



Desenvolvimento de Método para Separação e Identificação de Biodiesel e/ou Óleos Vegetais em BX

Daniel Silveira da Silva Leite

Thomaz Emiliano Saramago Fernandes

Projeto de Final de Curso

Orientadores

Amanda Pereira Franco dos Santos (LABCOM-EQ-UFRJ)

Débora França de Andrade (LABCOM-EQ-UFRJ)

Luiz Antonio d'Avila (DPO-EQ-UFRJ)

Março de 2013

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA SEPARAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE BIODIESEL E/OU ÓLEOS VEGETAIS EM BX

Daniel Silveira da Silva Leite

Thomaz Emiliano Saramago Fernandes

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

Aprovado por:

Cristiane Gimenes de Souza, M. Sc. – EQ/UFRJ

Daniella Rodrigues Fernandes, D. Sc. – IQ/UFRJ

Michelle Jakeline Cunha Rezende, D. Sc. – IQ/UFRJ

Orientado por:

Luiz Antonio d'Avila, D. Sc. – EQ/UFRJ

Amanda Pereira Franco dos Santos, M. Sc. – LABCOM/EQ/UFRJ

Débora França de Andrade, D. Sc. – LABCOM/EQ/UFRJ

Rio de Janeiro, RJ - Brasil
Março de 2013

Fernandes, Thomaz Emiliano Saramago; Leite, Daniel Silveira da Silva.
Desenvolvimento de método para separação e identificação de biodiesel e/ou
óleos vegetais em óleo diesel. Thomaz Emiliano Saramago Fernandes; Daniel
Silveira da Silva Leite. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2013.

xiii,74p.; il.

Monografia – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química,
2013.

Orientadores: Luiz Antonio d'Avila e Amanda Pereira Franco dos Santos e
Débora França de Andrade.

1. Biodiesel 2. Adulteração 3. CLAE 4. Monografia (Graduação- UFRJ/EQ).
5. Teste do ácido hidroxâmico 6. Luiz Antonio d'Avila I. Desenvolvimento de
método para separação e identificação de biodiesel e/ou óleos vegetais em BX.

Dedico este projeto final de curso às duas pessoas mais importantes da minha vida, minha irmã e minha mãe, a quem busco orgulhar e pelas quais procuro sempre alcançar a excelência nas coisas que faço. Não menos importante foram meu pai, que ficou no pé para que não perdesse aulas, e minha namorada e amigos, que proporcionaram grandes momentos de lazer e também crescimento pessoal durante o período desta faculdade.

Daniel Silveira

Dedico esse projeto final de curso aos meus pais, Carlos e Grace, oras rigorosos, oras compreensivos, mas sempre presentes; ao meu irmão, Daniel, o melhor amigo que alguém pode ter; e a minha namorada Clara, que esteve ao meu lado sempre que eu precisei ao longo da minha vida universitária.

Thomaz Saramago

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradecemos ao nosso orientador professor Luiz Antonio d'Avila, por ter acreditado em nossa capacidade de realizar o projeto, e às coorientadoras Débora França de Andrade e Amanda Pereira Franco dos Santos, por suas valiosíssimas ideias, pela total disponibilidade a nos auxiliar, mesmo quando ocupadas com outras obrigações, e por todo apoio, energia e paciência dedicados a nós. Sem nossas coorientadoras, certamente esse projeto não teria sido tão importante para nossa formação acadêmica e profissional.

Agradecemos também às pessoas que nos ajudaram no dia a dia do LABCOM (Laboratório de combustíveis e Derivados de Petróleo da EQ/UFRJ) e esclareceram nossas ignorâncias quanto às muitas técnicas necessárias para realização deste projeto. Principalmente a Gisele Alves, pela sua paciência e por sua ajuda técnica na realização de diversas atividades laboratoriais, Thiago Carvalho Cardoso, também pelo auxílio técnico diário no LABCOM, Danielle Ignacio, Thaísa Peixoto e Roberta Perroni pelo apoio nas análises de espectroscopia na região do IV, Cristiane Gimenes e Rogério Cruz pelo auxílio técnico e incentivo oferecido em tantos fins de tarde de companhia no LABCOM.

Por fim, gostaria de agradecer a todos que, de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste projeto. Muito obrigado!

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

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA SEPARAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE BIODIESEL E/OU ÓLEOS VEGETAIS EM BX

Thomaz Emiliano Saramago Fernandes
Daniel Silveira da Silva Leite

Fevereiro, 2013

Orientadores: M. Sc. Amanda Pereira Franco dos Santos; D. Sc. Débora França de Andrade; D. Sc. Luiz Antonio d'Avila.

Com o aumento da importância do biodiesel na matriz energética do Brasil a partir de sua inclusão no óleo diesel comercializado no país, surge a necessidade de se monitorar a qualidade do biodiesel produzido e distribuído aos postos de abastecimento, de quantificar o teor de biodiesel e verificar a existência de adulterações no óleo diesel vendido. A adulteração de misturas de diesel e biodiesel com óleo vegetal é a mais passível de ser adotada, pois o óleo vegetal possui valor de mercado inferior ao do biodiesel e não é distinguível dele pelo método analítico de referência através da espectroscopia na região do infravermelho (EN 14078), adotado pela ANP na determinação de biodiesel no diesel.

Este trabalho visa utilizar as técnicas de espectroscopia na região do infravermelho (IV) (EN 14078), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico (TAH), para a detecção de adulterações de misturas diesel:biodiesel com óleo vegetal desde que precedidas de etapas de separação por extração em fase sólida (EFS), visando a separação de diesel do biodiesel e, posteriormente, do biodiesel do óleo vegetal, que eventualmente o adultere. Foram investigadas misturas B7 (diesel S50 + 7% de biodiesel com diferentes graus de adulteração com óleos vegetais).

Os resultados mostram que todas os métodos estudados podem ser adotadas na verificação de adulterações de misturas diesel:biodiesel devido à adição de óleos vegetais de apenas 1% em volume das amostras originais (6% de biodiesel e 1% de óleo vegetal). Para a utilização da CLAE, apenas a EFS para separação de diesel do biodiesel e óleo vegetal é necessária. Para as demais, as duas EFS são necessárias, sendo que o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico (TAH), pela sua simplicidade, é passível de ser utilizado em campo.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF A METHOD OF SEPARATION AND IDENTIFICATION OF BIODIESEL AND/OR VEGETABLE OIL IN BX

Thomaz Emiliano Saramago Fernandes
Daniel Silveira da Silva Leite

February, 2013

Advisors: Amanda Pereira Franco dos Santos; Débora França de Andrade; Luiz Antonio d'Avila.

With the increase of the importance of biodiesel in the Brazilian energy matrix due to its inclusion in the diesel fuel sold throughout the country, there's the necessity of monitoring the quality of the biodiesel produced and distributed to the gas stations, and also of quantifying the biodiesel content and verifying the existence of adulterations at the commercialized diesel oil. The adulteration of diesel and biodiesel mixtures with vegetable oil is the most likely to occur because of the vegetable oil's lower prices when compared to biodiesel's ones, and also because it isn't distinguishable from biodiesel by the analytical reference method of infrared spectroscopy (EN 14078), which is adopted by ANP in the determination of biodiesel in diesel.

This project aims to the use of techniques of infrared (IR) spectroscopy, high performance liquid chromatography (HPLC) and the hidroxamic acid colorimetric test in the detection of diesel:biodiesel mixtures' adulterations by vegetable oil since preceded by previous stages of separation by solid phase extraction (SPE), so that diesel and biodiesel can be separated and, subsequently, to perform the separation of biodiesel and of the eventually present vegetable oil. The investigations were held in B7 mixtures [diesel S50 + 7% of biodiesel with different grades of adulterations with vegetable oils).

The results show that all those studied methods can be used at the verification of diesel:biodiesel mixtures' adulterations due to the addition of vegetable oils (even when added only 1% of the samples total volume, that is, 6% biodiesel and 1% vegetable oil). The adoption of HPLC requires only a single previous separation of diesel from biodiesel and vegetable oil. But for both of the other techniques, the two SPE are necessities, and the hidroxamic acid colorimetric test, because of its simplicity, can be easily applied in field tests.

Lista de figuras

Figura 1. Equação geral de uma reação de transesterificação. O álcool empregado na produção de biodiesel é geralmente o metanol ($R = CH_3$).	8
Figura 2. Reações consecutivas e reversíveis para transesterificação dos triacilgliceróis (MEHER, VIDYA SAGAR, NAIK, 2004).	9
Figura 3. Equação de hidrólise de ésteres alquílicos a ácidos graxos livres (KNOTHE, GERPEN, KRAHL & RAMOS, 2006).	11
Figura 4. Cromatograma típico obtido por CLAE-UV para o produto da reação de transesterificação (ANDRADE, 2011).	23
Figura 5. Reações químicas envolvidas no teste do ácido hidroxâmico (TAH) para confirmação da presença de ésteres (CORREA, <i>et al.</i> , 2006).	25
Figura 6. Representação esquemática do método de separação do diesel, biodiesel e óleo vegetal (adaptado de ANDRADE, 2011 e SANTOS, 2012)	33
Figura 7. Equipamento Nicolet iS5 da Thermo Scientific.	35
Figura 8. Equipamento Ultimate 3000 da Thermo Scientific.	37
Figura 9. Fluxograma ilustrativo da etapa de identificação pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico (adaptado de SANTOS, 2012).	38
Figura 10. Espectro na região do IV da amostra A_{7-0} .	41
Figura 11. Espectros na região do IV da fração F_1 (diesel) das amostras A_{7-0} (a), $A_{3,5-3,5}$ (b) e A_{0-7} (c).	44
Figura 12. Espectro da fração F_3 (biodiesel) da amostra A_{7-0} .	45
Figura 13. Espectro da fração F_4 (óleo vegetal) da amostra A_{7-0} .	45

Figura 14. Espectro da fração F ₃ (biodiesel) da amostra A _{3,5 - 3,5} .	46
Figura 15. Espectro da fração F ₄ (óleo vegetal) da amostra A _{3,5 - 3,5} .	46
Figura 16. Espectro da fração F ₃ (biodiesel) da amostra A _{0 - 7} .	46
Figura 17. Espectro da fração F ₄ (óleo vegetal) da amostra A _{0 - 7} .	47
Figura 18. Espectros da fração F ₃ das amostras A _{7 - 0} , A _{3,5 - 3,5} e A _{0 - 7} .	48
Figura 19. Espectros da fração F ₄ das amostras A _{7 - 0} , A _{3,5 - 3,5} e A _{0 - 7} .	48
Figura 20. Cromatograma da fração F ₃ da amostra A _{7 - 0} (a), fração F ₄ da amostra A _{7 - 0} (b), fração F ₃ da amostra A _{3,5 - 3,5} (c), fração F ₄ da amostra A _{3,5 - 3,5} (d), fração F ₃ da amostra A _{0 - 7} (e) e fração F ₄ da amostra A _{0 - 7} (f).	50
Figura 21. Cromatograma obtido por CLAE das frações F ₂ das amostras A _{5 - 0} (a), A _{4 - 1} (b), A _{3 - 2} (c), A _{2 - 3} (d), A _{1 - 4} (e) e A _{0 - 5} (f) (SANTOS, 2012).	53
Figura 22. Resultado obtido pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado na amostra em branco (a), e nas frações F ₁ (b), F ₃ (c) e F ₄ (d) da amostra A _{7 - 0} .	54
Figura 23. Resultado obtido pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas frações F ₁ (a), F ₃ (b) e F ₄ (c) da amostra A _{0 - 7} .	56
Figura 24. Resultado obtido pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas frações F ₃ (a) e F ₄ (b) da amostra A _{3,5 - 3,5} .	57
Figura 25. Resultado obtido pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas frações F ₃ das amostras A _{6 - 1} (a), A _{5 - 2} (b) e A _{4 - 3} (c).	59
Figura 26. Resultado obtido pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas frações F ₄ das amostras A _{6 - 1} (a), A _{5 - 2} (b) e A _{4 - 3} (c).	59

Lista de tabelas

Tabela 1. Estrutura química de alguns ácidos graxos (SRIVASTAVA <i>et al.</i> , 2000).	12
Tabela 2. Limites de quantidade (% massa) de MAG, DAG, TAG, EsMAG e glicerina livre e total no B100 por especificações americana, europeia e brasileira.	15
Tabela 3. Composição das amostras de diesel com biodiesel e/ou óleo vegetal.	32
Tabela 4. Comparação entre o teor de biodiesel teórico e experimental das amostras.	42

Lista de siglas

AG	Ácidos graxos
AGL	Ácidos graxos livres
ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
ASTM	Sociedade Americana para Testes e Materiais (<i>American Society for Testing and Materials</i>)
BX	Mistura de diesel com X% de biodiesel
B100	Biodiesel puro
C18	Grupo octadecilsilano
CG	Cromatografia gasosa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CNPE	Conselho Nacional de Política Energética
DAG	Diacilgliceróis
DEEL	Detector evaporativo de espalhamento de luz
DOU	Diário Oficial da União
EFS	Extração em fase sólida
EM	Espectrometria de massas
EN	Norma europeia (<i>European Norm</i>)
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização eletrospray (<i>Electrospray Ionization Mass Spectrometry</i>)
EsMAG	Ésteres metílicos de ácidos graxos
EUA	Estados Unidos da América
FR	Fase reversa

FT	Transformada de Fourier (<i>Fourier Transform</i>)
GL	Glicerina
iPLS	Regressão por mínimos quadrados parciais por intervalo (<i>Interval Partial Least Squares Regression</i>)
IV	Infravermelho
LDA	Análise discriminante linear (<i>Linear Discriminant Analysis</i>)
MAG	Monoacilgliceróis
MeOH	Metanol
NC	Número de carbonos
NLD	Número de ligações duplas
PLS	Regressão por mínimos quadrados parciais (<i>Partial Least Squares Regression</i>)
PCR	Regressão por componentes principais (<i>Principal Component Regression</i>)
SPA	Algoritmo das projeções sucessivas (<i>Successive Projections Algorithm</i>)
TAG	Triacilgliceróis
TAH	Teste colorimétrico do ácido hidroxâmico
UV	Ultravioleta

Sumário

1	Introdução	2
2	Objetivo	6
2.1	Objetivo geral	6
2.2	Objetivos específicos	6
3	Revisão bibliográfica	8
3.1	O biodiesel	8
3.2	Os óleos vegetais	11
3.3	Controle de qualidade do biodiesel e do BX	13
3.4	Métodos para determinação do teor de biodiesel no diesel e para a identificação da adulteração da mistura biodiesel/diesel por óleos vegetais	15
3.4.1	Espectroscopia na região do IV	16
3.4.2	Cromatografia líquida de alta eficiência	22
3.4.3	Teste colorimétrico do ácido hidroxâmico	24
3.5	Separação das classes químicas por extração em fase sólida .	27
4	Materiais e métodos	32
4.1	Preparo das amostras de diesel com biodiesel e/ou óleo vegetal	32
4.2	Separação do diesel, biodiesel e óleo vegetal	33
4.3	Análise das frações obtidas por EFS	35
4.3.1	Espectroscopia IV (método EN 14078)	35
4.3.2	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	36
4.3.3	Teste do Ácido Hidroxâmico	37
5	Resultados e Discussão	41
5.1	Análise das amostras de diesel com biodiesel e/ou óleo vegetal pelo método de referência EN 14078	41
5.2	Análise por espectroscopia IV (método EN 14078) das frações obtidas por EFS	43
5.3	Análise por CLAE das frações F₃ e F₄ obtidas por EFS	49
5.4	Análise pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico das frações obtidas por EFS	53
5.5	Determinação da sensibilidade do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico da detecção de adulterações a partir da fração F₄ obtida por EFS	57
6	Conclusões	61
7	Perspectivas futuras	63
8	Referências bibliográficas	65
9	Anexo	72

Capítulo 1

Introdução

Capítulo 1. Introdução

No atual contexto geopolítico em que se incrementam os debates acerca da preservação do meio ambiente e da adoção de práticas sustentáveis, o uso de fontes limpas e renováveis na geração de energia possui papel de destaque (ANP, 2012). O biodiesel surge, nesse cenário, como um potencial substituinte do diesel derivado de petróleo (KNOTHE, 2002), dada a possibilidade de ser alimentado a motores de diesel sem a necessidade dos mesmos passarem por modificações (AGARWAL, 2007; LUE, YEH, WU, 2011)

Caracterizado pelo seu ciclo de carbono fechado, o biodiesel apresenta balanço líquido de emissões veiculares, tanto de dióxido de carbono quanto de sulfurados, inferior ao verificado com o óleo diesel (GOES, ARAÚJO, MARRA, 2010).

O biodiesel desponta ainda como uma possível solução para outro problema socioambiental: a disposição final de óleos residuais urbanos. O uso de óleos residuais como matéria-prima para produção de biodiesel resulta na redução do material despejado indevidamente nas redes de esgoto sanitário e pluvial, evitando impactos ambientais e promovendo a economia de até 45 % do orçamento do setor de Obras e Saneamento dos municípios envolvidos (BIOTECHNOS, 2012; RAMOS *et al.*, 2000).

Adequando-se às exigências desse mercado em crescimento, o governo brasileiro sancionou a Lei Nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, que dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética nacional. Ficou estipulado

o crescente incremento da concentração mínima de biodiesel no diesel vendido ao consumidor, visando reduzir a importação do diesel derivado de petróleo.

O Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), valendo-se do parágrafo 2º, artigo 2º da Lei Nº 11.907, antecipou o percentual mínimo obrigatório de 5 % em volume de biodiesel no diesel (B5), previsto para ser estabelecido somente em 2013, para 01 de janeiro de 2010, através da Resolução Nº 07, de 19 de março de 2008 da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) (ANP, 2012) (DOU 20/03/2008), e esse percentual mínimo pode chegar a 7 % (B7) ainda em 2013.

De maneira a garantir que a legislação seja cumprida e a composição da mistura diesel:biodiesel esteja de acordo com a prevista, faz-se necessário um constante controle de qualidade dos combustíveis comercializados. Muitas são as técnicas que vem sendo aplicadas na análise do teor do biodiesel em diesel (PIMENTEL *et al.*, 2006; MONTEIRO *et al.*, 2009; CORREA, ARBILLA, 2006; BONDIOLI, LANZANI, FEDELI., 1994).

A Resolução ANP Nº 65 de 09 de dezembro de 2011 estabeleceu as normas NBR 15568 e EN 14078 como métodos de referência para a determinação do teor de biodiesel em diesel. Ambos os métodos utilizam a técnica de espectroscopia na região do infravermelho (IV) médio, que detecta e quantifica as espécies carboniladas presentes na mistura pela sua banda característica (comprimento de onda de aproximadamente 1745 cm^{-1}).

Embora eficaz na quantificação dos compostos carbonilados da amostra, a espectroscopia na região do IV não consegue diferenciar as classes de compostos que as constituem, ou seja, a resposta fornecida pelo biodiesel

diluído no diesel não se distingue daquela gerada por óleos vegetais que tenham sido adicionados à mistura. Isso porque tanto os ésteres alquílicos de ácidos graxos que compõem o biodiesel quanto os triacilgliceróis (TAG) presentes em óleos vegetais possuem carbonilas que são igualmente detectadas pelos métodos empregados.

Indetectável pela metodologia de controle atual, a adição de óleo vegetal ao diesel é uma adulteração fácil e provável de ser realizada devido, sobretudo, ao seu valor de mercado inferior ao do biodiesel e à sua boa miscibilidade em diesel (MEIRA *et al.*, 2011).

Portanto, a elaboração de metodologias que não apenas quantifiquem a concentração de compostos carbonilados no diesel, mas que também detectem adulterações com óleos vegetais mostra-se indispensável à preservação do crescimento do setor de biocombustíveis no Brasil. Um dos procedimentos que podem ser adotados nesse intuito é a separação preliminar dos constituintes de misturas diesel:biodiesel:óleo vegetal por extração em fase sólida (EFS) e análise das frações obtidas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (PLANK, LORBEER, 1994), por espectroscopia na região do IV médio (método de referência), ou ainda pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, normalmente empregado na confirmação de ésteres em síntese orgânica (COSTA NETO, 2004).

Capítulo 2: Objetivo

Capítulo 2. Objetivo

2.1. Objetivo Geral

Separar os constituintes de misturas de composição conhecida de diesel, biodiesel e óleo vegetal através da extração em fase sólida (EFS) e analisar as frações obtidas pelos métodos de cromatografia líquida de alta eficiência, espectroscopia na região do IV e o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, visando à detecção de adulteração do combustível por óleos vegetais.

2.2. Objetivos Específicos

- 1) Preparar amostras de óleo diesel com biodiesel e com diferentes graus de adulteração com óleo de soja e analisá-las pelo procedimento padrão de espectroscopia na região do IV de modo a verificar a limitação do método em identificar adulterações com óleos vegetais.
- 2) Separar os componentes das amostras (diesel:biodiesel:óleo vegetal) por EFS, e analisar as frações obtidas por CLAE, por espectroscopia na região do IV e pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico.
- 3) Comparar os resultados obtidos a partir dos métodos de caracterização e avaliar quais são eficazes na detecção de adulterações da mistura diesel:biodiesel por óleos vegetais.

Capítulo 3

Revisão

Bibliográfica

Capítulo 3. Revisão Bibliográfica

3.1. O biodiesel

O biodiesel é normalmente obtido através de uma reação de transesterificação, no qual ocorre a transformação de triacilgliceróis (TAG), em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos (AG), etílicos ou metílicos, na presença de um catalisador (KOH, NaOH, etc). Nesta reação também ocorre à formação do glicerol (1,2,3-propanotriol), também chamado de glicerina, conforme pode ser observado na **Figura 1**.

