 2).

No método proposto para aquisição de imagens, percebeu-se alguns desafios na aplicação prática. Dentre eles a luminosidade e reflexos causando interferência na fotografia do smartphone. Pôde-se observar ao longo dos experimentos, variações dentre os resultados para mesmos teores de metanol, que contrapõe o observado visualmente. Para avaliar a sensibilidade da utilização da câmara para aquisição de imagem, faz-se necessária uma avaliação estatística mais profunda do que a realizada neste trabalho.

É possível dizer, no entanto, que para baixos teores de metanol, a variação dos resultados obtidos torna difícil obter uma linearidade dentre as concentrações testadas. Apesar de ser observado visualmente a variação do gradiente de cor entre

o 0%, 18% e 27%, as leituras RGB realizadas no software ImageJ, não refletem tal constatação.

5.3 O estudo da linearidade do método em diferentes proporções de metanol em etanol e definição do melhor canal

A linearidade de um método demonstra o quanto os resultados analíticos são diretamente proporcionais em uma faixa de trabalho. A qualidade da curva analítica foi determinada pela proximidade do coeficiente de determinação (R^2) a 1,0, pois neste caso, menor será a dispersão e incerteza dos resultados.

As tabelas a seguir indicam as faixas de concentração utilizada para o estudo da linearidade da metodologia, como descrito no item 4.3. Assim como os resultados obtidos pelos respectivos canais R, G e B.

Tabela 10. Resposta dos canais *red*, *Green* e *blue* da curva analítica na faixa de 0 a 100% volumétrica de metanol em etanol.

Proporção EtOH/MeOH	Red	Green	Blue
0%	117,287	144,830	132,679
27%	146,185	156,175	138,039
54%	155,593	162,224	135,382
90%	177,330	169,469	125,834

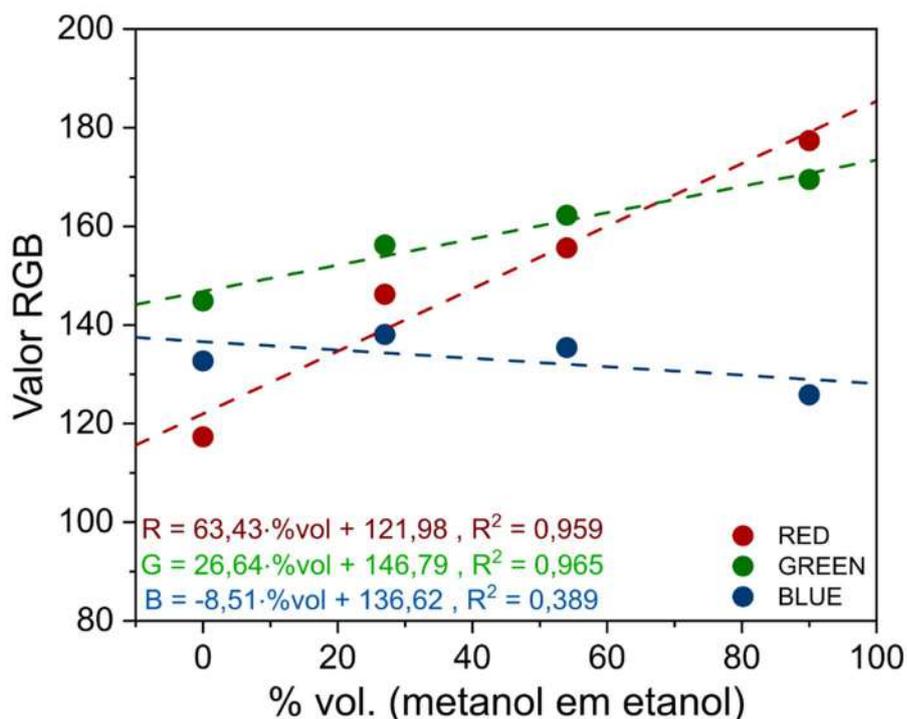


Gráfico 2. Curvas analíticas para a quantificação do teor de metanol em etanol combustível na faixa de 0 a 90% volumétrico de metanol em etanol, obtido a partir do processamento de imagem RGB.

No Gráfico 4 obteve-se um coeficiente de determinação de 0,959 e 0,964 para os canais *red* e *green*, respectivamente, o que indica serem os canais com melhor linearidade. Para definição do melhor canal, deve-se considerar também o canal onde houve maior variação da leitura para a faixa de variação do teor de metanol. Neste caso, observando que entre as equações da reta, $y = 26,63x + 146,7$ para o canal *green* e $y = 63,42x + 121,9$ para o canal *red*, o canal *red* teve o maior coeficiente angular.

A tabela 11 indica o estudo da linearidade para a faixa de concentração mais baixa variando de 0% a 36% volumétrica de metanol em etanol.

Tabela 11. Resultado do processamento de imagem RGB utilizando o ImageJ dos experimentos para obtenção da curva analítica de 0-36%.

Proporção EtOH/MeOH	Red	Green	Blue
0%	96,3585	144,712	142,51
9%	126,8665	152,4845	137,2215
18%	122,5255	154,895	137,9705
27%	131,822	154,269	126,527
36%	137,0575	155,2465	127,435

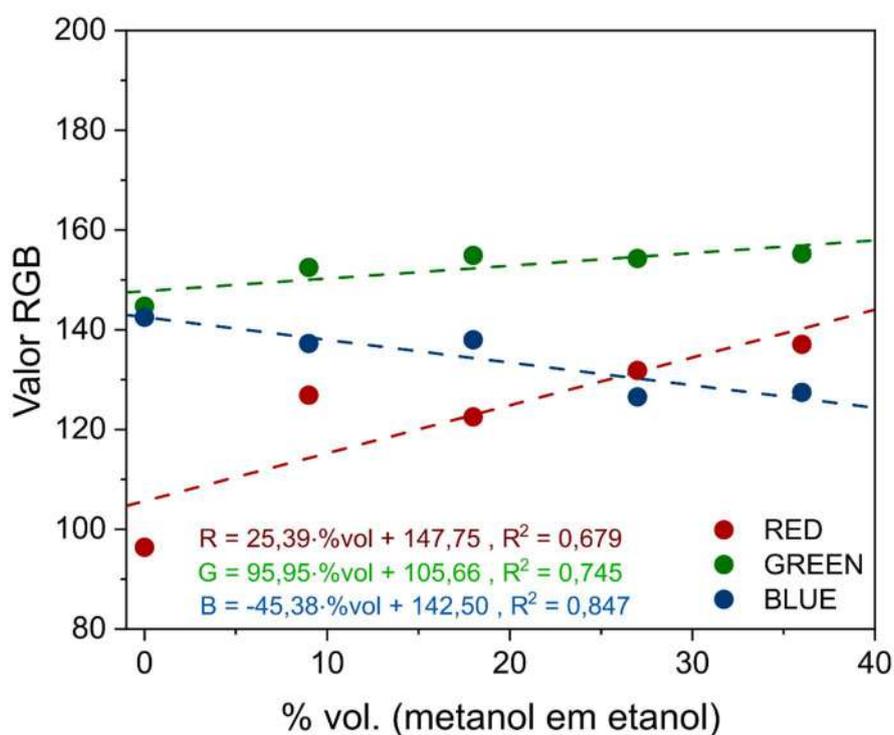


Gráfico 3. Curvas analíticas para a quantificação do teor de metanol em etanol combustível de 0 a 36% volumétrico de metanol em etanol, obtido a partir do processamento de imagem RGB.

No Gráfico 5 obteve-se um R^2 de 0,745 e 0,847 para os canais *red* e *blue* respectivamente. Quanto mais próximo de 1, melhor a linearidade, neste caso os resultados obtidos não apresentaram uma boa linearidade. Porém, considerando-se o canal onde houve maior variação da leitura para a faixa de variação do teor de metanol, neste caso o canal *red* é o melhor canal pelo seu coeficiente angular.

O estudo da linearidade demonstra que o método proposto, utilizando ditizona previamente diluída em etanol, para identificação qualitativa e quantitativa de metanol em etanol, é viável para a faixa de 0% a 90%. A linearidade demonstra que, a partir do gradiente de coloração obtido pelo método proposto, é possível pelo processamento de imagem e leitura dos canais RGB, fazer a quantificação de metanol em uma amostra nesta faixa que apresentou um bom coeficiente de determinação. Observou-se também, que o método possui limitação para baixas concentrações, uma vez que não se obteve um bom coeficiente de determinação.

