



# **Determinação do teor de biodiesel em diesel empregando o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico**

**Roberta Perroni Marouço da Costa**

**Thaiane Charelli Khalil**

**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)**

**Outubro de 2013**

# DETERMINAÇÃO DO TEOR DE BIODIESEL EM DIESEL EMPREGANDO O TESTE COLORIMÉTRICO DO ÁCIDO HIDROXÂMICO

***Roberta Perroni Marouço da Costa***

***Thaiane Charelli Khalil***

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

Aprovado por:

---

Luana Castilho Neves, M. Sc. /INT

---

Maria Letícia Murta Valle, D.Sc. – EQ/UFRJ

---

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

Orientado por:

---

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

---

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

---

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

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Outubro de 2013

Costa, Roberta Perroni Marouço; Khalil, Thaiane Charelli.

Determinação do teor de biodiesel em diesel empregando o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico. Roberta Perroni Marouço da Costa; Thaiane Charelli Khalil. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2013.

xvi,78p.; 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. Teste do ácido hidroxâmico 3. Espectroscopia 4. Monografia (Graduação- UFRJ/EQ). 5. Luiz Antonio d'Avila I. Determinação do teor de biodiesel em diesel empregando o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico.

***Dedico este trabalho especialmente aos meus pais, Shirley e Luiz Roberto, pelo apoio, encorajamento, amor e dedicação. As minhas irmãs, Camila e Vanessa, por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos da minha vida e por sempre me incentivarem nas horas difíceis.***

Roberta Perroni

***Dedico este trabalho aos meus pais, Samir e Tania, que sempre me fizeram acreditar na realização dos meus sonhos e batalharam muito para que eu pudesse realizá-lo. Aos meus irmãos, Victor e Lucas, meus melhores amigos e que são a minha maior motivação para nunca desistir dos meus objetivos.***

Thaiane Khalil

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos ao nosso orientador professor Luiz Antonio d'Avila, por ter confiado em nós na realização deste projeto, às coorientadoras Débora França de Andrade e Amanda Pereira Franco dos Santos, pela paciência, dedicação e total disponibilidade em nos instruir no projeto. Sem a ajuda de nossas coorientadoras, certamente esse projeto não teria sido tão fundamental para nossa formação acadêmica e profissional.

Agradecemos também a todas as pessoas que nos ajudaram, mesmo que minimamente, no dia a dia do LABCOM (Laboratório de Combustíveis e Derivados de Petróleo da EQ/UFRJ) que dedicaram parte do seu tempo para esclareceram nossas dúvidas quanto às muitas técnicas necessárias para realização deste projeto. Principalmente a Gisele Alves, por sua ajuda técnica na realização de diversas atividades laboratoriais, Danielle Ignácio, Thaísa Peixoto e Sharlene Mesquita pelo apoio nas análises de espectroscopia na região do IV, Cristiane Gimenes pelo auxílio técnico e incentivo oferecido em tantos fins de tarde de companhia no LABCOM e Rogério Cruz, por sua paciência e ajuda técnica nas análises do UV-visível.

E por fim, a todos que direta e indiretamente colaboraram na condução e realização do presente trabalho. Muito obrigada!

## RESUMO

# DETERMINAÇÃO DO TEOR DE BIODIESEL EM DIESEL EMPREGANDO O TESTE COLORIMÉTRICO DO ÁCIDO HIDROXÂMICO

Roberta Perroni Marouço da Costa

Thaiane Charelli Khalil

Outubro, 2013

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

Com a inserção do biodiesel na matriz energética brasileira, a partir da obrigatoriedade de sua adição no óleo diesel, passou-se a monitorar a qualidade do biodiesel e o teor deste adicionado ao óleo diesel. Atualmente, a Resolução ANP Nº 14/2012 tornou obrigatória à adição de 5% de biodiesel no óleo diesel e o método adotado para monitorar esse percentual é à espectroscopia na região do infravermelho (EN 14078). Portanto, a elaboração de metodologias que quantifiquem o teor de biodiesel no diesel, mostra-se indispensável à preservação do crescimento do setor de biocombustíveis no Brasil. Desta forma, este trabalho visa utilizar o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico (TAH), para a quantificação do teor de biodiesel no óleo diesel e compará-lo com o método tradicional (espectroscopia na região do infravermelho, segundo o método EN 14078). Foram preparadas amostras de B1 até B10 com dois tipos de diesel, S500 (vermelho) e S50 (amarelo), para obtenção de duas curvas de calibração. Através de tratamentos estatísticos foi mostrado que as inclinações das retas obtidas com os diferentes tipos de diesel são iguais, logo o tipo de diesel (S50 ou S500) não influencia nos resultados do TAH. Amostras reais, coletadas em postos de gasolinas, foram analisadas pelos dois métodos (TAH e EN 14078) e através da aplicação do teste T de student, concluiu-se que os métodos podem ser considerados estatisticamente equivalentes. Assim, comprovamos que o TAH é adequado para a detecção e quantificação do teor de biodiesel em misturas de biodiesel:diesel e ainda pode ser facilmente adaptado a análises em campo.

## **ABSTRACT**

### **DETERMINATION OF CONTENT BIODIESEL IN DIESEL USING TEST COLORIMETRIC HYDROXAMIC ACID**

Roberta Perroni Marouço da Costa

Thaiane Khalil

October, 2013

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

Since the introduction of biodiesel in the Brazilian energy matrix, from the requirement of the addition of diesel fuel went up to monitor the quality and content of biodiesel added to diesel. Currently, ANP Resolution No. 14/2012 has required the addition of 5% biodiesel in diesel fuel and the method adopted to monitor this percentage is the infrared spectroscopy (EN 14078). Therefore, the development of methodologies to quantify the biodiesel content in diesel, seems indispensable to the preservation of the growth of the biofuels industry in Brazil.