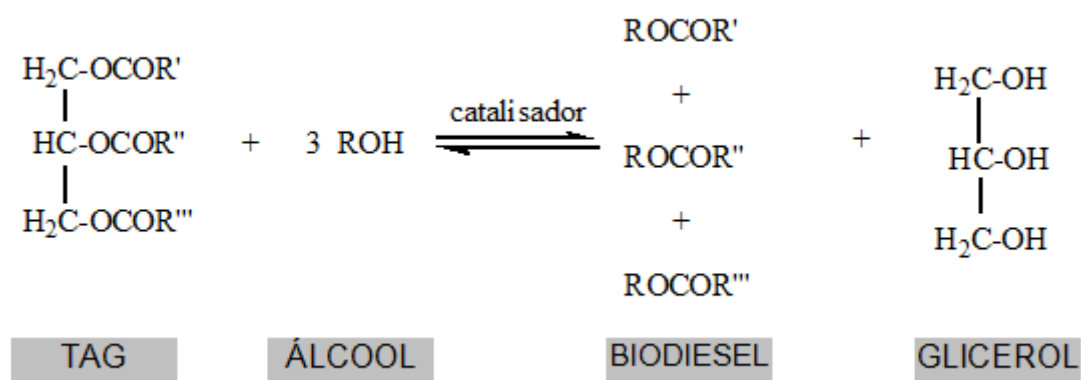


Figura 1. Equação geral de uma reação de transesterificação. O álcool empregado na produção de biodiesel é geralmente o metanol ($R = \text{CH}_3$).

A reação de obtenção do biodiesel ocorre através de três reações consecutivas reversíveis, conforme apresenta a **Figura 2**. Na primeira reação os TAG reagem com uma molécula de álcool, formando uma molécula de diacilgliceróis (DAG) e uma de éster metílico ou etílico de ácido graxo. Na segunda reação, os DAG formados na etapa anterior, reagem com outra molécula de álcool, formando uma molécula de monoacilgliceróis (MAG) e outra de éster metílico ou etílico de ácido graxo. Já na terceira e última reação, os MAG formados na segunda etapa, reagem com a última molécula de

álcool, gerando a glicerina e uma nova molécula de éster metílico ou etílico de ácido graxo.

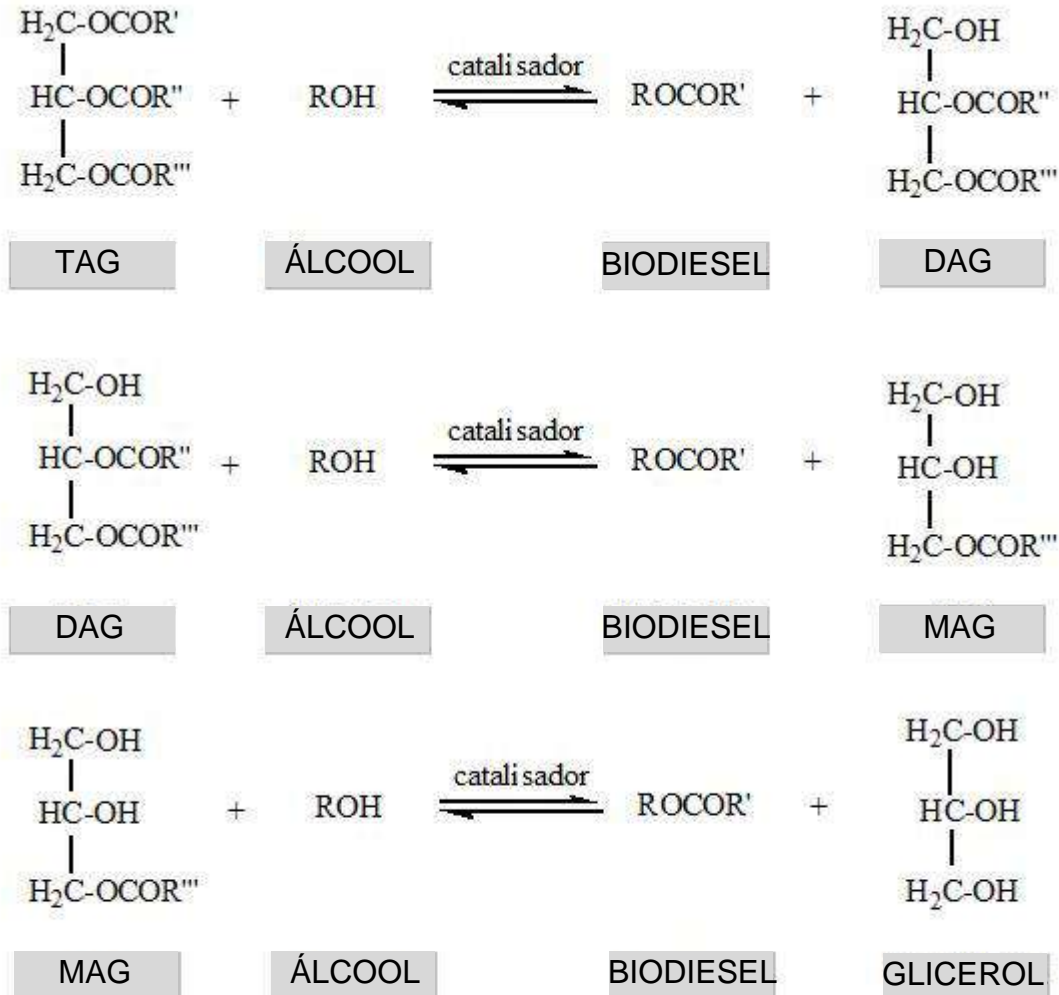


Figura 2. Reações consecutivas e reversíveis para transesterificação dos triacilgliceróis (Adaptado de MEHER, VIDYA SAGAR, NAIK, 2004).

Diversos artigos de revisão relacionados à transesterificação para a produção de biodiesel já foram publicados na literatura (BONDIOLI, 2004; HOYDONCKX *et al.*, 2004; DEMIRBAS, 2003; SHAH, SHARMA, GUPTA, 2003; HAAS *et al.*, 2002; MA, HANNA, 1999; SCHUCHARDT, SERCHELI, VARGAS, 1998).

A transesterificação é uma reação de transformação de um éster em outro a partir da troca da parte alcóxi da molécula. Quando o éster original reage com um álcool, a

reação de transesterificação é chamado alcoólise (**Figura 2**), pois funciona com a quebra da molécula original pelo álcool. A presença de um catalisador (tipicamente ácido ou base fortes) acelera o estabelecimento do equilíbrio e o álcool deve ser usado em excesso, a fim de se obter um alto rendimento da reação. Em catálise homogênea, catalisadores alcalinos (NaOH e KOH; ou os alcóxidos correspondentes) proporcionam aceleração das reações muito maiores que catalisadores ácidos (FREEDMAN & PRYDE, 1982; FREEDMAN & PRYDE, 1984; CANAKCI & VAN GERPEN, 1999).

A reação de transesterificação é reversível, embora durante a produção de ésteres alquílicos de óleos vegetais (biodiesel), a reação reversa não ocorra, ou seja, desprezível, uma vez que o glicerol formado na reação não é miscível no produto. Em princípio, sendo a reação reversível, embora o equilíbrio permaneça na direção da produção de ésteres de AG e glicerol, tem-se um motivo a mais para utilização de excesso de álcool na reação (SCHWAB *et al.*, 1987).

O metanol é o álcool mais utilizado para a produção de ésteres de AG (EsMAG, ou FAME, *Fatty Acid Methyl Esthers*) para uso como biodiesel. Como consequência, os EsMAG são empregados na grande maioria dos laboratórios mundiais em variados testes e demonstrações práticas. Tal fato se deve ao preço do metanol ser muito menor em relação aos outros álcoois, chegando a ser 50 % menor. No Brasil, no entanto, a disponibilidade de matéria-prima e tecnologia permite uma produção economicamente viável de etanol por processos fermentativos, resultando em preços menores do que os preços do metanol (KNOTHE, GERPEN, KRAHL & RAMOS, 2006).

Além do tipo de catalisador (ácido ou básico), outras condições têm sido investigadas na reação de transesterificação, incluindo a razão molar álcool:óleo vegetal, a temperatura, o tempo de reação, o grau de refino do óleo vegetal empregado e o efeito da presença de umidade e ácidos graxos livres (AGL) (FREEDMAN & PRYDE, 1984).

Para que a reação de transesterificação tenha rendimentos máximos, o álcool deve ser livre de umidade e o conteúdo de AGL do óleo vegetal deve ser inferior a 0,5 % (FREEDMAN & PRYDE, 1984). A ausência de umidade na reação de transesterificação é importante, pois conforme mostra a equação apresentada na **Figura 3** (para ésteres metílicos), pode ocorrer a hidrólise dos ésteres alquílicos sintetizados a AGL. Da mesma forma, a reação de TAG com água pode formar AGL porque estas substâncias também são ésteres.

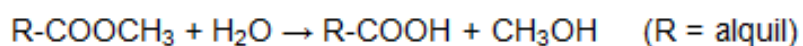


Figura 3. Equação de hidrólise de ésteres alquílicos a ácidos graxos livres (KNOTHE, GERPEN, KRAHL, RAMOS, 2006).

Para temperatura de 32 °C, a transesterificação atinge 99 % de rendimento em 4 horas quando um catalisador alcalino é empregado (NaOH, por exemplo) (FREEDMAN, PRYDE, 1984). Acima de 60 °C, empregando óleos vegetais refinados em razões molares álcool:óleo de pelo menos 6:1, a reação pode se completar em 1 hora (FREEDMAN, PRYDE, 1984). Apesar dos óleos brutos também poderem ser transesterificados, os rendimentos de reação são geralmente reduzidos, devido à presença de gomas e materiais de outra natureza química no óleo vegetal. Essa condição (temperatura de 60 °C e razão molar metanol:óleo de 6:1) tem se definido como condição padrão para transesterificação metílica. Outros álcoois, como o etanol, requerem temperaturas mais altas (75 °C, para o etanol) para uma conversão otimizada (FREEDMAN, PRYDE, 1984).

3.2. Os óleos vegetais

Os óleos vegetais são constituídos principalmente de TAG, bem como de MAG e DAG, AGL e outros componentes, esses em escala muito menor. Quimicamente, os TAG

Embora os óleos representem uma boa alternativa como fonte de energia, há problemas associados à sua utilização *in natura* em motores diesel. Dentre esses problemas, se destacam (MEHER *et al.*, 2006): a) atomização ineficiente do combustível nos bicos injetores resultando na obstrução dos orifícios, devido à alta viscosidade do óleo (cerca de 11-17 vezes maior do que a do diesel), sua baixa volatilidade e seu caráter poliinsaturado; b) depósitos de carbono; c) colagem de anéis no bico injetor, aumentando a pressão de bombeamento; d) degradação do óleo lubrificante pela contaminação deste com o óleo vegetal e e) problemas de lubrificação.

Misturas binárias com óleo diesel, mistura co-solvente e transesterificação são algumas soluções utilizadas para diminuir os problemas com a alta viscosidade dos óleos vegetais (SCHWAB *et al.*, 1987). Destas, a transesterificação, que transforma os TAG em ésteres alquílicos de óleos e gorduras, ou seja, o biodiesel (DMYTRYSHYN *et al.*, 2004; NASCIMENTO *et al.*, 2001), tem se apresentado como a melhor opção (NOUREDDINI *et al.*, 1998). Sendo seu processo de obtenção simples (SHUCHRDT *et al.*, 1998), o biodiesel apresenta propriedades similares às do óleo diesel (DORADO *et al.*, 2002; DORADO *et al.*, 2003) e, portanto, é um forte candidato à substituição deste.

3.3. Controle de qualidade do biodiesel e do BX

A demanda por um combustível que se enquadre em normas que atendam os parâmetros ambientais está cada vez mais exigente. O biodiesel mostra-se promissor em relação à pouca agressividade ao ambiente, uma vez que é proveniente de fontes renováveis e possui um padrão de emissão de poluentes durante sua combustão melhor do que outros combustíveis (CORREA, ARBILLA, 2006).

Para evitar a venda de biodiesel de baixa qualidade aos consumidores, o controle de constituintes deste combustível torna-se necessário. Sendo assim, há uma busca para

dar maior rapidez e precisão às análises laboratoriais realizadas sobre este produto. Com análises mais avançadas e refinadas, pode-se realizar um maior controle sobre a qualidade do biocombustível disponibilizado aos consumidores.

Problemas operacionais críticos podem ocorrer aos motores caso o biodiesel encontre-se fora de especificação ao ser utilizado, como por exemplo, a formação de depósitos nos motores e entupimento dos filtros (PLANK, LORBEER, 1995; HOLCAPEK *et al.*, 1999). Estes problemas ocorrem devido à presença de contaminantes como resíduos de TAG não transesterificado, AGL não reagidos e etc. A estocagem do biodiesel também deve ser um ponto de atenção, pois podem ocorrer reações oxidativas e absorção de umidade, diminuindo a qualidade do biodiesel como biocombustível (KNOTHE *et al.*, 2006).

Existem atualmente algumas normas que já especificam parâmetros dos constituintes do biodiesel como a americana (ASTM D 6751, 2008), a europeia (EN 14214, 2003) e a brasileira (ANP, 2012). Na **Tabela 2**, estão presentes as especificações de cada uma destas normas.

Tabela 2. Limites de quantidade (% massa) de MAG, DAG, TAG, EsMAG e glicerina livre e total no B100 por especificações americana, europeia e brasileira.

Parâmetros	ASTM D6751 (2008)	EN 14214 (2003)	Resolução N ^o 14 ANP (2012)
MAG	-	≤ 0,80	≤ 0,80
DAG	-	≤ 0,20	≤ 0,20
TAG	-	≤ 0,20	≤ 0,20
GL Livre	≤ 0,02	≤ 0,02	≤ 0,02
GL Total	≤ 0,24	≤ 0,25	≤ 0,25
Ésteres	-	≥ 96,5	≥ 96,5

GL-Glicerina.

As normas são similares, com destaque para a semelhança entre as normas europeia e brasileira. A norma brasileira apresenta muitos pontos flexíveis, devido à grande diversidade de matérias-primas disponíveis no Brasil (GUARIEIRO, 2006).

3.4. Métodos para determinação do teor de biodiesel no diesel e para a identificação da adulteração da mistura biodiesel/diesel por óleos vegetais

A literatura cita alguns métodos (espectroscopia na região do infravermelho, espectroscopia Raman, espectroscopia de fluorescência, ressonância magnética nuclear de hidrogênio, cromatografia gasosa bidimensional abrangente, cromatografia líquida de alta eficiência e o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico) para a determinação do teor de biodiesel em diesel e para a identificação da adulteração da mistura biodiesel/diesel por óleos vegetais. Nesse projeto, foram abordados apenas três desses métodos

(espectroscopia na região do infravermelho, cromatografia líquida de alta eficiência e teste colorimétrico do ácido hidroxâmico), conforme descrito a seguir:

3.4.1. Espectroscopia na região do IV

A espectroscopia na região do infravermelho (IV), combinada com a análise multivariada, vem sendo vastamente utilizada para a determinação da adulteração de misturas diesel/biodiesel por óleo vegetal.

Em 2007, Oliveira *et al.* empregaram a espectroscopia na região do infravermelho próximo e a espectroscopia Raman, ambas com transformada de Fourier (FT), para a determinação da adulteração de misturas diesel/biodiesel por óleo vegetal. Neste trabalho, foi demonstrado que os métodos de rotina da ASTM (ASTM 4052, ASTM D 445, ASTM D 4737, ASTM D 93, e ASTM D 86), recomendados pela ANP (Agência Nacional do Petróleo), não são adequados para evitar a adulteração de misturas 2 % biodiesel v/v ou 5 % biodiesel v/v com óleos vegetais. Os modelos de calibração de regressão de mínimos quadrados parciais (PLS - partial least square regression), de regressão de componente principal (PCR - principal component regression), e de rede neurais artificiais (ANN - artificial neural network) foram projetados e os seus desempenhos relativos foram avaliados por validação externa utilizando o teste-F. Os modelos de calibração de PLS, PCR e ANN, baseados na espectroscopia na região do infravermelho próximo e na espectroscopia Raman, ambas com transformada de Fourier (FT), foram propostos utilizando 120 amostras. Outras 62 amostras foram utilizadas na validação externa, em um total de 182 amostras. Os resultados mostraram que o ANN/FT-Raman apresentou a melhor precisão (0,028 %, m/m) para amostras usadas na validação externa.

Em 2008, Rizzi *et al.* utilizaram a meta-heurística enxame de partículas (PSO - particle swarm optimization) para otimizar os modelos de regressão multivariados, visando

quantificar o biodiesel e identificar adulterações em misturas biodiesel/diesel. São comparados os desempenhos de modelos de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e por mínimos quadrados parciais por intervalo (iPLS), empregando o espectro no IV das blendas, e regiões do IV selecionadas pelo método de otimização, empregando dados obtidos pela espectroscopia por reflexão total atenuada no IV (FTIR/ATR). Verificou-se que os modelos de regressão foram capazes não só de quantificar os teores dos diferentes tipos de biodiesel utilizados, como também de detectar adulterantes através dos modelos de regressão, sendo que o erro de previsão obtido através do método otimizado foi 38,62 % menor que o erro encontrado utilizando toda a região espectral das misturas, para as determinações do óleo vegetal.

Em 2010, Vieira *et al.* empregaram a espectroscopia na região do IV e análise por componentes principais (PCA), para a avaliação da adulteração de misturas biodiesel/diesel. Os autores empregaram a espectroscopia na região do IV com reflexão total atenuada (ATR), pois esta técnica é adequada para a análise de combustíveis, sendo rápida, não destrutiva e não geradora de resíduos nocivos ao ambiente. Neste trabalho, foram elaboradas 81 amostras binárias (blendas) a partir de adições de percentuais crescentes de biodiesel, óleo de girassol bruto, óleo de soja degomado ou óleo residual de fritura em diesel, sendo empregadas uma amostra de diesel interior e outra de diesel metropolitano, cedidas pela refinaria REFAP, localizada em Esteio, no Rio Grande do Sul. As concentrações utilizadas compreendem a faixa de concentração de 0,5 a 30 % (para o biodiesel, óleo de girassol bruto, óleo de soja degomado e óleo residual de fritura). Para selecionar e avaliar as faixas espectrais foi utilizado o algoritmo iPCA (PCA por intervalos). De acordo com os resultados foi possível visualizar a separação dos grupos formados pelos óleos vegetais (adulterantes) das blendas contendo biodiesel, usando uma faixa específica do espectro selecionada por meio da análise de iPCA.

Observou-se também que utilizando outras faixas do espectro podem-se separar as amostras contendo diesel interior e metropolitano, bem como a diferenciação dos dois equipamentos utilizados nas análises.

Em 2011, Vieira *et al.* descreveram o desenvolvimento de modelos de regressão multivariada para a determinação de adulterantes em blendas biodiesel/diesel. Neste trabalho, foram elaboradas 81 amostras binárias e 60 amostras ternárias, a partir de adições de percentuais crescentes de biodiesel, óleo de girassol bruto, óleo de soja degomado ou óleo residual de fritura em diesel, sendo empregadas uma amostra de diesel interior e outra de diesel metropolitano, também cedidas pela refinaria REFAP. As amostras foram analisadas por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), associada à análise de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS, iPLS, siPLS e biPLS), sendo sugerida como uma metodologia analítica limpa, rápida e não destrutiva capaz de quantificar a presença de adulterantes, como óleo de soja degomado, óleo de girassol e óleo residual de frituras, em misturas biodiesel/diesel. De acordo com os resultados foi possível obter bons modelos de previsão para o biodiesel e para os adulterantes nas blendas analisadas.

Em 2011, Gaydou *et al.* investigaram o potencial do uso simultâneo da espectroscopia na região do IV próximo (NIR) e do IV médio (MIR), para a detecção da adulteração de misturas diesel/biodiesel, por óleo vegetal. As duas regiões espectrais foram utilizadas separadamente com regressões de mínimos quadrados parciais (PLS). Para combinar as duas parciais de informação, primeiro uma matriz concatenada foi utilizada, e então, os modelos Hierarchical-PLS (H-PLS) e Serial-PLS (S-PLS) foram construídos. Os modelos foram comparados em termos de erros de previsão (RMSEP - root-mean-square error of independent prediction). Os resultados obtidos pela

espectroscopia NIR foram melhores do que os obtidos através da espectroscopia MIR (considerando-se a influência do pré-tratamento e da faixa de variáveis selecionadas).

Em 2011, Pontes *et al.* também aplicaram a análise multivariada para a detecção da adulteração em misturas diesel/biodiesel, usando a espectroscopia na região do IV e a classificação multivariada. Para este propósito, a análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA - partial least squares discriminant analysis) e a análise discriminante linear (LDA - linear discriminant analysis), acoplada com o algoritmo das projeções sucessivas (SPA - successive projections algorithm) têm sido empregadas para a construção de modelos multivariados, utilizando três diferentes caminhos ópticos e as seguintes faixas espectrais: 1,0 mm (8814 a 3799 cm^{-1}), 10 mm (11.329 a 5944 cm^{-1} e 5531 a 4490 cm^{-1}) e 20 mm (11.688 a 5952 cm^{-1} e 5381 a 4679 cm^{-1}). O método é validado em um estudo de caso envolvendo a classificação de 140 amostras de misturas diesel/biodiesel, que foram divididos em quatro classes diferentes, denominadas: diesel livre de biodiesel e óleo vegetal bruto (D), misturas contendo diesel, biodiesel e óleos brutos (OBD), misturas de diesel e óleos brutos (OD), e misturas contendo uma fração de 5 % (v/v) de biodiesel no diesel (B5). Os modelos LDA-SPA foram considerados os melhores métodos para classificar os dados espectrais obtidos com os caminhos ópticos de 1,0 e 20 mm. Os modelos PLS-DA apresentaram os melhores resultados para a classificação dos dados espectrais obtidos com o caminho óptico de 10 mm, atingindo predições corretas em até 100 % nas amostras testadas.