5.4 A avaliação da estabilidade do corante solvatocrômico ditizona

A avaliação da estabilidade da solução do corante ditizona foi feita segundo o procedimento descrito no item 4.4 (página50) e os resultados estão apresentados nos itens a seguir.

5.4.1 Teste de Estabilidade do Corante 1

O início do teste do corante 1, foi no dia 1 utilizando as concentrações de 0%, 27%, 54% e 90% volumétrica de metanol em etanol. O resultado obtido a “olho nu” pode ser observado na Figura 23.



Figura 23. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 30%, 60% e 100% volumétrica de metanol em etanol no dia 1 (corante 1).

É possível observar uma gradativa mudança de cor, adquirindo um tom esverdeado, conforme com o aumento da concentração de metanol, semelhante ao resultado obtido no experimento preliminar.

Ao longo de algumas semanas, o corante 1, que ficou armazenado na geladeira, foi adicionado às misturas de metanol e etanol como descrito no capítulo 4.5.1 anterior e o resultado observado pode ser observado nas fotos a seguir.

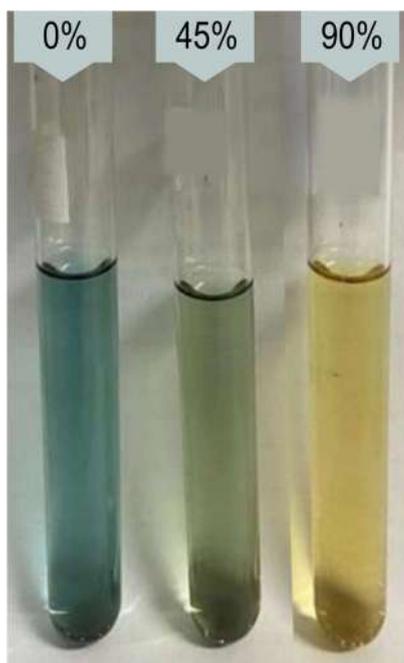


Figura 24.a. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 50% e 100% volumétrica de metanol em etanol no dia 7 (corante 1).

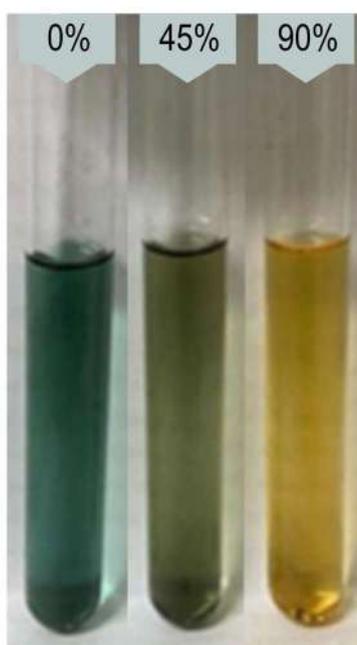


Figura 24.b. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 50%, 100% volumétrica de metanol em etanol no dia 14 (corante 1).



Figura 24.c. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 50%, 100% volumétrica de metanol em etanol no dia 21 (corante 1).

Novamente a mesma variação gradativa de cor foi observada, se mantendo semelhante às anteriores após 21 dias de preparação do corante 1.

Então, o corante foi mantido na geladeira, e após 52, foi adicionado nas misturas de metanol e etanol. Na figura 26, pode-se observar os resultados obtidos.

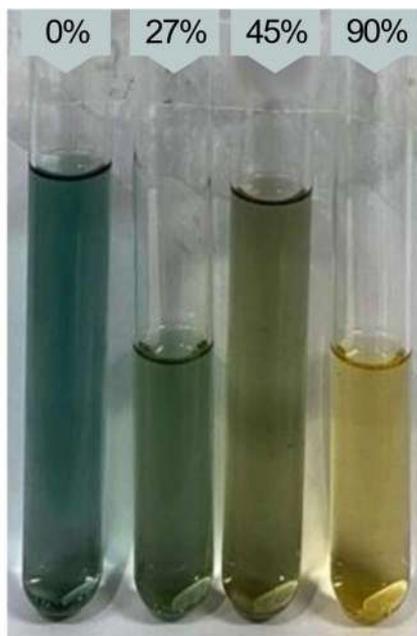


Figura 24.d. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 27%, 45% e 90% volumétrica de metanol em etanol no dia 52 (corante 1).

É possível observar nas Figuras 24.a, 24.b, 24.c e 24.d que em todos os experimentos o gradiente de coloração foi obtido dentro do esperado. As observações a “olho nu” não demonstraram variação entre os dias testados até mesmo 52 dias após a preparação do Corante 1.

Em todos os dias testados o corante 1, foi realizado o processamento de imagem das fotografias das soluções em cubetas utilizando o *software ImageJ*. Os resultados estão descritos na Tabela 12.

Tabela 12. Resultados do teste de estabilidade do corante solvatocrômico ditizona (corante 1) em diferentes concentrações de metanol em etanol por um período de 52 dias.

Proporção EtOH/MeOH	Corante 1														
	dia 1			dia 7			dia 14			dia 21			dia 52		
	red	green	blue	red	green	blue	red	green	blue	red	green	blue	red	green	blue
0%	113,49	151,78	147,55	99,51	137,26	129,76	102,85	148,76	138,90	99,07	139,65	133,23	128,18	150,25	133,88
27%	128,08	155,12	143,59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	139,42	157,31	136,34
45%	-	-	-	123,86	140,43	116,20	136,68	151,60	117,60	157,14	158,53	115,88	153,92	159,96	132,01
54%	147,80	158,96	136,60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90%	170,17	165,59	123,40	158,17	154,76	110,47	172,20	171,03	107,24	173,82	167,58	107,43	166,93	162,81	116,49

Os caracteres apresentados na Tabela 12 dos canais RGB apresentam o comportamento esperado de crescimento dos canais *rede green*, e decréscimo para o canal *blue*. É possível observar variação entre as leituras com o passar dos dias de teste.

Para melhor observar os resultados do processamento de imagem, foi construído o gráfico 6. É possível observar pequenas variações nos caracteres do canal *red* obtidas para as concentrações 0% e 90% volumétrica de metanol ao longo do tempo de análise. Entretanto, com as pequenas variações observadas não é possível concluir que o corante não apresenta estabilidade, uma vez que ao longo deste trabalho, o método aplicado apresentou variações de leitura no processamento de imagem utilizando o *software ImageJ*.

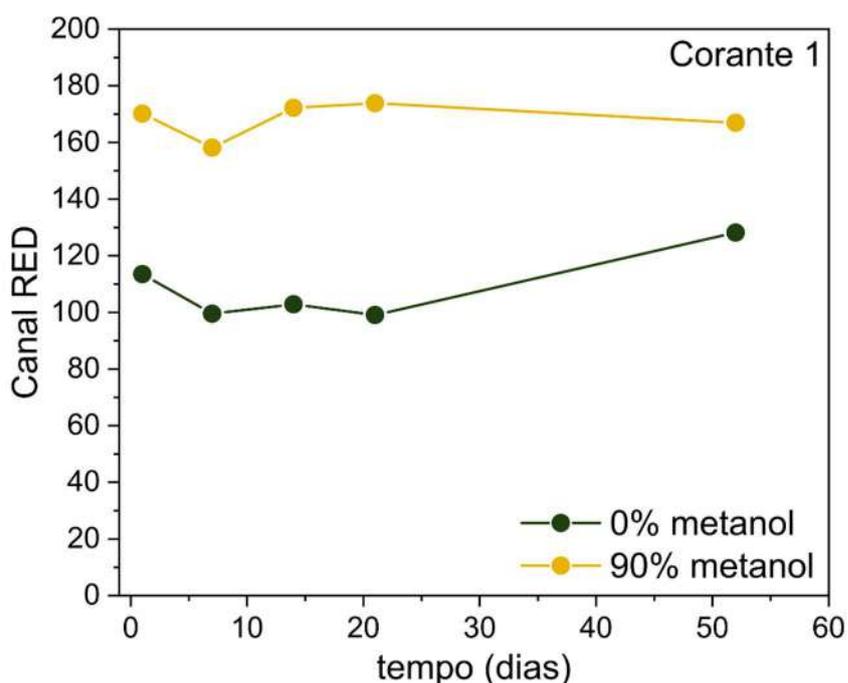


Gráfico 4. Resultados do canal Red do processamento de imagens dos testes de estabilidade para as concentrações 0% e 90% volumétrica de metanol para o corante 1.