This paper aims to use the colorimetric test hydroxamic acid (TAH), to quantify the biodiesel content in diesel and compare it with the traditional method (infrared spectroscopy, using the method EN 14078). Samples were prepared from B1 to B10 with two kinds of diesel S500 (red) and S50 (yellow), to obtain two curves. Through statistical methods it was shown that the slopes of the straight lines obtained from different types of diesel engines are equal, then the diesel type (S50 or S500) does not influence the results of the TAH.

Real samples collected in gas stations, were analyzed by two methods (TAH and EN 14078) and by applying the Student T test it was concluded that the methods can be considered statistically equivalent. So, we confirmed that the TAH is suitable for the detection and quantification of the content of biodiesel blends in biodiesel:diesel, and can also be easily adapted to field analysis.

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Equação geral de uma reação de transesterificação.	5
<b>Figura 2.</b> Reação de saponificação de éster (NEVES, 2012).	12
<b>Figura 3.</b> Cromatograma típico obtido por CLAE-UV para o produto da reação de transesterificação (ANDRADE, 2011).	14
<b>Figura 4.</b> Estruturas do hexadecano (diesel) (a) e do palmitato de etila (biodiesel) (b) (NEVES, 2012).	16
<b>Figura 5.</b> Reação geral do ácido hidroxâmico com íons ferro (III) (SILVA, 2009).	24
<b>Figura 6.</b> Reação de aminólise para síntese de ácidos hidroxâmicos (SILVA, 2009).	24
<b>Figura 7.</b> Formação da O-acilhidroxilamina (a) e N-acilhidroxilamina (b), a partir da reação de ésteres carboxílicos com hidroxilamina (SILVA, 2009).	26
<b>Figura 8.</b> Formação de N- acilhidroxilamina a partir da reação de O- acilhidroxilamina e hidroxilamina (SILVA, 2009).	26
<b>Figura 9.</b> Reações químicas envolvidas no teste do ácido hidroxâmico (TAH) para confirmação da presença de ésteres (CORREA, <i>et al.</i> , 2006).	28
<b>Figura 10.</b> Reações envolvidas no teste do ácido hidroxâmico modificado (SILVA, 2009).	30
<b>Figura 11.</b> Equipamento Nicolet iS5 da Thermo Scientific.	33
<b>Figura 12.</b> Equipamento Ultimate 3000 da Thermo Scientific.	35
<b>Figura 13.</b> Equipamento Perkin Elmer Lambda 35 UV/VIS.	37
<b>Figura 14.</b> Espectro na região do IV da amostra B5.	46

<b>Figura 15.</b> Cromatograma obtido por CLAE da amostra real 9.	47
<b>Figura 16.</b> Resultado do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas amostras B1 a B10 preparadas com diesel amarelo (S50).	48
<b>Figura 17.</b> Resultado do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas amostras B2, B4, B6, B8 e B10 preparadas com diesel amarelo (S50).	49
<b>Figura 18.</b> Curva de calibração para o diesel amarelo (S50).	51
<b>Figura 19.</b> Resultado do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas amostras B2, B4, B6, B8 e B10 preparadas com diesel vermelho (S500).	52
<b>Figura 20.</b> Curva de calibração para o diesel vermelho (S500).	54

## Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Comparação entre o teor de biodiesel teórico e experimental das amostras preparadas com o diesel amarelo (S50). 43
- Tabela 2.** Comparação entre o teor de biodiesel teórico e experimental das amostras preparadas com o diesel vermelho (S500). 44
- Tabela 3.** Resultados do teor de biodiesel no diesel das amostras reais. 45
- Tabela 4.** Valores de absorvância das amostras preparadas com diesel tipo A S50 (amarelo). 50
- Tabela 5.** Valores de absorvância das amostras preparadas com diesel tipo A S500 (vermelho). 53
- Tabela 6.** Valores de absorvância das amostras reais. 55
- Tabela 7.** Resultado do teor de biodiesel das amostras reais, utilizando o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico e a espectroscopia na região do IV. 56
- Tabela 8.** Resultado da variância residual ( $Se^2$ ) da reta da curva de calibração do diesel amarelo (S50) – Reta 1. 58
- Tabela 9.** Resultado da variância residual ( $Se^2$ ) da reta da curva de calibração do diesel vermelho (S500) – Reta 2. 59

<b>Tabela 10.</b> Valores de F tabelado e F calculado.	60
<b>Tabela 11.</b> Valores de variância agrupada ( $S_{ep}^2$ ), t tabelado e t calculado.	60
<b>Tabela 12.</b> Resultados do teste t para as amostras reais.	61

## Lista de Siglas

<b>ABNT</b>	Associação Brasileira de Normas Técnicas
<b>ANP</b>	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
<b>ASTM</b>	Sociedade Americana para Testes e Materiais ( <i>American Society for Testing and Materials</i> )
<b>BX</b>	Mistura de diesel com X% de biodiesel
<b>B100</b>	Biodiesel puro
<b>C-18</b>	Octadecilsilano
<b>CLAE</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>CLAE-FRNA</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência – fase reversa não aquosa
<b>COPPE</b>	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia
<b>DAG</b>	Diacilgliceróis
<b>EFS</b>	Extração em fase sólida
<b>EN</b>	Norma europeia ( <i>European Norm</i> )
<b>EsMAG</b>	Ésteres metílicos de ácidos graxos