Ferrão *et al.*, em 2011, utilizaram com sucesso novas técnicas de calibração multivariada para determinar o teor de biodiesel, a densidade, o ponto de fulgor e o teor de enxofre de misturas BX. A metodologia utilizada foi a regressão por mínimos quadrados parciais por intervalo (iPLS) ou mínimos quadrados parciais por sinergismo

(siPLs) associada a espectroscopia na região do IV com reflectância total atenuada horizontal, determinando simultaneamente as propriedades anteriormente citadas.

Em 2011, Soares *et al.*, avaliaram a eficiência das técnicas espectrometria de massas com ionização eletrospray (ESI-MS - electrospray ionization mass spectrometry) e reflexão total atenuada conjugada com espectroscopia no IV com transformada de Fourier (ATR/FTIR) na determinação de adulteração de BX com querosene e óleo residual. De acordo com os autores do artigo, a espectrometria de massa com infusão direta de *electrospray* no modo de íon negativo, ESI(-)-MS e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram usadas conjuntamente com o método dos quadrados mínimos parciais (PLS) como ferramenta para determinar a adulteração de biodiesel B3 (3 % v/v de biodiesel em óleo diesel) com querosene e óleo de fritura residual recolhido de restaurantes. De acordo com as conclusões dos autores, as técnicas ESI e FTIR mostraram grande potencial na determinação de adulterante em BX, com teores variando de 1 a 40 %, mostrando-se igualmente eficientes na determinação de óleo residual. Já na determinação de querosene, a técnica FTIR foi mais satisfatória, gerando menores erros ao longo da curva analítica. Neste mesmo ano, o mesmo grupo de pesquisa, Soares *et al.*, estudou a determinação de biodiesel com óleo vegetal cru, usando dados de ATR-FTIR e ferramentas quimiométricas. De acordo com os autores, biodiesel de três origens diferentes (algodão, mamona e palma) foi adulterado com óleo de soja cru, com concentrações variando de 1 a 40 % (m/m), com incrementos de 1 %. Estas amostras foram analisadas por espectrometria de IV médio (MIR) em três diferentes faixas espectrais. Para determinar a origem do biodiesel utilizado no sistema adulterado, os dados espectrais foram analisados por PCA (Análise de Componentes Principais). Para quantificar o óleo de soja cru foi aplicado o método de mínimos quadrados parciais (PLS). De acordo com as conclusões dos autores da pesquisa, a PCA mostrou que os

dados obtidos por MIR contém informação suficiente para diferenciar amostras de biodiesel de acordo com sua fonte, mesmo com óleo de soja cru. Ainda, o método PLS baseado no espectro MIR provou sua eficácia para identificar a presença de óleo de soja cru em biodiesel em blendas de 1 a 40 % m/m. A faixa espectral de 1800-1000 cm^{-1} , foi a melhor região para a calibração do PLS para quantificação do óleo de soja cru em amostras de biodiesel, provendo os menores valores de RMSECV (Root-Mean-Square Error of Cross-Validation, Erro médio quadrático da validação cruzada). e RMSEP (Root-Mean-Square Error of Prediction, Erro médio quadrático da predição). Por fim, segundo os autores, a vantagem de utilização da metodologia aplicada no trabalho é a velocidade de determinação da origem do biodiesel e sua adulteração ou não, além do nível de adulteração.

Em 2012, Vasconcelos *et al.* empregaram as regiões de sobreposição (*overtone*) do infravermelho próximo para a determinação do teor de biodiesel e da adulteração potencial da mistura diesel/biodiesel por óleos vegetais. Desta forma, os espectros na região do NIR (12.000 a 6300 cm^{-1}) foram obtidos com três diferentes comprimentos de caminho óptico: 10 mm, 20 mm e 50 mm. Duas estratégias de regressão com seleção de variáveis foram avaliadas: mínimos quadrados parciais (PLS, no inglês partial least square regression) com coeficientes de regressão selecionados pelo algoritmo Jack-Knife (PLS/JK) e regressão linear múltipla (MLR, no inglês multiple linear regression) com a seleção do número de onda pelo algoritmo das projeções sucessivas (SPA, no inglês successive projections algorithm) - MLR/SPA. Para comparação, os resultados obtidos pela utilização de modelos de espectro total PLS também são apresentados. Além disso, o desempenho de modelos usando regiões espectrais na região do NIR (1,0 mm de comprimento do caminho óptico, 9000 a 4000 cm^{-1}) e do MIR (UATR, no inglês universal attenuated total reflectance - reflectância total universal atenuada, 4000 a 650 cm^{-1})

também foi investigado. Os resultados demonstraram o potencial das regiões sobrepostas com a estratégia de regressão MLR/SPA, para determinar o teor de biodiesel na mistura diesel/biodiesel, considerando-se a possível presença de óleo bruto como um contaminante. Esta estratégia é simples, rápida e utiliza um número reduzido de variáveis espectrais. Considerando isso, as regiões de sobreposição (*overtone*) podem ser úteis para o desenvolvimento de instrumentos de baixo custo para o controle de qualidade de misturas diesel/biodiesel, considerando o baixo custo dos componentes ópticos nesta região espectral.

3.4.2. Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) apresenta muitas vantagens como o reduzido tempo de análise, não utilização de reagentes derivatizantes, viabilização da quantificação de componentes pouco voláteis (NETO, NUNES, 2003) e não exigência de altas temperaturas. Por não exigir temperatura alta, o risco de isomerização das ligações duplas dos AG ou outras moléculas insaturadas diminui (CZAUDERNA, KOWALCZYK, 2001; LI *et. al.*, 2001).

Em 2011, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um método alternativo utilizando a CLAE-FRNA (cromatografia líquida de alta eficiência – fase reversa não aquosa) na determinação da conversão e caracterização dos principais componentes do B100 (EsMAG, MAG, DAG e TAG). Neste estudo utilizou-se como fase estacionária o octadecilsilano (C-18), a fase móvel foi metanol e *i*-propanol/*n*-hexano (5:4, v/v) e o detector UV a 205 nm (ANDRADE, MAZZEI, d'AVILA, 2011).

A **Figura 4** apresenta um cromatograma típico obtido a partir da aplicação da técnica de CLAE-UV sobre o produto da reação de transesterificação para produção de biodiesel (ANDRADE, 2011).

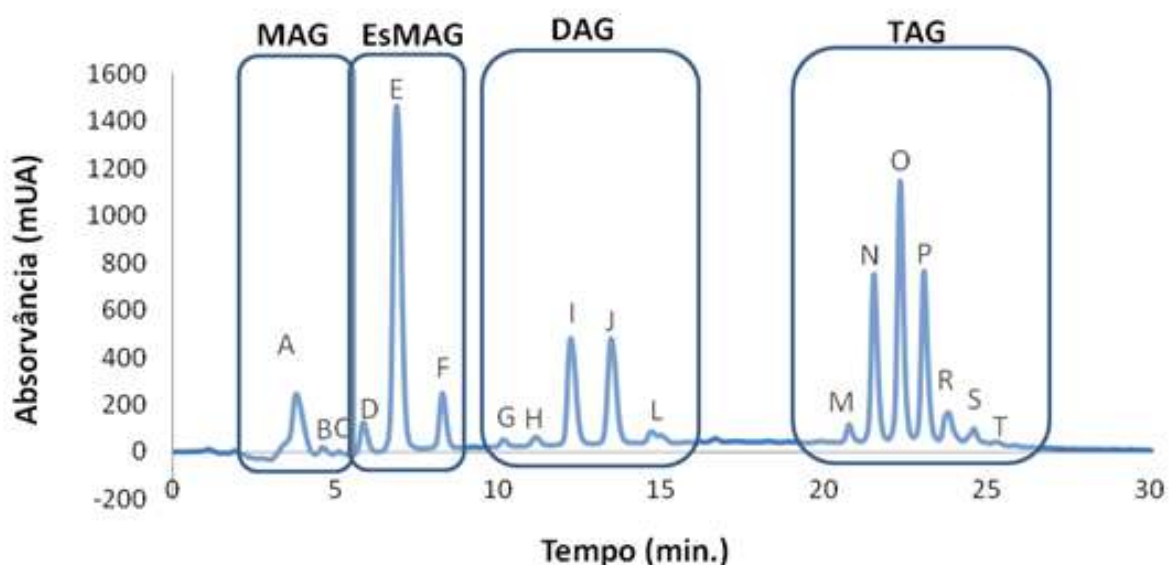


Figura 4. Cromatograma típico obtido por CLAE-UV para o produto da reação de transesterificação (ANDRADE, 2011).

Como pode ser observado através da **Figura 4**, há uma nítida separação -entre as diferentes classes (MAG, EsMAG, DAG e TAG) presentes durante a reação de transesterificação para produção do biodiesel.

Em 2012, SANTOS desenvolveu uma metodologia de separação e identificação de adulterantes presentes em biodiesel B5. Um dos métodos utilizados foi a metodologia de CLAE-UV, desenvolvida por Andrade, em 2011. Os resultados mostraram a eficácia do método para a identificação da presença de biodiesel e/ou adulterantes (óleo vegetal) na amostra original B5 e nas frações obtidas da extração em fase sólida.

Em 2012, nosso grupo de pesquisa realizou um trabalho mostrando a eficiência da técnica de CLAE-UV para a detecção da adulteração de biodiesel por óleos vegetais (BROUCK, 2012). Neste trabalho foram empregados vários tipos de óleos vegetais (soja, milho, girassol, canola, algodão e fritura) na faixa de concentração de 1 a 50 % e utilizou a CLAE-UV (205 nm) para a identificação da presença do adulterante. Através dos

resultados obtidos, concluiu-se que a técnica é eficiente para a detecção de fraudes em combustíveis que atendam as especificações, com limite de aplicação mínima de 1 % de teor mínimo do adulterante (BROUCK, 2012).

3.4.3. Teste colorimétrico do ácido hidroxâmico

A identificação do biodiesel em misturas diesel, biodiesel e óleo vegetal pode ser realizada através do teste do ácido hidroxâmico (CORREA *et al*, 2006). Correa *et al.*, em 2006, descreveram um método para identificar a presença de biodiesel em diesel e determinar o teor de biodiesel, na faixa de B0 a B5, por meio da reação dos ésteres presentes neste componente com o cloridrato de hidroxilamina em meio alcalino, resultando em um sal alcalino do ácido hidroxâmico, que é complexado por uma solução de cloreto férrico. Os ésteres são convertidos em hidroxamato férrico por reação com a hidroxilamina. Os hidroxamatos reagem com sais férricos produzindo um complexo de cor vermelha à violeta (FEIGL, 1966; COSTA NETO, 2004). Este procedimento é chamado de Teste do Ácido Hidroxâmico (TAH) e vem sendo utilizado para a confirmação de ésteres em procedimentos de síntese orgânica.

A **Figura 5** apresenta a reação de formação deste complexo (CORREA *et al.*, 2006).

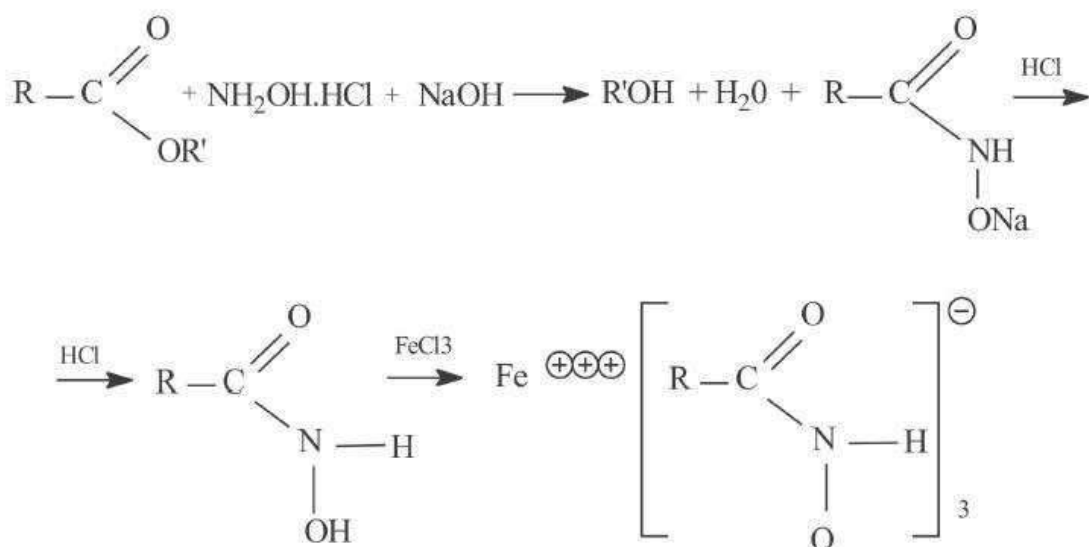


Figura 5. Reações químicas envolvidas no teste do ácido hidroxâmico (TAH) para confirmação da presença de ésteres (CORREA, *et al.*, 2006).

O complexo do sal alcalino do ácido hidroxâmico com cloreto férrico é extraído com *n*-hexano. A fase superior, de coloração amarela, laranja ou vermelha, dependendo da concentração de biodiesel, é isolada e analisada por espectrofotometria de absorção na região do UV-VIS para realização das leituras em absorbância de cada mistura e observação da linearidade das concentrações. As análises são realizadas na faixa de comprimento de onda (λ) de 300 a 700 nm, com caminho óptico de 1 cm, utilizando a amostra B0 como branco (CORREA *et al.*, 2006).

Em 2012, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um método de separação e análise integradas do biodiesel e/ou óleos vegetais em óleo diesel (SANTOS, 2012). Neste trabalho foi empregada a extração em fase sólida, com cartucho de fase estacionária sílica, para a separação da mistura biodiesel:diesel:óleo vegetal em duas frações, uma constituída de diesel (fração F₁) e outra constituída de biodiesel e óleo vegetal (fração F₂). A partir da fração F₂, foi realizada outra extração em fase sólida, com

cartucho de fase estacionária aminopropilsilano, para a separação da mistura biodiesel:óleo vegetal nas frações F_3 e F_4 , contendo, respectivamente, biodiesel e óleo vegetal, separados, conforme método desenvolvido por Andrade, 2011.

Santos, em 2012, empregou amostras de biodiesel de 0 até 5 % v/v (B0 até B5), com percentuais de adulterantes (óleo vegetal) variando de 5 até 0 % v/v. Ou seja, a mistura apresentou sempre um percentual de 5 % v/v de biodiesel e/ou óleo vegetal em relação ao diesel, com volumes complementares de biodiesel e óleo vegetal, com acréscimos/decréscimos de 1 % de cada componente. Estas amostras foram analisadas por espectroscopia na região do IV e os resultados mostraram a limitação do método na determinação do teor de biodiesel em misturas constituídas de diesel, biodiesel e óleo vegetal.

Neste mesmo trabalho, o TAH foi realizado nas frações constituídas por diesel (fração F_1), biodiesel (fração F_3) e óleo vegetal (fração F_4). Os resultados mostraram que a fração F_1 não apresentou coloração, já que é constituída apenas por diesel. No entanto, as frações F_3 e F_4 mostraram o aparecimento de uma coloração amarela, laranja ou vermelha, dependendo da concentração de biodiesel e/ou óleo vegetal. Desta forma, o aparecimento de cor na fração F_4 , submetida ao TAH, é uma forma simples de identificar a presença de adulteração da mistura biodiesel/diesel por óleo vegetal (SANTOS, 2012).

Santos, em 2012, também analisaram por CLAE-UV as frações F_2 (constituída de biodiesel e óleo vegetal). De um modo geral, podemos dizer que os resultados apresentados por SANTOS, 2012, atestam a eficácia das extrações realizadas para separação das misturas binárias (diesel:biodiesel ou óleo vegetal) e ternárias (diesel:biodiesel:óleo vegetal) e a eficácia dos métodos de identificação realizados para verificação da presença de adulterantes no biodiesel e de erros percentuais na concentração de biodiesel na mistura diesel:biodiesel.

O presente projeto difere do trabalho de Santos, 2012 em alguns pontos: 1) amostras analisadas (Santos, 2012) analisou misturas com percentual de biodiesel e/ou óleo vegetal no diesel de até 5 % v/v, enquanto que neste trabalho empregou-se amostras de até 7 % v/v (B7) do mesmo tipo de mistura; 2) frações analisadas por CLAE-UV (Santos, 2012 analisou somente as frações F_2 , enquanto que no presente trabalho foram analisadas as frações F_3 e F_4); 3) amostras analisadas por espectroscopia na região do IV (Santos, 2012 analisou apenas as amostras originais, já neste trabalho foram analisadas além das amostras originais, as frações F_1 , F_3 e F_4) e 4) métodos empregados para a análise das frações (Santos, 2012 empregou apenas o TAH e a CLAE-UV, contudo, neste trabalho foram empregados além destes métodos, a espectroscopia na região do IV).

3.5. Separação das classes químicas por extração em fase sólida

A extração em fase sólida (EFS) é apresentada em vários trabalhos na literatura para diversos fins, auxiliando diversas técnicas de análise, como por exemplo, a espectroscopia na região do UV, a CG e a CLAE (PÉREZ-CAMINO, CERT, MOREDA, 2000).

A EFS é uma das técnicas mais poderosas e mais empregadas para a extração de componentes de interesse presentes em matrizes complexas (NEBOT *et al*, 2007). Esta técnica baseia-se em concentrar ou extrair um componente de interesse através da retenção do mesmo em contato com uma fase sólida, e posterior eluição deste componente com um solvente adequado. A extração em fase sólida pode ser realizada em batelada, onde um sólido extrator é adicionado junto à solução da amostra, ou em fluxo, onde um fluxo constante atravessa um pequeno cartucho, contendo a fase sólida empacotada (DANTAS, 2004). A retenção do componente na fase sólida pode ocorrer

devido à interação direta com a fase sólida, à retenção de um produto da reação entre o componente e um reagente ou à retenção do componente com um reagente previamente imobilizado no suporte sólido. Qual dessas estratégias adotar dependerá da espécie química a ser analisada, do suporte utilizado e da reação envolvida (ROCHA *et al.*, 2004).

A EFS vem sendo descrita para a utilização de análises de gorduras comestíveis, óleos e amostras biológicas (PÉREZ-CAMINO, CERT, MOREDA, 2000). Desta forma, a utilização da EFS em biodiesel apresenta grande potencial, uma vez que a maioria dos constituintes do biodiesel é composto de lipídeos e seus derivados.

Dentre os cartuchos mais utilizados na EFS, para a separação de lipídeos, encontra-se a sílica gel. Este cartucho é capaz de separar classes polares e não polares. Como fase móvel, são utilizadas diversas misturas, como *n*-hexano:dietil éter (98:2, v/v) e metanol; e *n*-hexano:dietil éter (90:10, v/v) e clorofórmio:metanol (2:1). Ainda, a fase móvel carreadora pode não ser necessária dependendo da diferença entre as propriedades dos componentes das misturas a serem separadas.

Entretanto, quando se necessita de separação mais eficiente, como no caso de biodiesel e óleo vegetal de soja refinado, pode-se utilizar suportes com grupamento NH₂, Si, NH₄⁺, C₁₈ dentre outras. Neste caso, também são empregadas variadas misturas de solventes para a obtenção de frações enriquecidas dos componentes de interesse (PÉREZ-CAMINO, CERT, MOREDA, 2000).

No trabalho de Kaluzny *et al.* (1985) foi descrito um método para a separação de diferentes classes lipídicas fazendo utilização da técnica de EFS. A fase estacionária dos cartuchos era constituída de aminopropilsilano. O extrato utilizado era constituído de MAG, DAG, TAG, éster colesterol, colesterol, AGL, e fosfolipídeos. Essa mistura foi solubilizada em clorofórmio e aplicada nos cartuchos. Os resultados de recuperação das

classes mostraram que há eficiência na separação dessas classes por EFS (KALUZNY *et al.*, 1985).

Em 2009, Li e colaboradores também empregaram a EFS para a separação de classes lipídicas. Neste trabalho, os autores mostraram que é possível a obtenção de frações enriquecidas em uma determinada classe proveniente do biodiesel. Através de uma fase estacionária contendo sais de prata e sílica, os autores mostraram que é possível separar ésteres insaturados do biodiesel de soja, através do complexo- π . Além disso, observou-se que a emissão de NOx diminuiu e melhorou a estabilidade oxidativa do biodiesel, após a retirada destes ésteres insaturados (LI *et al.*, 2009).

Em 2011, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um método de EFS, utilizando cartuchos aminopropilsilano, para o enriquecimento e separação dos acilgliceróis (MAG, DAG e TAG) do biodiesel (EsMAG). Neste trabalho, as frações obtidas através da EFS foram analisadas apenas por CLAE (ANDRADE, MAZZEI, d'AVILA, 2011).

Em 2012, nosso grupo de pesquisa separou constituintes de biodiesel através da EFS, visando a obtenção de frações enriquecidas em classes de constituintes para simplificação de sua caracterização por métodos analíticos (CARDOSO, 2012). Os métodos analíticos utilizados foram a cromatografia em fase gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A EFS mostrou-se bastante útil para a obtenção de frações enriquecidas em MAG, DAG e TAG (principais interferentes do biodiesel). Os resultados também mostraram a eficiência das técnicas de CG e CLAE para a identificação da composição das frações separadas por EFS (CARDOSO, 2012).

Em 2012, nosso grupo de pesquisa propôs a separação prévia da mistura biodiesel:diesel:óleo vegetal através de duas extrações em fase sólida em série. A primeira EFS empregou um cartucho com fase estacionária de sílica para a obtenção da fração F₁ (constituída de diesel) e da fração F₂ (constituída de biodiesel e óleo vegetal). A

fração F₂, foi então submetida a segunda EFS, em cartucho com fase aminopropilsilano, para a obtenção da fração F₃ (constituída de biodiesel) e fração F₄ (constituída de óleo vegetal), conforme metodologia desenvolvida por Andrade, 2011. A eficiência da separação foi avaliada através do TAH e da CLAE-UV.