A partir dos resultados obtidos do teste de estabilidade com o corante 1, constatou-se que a solução do corante é estável por um período de 52 dias.

5.4.2 Teste de Estabilidade do Corante 2

Concomitantemente à avaliação de estabilidade do corante 1, um segundo corante também foi preparado e testado. Na figura 25, pode-se observar os resultados “a olho nu” do corante 2, preparado no dia 1, para as concentrações de metanol de 0%, 27%, 54% e 100% volumétrica de metanol em etanol.



Figura 25.a. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 30%, 60% e 100% volumétrica de metanol em etanol no dia 1 (corante 2).

Nesse caso, também foi possível observar uma gradativa mudança de cor com o aumento da concentração de metanol, semelhante ao resultado obtido no experimento preliminar. Assim como o corante 1, o corante 2 foi guardado na geladeira para ser utilizado nas semanas seguintes. Nas figuras a seguir pode-se observar os resultados obtidos pelo corante 2 ao longo das semanas.



Figura 25.b. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 50%, 100% volumétrica de metanol em etanol no dia 7 (corante 2).

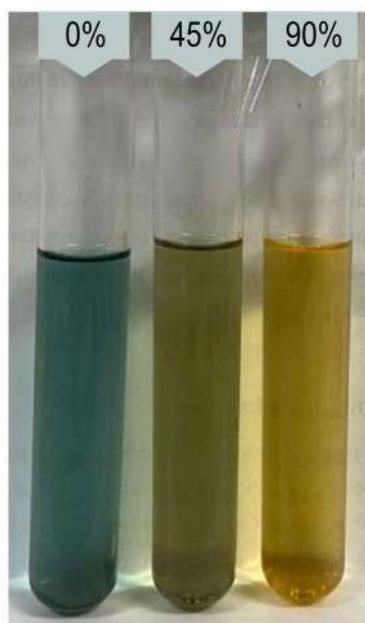


Figura 25.c. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 50%, 100% de metanol em etanol no dia 14 (corante 2).



Figura 25.d. Solução de ditizona 0,005 g/L com o corante solvatocrômico previamente dissolvida em etanol e diluída em 0%, 30%, 60% e 100% volumétrica de metanol em etanol no dia 45 (corante 2).

É possível observar que, assim como o corante 1, o corante 2 também apresentou mudança gradativa de coloração com o aumento da concentração de metanol de forma semelhante aos experimentos preliminares e manteve estabilidade no resultado mesmo 45 dias após a preparação do corante 2.

Também foi realizado o processamento de imagem dos testes realizados com o corante 2, e os resultados estão descritos na tabela 13.

Tabela 13. Resultados do teste de estabilidade do corante solvatocrômico ditizona (corante 2) em diferentes concentrações de metanol em etanol por um período de 45 dias.

Proporção EtOH/MeOH	Corante 2											
	dia 1			dia 7			dia 14			dia 45		
	red	green	blue	red	green	blue	red	green	blue	red	green	blue
0%	117,29	144,83	132,68	114,23	151,19	144,36	103,08	144,98	139,82	109,84	140,12	133,21
27%	146,19	156,18	138,04	-	-	-	-	-	-	115,59	146,25	140,35
45%	-	-	-	160,55	164,83	117,77	148,51	153,65	121,44	135,72	150,25	131,14
54%	155,59	162,22	135,38	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90%	177,33	169,47	125,83	171,10	166,54	117,91	170,87	164,11	110,09	169,36	163,48	112,72

Na Tabela 13, é possível observar que os resultados do processamento se mantiveram próximos ao longo dos dias. Os resultados também se mantiveram próximos dos obtidos nos demais experimentos de definições das condições experimentais, tendo os valores dos canais *red* e *green* crescentes. Tais pontos confirmam o observado a “olho nu” que houve estabilidade dos corantes até o experimento do dia 45.

O Gráfico 7 foi obtido a partir dos valores das respostas do canal *red* nas concentrações 0% e 100% volumétrica de metanol ao longo do tempo de análise.

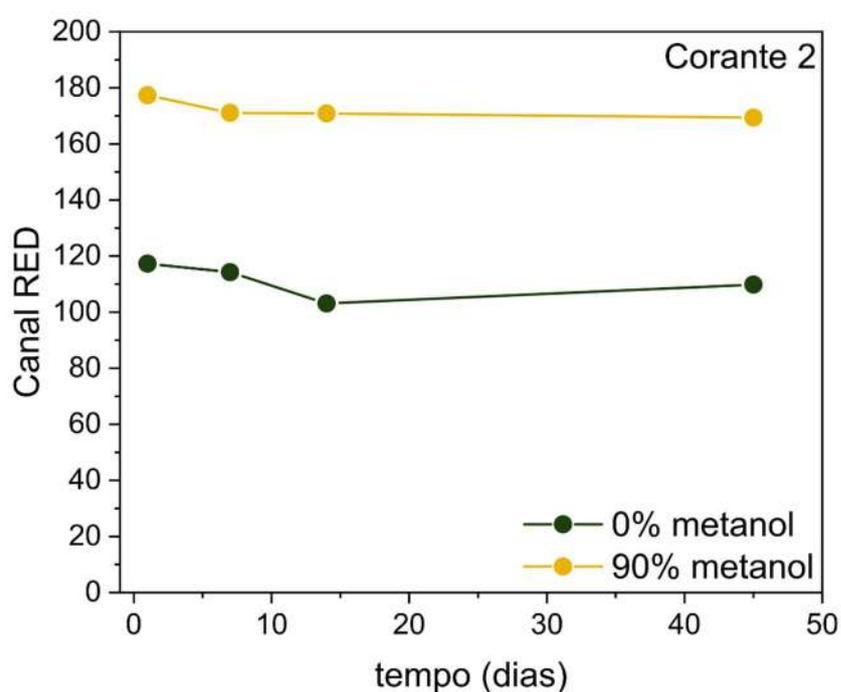


Gráfico 5. Resultados do canal *Red* do processamento de imagens dos testes de estabilidade para as concentrações 0% e 90% metanol para o corante 2.

A partir dos resultados obtidos do teste de estabilidade com o corante 2, constatou-se que a solução do corante é estável por um período de 45 dias.

A estabilidade das soluções com os dois corantes, ao longo do tempo de estocagem, pode também ser comparada visualmente por meio da Figura 26, a qual é formada por janelas coletadas a partir das figuras anteriormente apresentadas. Conforme já discutido as diferenças observadas nas tonalidades de cores, para uma solução com mesmo teor de metanol, ao longo do tempo de estocagem, podem estar

associadas a pequenas diferenças na iluminação do ambiente onde os registros fotográficos das amostras foram realizados. Da Figura 26 e dos gráficos analisados, depreende-se que não há alterações aparentes na coloração das soluções com o passar do tempo, demonstrando que a mesmas podem ser estocadas por certo período de tempo, o que é desejável para o desenvolvimento de um método que almeja aplicação em campo.