<b>EsEAG</b>	Ésteres etílicos de ácidos graxos
<b>LABCOM</b>	Laboratório de Combustíveis e Derivados de Petróleo
<b>LD</b>	Limite de detecção
<b>LMSCP</b>	Laboratório de Modelagem, Simulação e Controle de Processos
<b>MIR</b>	Espectrometria na região do infravermelho médio
<b>MLR</b>	Regressão linear múltipla
<b>MAG</b>	Monoacilgliceróis
<b>NAS</b>	Sinal Analítico Líquido
<b>PCA</b>	Regressão por análise de Componentes Principais
<b>PLS</b>	Regressão por mínimos quadrados parciais
<b>PNPB</b>	Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel
<b>PTFE</b>	Politetrafluoretileno
<b>RMSEP</b>	Erro quadrático médio de previsão
<b>RMSECs</b>	Erros quadráticos médios de calibração
<b>S10</b>	Diesel com teor de enxofre de até 10 mg.kg <sup>-1</sup> - Amarelo
<b>S50</b>	Diesel com teor de enxofre de até 50 mg.kg <sup>-1</sup> - Amarelo
<b>S500</b>	Diesel com teor de enxofre de até 500 mg.kg <sup>-1</sup> - Vermelho

**TAG** Triacilgliceróis

**TAH** Teste colorimétrico do ácido hidroxâmico

## Sumário

1. Introdução .....	1
2. Objetivo .....	4
2.1 Objetivo Geral .....	4
2.2 Objetivos Específicos .....	4
3. Revisão Bibliográfica .....	5
3.1 O biodiesel .....	5
3.2 As vantagens e desvantagens da utilização do biodiesel .....	8
3.3 O controle de qualidade do biodiesel .....	10
3.4 Métodos para a determinação do teor de biodiesel no diesel .....	11
3.4.1 A cromatografia líquida de alta eficiência .....	13
3.4.2 A espectroscopia na região do infravermelho .....	16
3.4.3 O teste colorimétrico do ácido hidroxâmico .....	22
4. Material e Métodos .....	32
4.1 Reagentes e Solventes.....	32
4.2 Preparo das amostras de diesel com biodiesel.....	32
4.3 Análise das amostras por espectroscopia na região do infravermelho.....	33
4.4 Análise das amostras por cromatografia líquida de alta eficiência.....	34
4.5 Análise das amostras pelo teste do colorimétrico do ácido hidroxâmico .....	35
4.6 Tratamento estatístico para comparação entre as inclinações de duas retas.....	38
4.7 Aplicação do teste t de Student para comparação entre métodos.....	41

<b>5. Resultados e Discussão.....</b>	<b>43</b>
<b>5.1</b> Análise das amostras por espectroscopia na região do infravermelho.....	43
<b>5.2</b> Análise das amostras por cromatografia líquida de alta eficiência .....	47
<b>5.3</b> Análise das amostras pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico.....	48
<b>5.4</b> Tratamento estatístico para comparação entre as inclinações de duas retas.....	57
<b>5.5</b> Aplicação do teste t de Student para comparação entre métodos .....	61
<b>6. Conclusões .....</b>	<b>62</b>
<b>7. Perspectivas Futuras .....</b>	<b>63</b>
<b>8. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>64</b>
<b>9. Anexo .....</b>	<b>71</b>

## Capítulo 1. Introdução

O biodiesel é um combustível composto de alquil ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia longa, produzido a partir da transesterificação e ou/esterificação de matérias graxas, de gorduras de origem vegetal ou animal. (RESOLUÇÃO ANP Nº 14, 2012).

Esse biocombustível substitui total ou parcialmente o diesel de petróleo, em motores de caminhões, tratores, camionetas, automóveis e, também, motores de máquinas que geram energia. Por ser 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 no óleo diesel (GOES, ARAÚJO, MARRA, 2010). Por isso, 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 (BIOTECHNOS, 2012; RAMOS *et al.*, 2000).

Como o biodiesel apresenta características semelhantes ao óleo diesel, este biocombustível pode ser utilizado puro ou em misturas com o combustível de origem fóssil, em diferentes proporções. As misturas recebem o nome de acordo com os percentuais do biodiesel adicionados à mistura. Para a mistura de 2% v/v, a denominação é B2 (2% de biodiesel e 98% de diesel), a mistura de 5% chama-se B5 (5% de biodiesel e 95% de diesel) e assim por diante.

A partir do lançamento do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), em 6 de dezembro de 2004, pelo Governo Federal, que o

biodiesel avançou, significativamente, tornando-se um valioso instrumento de inclusão social.

O programa apresenta como uma de suas metas a adição de biodiesel ao diesel comum. Nos anos de 2006 e 2007, a adição foi voluntária e de apenas 2% v/v, segundo a Resolução ANP Nº 42 de novembro de 2005. Em 1º de julho de 2008, a adição de 3% de biodiesel no diesel passou a ser obrigatória. A partir de 1º julho de 2009, a adição passou para 4%, segundo a Resolução ANP Nº 07 de março de 2008 e, em 1º de janeiro de 2010, a obrigatoriedade foi de 5% de biodiesel no diesel (Resolução ANP Nº 14/2012).