Capítulo 4

Materiais e

Métodos

Capítulo 4. Material e Métodos

4.1. Preparo das amostras de diesel com biodiesel e/ou óleo vegetal

Todas as amostras utilizadas nesse projeto foram preparadas empregando o óleo diesel tipo A S50 (sem biodiesel e com teor de enxofre de até 50 mg.kg^{-1}) fornecido pela Companhia Brasileira de Petróleo Ipiranga. O biodiesel B100, empregado no preparo das amostras, foi fornecido pela ANP e o óleo de soja utilizado foi o refinado da marca Liza.

Foram preparadas nove amostras contendo 93 % v/v de diesel e composições variadas de biodiesel e/ou óleo vegetal para uma concentração final de 7 %, de acordo com a **Tabela 3**.

Tabela 3. Composição das amostras de diesel com biodiesel e/ou óleo vegetal.

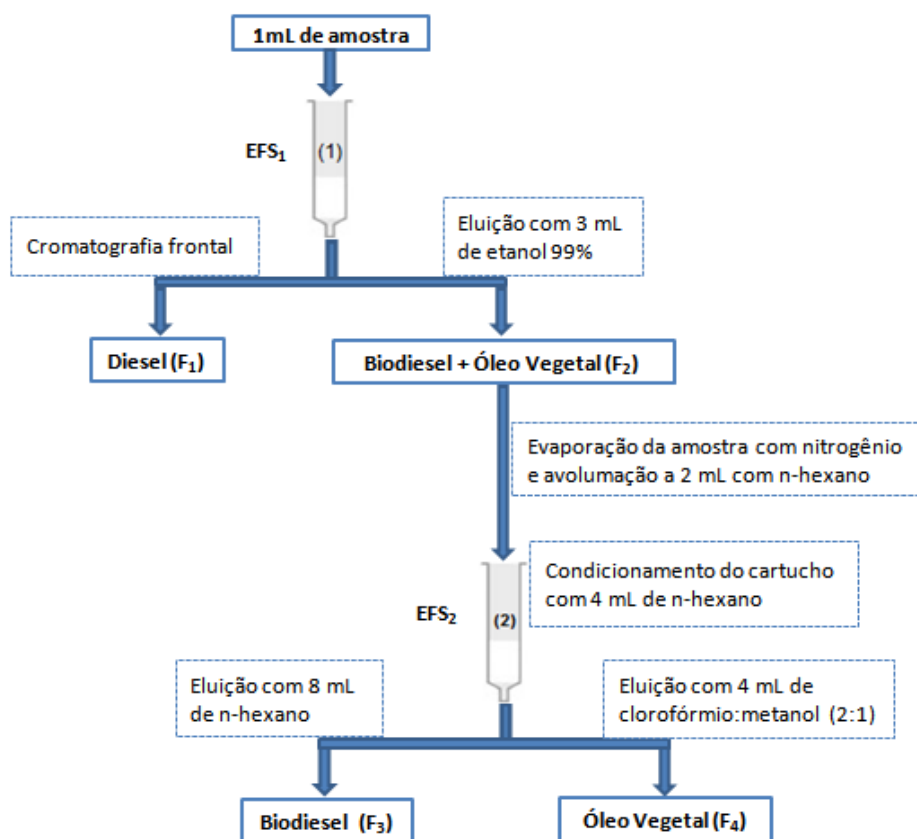
Amostra	Diesel (%)	Biodiesel (%)	Óleo de soja (%)
A_{7-0}	93	7	0
A_{6-1}	93	6	1
A_{5-2}	93	5	2
A_{4-3}	93	4	3
$A_{3,5-3,5}$	93	3,5	3,5
A_{3-4}	93	3	4
A_{2-5}	93	2	5
A_{1-6}	93	1	6
A_{0-7}	93	0	7

A_{n-m} , onde n = teor de biodiesel e m = teor de óleo vegetal

As nove amostras B7 preparadas conforme **Tabela 3** foram submetidas à técnica de espectroscopia de infravermelho médio de acordo com método EN 14078 para quantificação do teor de biodiesel na amostra. A análise é mais detalhada no item 4.3.1.

4.2. Separação do diesel, biodiesel e óleo vegetal

A separação do diesel, do biodiesel e do óleo vegetal foi efetuada a partir de duas extrações em fase sólida, como descrito na representação esquemática apresentada na **Figura 6** (adaptado de ANDRADE, 2011 e SANTOS, 2012).



- (1) Cartucho com fase estacionária sílica (500 mg, 3 mL, 230 a 400 mesh, marca SILICYCLE ULTRA PURE)
- (2) Cartucho com fase estacionária aminopropilsilano (500 mg, 3 mL, marca THERMO SCIENTIFIC)

Figura 6. Representação esquemática do método de separação do diesel, biodiesel e óleo vegetal (adaptado de ANDRADE, 2011 e SANTOS, 2012).

Utilizando-se um pipetador automático de volume variável (100 a 1000 µL), da marca BRAND, aplicou-se individualmente 1 mL de cada amostra descrita na **Tabela 3** ao cartucho 1 (fase sílica estacionária, 500 mg, 3 mL, 230 a 400 mesh, marca SILICYCLE ULTRA PURE) - (EFS₁, **Figura 6**). As amostras foram percoladas, sob vácuo, em um manifold a uma vazão de aproximadamente 1 mL por minuto. A primeira fração (F₁, **Figura 6**) desta cromatografia frontal, supostamente constituída majoritariamente de óleo diesel, foi recolhida em tubo de ensaio. Em seguida, se adicionou 3 mL de etanol 99 % (VETEC) ao cartucho 1, e a segunda fração (F₂, **Figura 6**), teoricamente rica em biodiesel e óleo vegetal, foi recolhida em outro tubo de ensaio e submetida a evaporação com nitrogênio 4.7 (marca LINDE GAS) até praticamente a secura. Adicionou-se n-hexano PA (VETEC) no produto da evaporação até o volume final de 2 mL (SANTOS, 2012).

A segunda fração (F₂, **Figura 6**), já diluída em n-hexano PA, teve seus componentes (biodiesel e óleo vegetal), separados por uma segunda extração em fase sólida (EFS₂, **Figura 6**) realizada conforme Andrade, 2011. Como etapa preliminar, condicionou-se o cartucho 2 (fase estacionária aminopropilsilano, 500 mg, 3 mL, marca THERMO SCIENTIFIC) com duas porções de 2 mL de n-hexano PA (VETEC). Em seguida, aplicou-se a segunda fração (F₂, **Figura 6**), já diluída em n-hexano PA, ao cartucho 2. A terceira fração (F₃, **Figura 6**) foi obtida pela percolação da F₂ diluída em n-hexano, sob vácuo em um manifold, com 8 mL de n-hexano a uma vazão de aproximadamente 1 mL por minuto, e recolhida em um tubo de ensaio. O composto retido no cartucho 2 (supostamente o óleo vegetal) foi, por sua vez, eluído com 4 mL de clorofórmio:metanol (2:1, v/v), obtendo-se a quarta fração (F₄, **Figura 6**) em outro tubo de ensaio. As frações F₃ e F₄ foram evaporadas sob fluxo de nitrogênio 4.7 (marca LINDE GAS) quase à secura (ANDRADE, 2011) e, em seguida, foram solubilizados em: (1) n-hexano PA (VETEC) até o volume final de 1 mL, quando se destinavam à análise por

espectroscopia na região do infravermelho (IV) ou à cromatografia líquida de alta eficiência e (2) etanol 99 % (VETEC) até o volume final de 3 mL quando se destinavam a análise através do teste do ácido hidroxâmico.

4.3. Análise das frações obtidas por EFS

As frações F_1 , F_2 , F_3 e F_4 (compostas, basicamente, por óleo diesel, biodiesel + óleo vegetal, apenas biodiesel e apenas óleo vegetal, respectivamente) obtidas pelas EFS₁ e EFS₂ foram analisadas por espectroscopia na região do IV (item 4.3.1), CLAE (item 4.3.2), e pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico (item 4.3.3).

4.3.1 Espectroscopia IV (método EN 14078)

As análises por espectroscopia na região do IV foram realizadas nas amostras iniciais (**Tabela 3**) e nas frações F_1 , F_3 e F_4 (**Figura 6**), em um equipamento da Thermo Scientific, modelo Nicolet iS5 (**Figura 7**).



Figura 7. Equipamento Nicolet iS5 da Thermo Scientific.

O método EN 14078 foi estabelecido na Resolução ANP Nº65 de 09 de dezembro de 2011. A análise foi efetuada inserindo uma pequena quantidade da amostra a ser caracterizada em uma célula de fluoreto de cálcio (CaF_2) para obtenção do seu espectro. A absorvância máxima da banda típica do grupamento carbonila presente tanto em ésteres quanto em acilgliceróis é obtida em torno do comprimento de onda de 1745 cm^{-1} , sendo a quantificação do teor de biodiesel e/ou óleo vegetal no óleo diesel calculada por meio de uma curva de calibração preparada com amostras de referência (EN 14078, 2009).

4.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

As análises por CLAE foram realizadas nas frações F_2 , F_3 e F_4 (**Figura 6**), em um equipamento da Thermo Scientific (Massachusetts, EUA), modelo Ultimate 3000 (**Figura 8**), composto por uma bomba quaternária (Dionex Ultimate 3000), um detector por varredura de espectro ao ultravioleta modelo Dionex UVD 170/340 UV/PDA e um injetor automático modelo WPS-3000 com alça de amostragem de $100 \mu\text{L}$. Foi utilizada uma coluna Thermo Scientific Acclaim™ de 250 mm de comprimento por 4,6 mm de diâmetro interno, com fase octadecilsilano de $5 \mu\text{m}$ de tamanho de partícula e com 120 \AA de diâmetro de poro. A fase móvel usada foi metanol (A) e uma mistura de 2-propanol/n-hexano (5:4, v/v)(B), e ambas foram sonicadas por 30 minutos antes da aplicação.



Figura 8. Equipamento Ultimate 3000 da Thermo Scientific.

A cromatografia foi realizada à temperatura de 40 °C (temperatura do forno de coluna) com uma vazão de 1 mL por minuto e detecção UV a 205 nm. Um gradiente binário com duas rampas lineares foi empregado: 0 a 50 % B de 0 a 15 minutos, seguido de 50 % a 100 % B até 25 minutos de corrida, e então por eluição isocrática com 100 % B por mais 5 minutos. O tempo total de corrida foi de 30 minutos. Todas as amostras foram previamente filtradas em membrana politetrafluoretileno (PTFE) da Millipore (Bedford, EUA) com 0,45 µm de poro antes da injeção. O volume de injeção das amostras foi de 10 µL. Cada amostra foi analisada em triplicata.

4.3.3 Teste do Ácido Hidroxâmico

O teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, descrito por CORREA *et al.*, em 2006, foi realizado nas frações F₁, F₃ e F₄ (**Figura 6**), segundo a representação esquemática apresentada na **Figura 9** (adaptado de SANTOS, 2012).

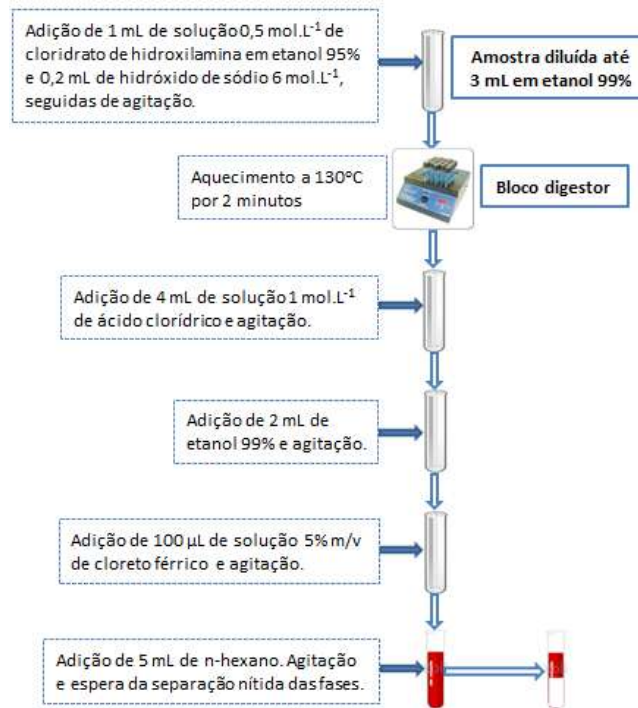


Figura 9. Fluxograma ilustrativo da etapa de identificação pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico (adaptado de SANTOS, 2012).

O teste colorimétrico do ácido hidroxâmico (CORREA *et al.*, 2006) foi efetuado nas frações F₁, F₃ e F₄ (**Figura 6**), obtidas a partir da EFS₁ e da EFS₂, e em uma amostra em branco, contendo apenas etanol 99 %. A cada tubo de ensaio foi adicionado 1 mL de solução 0,5 mol.L⁻¹ de cloridrato de hidroxilamina em etanol a 95 % (VETEC) e 0,2 mL de hidróxido de sódio 6 mol.L⁻¹ (VETEC), seguido de agitação em agitador automático (marca Fisatom, modelo 771). Os tubos de ensaio foram aquecidos por 2 minutos a uma temperatura aproximada de 130 °C em um tubo digestor (marca Policontrol) e resfriados em água corrente. Em seguida, adicionou-se a cada tubo de ensaio, 4 mL de solução 1 mol.L⁻¹ de ácido clorídrico (VETEC) e agitou-se a mistura. Acrescentou-se 2 mL de etanol 99 % (VETEC) e novamente a mistura foi agitada. Adicionou-se 100 µL de solução 5 % m/v de cloreto férrico (VETEC), sob agitação e, por fim, introduziu-se 5 mL de *n*-hexano

PA (VETEC). Os tubos de ensaio foram novamente agitados e esperou-se a nítida separação das fases. A fase superior de coloração avermelhada caracteriza a presença de biodiesel ou óleo vegetal na amostra, e a intensidade da cor é proporcional à concentração dessas substâncias.

Capítulo 5

Resultados e

Discussão

Capítulo 5. Resultados e Discussão

5.1. Análise das amostras de diesel com biodiesel e/ou óleo vegetal pelo método de referência EN 14078

As amostras descritas na **Tabela 3** (pag. 32) foram analisadas a partir do método de referência de espectroscopia na região do IV (método EN 14078) para a determinação do percentual de biodiesel em suas composições. Como a concentração de compostos carbonilados nas mesmas era superior a 5 %, foi necessária uma diluição prévia com querosene de modo a inseri-las na faixa de linearidade da curva de calibração obtida com diesel.

Todas as amostras foram analisadas e o espectro referente à amostra A₇₋₀ (7 % biodiesel) é apresentado a título de exemplo na **Figura 10**. Os demais espectros de IV encontram-se no **Anexo** deste trabalho.

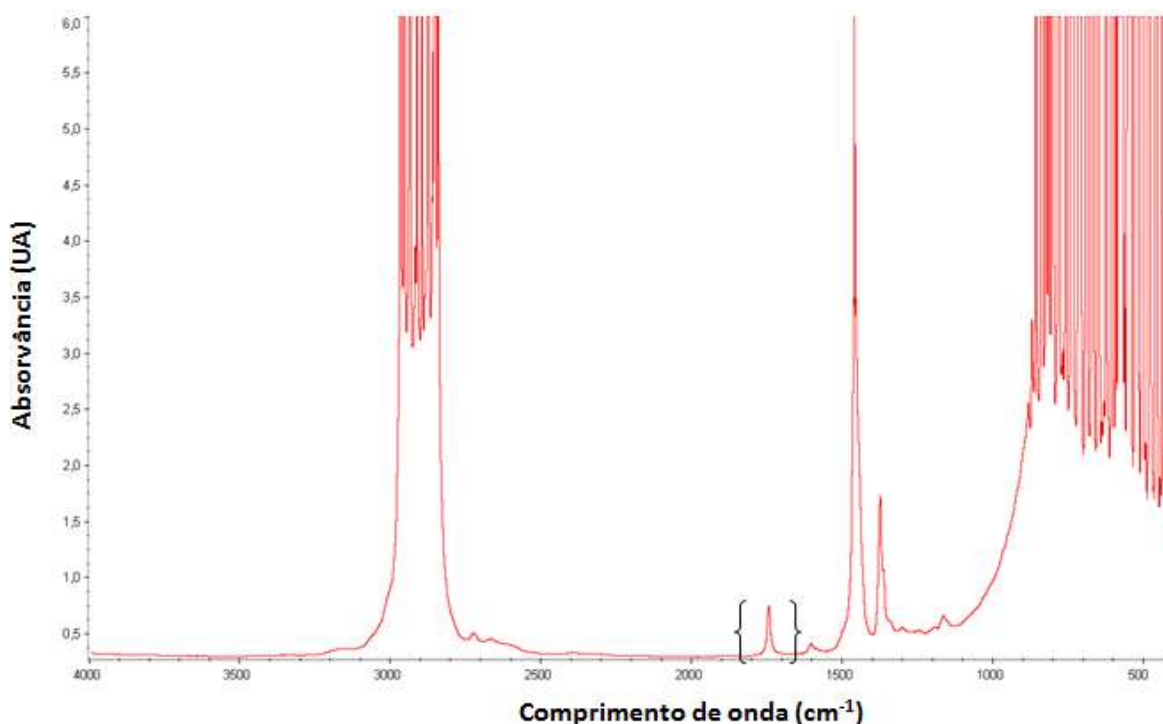


Figura 10. Espectro na região do IV da amostra A₇₋₀.

O pico destacado no espectro apresentado na **Figura 10** é referente à banda típica do grupamento carbonila, detectada na região em torno do comprimento de onda de 1745 cm^{-1} . Quanto maior a altura do pico (absorvância), maior a concentração de compostos carbonilados.

Na **Tabela 4** são apresentados os teores de biodiesel no diesel, teórico e experimental (método EN 14078) de todas as amostras originais analisadas.

Tabela 4. Comparação entre o teor de biodiesel teórico e experimental das amostras.

Amostra	Teor de biodiesel teórico (%v/v)	Teor de óleo vegetal teórico (%v/v)	Teor de ésteres teórico (%v/v)	Teor de biodiesel pelo método EN 14078 (%v/v)
A ₇₋₀	7,0	0,0	7,0	7,0
A ₆₋₁	6,0	1,0	7,0	7,0
A ₅₋₂	5,0	2,0	7,0	7,0
A ₄₋₃	4,0	3,0	7,0	6,2
A _{3,5-3,5}	3,5	3,5	7,0	6,2
A ₃₋₄	3,0	4,0	7,0	6,0
A ₂₋₅	2,0	5,0	7,0	5,6
A ₁₋₆	1,0	6,0	7,0	5,6
A ₀₋₇	0,0	7,0	7,0	5,6

Através dos resultados apresentados na **Tabela 4** fica evidente a limitação do método de referência (método EN 14078) para a detecção do teor de biodiesel no diesel, em amostras adulteradas com óleo vegetal. Por exemplo, a amostra A₀₋₇, que não possui

biodiesel em sua composição e apresenta apenas 7 % de óleo vegetal misturado ao diesel, apresentou pelo método de referência (EN 14078) um teor de 5,6 % de biodiesel. O método de referência não é capaz de detectar as adulterações das misturas diesel:biodiesel com óleo vegetal, pois a banda mensurada é a da carbonila (1745 cm^{-1}) (EN 14078, 2009), presente tanto em óleos vegetais como no biodiesel. Entretanto, a amostra A_{7-0} , que apresenta apenas 7 % de biodiesel misturado ao óleo vegetal, e nenhum percentual de óleo de soja, forneceu pelo método de referência (método EN 14078) um teor de biodiesel no diesel igual ao valor teórico.

5.2. Análise por espectroscopia IV (método EN 14078) das frações obtidas por EFS

As frações F_1 (supostamente constituída de diesel), F_3 (supostamente constituída de biodiesel) e F_4 (supostamente constituída de óleo vegetal) (**Figura 6**) das amostras A_{7-0} (7 % biodiesel), $A_{3,5-3,5}$ (3,5 % biodiesel + 3,5 % óleo soja) e A_{0-7} (7 % óleo soja) foram analisadas por espectroscopia na região do IV (método EN 14078) e os resultados encontram-se apresentados nas **Figuras 11-17**.

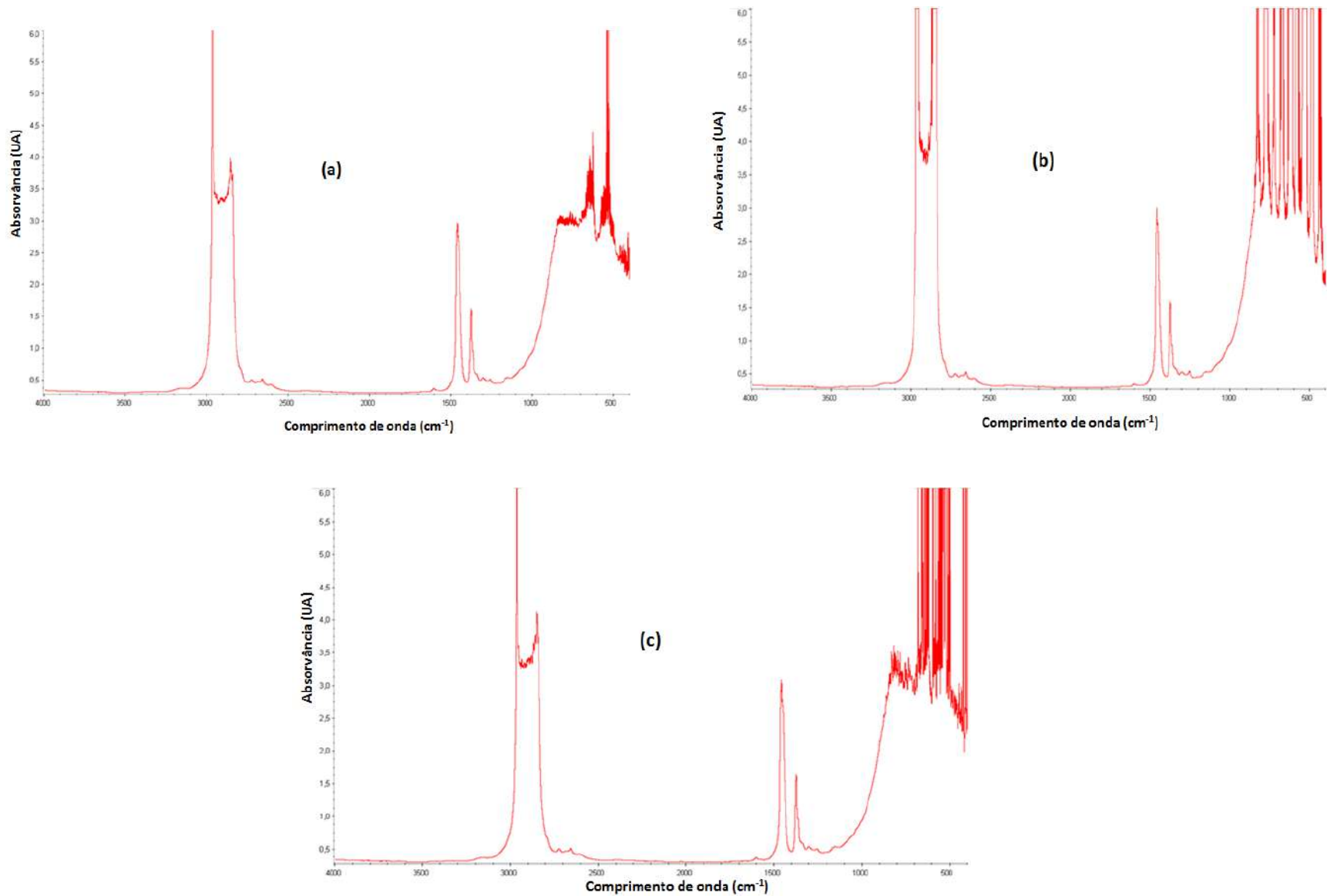


Figura 11. Espectros na região do IV da fração F₁ (diesel) das amostras A₇₋₀ (a), A_{3,5-3,5} (b) e A₀₋₇ (c).