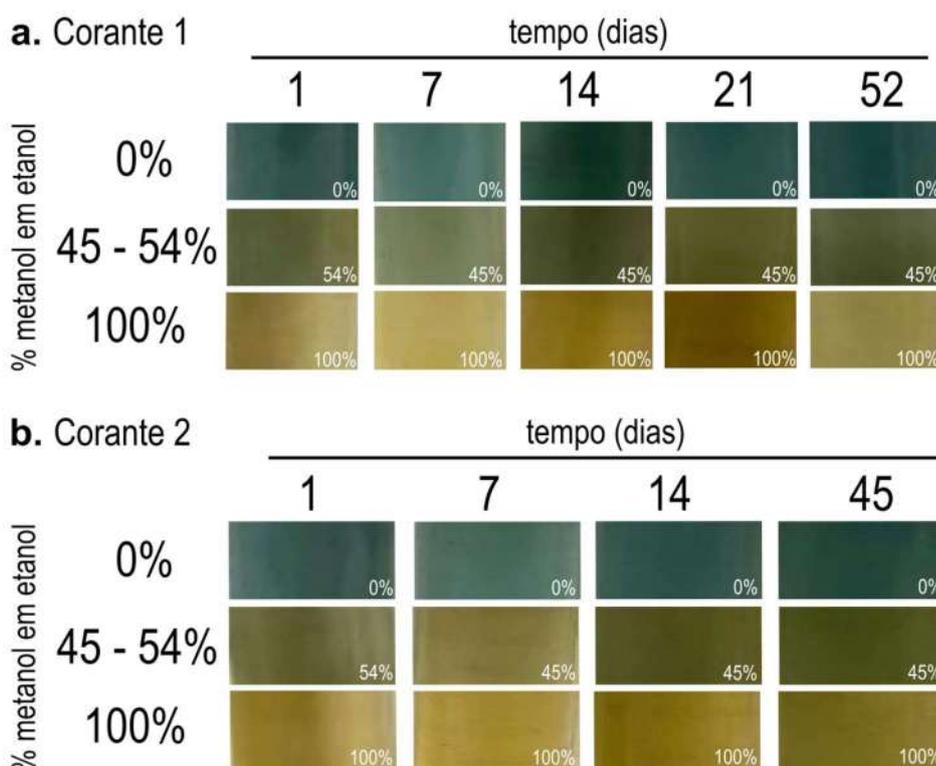


Figura 26: Matrix de tonalidades de soluções de corante ditizona em diferentes misturas metanol/etanol, ao longo do tempo de estocagem, utilizada para avaliação de estabilidade do corante.

6. Conclusões

O efeito solvatocrômico da ditizona mostrou potencial para ser empregado, no desenvolvimento de método para a determinação de metanol em etanol combustível.

Os resultados obtidos no presente trabalho mostraram-se promissores para o desenvolvimento e validação de um método para determinação qualitativa e quantitativa de metanol em etanol combustível, com potencial aplicação para análises em campo, por ser simples, rápido e de baixo custo.

A partir do gradiente de coloração obtido com a solução do corante ditizona em etanol, é possível realizar o processamento de imagem e avaliar o aumento da concentração de metanol em soluções numa faixa de 0% a 90% de metanol em etanol. Entretanto, a metodologia desenvolvida apresentou limitações para baixas concentrações, e só foi possível observar o gradiente de coloração esperado para concentrações acima de 18% de metanol.

Quanto à aquisição de imagens digitais, o método proposto é de fácil manuseio, uma vez que empregou uma câmara fotográfica simples e um *smartphone*. As limitações encontradas na etapa de aquisição de imagens foram a obtenção de uma imagem com nitidez e sem sombra, o que está relacionado com a qualidade da câmera do *smartphone* empregado.

A alta estabilidade (até no mínimo 52 dias) da solução do corante solvatocrômico (ditizona) empregado no desenvolvimento do método, faz com que o mesmo seja promissor como um método alternativo ao método de referência, baseado na cromatografia gasosa, para a identificação de adulterações de etanol combustível por metanol. É importante ressaltar, que os resultados apresentados no presente trabalho demonstram a viabilidade da determinação de metanol em etanol em altas concentrações (superior a 20% volumétrica de metanol em etanol).

Concluiu-se que o canal *Red* (vermelho) apresentou a melhor linearidade em comparação aos canais *Green* e *Blue*, sendo, portanto, considerado o canal mais adequado para a quantificação das amostras.

7. Perspectivas

Dentre as perspectivas para a continuidade do projeto, podemos destacar:

1. Comparar os resultados obtidos pelos métodos proposto e de referência, em amostras padrão e em amostras comerciais, empregando o teste t-pareado
2. Fazer a aquisição dos dados em outros modelos, como por exemplo o HSB e o CYM pelo software ImageJ;
3. Fazer a aquisição das imagens digitais utilizando protótipos já desenvolvidos pelo grupo de pesquisa e
4. Empregar aplicativos de celular disponíveis gratuitamente (Photometrix e/ou ColorGrab) em substituição ao software Image J.

8. Referências

Acevedo, M. S. F.; Lima, M. J. A.; Nascimento, C. F.; Rocha, F. R. P. A green and cost-effective procedure for determination of anionic surfactants in milk with liquid-liquid microextraction and smartphone-based photometric detection. *Microchemical Journal*, v. 143, p. 259-263, 2018.

Agarwal, Avinash Kumar. Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 33, p. 233–271, 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, BIOCOMBUSTÍVEIS E GÁS NATURAL (ANP). Resolução ANP N° 19 de 15 de abril de 2015. Brasil, 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, BIOCOMBUSTÍVEIS E GÁS NATURAL (ANP). Disponível em <http://www.anp.gov.br/noticias/5616-anp-aprova-novo-equipamento-para-deteccao-de-metanol>. Publicado: Terça, 11 de Fevereiro de 2020, 10h28.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); Resolução RE n°899, de 29/05/2003.

AVILA, Lorena Morineet *al.* Determination of ethanol in gasoline by high-performance liquid chromatography. *Fuel*, v. 212, p. 236–239, 2018.

Blatchly, R. A.; Delen, Z.; O'Hara, P. B. J. Making Sense of Olive Oil: Simple Experiments To Connect Sensory Observations with the Underlying Chemistry *Journal of Chemical Education*, v. 91, p. 1623-1630, 2014.

Böck, Fernanda. C., Helfer, Gilson. A., Da Costa, Adilson. B., Dessuy, Morgana. B., Ferrão, Marco. F. Rapid determination of ethanol in sugarcane spirit using partial least squares regression embedded in smartphone. *Food analytical methods*, v. 11, n. 7, p. 1951-1957, 2018.

BRANDÃO, L. F. P.; BRAGA, J. W. B.; SUAREZ, P. A. Z. Determination of vegetable oils and fats adulterants in diesel oil by high performance liquid chromatography and multivariate methods. *Journal of Chromatography A*, v. 1225, p. 150–157, 2012.

Budag, R.; Giusti, L. A.; Machado*, V. G.; Machado, C. Quality analysis of automotive fuel using solvatochromic probes, *Fuel*, v. 85, p. 1494–1497, 2006.

Byoung-Yong, C. Smartphone-based Chemistry Instrumentation: Digitization of Colorimetric Measurements. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, v. 33, p. 549-552, 2012.

CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. *Encyclopedia of Food and Health*. Nova Iorque: Elsevier Science, 2016.

Campos, A. R.; Knutson, C. M.; Knutson, T. R., Mozzetti, A. R.; Haynes, C. L.; Penn, R. L.; Quantifying Gold Nanoparticle Concentration in a Dietary Supplement Using Smartphone Colorimetry and Google Applications *Journal of Chemical Education*, v. 93, p. 318-321, 2015.

Capitán-Vallvey, L. F.; López-Ruiz, N.; Martínez-Olmos, A.; Erenas, M. M.; Palma, A. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review. *Analytica Chimica Acta*, v. 899, p. 23-56, 2015.

CARDOZO, A. P., Síntese e Avaliação do Solvatocromismo de Dois Piridino-N-Fenolatos em Solventes Puros. Relatório. Universidade Federal De Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

CAVALCANTE DOS SANTOS, RAFAEL; CABRAL CAVALCANTI, JULIANE NATALIZI ; WERNECK DO CARMO, ELISA CARNEIRO ; DE SOUZA, FERNANDO COSTA ; SOARES, WESLEY GARCIA ; GIMENES DE SOUZA, CRISTIANE ; FRANÇA DE ANDRADE, DÉBORA ; D'AVILA, LUIZ ANTONIO . Approaching Diesel Fuel Quality in Chemistry Lab Classes: Undergraduate Student's Achievements on Determination of Biodiesel Content in Diesel Oil Applying Solvatochromic Effect. *Journal of Chemical Education*, v. 97, p. 4462-4468, 2020.

Chapin, Robert. Improved Denigès Test for the Detection and Determination of Methanol in the Presence of Ethyl Alcohol. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 13, p. 543-545, 1921.