Dada a grande diversidade de matérias-primas para a produção de biodiesel, o Brasil possui o potencial para produzir biodiesel com diferentes características, as quais são controladas por métodos definidos em legislação aprovada pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Para atender as particularidades do biodiesel produzidos no país, tem sido necessário a realização de pesquisas técnico-científicas visando desenvolver novos métodos para garantir a qualidade do biodiesel e de suas misturas com o diesel (MEDEIROS, 2011).

Com base em informações da ANP, de janeiro a maio de 2013, o Brasil produziu 1,15 bilhão de litros de biodiesel, o maior patamar já alcançado em cinco primeiros meses do ano. Houve um novo recorde mensal em abril deste ano, com a produção de 257 milhões de litros do biocombustível. A região Centro-Oeste continua líder na oferta, com quase 494 milhões de litros no acumulado do ano. Na sequência, aparecem as regiões sul, com 381 milhões de litros, e nordeste, com 134 milhões. Dentre os estados, o Rio Grande do Sul

respondeu por 29% do volume total produzido em 2013, seguido por Goiás (21%) e Mato Grosso (16%) (CAETANO, 2013).

O crescimento da produção de biodiesel no Brasil acompanha a tendência de elevação no consumo de diesel do tipo B, resultado da mistura de 95% de diesel comum com 5% de biodiesel. De janeiro a maio de 2013, a demanda interna por diesel cresceu 6,7% em relação ao mesmo intervalo do ano de 2012 (CAETANO, 2013).

O óleo de soja segue como a principal matéria-prima na fabricação de biodiesel. Segundo os dados disponíveis no ano de 2013, de janeiro a abril, essa fonte respondeu por 71% do total fornecido seguida pelo sebo bovino, com 20%.

A elaboração de metodologias que quantifiquem a concentração de compostos carbonilados no diesel, mostra-se indispensável para o crescimento do setor de biocombustíveis no Brasil. Um dos procedimentos que podem ser adotados nesse intuito é o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, normalmente empregado na confirmação de ésteres em síntese orgânica (COSTA NETO, 2004).

## **Capítulo 2. Objetivo**

### **2.1. Objetivo Geral**

Determinar o teor de biodiesel, pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, em misturas biodiesel:diesel, comparando-o com o método de referência especificado pela ANP, a espectroscopia na região do infravermelho.

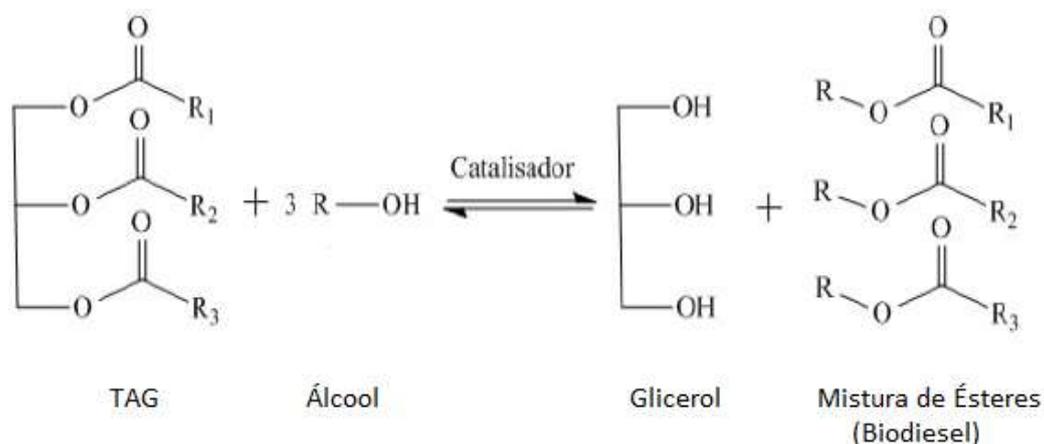
### **2.2. Objetivos Específicos**

- 1) Preparar amostras de óleo diesel com diferentes concentrações de biodiesel para realização do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico;
- 2) Analisar amostras reais B5 por espectroscopia na região do IV, pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico e por cromatografia líquida de alta eficiência;
- 3) Comparar os resultados obtidos a partir dos métodos e avaliar se o método proposto é eficaz para determinação do teor de biodiesel em misturas diesel:biodiesel;

## Capítulo 3. Revisão Bibliográfica

### 3.1 O biodiesel

O biodiesel pode ser obtido por meio de um processo químico de transesterificação ou alcoólise, onde os triacilgliceróis (TAG) reagem com um álcool na presença de um catalisador (KOH, NaOH, etc), gerando ésteres de ácidos graxos, etílicos (EsEAG) ou metílicos (EsMAG) e glicerol (1,2,3-propanotriol), também chamado de glicerina, conforme pode ser observado na **Figura 1** (SILVA, BURLAMAQUI, 2009).



**Figura 1.** Equação geral de uma reação de transesterificação (SILVA, BURLAMAQUI, 2009)..

Os grupos R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> representam as cadeias hidrocarbônicas alifáticas saturadas ou insaturadas; podendo ser iguais ou diferentes, e o grupo R representa a cadeia do álcool utilizado (SILVA, BURLAMAQUI, 2009).

Esta reação é reversível e prossegue, essencialmente, misturando os reagentes. A presença de um catalisador acelera consideravelmente esta

conversão, como também contribui para aumentar o rendimento da mesma (SCHUCHARDT *et al.*, 1998).