A inexistência do pico das carbonilas (comprimento de onda de 1745 cm^{-1}) nos espectros apresentados na **Figura 11** mostram que a separação promovida pela EFS₁ dos componentes das amostras A₇₋₀, A_{3,5-3,5} e A₀₋₇ foi realizada conforme esperado, isto é, somente o diesel foi eluído na fração F₁. Deste modo, todo o biodiesel e/ou óleo vegetal contido nas amostras foi eluído na fração F₂, que foi posteriormente submetido a uma segunda EFS e separado nas frações F₃ e F₄, biodiesel e óleo vegetal, respectivamente, cujos espectros são apresentados nas **Figuras 12, 13, 14, 15, 16 e 17**.

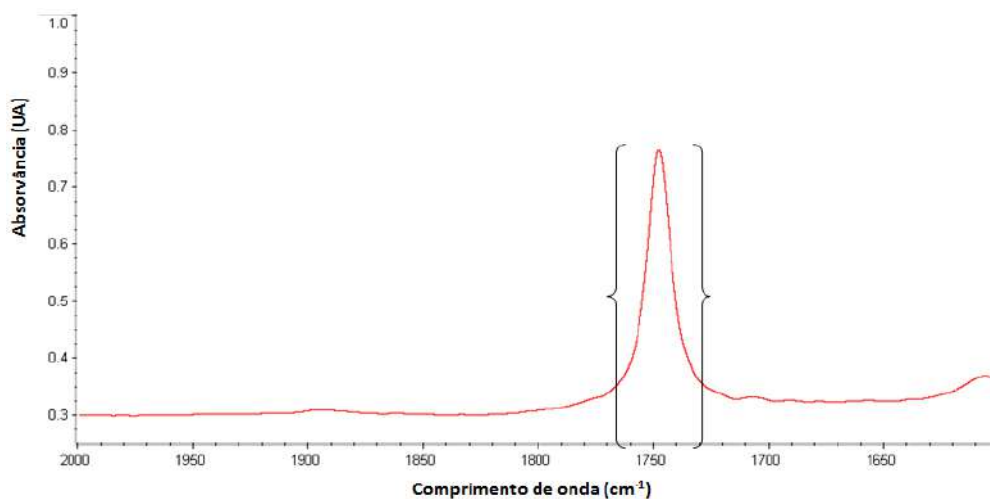


Figura 12. Espectro da fração F₃ (biodiesel) da amostra A₇₋₀.

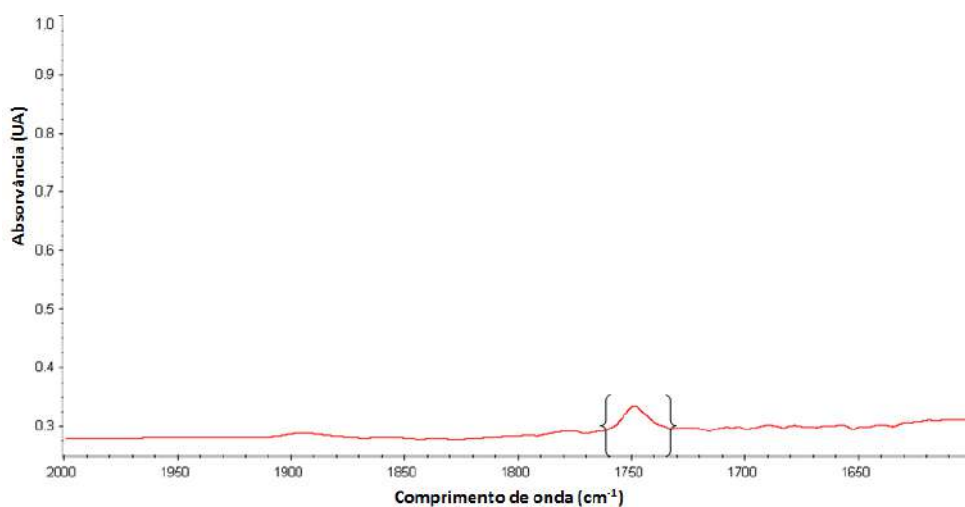


Figura 13. Espectro da fração F₄ (óleo vegetal) da amostra A₇₋₀.

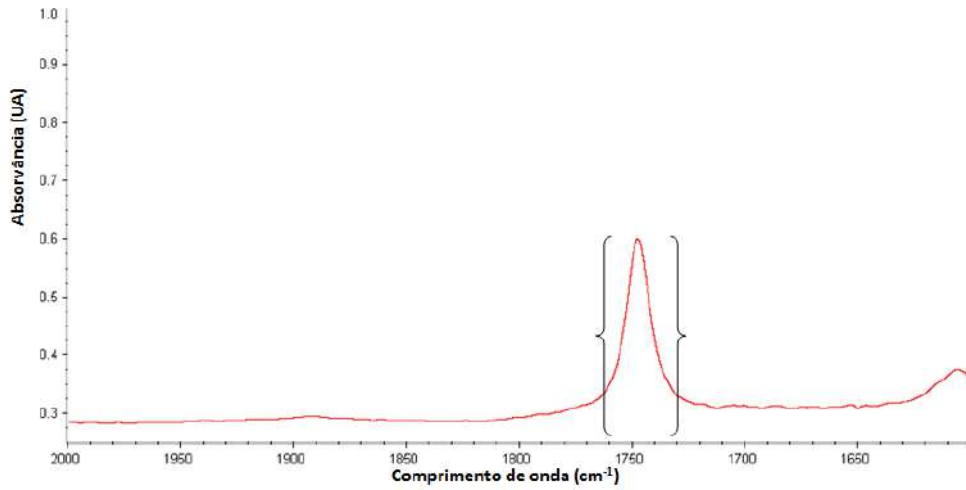


Figura 14. Espectro da fração F₃ (biodiesel) da amostra A_{3,5} - 3,5.

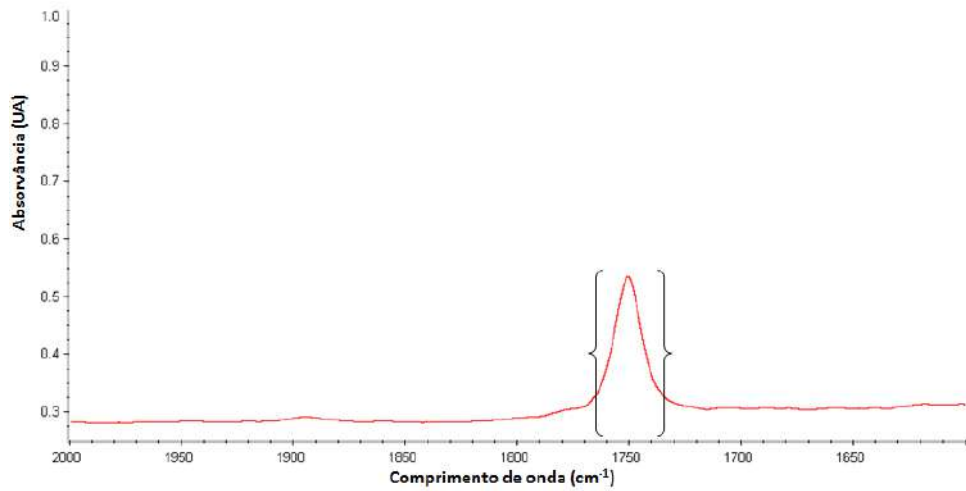


Figura 15. Espectro da fração F₄ (óleo vegetal) da amostra A_{3,5} - 3,5.

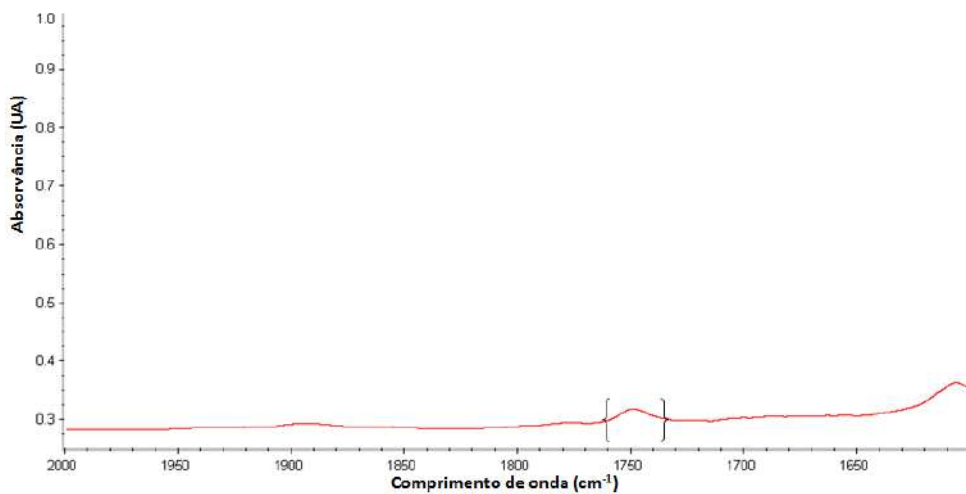


Figura 16. Espectro da fração F₃ (biodiesel) da amostra A₀ - 7.

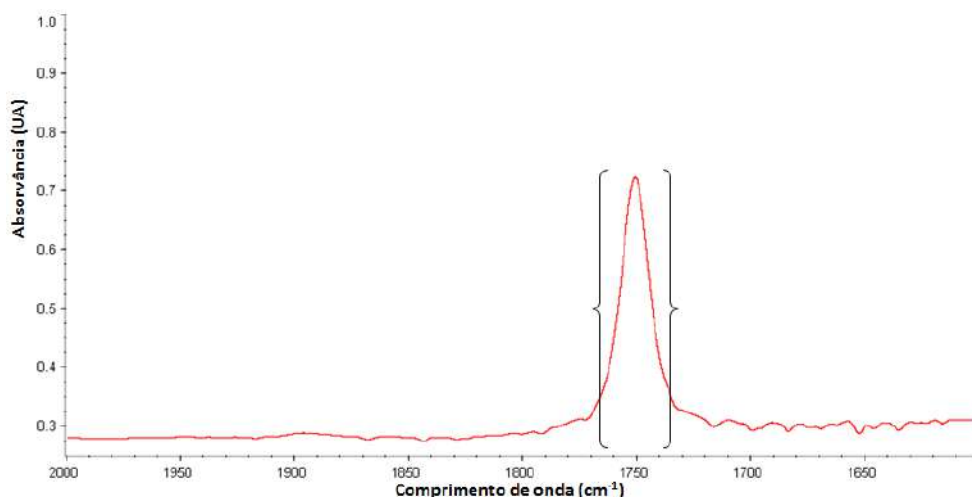


Figura 17. Espectro da fração F₄ (óleo vegetal) da amostra A₀₋₇.

Nas frações F₃ e F₄ foram eluídos, respectivamente, o biodiesel e o óleo vegetal das amostras, como será demonstrado por CLAE no item 5.3. Os picos destacados nas **Figuras 12 e 17**, que podem se referir tanto ao biodiesel quanto ao óleo vegetal (o comprimento de onda de 1745 cm⁻¹), demonstram que o biodiesel presente na amostra A₇₋₀ foi eluído na fração F₃, e que praticamente todo o óleo vegetal que compunha a amostra A₀₋₇ foi detectado na fração F₄. É importante ressaltar que a presença do pico de baixa intensidade na fração F₄ da amostra A₇₋₀ (**Figura 13**) ($\leq 0,3\%$) e na fração F₃ da amostra A₀₋₇ (**Figura 16**) ($\leq 0,1\%$), mostra que a separação promovida pelo cartucho 2 (EFS₂ – **Figura 6**) foi satisfatória, pois esses valores são pequenos e insuficientes para desqualificarem e a constatação qualitativa da adulteração por óleo vegetal. A relevância desses picos de baixa intensidade é avaliada, a seguir, pela sobreposição dos espectros obtidos.

Na **Figura 18** são sobrepostos os espectros da fração F₃ das amostras analisadas. Nota-se que o pico referente à amostra A₇₋₀ é bem maior que o da amostra A_{3,5-3,5}, que por sua vez também é muito maior que o da amostra A₀₋₇. O tamanho reduzido do pico

da fração F_3 da amostra A_{0-7} torna-o desprezível frente os demais, sobretudo porque não influencia na constatação de adulteração por óleo vegetal, potencialmente presente na F_4 .

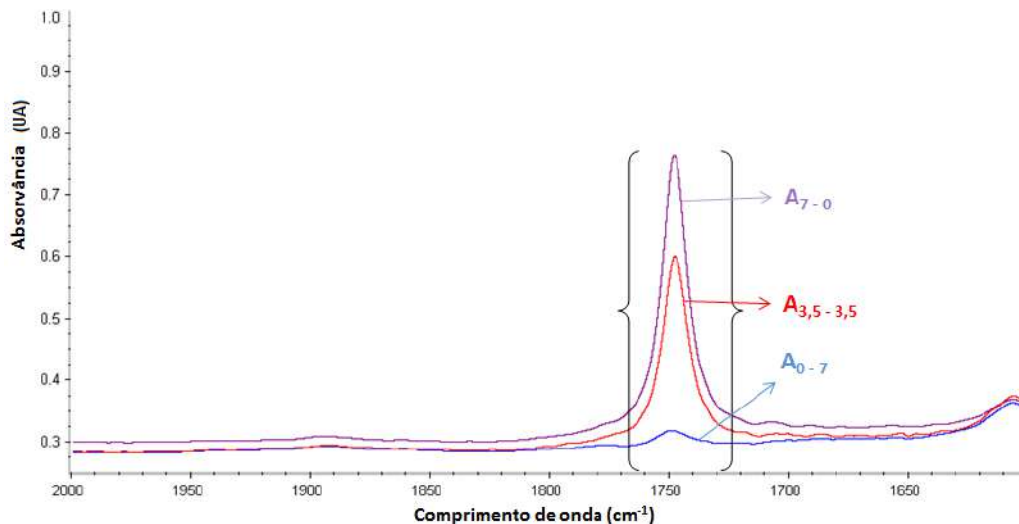


Figura 18. Espectros da fração F_3 das amostras A_{7-0} , $A_{3,5-3,5}$ e A_{0-7} .

A mesma sobreposição foi feita com os espectros da fração F_4 das três amostras, e o resultado obtido é apresentado na **Figura 19**.

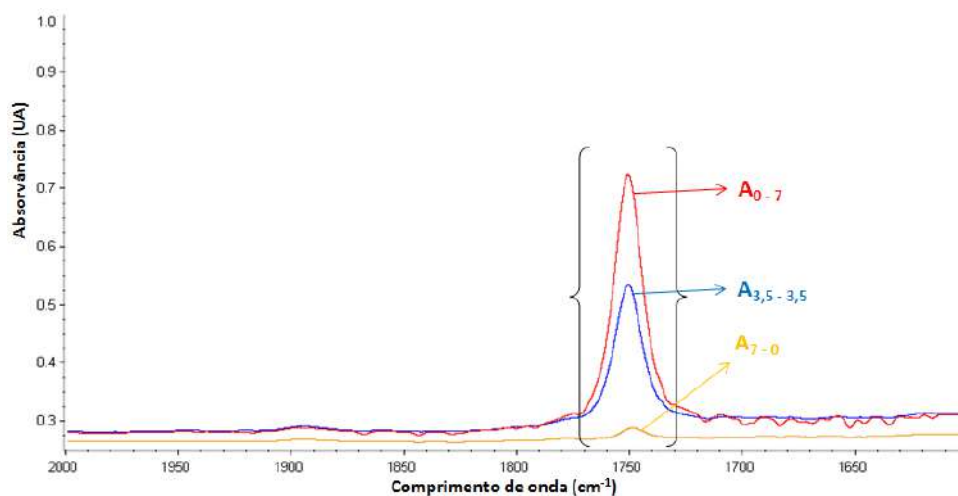


Figura 19. Espectros da fração F_4 das amostras A_{7-0} , $A_{3,5-3,5}$ e A_{0-7} .

Nota-se que o pico referente à presença de carbonilados na fração F_4 (óleo vegetal) na amostra A_{0-7} é significativamente maior que o da amostra $A_{3,5-3,5}$, e o dessas duas é muito maior que o verificado na fração F_4 para a amostra A_{0-7} , da ordem de 0,3 % em volume. A partir do resultado apresentado acima se verifica que o método é capaz de apontar a adulteração das misturas diesel:biodiesel com óleo vegetal, pelo menos a partir de adulterações com óleo vegetal ≥ 1 %, já que o limite de detecção efetivo não foi determinado.

Os resultados expressos na **Figura 19** mostram que o método de referência (EN 14078) de espectroscopia na região do IV pode ser aplicado na detecção de adulterações de diesel com óleos vegetais, desde que a amostra analisada passe preliminarmente pelo processo de separação apresentado na **Figura 6**. Caso o método EN 14078 aponte picos que caracterizem a presença de carbonilados na fração F_4 , excluindo-se picos abaixo de 1 %, o analista poderá concluir que a amostra foi adulterada com óleos vegetais.

5.3. Análise por CLAE das frações F_3 e F_4 obtidas por EFS

As frações F_3 (supostamente constituída por biodiesel) e F_4 (supostamente constituída por óleo vegetal) (**Figura 6**) das amostras A_{7-0} (7 % biodiesel), $A_{3,5-3,5}$ (3,5 % biodiesel + 3,5 % óleo soja) e A_{0-7} (7 % óleo soja) foram analisadas por CLAE e os resultados encontram-se apresentados na **Figura 20**.

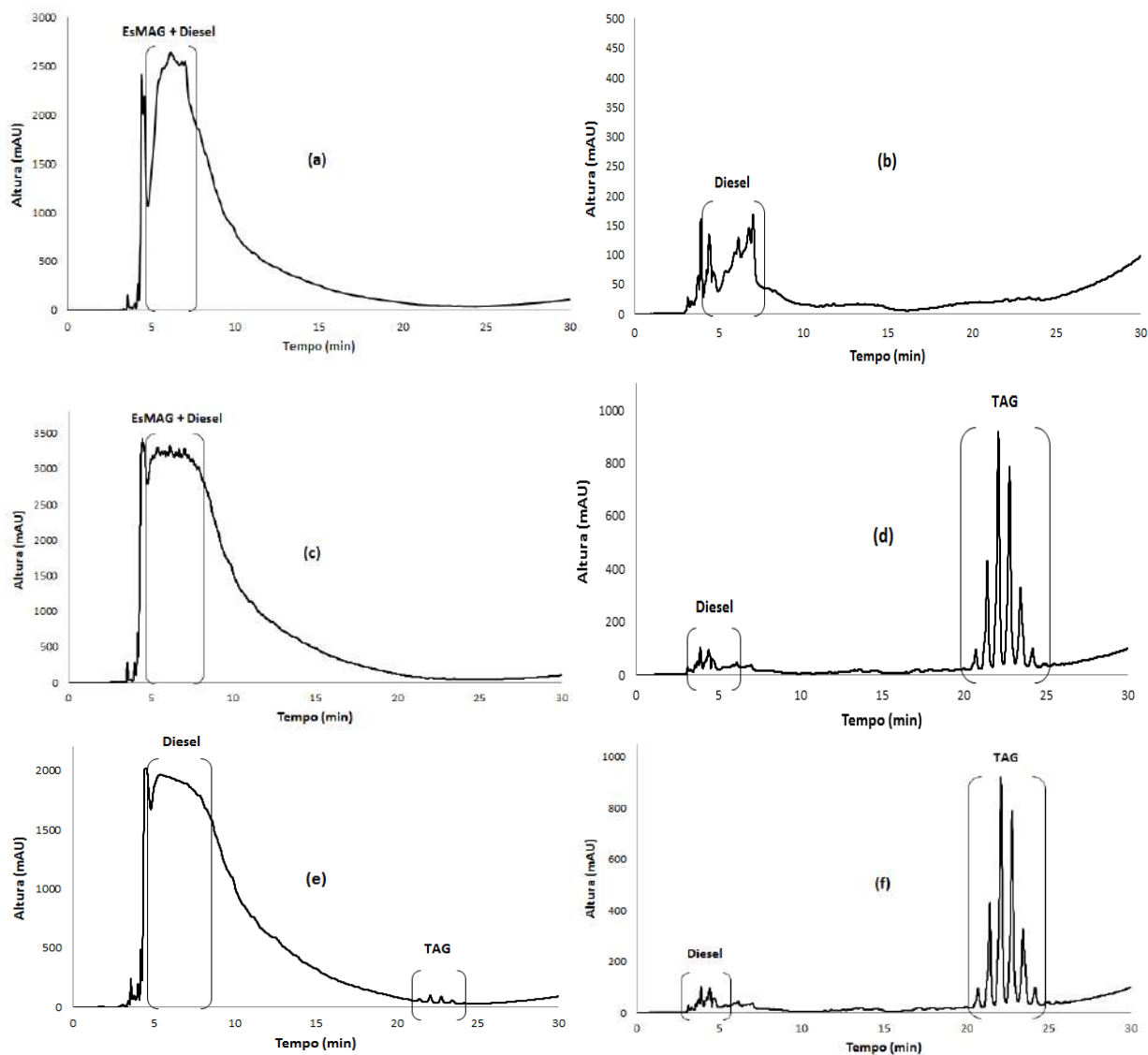


Figura 20. Cromatograma da fração F₃ da amostra A₇₋₀ (a), fração F₄ da amostra A₇₋₀ (b), fração F₃ da amostra A_{3,5-3,5} (c), fração F₄ da amostra A_{3,5-3,5} (d), fração F₃ da amostra A₀₋₇ (e) e fração F₄ da amostra A₀₋₇ (f).