CHEN, SuHwei et al. Trace determination of methanol in water-ethanol solution by derivatization and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 799, n. 1–2, p. 93–99, 1998.

Colzani, H., Rodrigues, Q. E. A. G., Fogaça, C., Gelinski, J. M. L. N., Pereira-Filho, E. R., & Borges, E. M. Phosphate Colorimetric Analysis using a desktop Scanner and automated digital image: A didactical example to teach colorimetric analysis. *Química Nova*, v. 40, p. 833-839, 2017.

COSTA, D. L. N. Métodos De Processamento De Imagens Para Visão Computacional No Cubo De Rubik. Trabalho de Conclusão de Curso. Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

Damasceno, D.; Toledob, T. G.; Godinho, M. S.; da Silva, C. P.; de Oliveira, S. B.; de Oliveira, A. E. Análise multivariada de imagens na química: um experimento para determinação do pH de águas potáveis. *Química Nova*, v. 38, p. 836-841, 2015.

Denigès, Georges, ____, *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*. 150, 832, 1910.

DIAS, Gabriella P. Quantificação de Metanol em Combustíveis por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. TCC (Graduação em Química Industrial). Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2018.

DIAS, GABRIELLA; DOS SANTOS, RAFAEL ; CARVALHO, RENATO ; DE SOUZA, CRISTIANE ; DOS SANTOS, AMANDA ; DE ANDRADE, DÉBORA ; D'AVILA, LUIZ . Determination of Methanol in Gasoline and Ethanol Fuels by High-Performance Liquid Chromatography. *JOURNAL OF THE BRAZILIAN CHEMICAL SOCIETY*, v. 31, p. 1055-1063, 2020.

Diário oficial da União, 158, 1, 74. Publicado em: 16/08/2018.

EL SEOUD, O. A., LOFFREDO, C., GALGANO, P. D., SATO, B. M., REICHARDT, C. Have Biofuel, Will Travel: A Colorful Experiment and a Different Approach To Teach the Undergraduate Laboratory. *Journal of Chemical Education*, v. 88, p. 1293-1297, 2011.

FANALI, S. et al. *Liquid Chromatography: Applications*. Nova Iorque: Elsevier Science, 2017.

FLUMIGNAN, D. L., FERREIRA, F. O; TININIS, A. G., DE OLIVEIRA, J. E. Multivariate calibrations in gas chromatographic profiles for prediction of several physicochemical parameters of Brazilian commercial gasoline. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 92, n. 1, p. 53-60, 2008.

GALGANO, P.D., LOFFREDO, C., B. M. SATO, B. M., REICHARDT. C., EL SEOUD, O. A. Introducing education for sustainable development in the undergraduate laboratory: quantitative analysis of bioethanol fuel and its blends with gasoline by using solvatochromic dyes. *Chemistry Education Research and Practice*, v. 13, p. 147–153, 2012.

GONZALEZ, R.C., WOODS, R.C., *Processamento Digital de Imagens*. São Paulo, SP, 3ed, Pearson Prentice Hall, 2010.

GOTOR, R., BELL, J., RURACK, K. Tailored Fluorescent Solvatochromic Test Strips for Quantitative On-Site Detection of Gasoline Fuel Adulteration. *Journal of Materials Chemistry*, v. 7, p. 2250-2256, 2018.

GOTOR, R; TIEBE, C; SCHLISCHKA, J; BELL, J; RURACK, K. Detection of Adulterated Diesel Using Fluorescent Test Strips and Smartphone Readout. *Energy & Fuels*, v.X, n.X, p. A-G, 2017.

HARRIS, D. C. *Análise Química Quantitativa*. 5º Ed. Rio de Janeiro: LTC. 2001.

Helfer, G. A.; Tischer, B.; Filoda, P. F.; Parckert, A. B.; dos Santos, R. B.; Vinciguerra, L. L.; Ferrão, M. F.; Barin, J. S.; da Costa, A. B. A new tool for interpretation of thermal stability of raw milk by means of the alizarol test using a PLS model on a mobile device. *Food Analytical Methods*, v. 11, n. 7, p. 2022-2028, 2018.

HUBERT, C., FICHOU, D., VALAT, P., GARNIER, F., VILLERET, B. A solvatochromic dye-dopomercimer for detection of polomerciaives in hydrocarbon blends. *Polymer*, v. 36, n. 13, p. 2663–2666, 1995.

Hunt, R. W. G. *The Reproduction of Colour*. Chichester UK: Wiley–IS&T Series in Imaging Science and Technology. 6th ed. 2004.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA – INMETRO. Orientação sobre validação de métodos analíticos. DQO-CGCRE-008. Revisão 05. 2016. Disponível em: www.inmetro.gov.br. Acessado em: 30/03/2020.

International Organization for Standardization – ISO 1388-8:1981, Ethanol for industrial use — Methods of test — Part 8: Determination of methanol content (methanol contents between 0,10 and 1,50 % (V/V)) — Visual colorimetric method.

ISOPPO, V. G., GIL, E. S., GONÇALVES, P. F. B., RODEMBUSCH, F. S., MORO, A. V. Highomercialeent lipophilic 2,1,3-benzothiadiazole fluorophores as optical sensors for tagging material and gasoline adulteration wiomercnol. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v.309, n. 127701, p. 1-10, 2020.

KAMINSKI, Marian; KARTANOWICZ, Rafał; PRZYJAZNY, Andrzej. Application of high-performance liquid chromatography with ultraviolet diode array detection and refractive index detection to the determination of class composition and to the analysis of gasoline. *Journal of Chromatography A*, v. 1029, p. 77–85, 2004.

Kehoe, E.; Penn, R. L. Introducing Colorimetric Analysis with Camera Phones and Digital Cameras: An Activity for High School or General Chemistry. *Journal of Chemical Education*, v. 90, 1191-1195, 2013.

KLETTE, R. *Concise Computer Vision - An Introduction into Theory and Algorithms*. Springer London, 2014.

Knutson, T. R.; Knutson, C. M.; Mozzetti, A. R.; Campos, A. R.; Haynes, C. L.; Penn, R. L. A Fresh Look at the Crystal Violet Lab with Handheld Camera Colorimetry *Journal of Chemical Education*, v. 92, p. 1692-1695, 2015.

Kock FVC, Rocha TC, Araújo GM, Simões FR, Colnago LA, Barbosa LL. Time-domain NMR: a novel analytical method to quantify adulteration of ethanol fuel with methanol. *Fuel* 2019;258(September):116158.

Koenig, M. H.; Yi, E. P.; Sandridge, M. J.; Mathew, A. S.; Demas, J. N. J. "Open-Box" Approach to Measuring Fluorescence Quenching Using an iPad Screen and Digital SLR Camera. *Journal of Chemical Education*, v. 92, p. 310-316, 2014.

Koesdjojo, M. T.; Pengpumkiat, S.; Wu, Y.; Boonloed, A.; Huynh, D.; Remcho, T. P.; Remcho, V. T. Cost Effective Paper-Based Colorimetric Microfluidic Devices and Mobile Phone Camera Readers for the Classroom. *Journal of Chemical Education*, v. 92, p. 737-741, 2015.

Kohl, S. K.; Landmark, J. D.; Stickle, D. F. Demonstration of Absorbance Using Digital Color Image Analysis and Colored Solutions. *Journal of Chemical Education*, v. 83, p. 644-648, 2006.

LANÇAS, F. M. Validação de métodos cromatográficos de análise. São Carlos: RiMa, 2004.

Lima, M. J. A.; Nascimento, C. F.; Rocha, F. R. P. Feasible photometric measurements in liquid–liquid extraction by exploiting smartphone-based digital images. *Analytical methods*, v. 9, n. 14, p. 2220-2225, 2017.

LEE, J., BALAKRISHNAN, S., CHO, J., JEON, S., KIM, J. Detection of adulterated gasoline using colorimetric organic microfibers. *Journal of Materials Chemistry*, v. 21, n. 8, p. 2648–2655, 2011.

Lopes, P. A.; Estatística aplicada a laboratórios de ensaio e calibração; Rede de tecnologia, 2007.

LOPES, J. M. B. Computação Gráfica: Cor e Luz. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2013.