O rendimento em biodiesel a partir do processo de transesterificação pode variar de 70 a 90%, dependendo do tipo de material de partida, reagentes e condições operacionais. A transesterificação é afetada pela razão molar álcool:óleo, catalisador, temperatura, tempo de reação e conteúdo de água e de ácido livre (PINTO *et al.*, 2005).

A reação estequiométrica ocorre em uma proporção 3:1 entre álcool e triacilglicerol devido ao caráter reversível da reação, o excesso do álcool não só aumenta o rendimento da reação, como, também, agiliza a separação da glicerina formada por decantação, em função da diferença de polaridade entre este e o biodiesel (GUARIEIRO, 2008; MARTINS, 2007).

Dentre os álcoois utilizados, são preferidos os de baixa massa molar, metanol e etanol, devido à maior facilidade de dissolução do catalisador básico, menor custo, decantação mais rápida de glicerina e maior polaridade. Atendendo a estes pré-requisitos, o metanol é o mais utilizado (LIMA, 2007; RINALDI, 2007). O biodiesel etanólico possui a vantagem ambiental de ser totalmente renovável, pois não faz uso de insumos derivados de petróleo (GUARIEIRO, 2008; SCHUCHARDT, 1998; MARTINS, 2007).

A alcoólise ou transesterificação se dá em três etapas gerando, sequencialmente, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e, finalmente, glicerina, resultando em três moles de monoéster (LIMA, 2007).

A reação de transesterificação pode ser catalisada por ácidos ou bases, utilizando processo catalítico homogêneo ou heterogêneo. A transesterificação por catálise básica é rápida e de elevada conversão. Além disso, catalisadores alcalinos são menos corrosivos do que os ácidos (PINTO *et al.*, 2005). Segundo Freddman e colaboradores (1986), a maior parte dos trabalhos descritos na literatura emprega catalisadores básicos, onde foram observados maior rendimento e seletividade, além de apresentarem um baixo preço no mercado.

A participação dos catalisadores inorgânicos básicos se dá pela possível reação destes com o álcool, gerando alcóxidos que são nucleófilos mais poderosos do que os respectivos álcoois, facilitando o ataque nucleofílico ao éster do triacilglicerol resultando na formação mais rápida do monoéster (LIMA, 2007; RINALDI, 2007). Como o catalisador atua, exclusivamente, na cinética de reação, é natural que o aumento da concentração do catalisador fará com que a reação ocorra mais rapidamente; entretanto, o catalisador concentrado pode gerar subprodutos diminuindo a seletividade da reação desejada.

Dentre as reações indesejadas, a principal é a saponificação, que implica em dois problemas; o consumo do próprio catalisador e a estabilização da emulsão biodiesel/glicerol. Além disso, o consumo do catalisador gerando alcóxidos em elevada concentração gera também água que, sob altas temperaturas, favorece a hidrólise dos monoésteres formados produzindo ácidos graxos. Estes neutralizados pelo catalisador básico formam produtos de saponificação (RINALDI, 2007; MARTINS, 2007).

A transesterificação pode ocorrer em diferentes temperaturas, dependendo do tipo de óleo utilizado. A reação de óleo com metanol ocorre mais satisfatoriamente em temperaturas na faixa de 20 a 35°C. Em temperaturas inferiores a 20°C, a reação prossegue muito lentamente e, portanto, são economicamente inviáveis. Em temperaturas mais elevadas do que 35°C, ocorre a perda de catalisador devido à saponificação e quantidades prejudiciais de sabão são formadas (PINTO *et al.*, 2005).

A reação é completada em 40 min, a uma temperatura entre 30 e 40°C. O biodiesel (camada superior) é então separado da glicerina bruta (camada inferior), por decantação ou por centrifugação. A camada inferior, além de glicerina bruta, contém uma parte do álcool que pode ser recuperado e reutilizado no processo. A glicerina bruta pode ser purificada e utilizada, por exemplo, na indústria de cosméticos (PINTO *et al.*, 2005).

O produto final da reação precisa ser separado e purificado, pois a presença de glicerol no biocombustível pode causar dano ao motor ciclo diesel, além da sua combustão produzir um composto altamente tóxico ao meio ambiente denominado acroleína (CASTRO, 2009).

### **3.2 As vantagens e desvantagens da utilização do biodiesel**

São várias as vantagens da utilização do biodiesel, das quais se pode destacar o fato de ser proveniente de fonte renovável, ser biodegradável, apresentar elevado ponto de fulgor quando comparado ao diesel convencional. Desta forma, em condições normais de transporte, manuseio e armazenamento, não é inflamável, proporcionando uma maior portabilidade,

disponibilidade e segurança, além de apresentar redução na emissão de gases poluentes (enxofre e aromáticos) (MA e HANNA, 1999; KNOTHE 2006).

O biodiesel proporciona expressiva melhora na lubrificação do motor, e, como consequência uma maior longevidade do mesmo. A substituição do óleo diesel pelo biodiesel não exige modificação dos motores (DEMIRBAS, 2008a; MUDGE AND PEREIRA,1999). As principais vantagens descritas na literatura incluem sua origem agroindustrial, o potencial para diminuir a dependência de países importadores de petróleo e a diminuição de emissão de gases poluentes e ainda o fator sócio-econômico.

As principais desvantagens do biodiesel em relação ao óleo diesel são a maior viscosidade e o menor poder calorífico. Estudos indicam que o calor de combustão médio do biodiesel (39 a 41 MJ/kg) é maior que o do carvão (32 a 37 MJ/kg (DEMIRBAS, 2008a).