Os resultados apresentados na **Figura 20** demonstram, mais uma vez, a eficiência de separação entre o biodiesel (ésteres metílicos de ácidos graxos – EsMAG) e o óleo vegetal (triacilgliceróis – TAG). As frações F₃ (**Figura 20a**) e F₄ (**Figura 20b**) da amostra A₇₋₀, constituída de 93 % de diesel e 7 % de biodiesel, foram analisadas por CLAE, e os resultados mostraram que o biodiesel (EsMAG) foi eluído na fração F₃ (**Figura 20a**).

Entretanto, a banda larga entre 5 e 20 min no cromatograma (característico da presença de diesel) está encobrindo o pico do biodiesel (EsMAG). A fração F_4 (**Figura 20b**) ainda apresenta uma pequena quantidade de diesel, picos na região entre 2,5 e 7,5 min no cromatograma. A identificação inequívoca se estes picos da **Figura 20b** são gerados por diesel, EsMAG ou pela soma de ambos é complicada, no entanto, devido a similaridade dos picos na região entre 2,5 e 7,5 min deste cromatograma, com os picos nessa mesma faixa do cromatograma da fração F_4 da amostra A_{0-7} (**Figura 20f**), que não possui biodiesel, acredita-se que estes picos sejam referentes (assim como os seus similares verificados nas **Figuras 20d e 20f**) apenas a presença do diesel.

As frações F_3 (**Figura 20c**) e F_4 (**Figura 20d**) da amostra $A_{3,5-3,5}$, constituída de 93% de diesel, 3,5 % de biodiesel e 3,5 % de óleo vegetal, foram analisadas por CLAE, e os resultados mostraram que o biodiesel (EsMAG) foi eluído na fração F_3 (**Figura 20c**). Entretanto, a banda larga entre 5 e 20 min no cromatograma (característico da presença de diesel) está encobrindo o pico do biodiesel (EsMAG). Os resultados mostraram que todo o óleo vegetal (TAG) foi eluído na fração F_4 (**Figura 20d**) e que esta fração ainda apresenta uma pequena quantidade de diesel, picos na região entre 2,5 e 7,5 min no cromatograma.

As frações F_3 (**Figura 20e**) e F_4 (**Figura 20f**) da amostra A_{0-7} , constituída de 93 % de diesel e 7,0 % de óleo vegetal, foram analisadas por CLAE, e os resultados mostraram que uma pequena quantidade de óleo vegetal (TAG) foi eluído na fração F_3 (**Figura 20e**). A eluição de uma pequena quantidade de óleo vegetal na fração F_3 , não é uma limitação para os métodos estudados neste projeto. O importante é não termos quantidades significativas de biodiesel na fração F_4 , o que poderia dar um falso positivo para a identificação da adulteração de misturas biodiesel:diesel, por óleo vegetal, através do teste do ácido hidroxâmico e da espectroscopia na região do IV. A fração F_3 também

apresenta quantidades significativas de diesel, caracterizado pela presença de um pico largo entre 5 e 20 min no cromatograma. Os resultados mostraram que praticamente todo o óleo vegetal (TAG) foi eluído na fração F₄ (**Figura 20f**) e que esta fração ainda apresenta uma pequena quantidade de diesel, picos entre 2,5 e 7,5 min no cromatograma.

A análise dos cromatogramas apresentados na **Figura 20** revela que a realização da EFS₂ (**Figura 6**) com cartuchos de aminopropilsilano não é essencial à detecção de adulterações de diesel com óleo vegetal através do método CLAE. Como os grupamentos EsMAG, característico do biodiesel, e TAG, característico de óleos vegetais, possuem tempos de retenção bem diferentes, não há necessidade de se efetuar a segunda EFS para obtenção das frações F₃ e F₄, ou seja, é o bastante analisar a fração F₂ por CLAE. Entretanto, a separação prévia do diesel pela EFS₁ é recomendada para evitar a saturação da coluna ao longo do tempo devido à semelhança entre as polaridades da fase estacionária da coluna (octadecilsilano) e do óleo diesel.

Nesse trabalho, a EFS₂ foi realizada para comparar os dados com os resultados do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico e com a espectroscopia na região do IV. No entanto, no trabalho descrito por Santos (2012), apenas a fração F₂ (constituída de biodiesel e óleo vegetal) foi analisada por CLAE, e os resultados encontram-se apresentados na **Figura 21**. É importante ressaltar que as amostras analisadas, por Santos (2012), não são as mesmas que as apresentadas na **Tabela 3**, mas por simplicidade será adotada a mesma nomenclatura estabelecida anteriormente (A_{n - m}, onde n é o teor de biodiesel em % v/v e m o teor de óleo vegetal em % v/v).

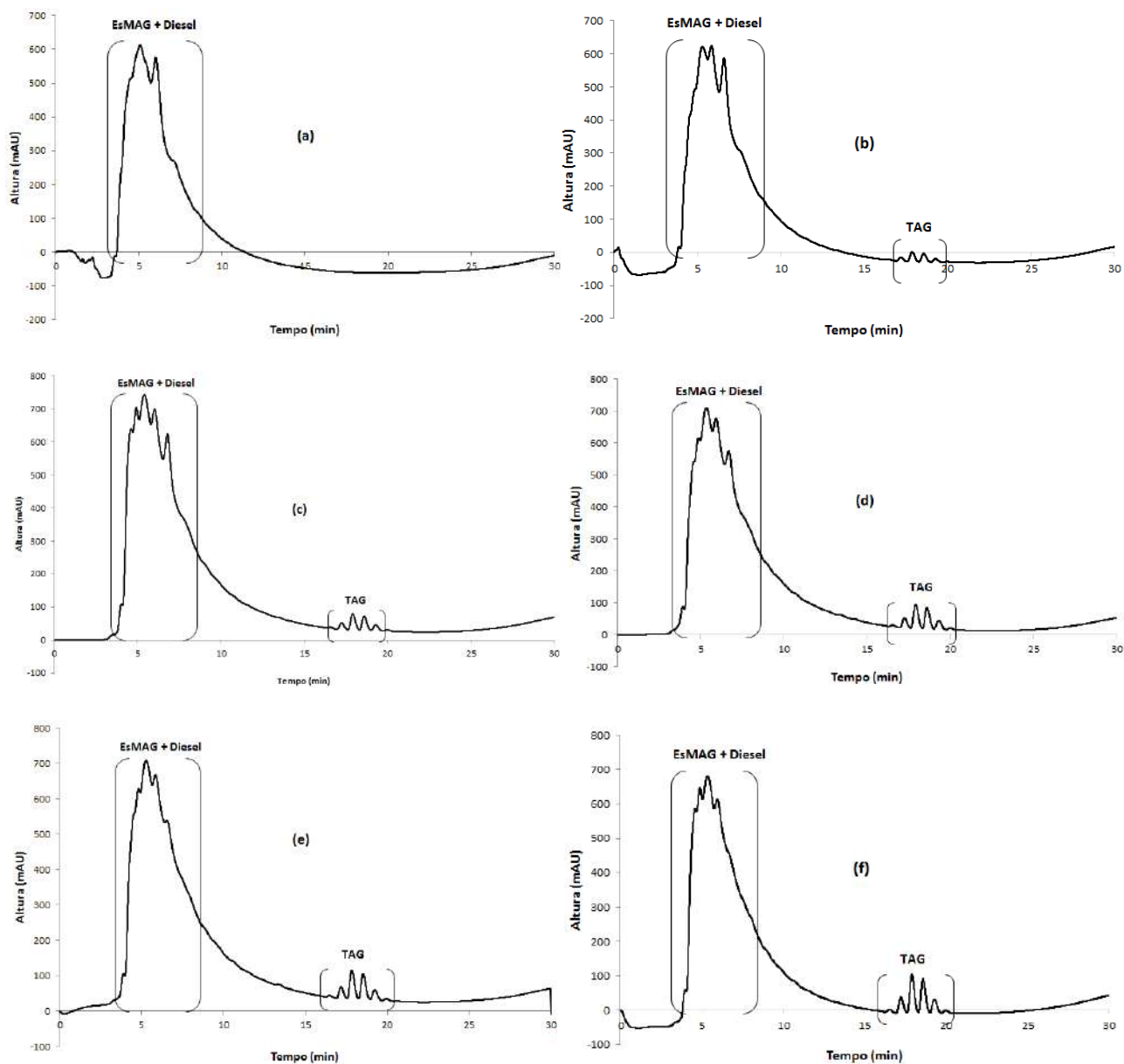


Figura 21. Cromatograma obtido por CLAE das frações F_2 das amostras $A_5 - 0$ (a), $A_4 - 1$ (b), $A_3 - 2$ (c), $A_2 - 3$ (d), $A_1 - 4$ (e) e $A_0 - 5$ (f) (SANTOS, 2012).

Nota-se que em todos os cromatogramas das amostras adulteradas (**Figura 21b-f**) os picos do TAG presentes no óleo vegetal aparecem em tempos de retenção bem diferentes dos picos de diesel e biodiesel, confirmando que adulterações desse tipo podem ser detectadas pelo método CLAE a partir da fração F_2 obtida pela EFS_1 , ou seja,

sem que se efetue a EFS₂. Além disso, a **Figura 21b** revela que a sensibilidade do método CLAE na detecção de adulterações de misturas diesel:biodiesel com óleo vegetal é bastante alta, sendo capaz de detectar facilmente adulterações de apenas 1 % em volume das amostras originais. Como a eventual adição de óleos vegetais visa à obtenção de lucros ilícitos, a tendência seria esperar a sua utilização em quantidades tão grandes quanto possível, não sendo, portanto, esperada a sua adição em quantidades pequenas.

5.4. Análise pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico das frações obtidas por EFS

As frações F₁ (supostamente constituída de diesel), F₃ (supostamente constituída de biodiesel) e F₄ (supostamente constituída de óleo vegetal) (**Figura 6**) da amostra A₇₋₀ (composta apenas de 7 % de biodiesel), além de uma amostra em branco contendo apenas etanol 99 % foram submetidas ao teste colorimétrico do ácido hidroxâmico (TAH). Os resultados são apresentados na **Figura 22**.

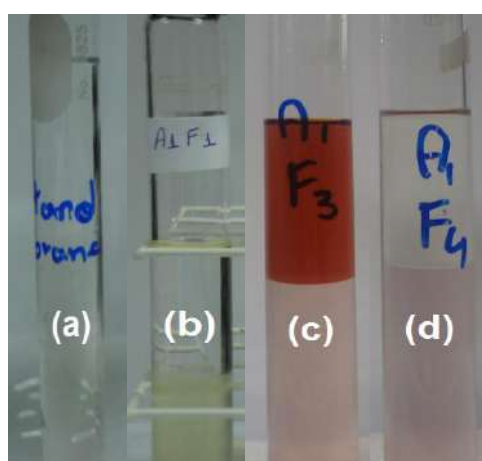


Figura 22: Resultado obtido pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado na amostra em branco (a), e nas frações F₁ (b), F₃ (c) e F₄ (d) da amostra A₇₋₀.

Observa-se na **Figura 22** a inexistência de qualquer coloração nas frações F_1 e F_4 da amostra A_{7-0} , o que sugere que essas amostras estão livres de biodiesel e acilgliceróis. Nesse sentido, exclui-se a hipótese de volumes de biodiesel poderem ser eluídos para a fração F_4 em quantidades suficientes para fornecerem um falso positivo de adulteração e, em última análise, invalidarem esse método. Já na fração F_3 , observa-se uma intensa coloração avermelhada, confirmando a presença de biodiesel nessa fração e que o método colorimétrico é adequado para tal determinação.

Vale ressaltar que o resultado exposto na **Figura 22** é corroborado pelos picos de biodiesel e/ou óleo vegetal apresentados nas **Figuras 12 e 13** (obtidos por espectroscopia na região do IV) e pelos cromatogramas exibidos na **Figura 20a e 20b** (obtidos por CLAE-UV).

O teste do ácido hidroxâmico da amostra em branco (contendo apenas etanol 99%) (**Figura 22a**) mostrou a coloração incolor, característica da ausência de biodiesel e/ou óleo vegetal das amostras.

Em seguida, foram analisadas pelo TAH as frações F_1 (supostamente constituída de diesel), F_3 (supostamente constituída de biodiesel) e F_4 (supostamente constituída de óleo vegetal) (**Figura 6**) da amostra A_{0-7} (7 % óleo vegetal). Os resultados estão expostos na **Figura 23**.

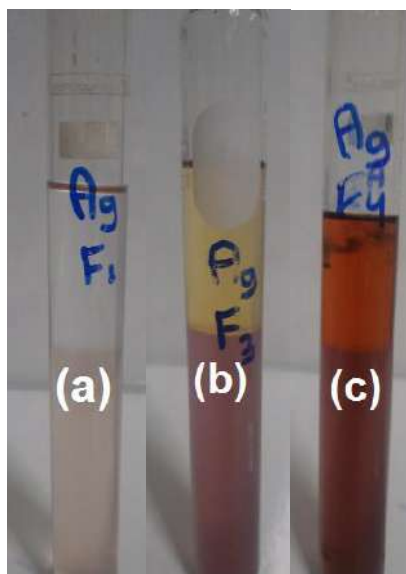


Figura 23: Resultado obtido pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas frações F_1 (a), F_3 (b) e F_4 (c) da amostra A_{0-7} .

Novamente observa-se que a fração F_1 (**Figura 23a**) apresentou coloração incolor, o que comprova que o cartucho de sílica empregado na EFS_1 permitiu que todo acilglicerol fossem eluídos para a fração F_2 . O mesmo não pode ser dito, como era de se esperar, da fração F_3 , que apresenta coloração ligeiramente amarelada decorrente do óleo vegetal que não foi integralmente separado pelo cartucho de aminopropilsilano. O cromatograma apresentado na **Figura 20e** apresenta idêntico resultado, ou seja, ele também mostra que uma pequena quantidade de TAG foi eluída para a fração F_3 .

Embora se desejasse que todo o óleo vegetal se concentrasse na fração F_4 , a perda de uma pequena quantidade de óleo vegetal para a fração F_3 não chega a representar uma limitação da metodologia, afinal mesmo com essa pequena perda, a adulteração pode ser detectada através da mudança de cor da fração F_4 . O contrário, isto é, a eluição do biodiesel para a fração F_4 , fornecendo um falso positivo para a

adulteração, poderia invalidar a metodologia, porém isto não foi verificado em nenhum experimento.

As análises por espectroscopia na região do IV realizadas na fração F_1 (constituída, supostamente, apenas de diesel) das amostras A_{7-0} , $A_{3,5-3,5}$ e A_{0-7} (**Figura 11**) e pelo TAH realizadas na fração F_1 das amostras A_{7-0} e A_{0-7} (**Figuras 22 e 23**) confirmaram que a primeira extração em fase sólida (EFS_1) vem obtendo eficácia absoluta. Deste modo, decidiu-se por não se repetir o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico nas frações F_1 das amostras dos experimentos subsequentes.

Na **Figura 24** são apresentados os resultados da análise pelo TAH das frações F_3 e F_4 da amostra $A_{3,5-3,5}$ (3,5 % biodiesel + 3,5 % óleo vegetal).

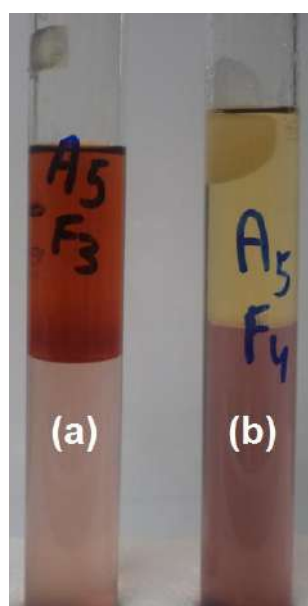


Figura 24: Resultado obtido pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas frações F_3 (a) e F_4 (b) da amostra $A_{3,5-3,5}$.

O resultado apresentado na **Figura 24** mostra, como esperado, que estavam presentes ésteres tanto na fração F₃ (biodiesel) quanto na fração F₄ (óleo vegetal). As colorações verificadas estão em concordância com os cromatogramas apresentados na **Figura 20c** e **20d** (obtidos por CLAE-UV), e também com os espectros obtidos por espectroscopia na região do IV e expostos nas **Figuras 14** e **15**.

Como a amostra A_{3,5 - 3,5} é constituída por concentração iguais de biodiesel e óleos vegetais, esperava-se obter colorações similares nas frações F₃ (**Figura 24a**) e F₄ (**Figura 24b**). No entanto, a fração F₄ (**Figura 24b**) apresentou coloração menos intensa que a fração F₃ (**Figura 24a**). A coloração menos intensa ao TAH fornecida pelos óleos vegetais, se comparada à apresentada pelo biodiesel, também foi verificada no trabalho de Santos, 2012.

5.5. Determinação da sensibilidade do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico na detecção de adulterações a partir da fração F₄ obtida por EFS

Nas **Figuras 25** e **26** são apresentadas as frações F₃ e F₄ das amostras A_{6 - 1}, A_{5 - 2} e A_{4 - 3} após terem sido submetidas ao teste colorimétrico do ácido hidroxâmico. O objetivo dos ensaios é determinar o grau de sensibilidade da metodologia na detecção de adulterações com óleo vegetal, ou seja, descobrir a partir de qual teor em volume o óleo vegetal reage ao teste produzindo uma coloração que o diferencie substancialmente das amostras em branco.

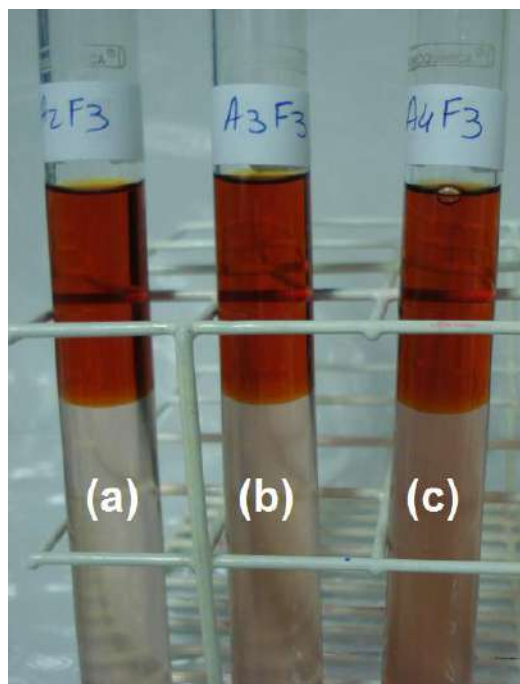


Figura 25: Resultado obtido pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas frações F₃ das amostras A₆₋₁ (a), A₅₋₂ (b) e A₄₋₃ (c).

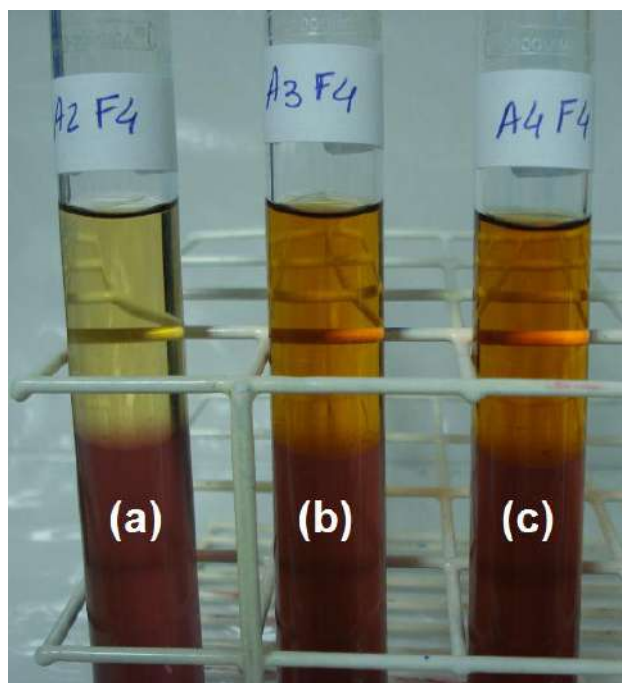


Figura 26: Resultado obtido pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas frações F₄ das amostras A₆₋₁ (a), A₅₋₂ (b) e A₄₋₃ (c).

Como era de se esperar, a fração F₃ de todas as amostras expostas na **Figura 25** apresentaram colorações intensamente avermelhadas, pois possuem altos teores de biodiesel (de 6 a 4 % em volume).