LOZANO-SÁNCHEZ, Jesús et al. Chapter 13 - Chromatographic Technique: High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). In: SUN, Da-Wen (Ed.). *Modern Techniques for Food Authentication (Second Edition)*. 2 ed. Massachusetts: Academic Press, 2018. p. 459–526.

Madsen, J., Canton, I., Warren, N. J., Themistou, E., Blanz, A., Ustbas, B., Tian, X., Pearson, R., Battaglia, G., Lewis, A. L., Armes, S. Nile blue-based nanosized pH sensors for simultaneous far-red and near-infrared live bioimaging. *Journal of the American Chemical Society*, v. 135, p. 14863-14870, 2013.

Mahmood, T., Anwer, F., Mahmood, I., Kishwar, F., & Wahab, A. Solvatochromic effect of Methylene Blue in different solvents with different polarity. *European Academic Research*, v. 1, p. 1100-1109, 2013.

Marinho, Oziel. R., LIMA, Manoel. J., Rocha, Fábio. R., Reis, Boaventura. F., Kamogawa, Marcos. Y. A greener, fast, and cost-effective smartphone-based digital image procedure for quantification of ethanol in distilled beverages. *Microchemical Journal*, v. 147, p. 437-443, 2019.

Martins, G. B. C.; Montenegro, M. A.; Suarez, P. A. Z. Kit Colorimétrico para Detecção de Metanol em Etanol Combustível para o Monitoramento da Qualidade de Combustíveis. *Química Nova*, v. 38, p. 280-284, 2015.

METHANOL INSTITUTE (2018). RenewableMethanol Report. Disponível em: <<https://www.methanol.org/wp-content/uploads/2019/01/MethanolReport.pdf>>

Montangero, M. J. Determining the Amount of Copper(II) Ions in a Solution Using a Smartphone. *Journal of Chemical Education*, v. 92, p. 1759-1762, 2015.

Moraes, E. P.; da Silva, N. S. A.; de Moraes, C. L. M.; das Neves, L. S.; de Lima, K. M. G. Low-Cost Method for Quantifying Sodium in Coconut Water and Seawater for the Undergraduate Analytical Chemistry Laboratory: Flame Test, a Mobile Phone Camera, and Image Processing. *Journal of Chemical Education*, v. 91, p. 1958-1960, 2014.

Moraes, E. P.; Confessor, M. R.; Gasparotto, L. H. S. Integrating Mobile Phones into Science Teaching To Help Students Develop a Procedure To Evaluate the Corrosion Rate of Iron in Simulated Seawater. *Journal of Chemical Education*, v. 92, p. 1696-1699, 2015.

MOREIRA, L. S.; WORDS, Key. Automotive Gasoline Quality Analysis by Gas Chromatography: Study of Adulteration. **Chromatographia**, v. 58, n. 7/8, p. 501–505, 2003.

Nandi, L. G. Utilização de corantes solvatocrômicos no planejamento de dispositivos solvatocrômicos e de sistemas ópticos de detecção de analitos aniônicos baseados em polímeros funcionais. Tese submetida Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina, 2015.

Nazareth, Pamela C. G. N. Mapeamento das Cores de Soluções de Corantes e Correlação com suas Estruturas por meio de Descritores Moleculares. TCC (Graduação em Química Industrial). Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2022.

NESPECA, Maurílio *et al.* Rapid and sensitive method for detecting adulterants in gasoline using ultra-fast gas chromatography and Partial Least Square Discriminant Analysis. **Fuel**, v. 215, p. 204–211, 2018.

NBR 16041/2015. Etanol Combustível – Determinação dos teores de metanol e etanol por cromatografia gasosa [Fuel Ethanol – Determination of metanol and etanol content by gas chromatography]. 2015.

Noit, L. L. A.; Buitendach, B. E.; Von Eschwege, K. G. Seven Chromisms Associated with Dithizone. *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 121, p. 9243-9251, 2017.

Oliveira, Helton Jader Souza de. Desenvolvimento de um espectrofotômetro para medidas de absorção/emissão na região do visível utilizando mini lâmpada incandescente, mídia de DVD e smartphone. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, 2015.

Painel dinâmico, Programa de Monitoramento da Qualidade de Combustíveis, ANP, 2022. Disponível em <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjojOTkyOTIjYjgtNmQ2Yy00NTU0LThmYjUtZWNIQGRiNzczMjc2IiwidCI6IjQ0OTlmNGZmLTl0YTltNGI0Mi1iN2VmLTExNGFmY2FkYzIxMyJ9&pageName=ReportSection5b31ae4acdb813cabd43> Acesso em:03/10/2022.

Pereira PF, Sousa RMF, Munoz RAA, Richter EM. Simultaneous determination of ethanol and methanol in fuel ethanol using cyclic voltammetry. *Fuel* 2013;103:725–9

Rice, N. P.; de Beer, M. P.; Williamson, M. E. A Simple Educational Method for the Measurement of Liquid Binary Diffusivities. *Journal of Chemical Education*, v. 91, p. 1185-1190, 2014.

Robins, J. H.; Abrams, G. D.; Pincock, James. A. The structure of Schiff reagent aldehyde adducts and the mechanism of the Schiff reaction as determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Canadian Journal of Chemistry*, n. 58, p. 339-347, 1980.

SACZK, A. A. et al. Determination of Aldehydes and Ketones in Fuel Ethanol by High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection. *Chromatographia*, v. 63, n. 1–2, p. 45–51, 2006.

SANTOS, A., SILVA, K., BORGES, G., D'AVILA, L. Fuel Quality Monitoring by Color Detection. *Intech Open*, 2019.

Soares, S.; Lima, M. J. A.; Rocha, F. R. P. A spot test for iodine value determination in biodiesel based on digital images exploiting a smartphone. *Microchemical Journal*, v. 133, p. 195-199, 2017.

Soares, S.; Rocha, F. R. P. A simple and low-cost approach for microdistillation: application to methanol determination in biodiesel exploiting smartphone-based digital images. *Talanta*, v. 199, p. 285-289, 2019.

Soares, S.; Torres, K. G.; Pimentel, E. L.; Martelli, P. B.; Rocha, F. R. P. A novel spot test based on digital images for determination of methanol in biodiesel. *Talanta*, v. 195, p. 229-235, 2019.

Soldat, D. J.; Barak, P.; Lepore, B. Microscale Colorimetric Analysis Using a Desktop Scanner and Automated Digital Image Analysis. *Journal of Chemical Education*, v. 86, p. 617-622, 2009.

Tajalli, H.; Gilani, A. G.; Zakerhamidi, M. S.; Tajalli, P. The photophysical properties of Nile red and Nile blue in ordered anisotropic media. *Dyes and Pigments*, v. 78, p. 15-24, 2008.

TANAKA, G. T., FERREIRA, F. O., DA SILVA, C. E. F., FLUMIGNAN, D. L., DE OLIVEIRA, J. E. Chemometrics in fuomercince: demonstration of the feasibility of chemometrics analysomercieed to physicochemical parameters to screomerciaent tracers in Braziliomercialial gasoline. *Journal of Chemometrics*. V. 25, n. 9, p. 487-495, 2011.

van den Broek, J., Abegg, S., Pratsinis, S.E. *et al.* Highly selective detection of methanol over ethanol by a handheld gas sensor. *Nat Commun* **10**, 4220 (2019).

VEMPATAPU, Bhanu Prasad; KANAUIA, Pankaj K. Monitoring petroleum fuel adulteration: A review of analytical methods. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 92, p. 1-11, 2017.

Volmer, D. A.; Curbani, L.; Parker, T. A.; Garcia, J., Schultz, L. D.; & Borges, E. M. Determination of Titratable Acidity in Wine Using Potentiometric, Conductometric, and Photometric Methods. *Journal of Chemical Education*, v. 94, p. 1296-1302, 2017.

WANG, Mei-ling; WANG, Jih-terng; CHOONG, Youk-meng. A rapid and accurate method for determination of methanol in alcoholic beverage by direct injection capillary gas chromatography. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 187-196, 2004a.