O biodiesel apresenta maior ponto de névoa em relação ao diesel, o que ocasiona problemas de congelamento em baixas temperaturas. Em regiões de clima muito frio, a viscosidade do biodiesel aumenta bastante. Assim, com o diesel pode ocorrer formações de cristais que impedem o bom funcionamento do motor. Porém, existem diversas precauções que podem ser tomadas para contornar este problema como, por exemplo, o uso de aditivo ou de mistura biodiesel/diesel, dentre outros (CANDEIA, 2008).

### **3.3O controle de qualidade do biodiesel**

Para garantir a qualidade do biodiesel é necessário estabelecer padrões de qualidade, objetivando fixar teores limites dos contaminantes que não venham prejudicar a qualidade das emissões da queima, bem como, o desempenho, a integridade do motor e a segurança no transporte e manuseio. Devem ser monitoradas também possíveis degradações do produto durante o processo de estocagem (PINHEIRO E FERREIRA, 2009).

O controle de qualidade é uma ferramenta essencial para garantir a confiança entre os clientes e os fornecedores. A qualidade está associada ao perfeito cumprimento das especificações técnicas do produto. Para que estes parâmetros sejam controlados no biodiesel, há que monitorar os parâmetros das matérias-primas e o processo de produção. Tanto o metanol como o metóxido de sódio, são entregues com um elevado grau de pureza e as características dos mesmos não apresentam grandes oscilações ou variações (GUINOTE, 2007).

As especificações do B100, a ser misturado com o diesel mineral, são estabelecidas pela ANP, pela Resolução nº 14 de 10 de maio de 2012, tornando os critérios de avaliação da qualidade do biodiesel brasileiro mais restritivo. Os padrões de qualidade presentes nesta resolução foram constituídos com base nas normas ASTM D6751 e EN 14214.

Na especificação do biodiesel, adotam-se propriedades críticas no processo de produção, que permitem um melhor controle da qualidade. Dentre as exigências na produção do biodiesel estão a reação completa, com a

obtenção da glicerina total; separação da glicerina, separação do catalisador residual; garantia da ausência de ácidos graxos livres, que permite que o biodiesel esteja livre de acidez e corrosividade. Dentre as ações para a adequação do produto à especificação, pode-se citar: a realização de pré-tratamento do óleo vegetal por filtração, degomagem e refino; a seleção da matéria-prima e utilização, se necessário, de anti-oxidantes “naturais” e/ou inibidores de cristalização; o aumento da eficiência da purificação; a secagem do produto de forma completa e controlada; a estocagem apropriada do biodiesel e a efetuação do controle biológico (LÔBO, FERREIRA, 2009).

### **3.4 Métodos para a determinação do teor de biodiesel no diesel**

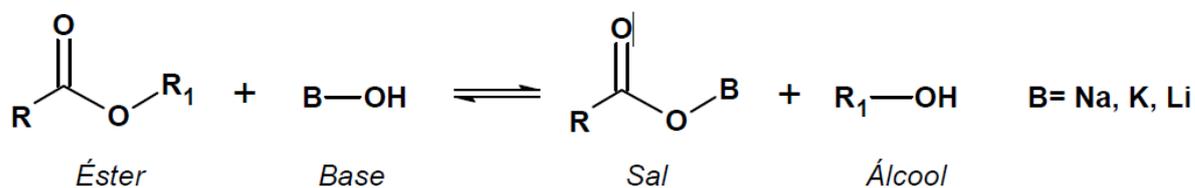
Na literatura são citados vários métodos analíticos para a determinação do teor de biodiesel no diesel, tais como:

- A espectroscopia na região do infravermelho (IV) (PIMENTEL *et al.*, 2006; MONTEIRO *et al.*, 2008; DE VASCONCELOS *et al.*, 2012)
- Ultravioleta (UV), a espectroscopia Raman, a espectroscopia de fluorescência (CAIRES *et al.*, 2012),
- A ressonância magnética nuclear de hidrogênio (FAGUNDES *et al.*, 2007; MONTEIRO *et al.*, 2009),
- A cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (FARIA *et al.*, 2007),

- A cromatografia gasosa bidimensional abrangente (CGxCG) (MORAES *et al.*, 2011), a cromatografia líquida de alta eficiência (ANDRADE, 2011; ANDRADE, MAZZEI, d'AVILA, 2011)
- E o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico (CORREA *et al.*, 2006; SILVA, 2009; BRANDÃO *et al.*, 2009).

Em 2010, Silva e Aranda patentearam um método que utiliza o índice de saponificação para a determinação do teor de biodiesel em misturas com óleo diesel através da saponificação dos ésteres presentes. Este método baseia-se no fato de que o hidróxido de potássio em meio alcoólico e a quente, saponifica os ésteres e neutraliza os ácidos. Como o diesel mineral é formado de hidrocarbonetos, que são substâncias insaponificáveis, a quantidade de hidróxido de potássio está relacionada a um peso determinado de amostra, que é um indicador quantitativo dos ésteres e dos ácidos livres presentes (PATENTE PI1004178-8 A2).

Na **Figura 2** pode ser observada a reação de saponificação do éster (biodiesel).