A **Figura 26a** revela que misturas de diesel e biodiesel com 1 % de adulteração de óleo vegetal adquirem coloração suficientemente diferente do incolor obtido para as amostras puras (sem adição de óleo vegetal), ou seja, adulterações de apenas 1 % (em volume), em amostras de biodiesel:diesel, são detectadas pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico. É possível que o limite de detecção do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, para identificação da adulteração de misturas biodiesel:diesel, por óleo vegetal, seja inferior a 1 %, entretanto não foi testado neste trabalho.

Comparando a **Figura 26b** com a **26c**, percebe-se ainda que o aumento do teor de adulteração resultou em uma considerável intensificação da coloração amarelada verificada após a realização do TAH. Através da confecção de uma tabela de cores da fração F₄ é possível ter uma estimativa do percentual de óleo vegetal empregado na adulteração da amostra. Contudo, este não foi o objetivo do presente trabalho. Neste projeto, o interesse era apenas conseguir detectar a adulteração por óleo vegetal, através do TAH. Caso seja de interesse quantificar a adulteração por óleo vegetal, através deste método, basta isolar a fase superior da fração F₄, de coloração amarela, laranja ou vermelha, dependendo da concentração de adulterante (óleo vegetal), e analisar por espectrofotometria de absorção na região do UV-VIS (faixa de comprimento de onda (λ) de 300 a 700 nm, com caminho óptico de 1 cm, conforme descrito por (CORREA *et al.*, 2006).

Capítulo 6

Conclusões

Capítulo 6. Conclusões

Todas as três metodologias (espectroscopia na região do IV, CLAE-UV e teste colorimétrico do ácido hidroxâmico) empregadas nesse projeto mostraram-se eficazes na detecção de adulterações de misturas de diesel:biodiesel com óleo vegetal, desde que precedidas de uma a duas etapas prévias de separação por extração em fase sólida.

A espectroscopia na região do IV (método de referência EN 14078) não é capaz de detectar adulteração, por óleos vegetais, em misturas de biodiesel:diesel. No entanto, aplicando-se a etapa preliminar de duas extrações em fase sólida sequenciais, demonstrada nesse trabalho, essa técnica pode ser empregada para tal determinação. A principal vantagem desta metodologia é que ela não requer grandes adaptações dos laboratórios preparados para executar o método de referência EN 14078.

A CLAE se mostrou útil na determinação da adulteração, por óleos vegetais, em amostras de biodiesel:diesel, após a execução de apenas uma única extração em fase sólida. Assim, esta metodologia é uma boa opção de análise para laboratórios bem equipados por ser um método rápido e sensível.

O teste colorimétrico do ácido hidroxâmico é adequado para a detecção de adulterações de misturas de diesel:biodiesel por óleo vegetal, apenas após a etapa preliminar de duas extrações em fase sólida sequenciais, demonstrada neste trabalho. A grande vantagem em relação às outras metodologias, é que pode facilmente ser adaptado a análises em campo, representando um ganho de agilidade na obtenção de resultados.

Capítulo 7

Perspectivas

Futuras

Capítulo 7. Perspectivas Futuras

Ao final deste projeto final de curso, algumas investigações adicionais se revelaram necessárias para que todas as dúvidas e questionamentos relativos a esse campo de estudo sejam completamente sanados, tais como:

- 1) Empregar as técnicas estudadas em amostras reais, coletadas em postos de abastecimento, de modo a verificar possíveis adulterações da mistura biodiesel:diesel, por óleos vegetais.
- 2) Verificar se o limite de detecção do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, para identificação da adulteração de misturas biodiesel:diesel, por óleo vegetal, é inferior a 1 %.
- 3) Quantificar a adulteração por óleo vegetal, através do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, isolando a fase superior da fração F_4 , de coloração amarela, laranja ou vermelha, dependendo da concentração de adulterante (óleo vegetal) e analisando por espectrofotometria de absorção na região do UV-VIS (faixa de comprimento de onda (λ) de 300 a 700 nm, com caminho óptico de 1 cm), conforme descrito por Correa e colaboradores (2006).
- 4) Determinar o limite de detecção por CLAE, para identificação da adulteração de misturas biodiesel:diesel, por óleo vegetal.

Capítulo 8

Referências

Bibliográficas

Capítulo 8. Referências Bibliográficas

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS – ANP. Resolução nº 7, de 19 de março de 2008. Disponível em: <<http://www.anp.org.br>>. Acesso em: 10 de Dezembro de 2012.)

ASTM D6584 (**Determination of Free and Total Glycerin in B-100 Biodiesel Methyl Esters by Gas Chromatography**) de 2010.

ANDRADE, D.F.; MAZZEI, J.L.; d'AVILA, L.A., KAISER, C.R. **Assessment of Different Measurement Methods Using ¹H-NMR Data for the Analysis of the Transesterification of Vegetable Oils.** *Journal American Oil Chemistry Society*, 2011.

ANDRADE, D.F.; MAZZEI, J.L.; d'AVILA, L.A. **Separation of Acylglycerols from Biodiesel by High Performance Liquid Chromatography and Solid-Phase Extraction.** *Revista Virtual de Química*, v. 3, p. 452-466, 2011.

ANDRADE, D. F. **Caracterização de biodiesel através da separação dos constituintes por cromatografia líquida.** Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

AGARWAL, A. K. **Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines.** *Progress in Energy and Combustion Science*, v.33, p.233-271, 2007.

BIOTECHNOS. **Programa de Responsabilidade Sócio-Ambiental.** Disponível em: <<http://www.biotechnos.com.br/programas-de-responsabilidade-socio-ambiental>>. Acesso em: 12 de Dezembro de 2012.

BONDIOLI, P.; LANZANI, A.; FEDELI, E. **Vegetable oil derivatives as diesel fuel substitutes. Analytical aspects. Note 4: determination of biodiesel and diesel fuel in mixture.** *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, v.LXXI, p.287-289, 1994.

BONDIOLI, P. **The Preparation of Fatty Acid Esters by Means of Catalytic Reactions.** *Topics in Catalysis*, v. 27, p. 77-82, 2004.

BODENNEC, J.; KOUL, O; AGUADO, I.; BRICHON, G.; ZWINGELSTEIN, G.; PORTOUKALIAN, J. **A procedure for fractionation of sphingolipid classes by solid-phase extraction on aminopropyl cartridges.** *Journal of Lipid Research*, v.41, p.1524-1531, 2000.

BROUCK, D.M.D; **Determinação da adulteração de biodiesel, por óleos vegetais, através da cromatografia líquida de alta eficiência.** Monografia. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

CANAKCI, M.; VAN GERPEN, J. **Biodiesel Production via Acid Catalysis.** *Trans. ASAE*, v. 42, p. 1203-1210, 1999.

CANAKCI, M.; VAN GERPEN, J. **Biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids.** *Trans. ASAE*, v.4, p.1429-1436, 2001.

CARDOSO, T.C.; **Separação e Isolamento de Acilgliceróis do Biodiesel por Extração em Fase Sólida (EFS) e Caracterização por Cromatografia.** Monografia. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

CORREA, R.A.; TAVARES, M.G.O.; ANTONIOSI FILHO, N.R.; **Determinação do teor de biodiesel em Diesel.** *Congresso Brasileiro de Tecnologia do Biodiesel*, p. 342-347, Brasília, 2006.

CORREA, S.M.; ARBILLA, G.; **Aromatic hydrocarbons emissions in diesel and biodiesel exhaust.** *Atmospheric Environment*, v.40, p. 6821-6826, 2006.

COSTA NETO, C. **Análise Orgânica – Métodos e Procedimentos para Caracterização de Organoquímios.** Editora UFRJ, v.1, p.510, 2004.

CUNHA, S.C.; OLIVEIRA, M.B.P.P. **Discrimination of vegetable oils by triacylglycerols evaluation of profile using HPLC/ELSD.** *Food Chemistry*, v. 95, p. 518-524, 2006.

CZAUADERNA, M.; KOWALCZYK, J. **Separation of some mono-, di- and tri-unsaturated fatty acids containing 18 carbon atoms by high-performance liquid chromatography and photodiode array detection.** *Journal of Chromatography B*, v. 760, p. 165-178, 2001.

DANTAS, A.F.; **Avaliação de 2,2-biquinolina na separação, pré-concentração e determinação de cobre por espectrofotometria de absorção molecular e em fase sólida.** Dissertação de D. Sc. Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2004.

DEMIRBAS, A. **Biodiesel Fuels from Vegetable Oils via Catalytic and Non-Catalytic Supercritical Alcohol Transesterifications and Other Methods: A Survey.** *Energy Conv. Managem*, v. 44, p. 2093-2109, 2003.

DMYTRYSHYN, S.L.; DALAI, A.K.; CHAUDHARI, S.T.; MISHRA, H.K.; REANEY, M.J. **Synthesis and characterization of vegetable oil derived esters: evaluation for their diesel additive properties.** *Bioresource Technology*, v. 92, p. 55-64, 2004.

DI NICOLA, G.; PACETTI, M.; POLONARA, F.; SANTORI, G.; STRYJEK, R. **Development and optimization of a method for analyzing biodiesel mixtures with non-aqueous reversed phase liquid chromatography.** *Journal of Chromatography A*, v. 1190, p. 120-126, 2008.

DORADO, M.P.; BALLESTEROS, E.; ARNAL, J.M.; GÓMEZ, J.; JIMÉNEZ, F.J.L. **Testing waste olive oil methyl ester as a fuel in a diesel engine.** *Energy Fuels*, v. 17, p. 1560-1565, 2003.

EUROPEAN STANDARD EN 14078. **Liquid Petroleum Products – Determination of Fatty Acid Methyl Esters (FAME) in Middle Distillates – Infrared Spectroscopy Method.** 2009.

FEIGL, F. **Spot Tests in Organic Analysis**, Editora Elsevier, v.7, p.212-214, 1966.

FERRÃO, M. F.; VIEIRA, M. S.; PAZOS, R. E. P. P.; FACHINI, D.; GERBASE, A. E.; MARDER, L. **Simultaneous determination of quality parameters of biodiesel/diesel blends using HATR-FTIR spectra and PLS, iPLS or siPLS regressions.** *Fuel*, v.90, p. 701-706, 2011.

GAYDOU, V.; KRISTER, J.; DUPUY, N. **Evaluation of multiblock NIR/MIR PLS predictive models to detect adulteration of diesel/biodiesel blends by vegetal oil.** *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v.106, p. 190-197, 2011.

GOES, T.; ARAÚJO, M. de; MARRA, Renner. **Biodiesel e sua sustentabilidade.** Disponível em: <<http://www.embrapa.br>>. Acesso em: 05 dezembro 2012.

GUARIEIRO, L. L. N. **Metodologia Analítica para Quantificar o teor de Biodiesel na Mistura biodiesel:diesel utilizando Espectroscopia na Região do Infravermelho.** Dissertação de M.Sc., Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Programa de Pós Graduação em Química Orgânica, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2006.

HAAS, M.J.; SCOTT, K.M.; ALLEMAN, T.L.; MCCORMICK, R.L.; **Engine Performance of Biodiesel Fuel Prepared from Soybean Soapstock: A High Quality Renewable Fuel Produced from a Waste Feedstock.** *Energy & Fuels*, v.15, p.1207-1212, 2001

HOLCAPEK, M.; JANDERA, P.; FISCHER J.; PROKES, B. **Analytical monitoring of the production of biodiesel by high-performance liquid chromatography with various detection methods.** *Journal of Chromatography A*, v. 858, p. 13-31, 1999.

HOLCAPEK, M.; JANDERA, P.; ZDERADICKA, P.; HRUBÁ, L. **Characterization of triacylglycerol and diacylglycerol composition of plant oils using high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry.** *Journal of Chromatography A*, v. 1010, p. 195-215, 2003.

HOYDONCKX, H.E.; DE VOS, D.E.; CHAVAN, S.A.; JACOBS, P.A. **Esterification and Transesterification of Renewable Chemicals.** *Topics in Catalysis*, v. 27, p. 83-96, 2004.

KALUZNY, M.A.; DUNCAN, L.A.; MERRITT, M.V.; EPPS, D.E. **Rapid separation of lipid classes in high yield and purity using bonded phase columns.** *Journal of Lipid Research*, v.26, p.135-140, 1985.

KNOTHE, G.; KRAHL, J.; GERPEN, J. V. **Manual de biodiesel.** 1ª edição, São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

KNOTHE, G. **Structure indices in FA chemistry. How relevant is the iodine value.** *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.79, p. 847-854, 2002.

KOMERS, K., STLOUKAL, R., MACHEK, J., SKOPAL, F.; **Biodiesel from rapeseed oil, methanol and KOH. Analysis of composition of actual mixture.** *European Journal of Lipid Science and Technology.*, v. 103, p. 363-371, 2001.

LI, M.; PHAM, P.J., WANG, T., PITTMAN J.R., C.U., LI, T. **Solid phase extraction and enrichment of essential fatty acid methyl esters from soy-derived biodiesel by novel p-complexing sorbents.** *Bioresource Technology*, v.100, p. 6385-6390, 2009

LUE, Y.F.; YEH, Y.Y.; WU, C.H.; **The emission characteristics of a small D.I. diesel engine using biodiesel blends fuels.** *Journal of Environmental Science and health.* v. 36, p. 845, 2001.

MA, F.; HANNA, M.A. **Biodiesel Production: A Review.** *Bioresour. Technol.*, v. 70, p.1-15, 1999.

MARCATO, B.; CECCHIN, G. **Analysis of mixtures containing free fatty acids and mono-, di- and triglycerides by high-performance liquid chromatography coupled with evaporative light-scattering detection.** *Journal of Chromatography A*, v. 730, p. 83-90, 1996.

MEHER, L.C.; SAGAR, D.V.; NAIK, S.N. **Technical Aspects of Biodiesel Production by Transesterification – A Review.** *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, v. 10, p. 248-268, 2006.

MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; FERRER, T. M.; SILVA, H. R. G.; GUIMARÃES, A. K.; SANTOS, M. A.; NETO, P. R. C.; PEPE, I. M. **Identificação de adulteração de biocombustível por adição de óleo residual ao diesel por espectrofluorimetria total 3D e análise das componentes principais.** *Química Nova*, v.34, nº4, 2011.

MITTELBAACH, M; ROTH, G.; BERGMANN, A.; **Simultaneous gas chromatographic determination of methanol and free glycerol in biodiesel.** *Chromatographia* v.42, p.431, 1996.

MONTEIRO, M. R.; AMBROZIN, A. R. P.; LIÃO, L. M. FERREIRA, A. G. **Determination of biodiesel blend levels in different diesel samples by 1H NMR.** *Fuel*, v.88, p.691-696, 2009.

NASCIMENTO, M.G.; COSTA NETO, P.R.; MAZZUCO, L.M. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento.** v. 19, p. 28, 2001.

NEBOT, C.; GIBBS, S.W.; BOYD, K.G.; **Quantification of human pharmaceuticals in water samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry.** *Analytica Chimica Acta*, v.598, 2007.

NETO, F.R.A; NUNES, D.S.S. **Cromatografia: Princípios básicos e técnicas afins.** Editora Interciência; Rio de Janeiro, 1ª edição, 2003.

NORMA BRASILEIRA NBR 15568. **Biodiesel – Determinação do Teor de Biodiesel em Óleo Diesel por Espectroscopia na Região do Infravermelho Médio.** 2008.

NOUREDDINI, H., ZHU, D. **Kinetics of transesterification of soybean oil.** *Journal American Oil Chemistry Society*, v. 74, p. 1457-1463, 1997.

NOUREDDINI, H.; HARKEY, D.; MEDIKONDURU, V. **A Continous Process for the Conversion of Vegetable Oils into Methyl Esters of Fatty Acids.** *Journal of the American Oil Chemistry Society*, v. 75, p. 1775-1783, 1998.

OLIVEIRA, F.C.C.; SUAREZ, P.A.Z.; SANTOS; W.L.P. **Biodiesel: Possibilidades e soluções.** *Química nova na escola*. V. 28, p. 3-8, 2008.

PÉREZ-CAMINO, M.C.; CERT, A.; MOREDA,W.; **Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable Oils.** *Journal Chromatography A.*, v. 881, p.313-148, 2000.

PETERSON, C.L.; AULD, D.L.; KORUS, R. **Winte rape oil for diesel engines: recovery and utilization.** *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 60, p. 1579-1587, 1983.

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

PINTO, A.C.; GUARIEIRO, L.L.N.; REZENDE, M.J.C.; RIBEIRO, N.M.; TORRES, E.A.; LOPES, W.A.; PEREIRA, P.A.P.; ANDRADE, J.B. **Biodiesel: An overview.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.16, p.1313-1330, 2005.

PLANK, C.; LORBEER, E. **Minor components in vegetable oil methyl esters I: Sterols in rapeseed oil methyl ester.** *Fett Wissenschaft Technologie*, v,96, p.379-386, 1994.

PLANK, C.; LORBEER, E. **Simultaneous determination of glycerol, and mono-, di- and triglycerides in vegetable oil methyl esters by capillary gas chromatography.** *Journal of Chromatography A*, v. 697, p. 461-468, 1995.

PONTES, M. J. C.; PEREIRA, C. F.; PIMENTEL, M. F.; VASCONCELOS, F. V. C.; SILVA, A. G. B. **Screening analysis to detect adulteration in diesel/biodiesel blends using near infrared spectrometry and multivariate classification.** *Talanta*, v.85, p.2159-2165, 2011.

RAMOS, L.P.; COSTA NETO, P.R.; ROSS, L.F.S.; ZAGONEL, G.F.; **Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras** *Química nova*, v.23, p. 531, 2000

REZENDE, D.R.; ALVES, M.I.R.; ANTONIOSI FILHO, N.R. **I Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel: Determinação do teor de biodiesel em diesel**, Brasília, Brasil, 2006.

RIZZI, M.; FERRÃO, M. F.; FURTADO, J. C.; GERBASE, A. E.; SAMIOS, D. **Otimização por enxame de partículas de modelos de regressão visando a identificação de adulterações nas blendas biodiesel/diesel.** *XXVIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção*, Rio de Janeiro, 2008.

ROCHA, R.F.P.; TEIXEIRA, L.S.G; **Estratégias para aumento da sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS.** *Química Nova*, v.23, nº1, 2004.

SANTOS, A. P. F.; **Desenvolvimento de métodos para separação e identificação do biodiesel e/ou óleo vegetal no óleo diesel e de aditivos em gasolina.**, Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R.M. **Transesterification of Vegetable Oils: A Review.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 9, p. 199-210, 1998.

SCHWAB, A.W.; BAGBY, M.O.; FREEDMAN, B. **Preparation and Properties of Diesel Fuels from Vegetable Oils.** *Fuel*, v. 66, p. 1372-1378, 1987.

SHAH, S.; SHARMA, S.; GUPTA, M.N. **Enzymatic Transesterification for Biodiesel Production.** *Indian J. Biochem. Biophys*, v. 40, p. 392-399, 2003.

SOARES, A.R.; **Extração em fase sólida de níquel em amostras aquosas e determinação por espectroscopia de reflectância difusa.** Dissertação de M. Sc. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.

SOARES, I.P.; RUSSO, R.M.O.; PRATES, R.G.D.; AUGUSTI, R.; FORTES, I.C.P; PASA, V.M.D; **Avaliação da eficiência das técnicas ESI-MS e ATR/FTIR na determinação de adulteração de BX com querosene e óleo residual.** *Química Nova*, vol.34, nº 8, São Paulo, 2011.

SRIVASTAVA, A.; PRASAD, R. **Triglycerides-based diesel fuels.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.4, p.111-133, 2000.

STAVARACHE, C.; VINATORU, M.; MAEDA, Y.; BANDOW, H. **Ultrasonically driven continuous process for vegetable oil transesterification.** *Ultrasonic Sonochemistry*, v. 14, p. 413, 2007.

VASCONCELOS, F. V. C.; SOUZA JR., P. F. B.; PIMENTEL, M. F. **Using near-infrared overtone regions to determine biodiesel content and adulteration of diesel/biodiesel blends with vegetable oils.** *Analytica Chimica Acta*, v.716, p. 101-107, 2012.

VIEIRA, M. S.; FRANCESQUETT, J. Z.; FACHINI, D.; GERBASE, A. E.; FERRÃO, M. F. **Avaliação de adulteração de misturas biodiesel diesel empregando espectroscopia no infravermelho e análise por componentes principais.** *XXVIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção*, São Paulo, 2010.

VIEIRA, M. S.; FERRÃO, M. F.; KIPPER, L. M.; GERBASE, A. E.; FRANCESQUETT, J. Z. **Desenvolvimento de modelos de regressão multivariada para determinação de adulterantes em blendas biodiesel/diesel.** *XXVIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção*, Belo Horizonte, 2011.