WANG, Mei-ling; WANG, Jih-terng; CHOONG, Youk-meng. Simultaneous quantification of methanol and ethanol in alcoholic beverage using a rapid gas chromatographic method coupling with dual internal standards. **Food Chemistry**, v. 86, p. 609–615, 2004b.

WIEDEMANN, L. S. M.; D'AVILA, L. A.; AZEVEDO, D. A. Adulteration detection of Brazilian gasoline samples by statistical analysis. **Fuel**, v. 84, n. 4, p. 467–473, 2005a.

WIEDEMANN, Larissa S. M.; d'AVILA, Luiz A.; AZEVEDO, Débora A. Brazilian gasoline quality: Study of adulteration by statistical analysis and gas chromatography. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 2, p. 139–146, 2005b.

Wirasuta I, Dewi N, Purwaningsih N, Heltyani WE, Aryani N, Sari NMK, Sari P, Ramona Y (2019) A rapid method for screening and determination test of methanol content in ethanol-based products using portable Raman spectroscopy. *ForensicChem* 16.

APÊNDICE A

A escolha do corante utilizado neste trabalho foi dada a partir de resultados obtidos na aula de Tecnologia Orgânica Experimental ministrada pelo professor Luiz Antonio d'Avila EQ/UFRJ no segundo semestre de 2017.

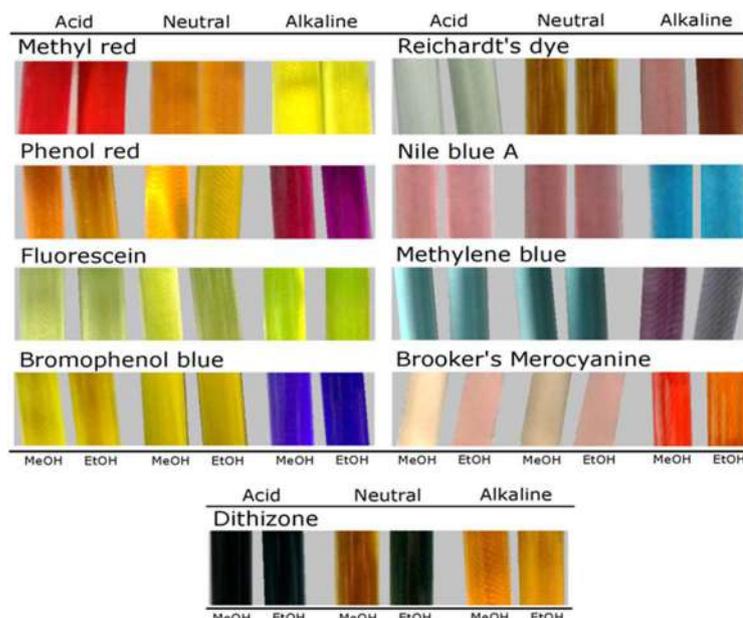


Figura 27. Coloração de soluções de corantes solvatocrômicos em metanol (MeOH) e etanol (EtOH), em baixas concentrações ($< 1\text{g.L}^{-1}$) e respectivos efeitos do pH sobre a cor das soluções. Ácido: pH ~ 2.0 , Neutro: pH ~ 7.0 , Alcalino: pH ~ 11.0 .

Na figura 27 é possível observá-los. Foi obtida a coloração de soluções de corantes solvatocrômicos em metanol (MeOH) e etanol (EtOH), em baixas concentrações e respectivos efeitos do pH sobre a cor das soluções. Ácido: pH ~ 2.0 , Neutro: pH ~ 7.0 , Alcalino: pH ~ 11.0 . Como podemos ver, os corantes que apresentaram significativa alteração da coloração da mistura foram o azul de metileno e a meriocianina de Brooker em meio alcalino e ditizona em meio neutro.

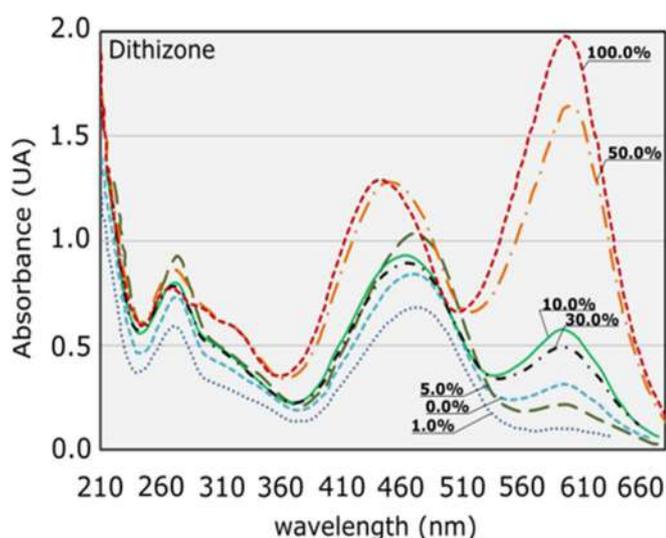


Figura 28. Espectroscopia de UV-VIS de misturas de metanol em etanol, variando de 0 a 100% de teor volumétrico de metanol, avaliadas para o corante solvatocrômico ditizona.

Além disso, na figura 27 é possível avaliar o efeito solvatocrômico por meio do espectro de UV-VIS gerado para a ditizona. Misturas binárias de metanol em etanol, variando de 0 a 100% foram elaboradas e coradas com o corante. Nota-se que a ditizona apresentou alterações na intensidade de absorção nas bandas próximas a 476 e 598 nm. Para a faixa de 0 a 30% de metanol, a absorção em 476 nm foi relativamente maior que àquela observada para 598 nm. Para os teores de 50 e 100 % de metanol, por outro lado, verificou-se uma inversão no grau de absorção e a banda a 598 nm apresentou-se mais intensa que a banda a 476 nm. Tal efeito de deslocamento da banda de absorção máxima é uma característica marcante do efeito solvatocrômico. Outros picos de menor intensidade de absorção e com perfil de variação diferenciado, de acordo com o teor de metanol na mistura, também foram observados nos espectros para a ditizona. A ditizona, no entanto, apresenta resposta bastante intensa em sua banda de absorção máxima, o que influencia na diferenciação clara das cores apresentadas, quando comparada com os outros corantes testados. Dessa forma, devido à disponibilidade do corante no laboratório, ao baixo custo e resposta colorimétrica mais intensa, a ditizona foi selecionada para exploração mais detalhada.

A partir desses resultados, a turma de Tecnologia Orgânica Experimental do segundo semestre de 2018, aplicou um método utilizando-se a ditizona como corante

em misturas contendo 0, 20, 40, 60, 80 e 100% de metanol em etanol, em meio neutro, e o resultado foi observado abaixo.

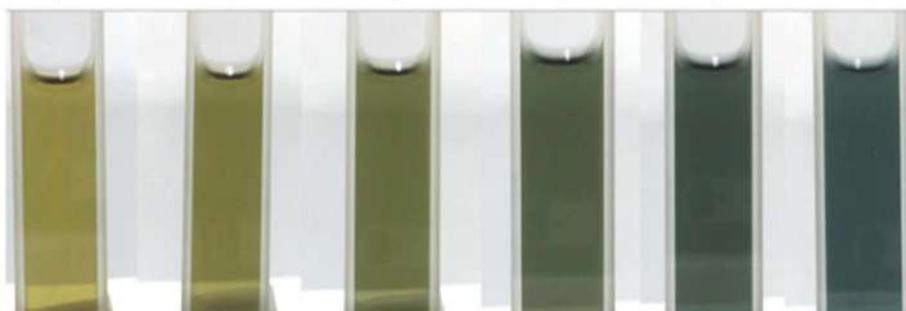
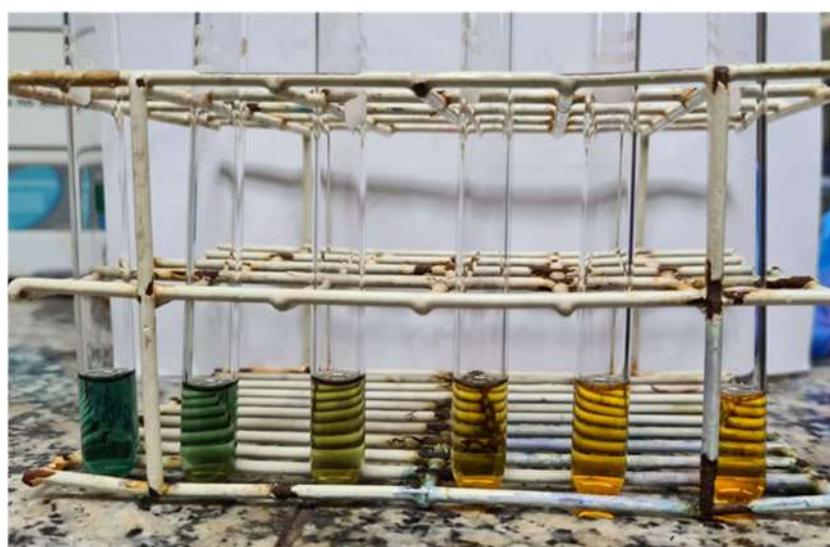


Figura 29. Coloração das misturas de metanol em etanol contendo 0, 20, 40, 60, 80 e 100% de metanol, utilizando-se o corante solvatocrômico ditizona em meio neutro a 22°C.