**Figura 2.** Reação de saponificação de éster (NEVES, 2012).

Em 2012, Neves estudou o método patentado (PATENTE PI1004178-8 A2) visando o desenvolvimento de uma técnica de baixo custo e de fácil

execução para a quantificação do teor de biodiesel em óleo diesel. Para isto, comparou o método proposto com o método de referência, a espectroscopia na região do infravermelho. O método proposto, baseado na titulação colorimétrica, foi avaliado, na faixa de concentração de 3% a 25% v/v de biodiesel adicionado ao óleo diesel e se mostrou robusto quanto à utilização de biodiesel proveniente de diferentes matérias-primas. Para baixas concentrações de biodiesel mostrou resultados melhores e bem mais próximos ao método de referência, quando utilizada a titulação potenciométrica. O método proposto possibilitou a quantificação de biodiesel nas misturas com óleo diesel na faixa de 3 a 7% v/v com erros relativos de 2,21%, quando utilizada a titulação potenciométrica. Na faixa de 15 a 25 % v/v, o erro médio relativo foi inferior a 2%, quando utilizada a titulação colorimétrica (NEVES, 2012).

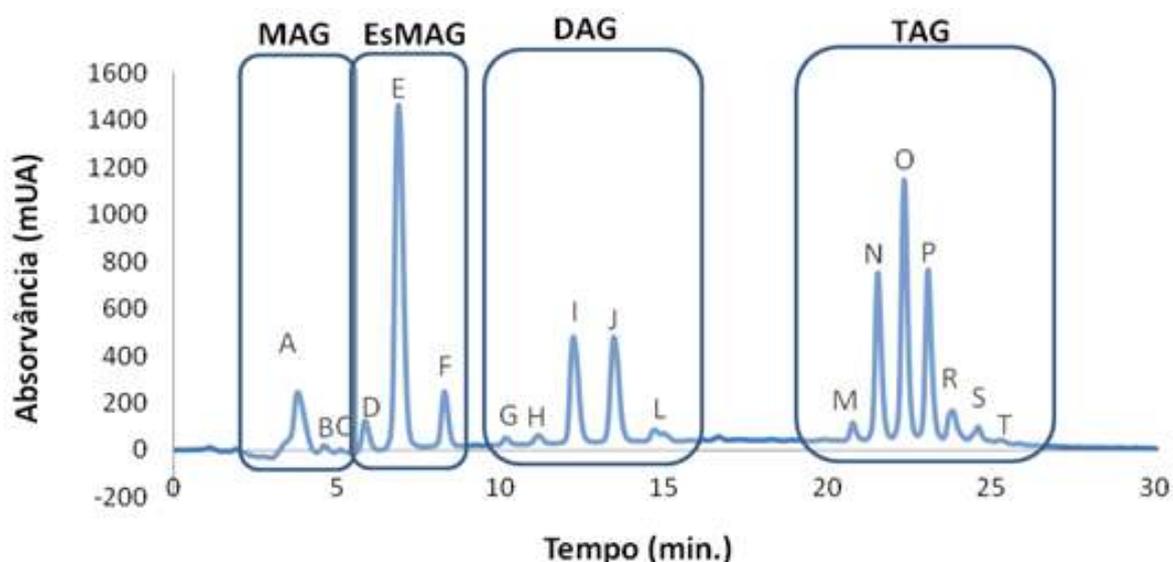
Nesse projeto, foram abordados a cromatografia líquida de alta eficiência, a espectroscopia na região do infravermelho e o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, conforme descrição a seguir.

#### **3.4.1 A cromatografia líquida de alta eficiência**

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) possui grande aplicabilidade em vários ramos da indústria e da ciência. Esta técnica apresenta características que a tornaram uma preferência entre muitos analistas em todo o mundo. Dentre estas características, pode-se destacar: o alto poder de resolução, as separações rápidas, o monitoramento contínuo do eluente, a análise repetitiva e reprodutível e a possibilidade de automatização do processo de análise e processamento de dados (BRANDÃO *et al.*, 2012).

Andrade et al, 2011, desenvolveram 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). 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 3** 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 3.** Cromatograma típico obtido por CLAE-UV para o produto da reação de transesterificação (ANDRADE, 2011).

No **anexo A**, encontra-se a tabela com a região de cada uma das classes de constituintes dos produtos de transesterificação, assim como os constituintes pertencentes a cada uma dessas classes.

Pode-se observar pela **Figura 3** que há uma nítida separação entre as diferentes classes (MAG, EsMAG, DAG e TAG) presentes durante a reação de transesterificação para produção do biodiesel.

Santos, 2012 e Andrade, 2011, desenvolveram 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 (EFS) (SANTOS, 2012).

Em 2012, Brouck mostrou a eficiência da técnica de CLAE-UV para a detecção da adulteração de biodiesel por óleos vegetais. Empregando vários tipos de óleos vegetais (soja, milho, girassol, canola, algodão e fritura) na faixa de concentração de 1 a 50 %, 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).

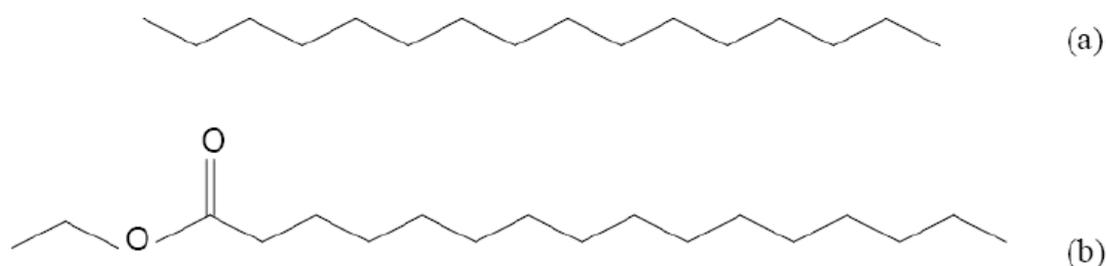
Em 2013, Leite e Fernandes, também empregaram a metodologia de CLAE-UV, desenvolvida por Andrade, em 2011, para a análise das frações F<sub>2</sub> (composta por biodiesel + óleo vegetal), F<sub>3</sub> (composta por biodiesel) e F<sub>4</sub> (composta por óleo vegetal), obtidas através da separação por EFS. Neste trabalho, as frações também foram analisadas por espectroscopia na região do IV e pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico. Os resultados mostraram que todas as três metodologias empregadas são eficazes na detecção de adulterações de misturas de biodiesel:diesel com óleo vegetal, desde que