ANEXO

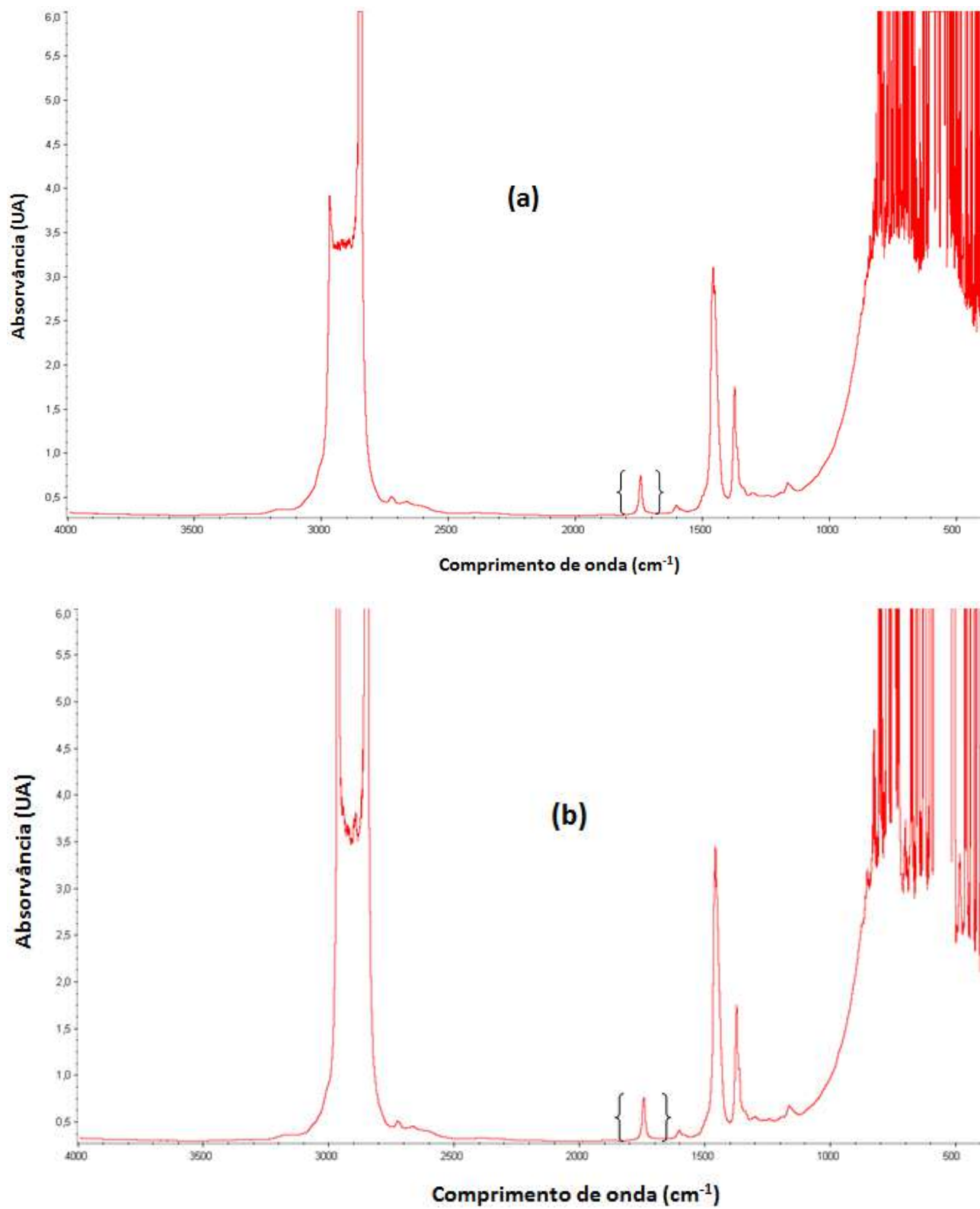


Figura 1: Espectros na região do IV das amostras A₆₋₁ (a) e A₅₋₂ (b).

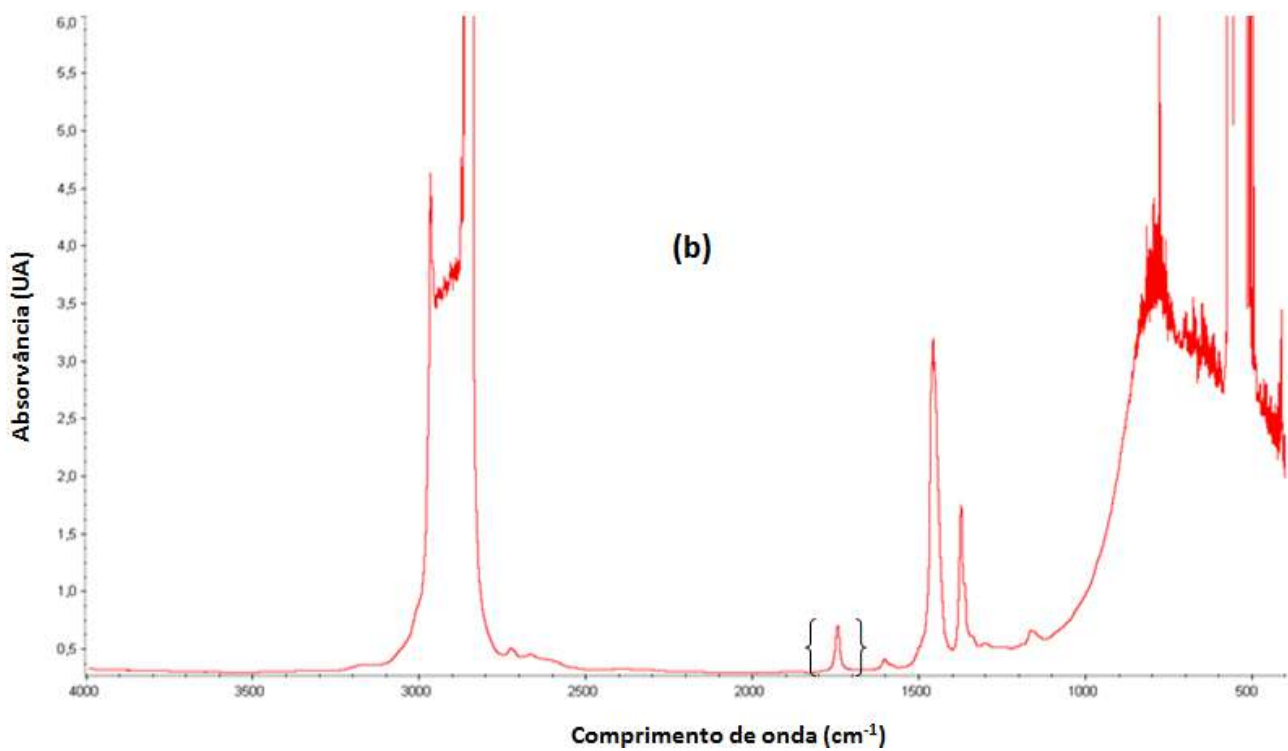
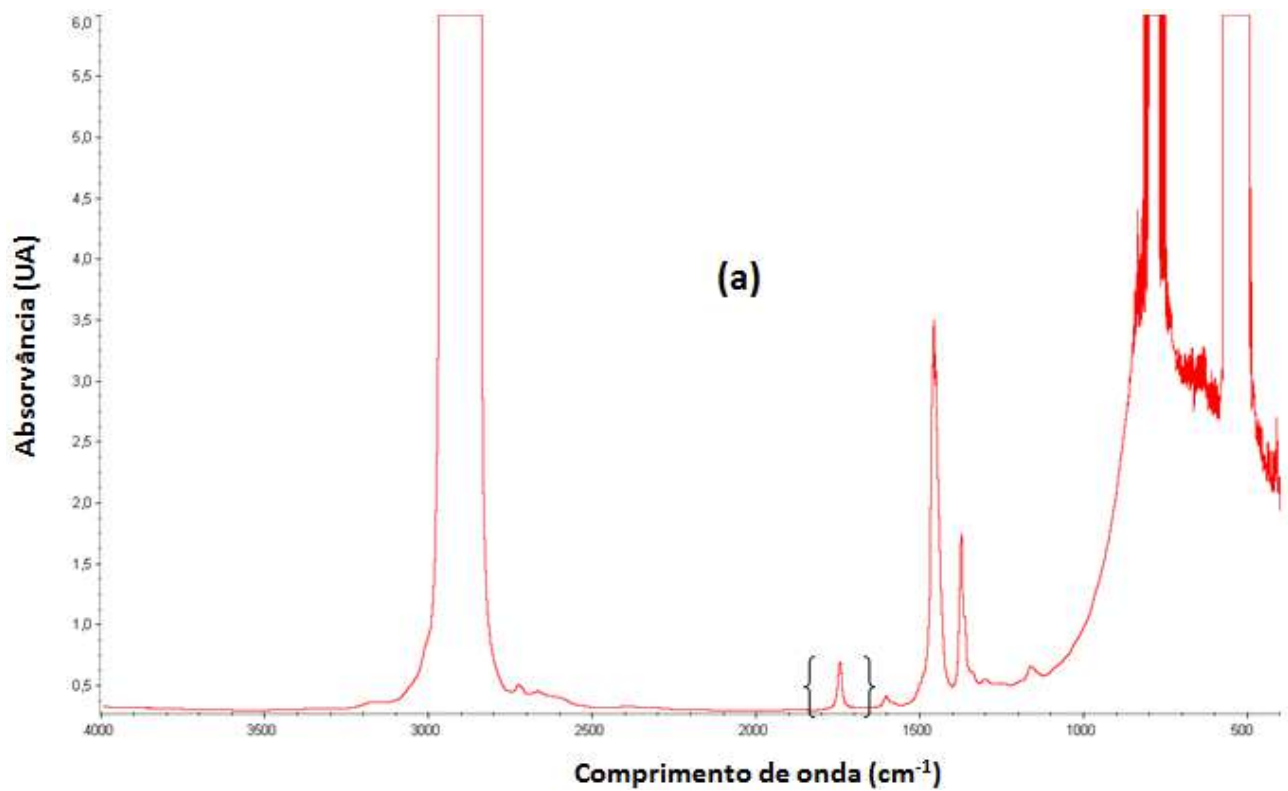


Figura 2: Espectros na região do IV das amostras A₄₋₃ (a) e A_{3,5-3,5} (b).

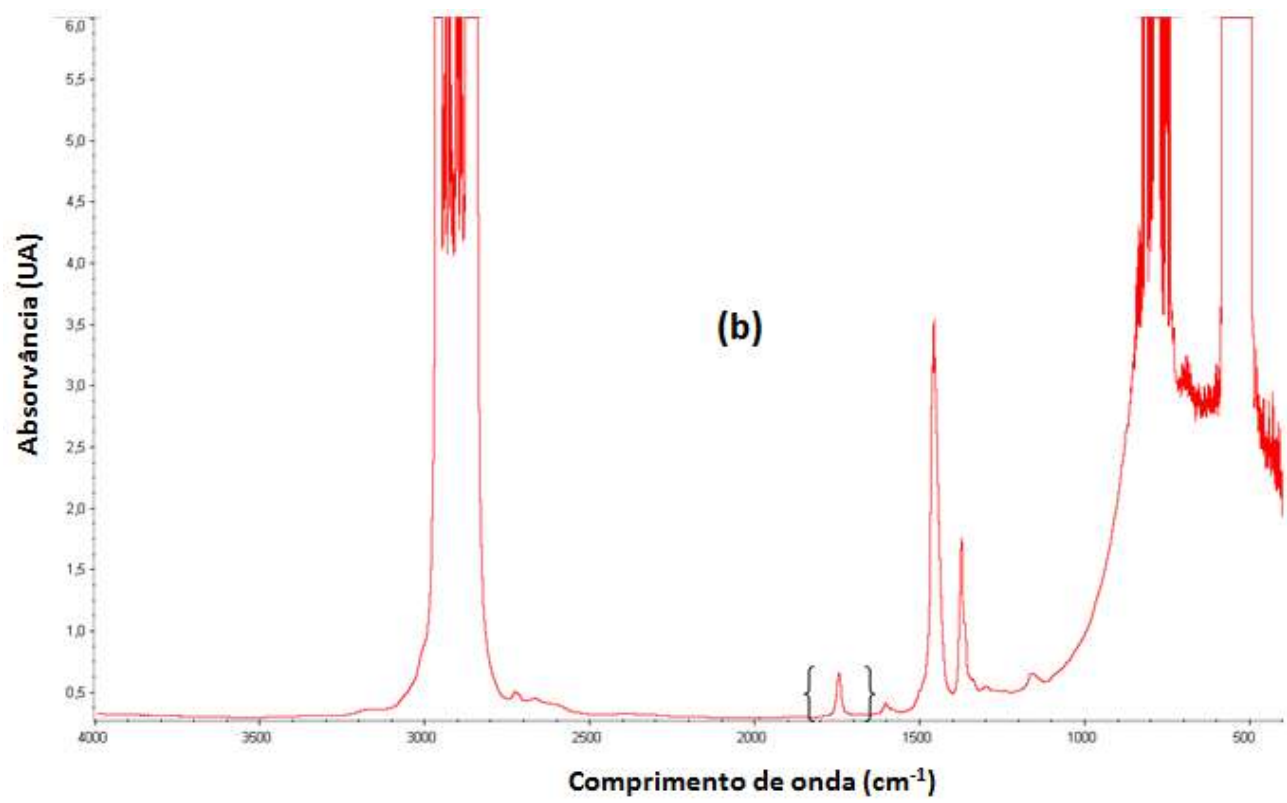
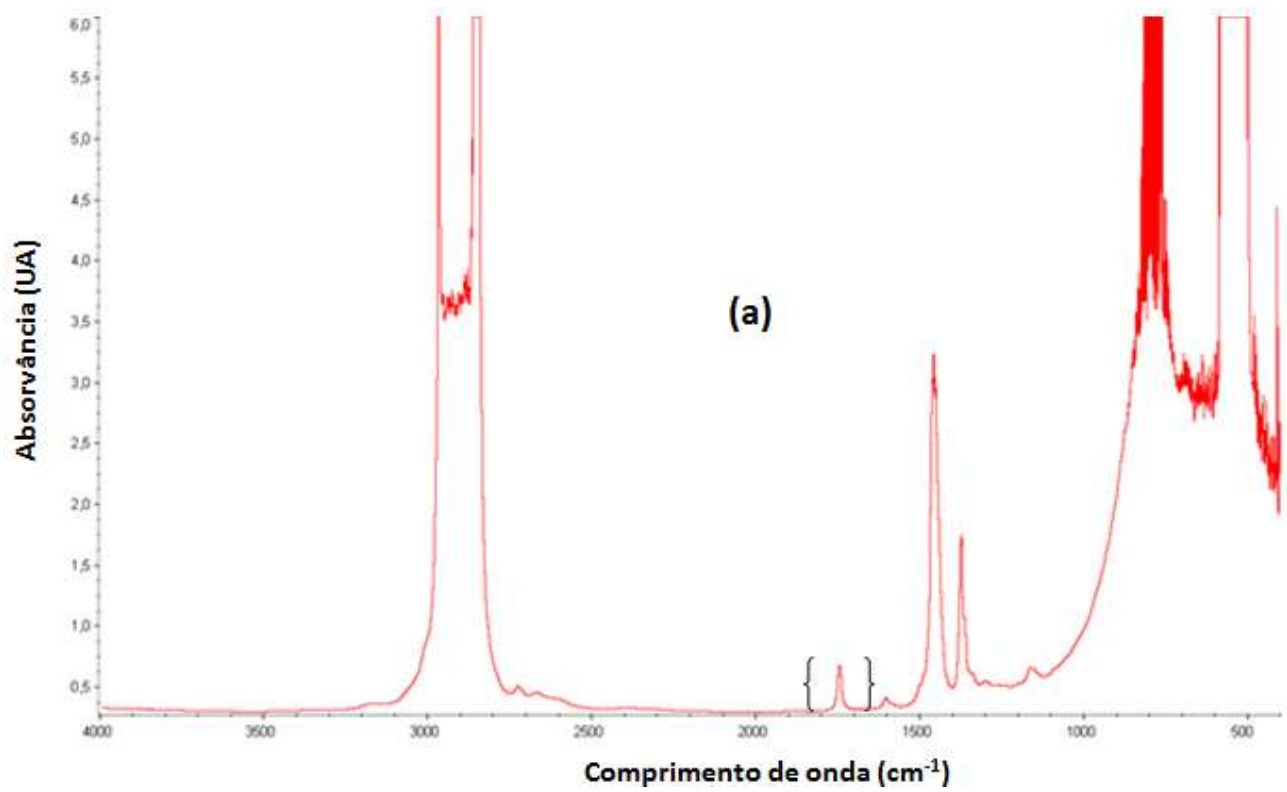


Figura 3: Espectros na região do IV das amostras A₃₋₄ (a) e A₂₋₅ (b).

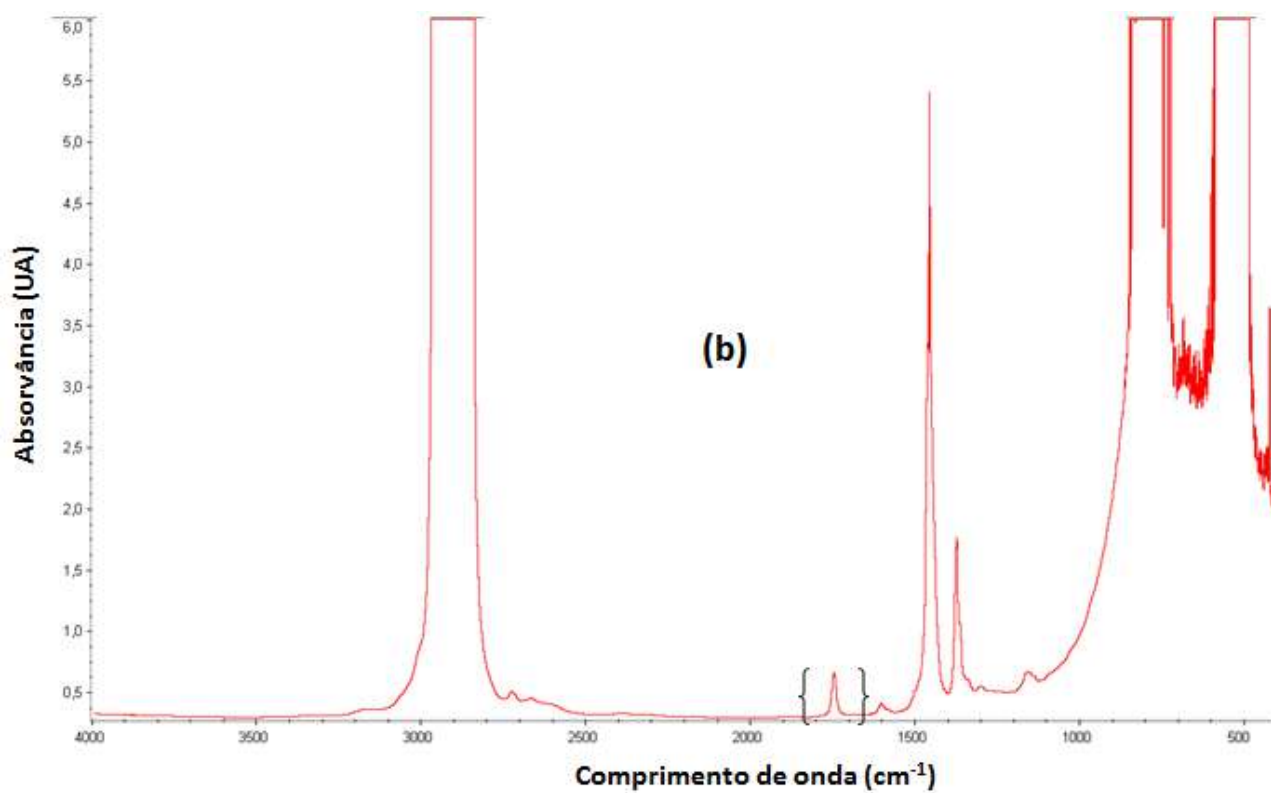
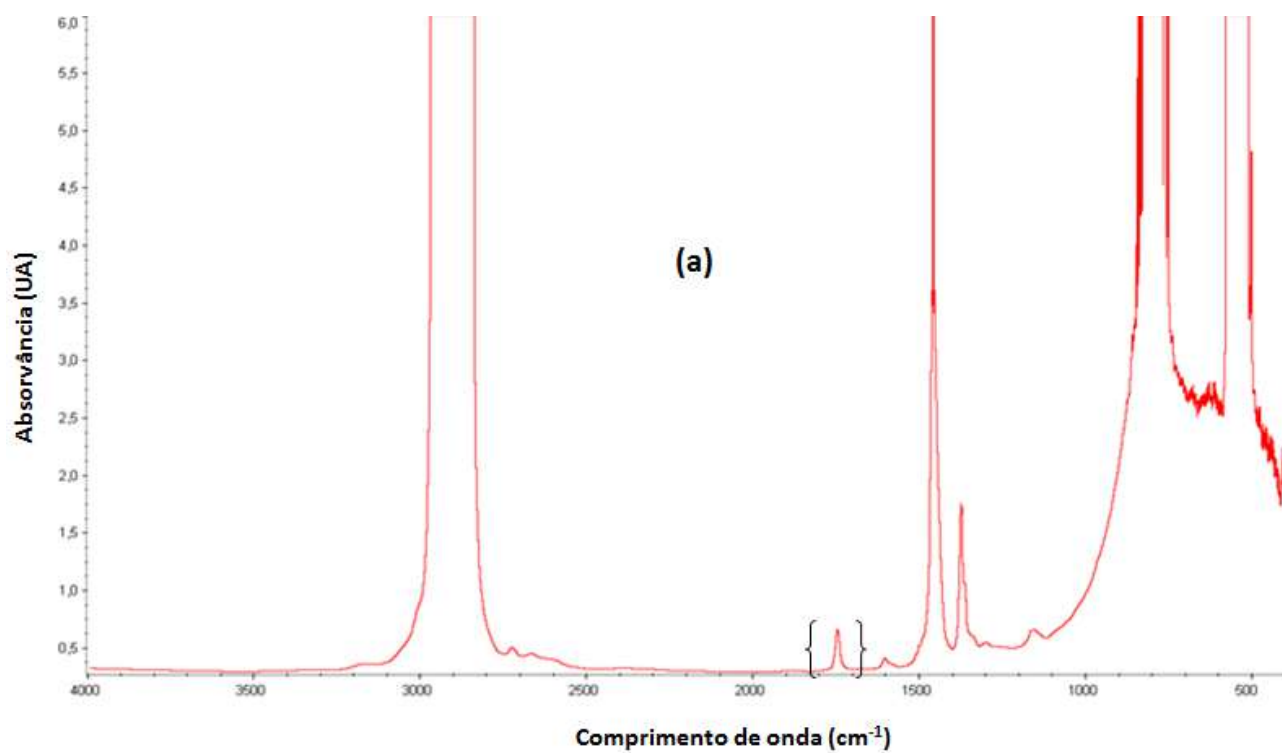


Figura 4: Espectros na região do IV das amostras A₁₋₆ (a) e A₀₋₇ (b).