Observou-se a alteração da intensidade da coloração esverdeada das misturas, passando de um tom amarelo-esverdeado, em baixos teores de metanol, para um tom verde escuro, em teores maiores de metanol em etanol.

Com o intuito de replicar o experimento realizado pelos alunos da disciplina, preparou-se um experimento preliminar no laboratório, onde misturas de 0,05 g/L de ditizona em metanol e 0,05 g/L de ditizona em etanol foram misturadas nos teores 0%, 20%, 40%, 60%, 80% e 100% de metanol v/v. As soluções foram homogeneizadas em agitador do tipo Vórtex.



0% 20% 40% 60% 80% 100%

Figura 30. Coloração das misturas de metanol em etanol contendo 0, 20, 40, 60, 80 e 100% de metanol, utilizando-se o corante solvatocrômico ditizona.

Como o solvente do corante que estava sendo utilizado era o etanol, que também era a matriz utilizada, decidiu-se fazer um planejamento para testar novos solventes. Assim, empregou-se o planejamento fatorial completo 3^3 (três níveis e 3 variáveis) com triplicata do ponto central para a identificação das variáveis mais importantes na resposta, pela alteração de cor observada a “olho nu” e usando processamento de imagens digitais nos canais R, G, B e vetor em 4 diferentes solventes: água destilada, acetona, 2-propanol e butanol.

A partir da análise dos resultados obtidos no planejamento concluiu-se que, nas condições testadas, em nenhum solvente testado (água destilada, acetona, 2-propanol e butanol) e canal avaliado (red, green, blue e vetor), a variável concentração de metanol na amostra (M%) influencia significativamente, com 95% de confiança, na resposta (mudança de cor do meio reacional- modo visual e valores dos canais) estudados, mostrando que essa variável não é significativa. Além disso, a concentração do corante ditizona e a razão de diluição com o solvente interferem no próprio perfil de cores, ou seja, são significativas.

Observando a inviabilidade da água destilada, acetona, 2-propanol e butanol, optou-se por retomar os experimentos utilizando etanol e metanol como solvente, como realizado no experimento preliminar. Os resultados observados voltaram a ser o gradiente de cor esperado conforme descrito nos próximos itens.

Uma vez observado o gradiente esperado, o planejamento para os experimentos seguintes contava com a utilização de etanol e metanol como possíveis solventes, e a concentração do corante em 0,05 g/L.

Entretanto, antes de dar início a essa metodologia, foi realizado teste da qualidade da ditizona utilizando uma mistura de etanol com metanol e adicionando uma pequena quantidade de ditizona sólida visando observar a variação de coloração. O resultado obtido demonstrou certa viabilidade e o planejamento foi alterado para a adição da ditizona sólida nas soluções de metanol em etanol visando a concentração de 0,05 g/L.

APÊNDICE B

Na Figura 31 são apresentadas as etapas experimentais desenvolvidas neste trabalho de forma sistemática e de modo a tornar mais clara a sequência de resultados. A numeração apresentada na ilustração informa a sequência de apresentação dos resultados.

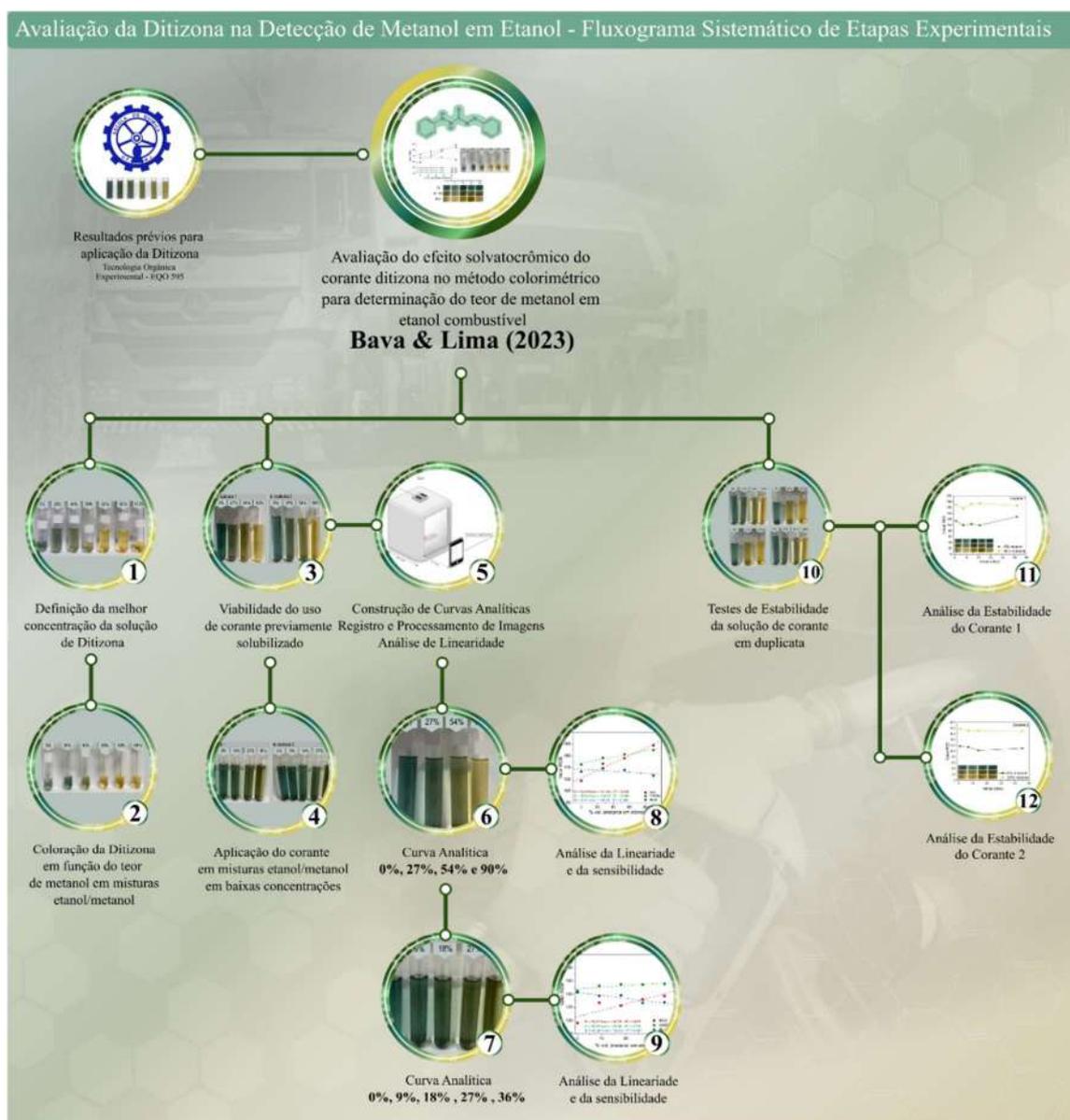


Figura 31: Fluxograma sistemático das etapas experimentais desenvolvidas no presente trabalho. Os ícones informam as etapas, assim como uma representação dos resultados mais relevantes, em cada seção. A numeração em cada ícone informa a sequência de apresentação dos resultados.