precedidas de uma ou duas etapas prévias de separação por EFS. A CLAE se mostrou útil na determinação da adulteração, por óleos vegetais, em amostras de biodiesel:diesel, após a execução de apenas uma única EFS. Assim, esta metodologia é uma boa opção de análise para laboratórios bem equipados por ser um método rápido e sensível (LEITE, FERNANDES, 2013).

### 3.4.2 A espectroscopia na região do infravermelho

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho é uma técnica que verifica, através de absorções em faixas de comprimentos de ondas determinadas, a presença ou ausência de grupos funcionais que podem levar a estrutura da molécula (CASTRO, 2009). A banda, em torno de  $1750\text{ cm}^{-1}$ , representa o estiramento C=O.

O diesel e o biodiesel apresentam funções químicas distintas. Desta forma, seus espectros de infravermelho contêm bandas distintas. A **Figura 4** apresenta uma comparação entre as estruturas do hexadecano (diesel) e do éster palmitato de etila (biodiesel), respectivamente.



**Figura 4.** Estruturas do hexadecano (diesel) (a) e do palmitato de etila (biodiesel) (b) (NEVES, 2012).

Quando uma molécula absorve energia, ocorre uma transição entre estados vibracionais. A espectroscopia do infravermelho mede essa transição, estabelecendo uma relação entre a quantidade de radiação absorvida na região do infravermelho, em comprimentos de onda específicos, e a concentração de soluções. Portanto, este método pode ser utilizado como método quantitativo, mas é necessário possuir valores de referência através da construção de uma curva de calibração (SILVERSTEIN, WEBSTER, 1998).

Atualmente, são especificadas pela ANP as normas EN 14078 e ABNT NBR15568 que utilizam a espectroscopia na região do infravermelho como técnica analítica para a determinação do teor de biodiesel no diesel. A norma ABNT NBR 15568 utiliza a calibração multivariada que é de grande importância, visto que os espectros dos óleos vegetais e de seus ésteres geram sinais sobrepostos, por serem muito semelhantes (ZAGONEL, RAMOS, 2004). Pode ser citada como exemplo de técnica de calibração multivariada, a regressão por mínimos quadrados.

Em 2008, Monteiro *et al.* estudaram a determinação do teor de biodiesel por infravermelho médio. Os resultados indicaram que as bandas situadas em  $1606\text{ cm}^{-1}$  e  $1747\text{ cm}^{-1}$  podem ser apropriadas para os fins propostos, mostrando ser um método simples e rápido.

Estudos para determinar o percentual de biodiesel em misturas com diesel foram realizados utilizando as técnicas de PLS (Mínimos Quadrados Parciais) e PCA (Análise de Componentes Principais). Os autores concluíram que os modelos utilizados são adequados para a determinação da mistura

diesel/biodiesel composto por ésteres metílicos derivados de diferentes matérias-primas (OLIVEIRA *et al.*, 2007; PIMENTEL *et al.*, 2006).

Em 2001, Knothe determinou o teor de biodiesel em misturas biodiesel:diesel utilizando a espectrometria na região do infravermelho próximo e regressão PLS para concentrações variando de 0% a 100% v/v.

Guarieiro, em 2004, analisou misturas de biodiesel:diesel de cada biodiesel produzido a partir dos óleos de algodão, canola, girassol, linhaça, milho e soja. Foram obtidos os espectros de IV das misturas B1, B2, B3, B4, B5 e B100 (biodiesel puro) e o espectro do óleo diesel utilizado. As análises foram realizadas medindo-se a intensidade da banda de deformação axial da carbonila dos ésteres, localizada em aproximadamente  $1745\text{ cm}^{-1}$ . De modo geral, a metodologia proposta neste estudo é aplicável, pois além de excelentes resultados, ela foi testada com diversas misturas, indicando teores de biodiesel iguais ao percentual de biodiesel presente nas misturas. Desta forma, pode-se afirmar que a espectroscopia na região do infravermelho é uma ferramenta analítica que pode ser utilizada para a quantificação de misturas biodiesel:diesel, pois é simples, rápida e de baixo custo.

Em 2008, Guarieiro *et al.* empregaram a espectroscopia na região do infravermelho para a quantificação do teor de biodiesel na mistura biodiesel:diesel. A faixa de concentração estudada pelo método foi de 0,5 a 5% de biodiesel adicionado ao diesel, apresentando uma linearidade maior que 99%. Os resultados da recuperação do método mostraram um erro relativo inferior a 10%. Desses resultados concluiu-se que o método de quantificação proposto apresentou uma boa recuperação, pois para o valor recomendado

pela legislação igual a 0,02 (2%), o método gerou um desvio de determinação inferior a 0,002 (0,2%).

Em 2010, Gaydou *et al.* estudaram o uso simultâneo da espectrometria no infravermelho médio e próximo para a quantificação do teor de biodiesel. Para isto, as faixas espectrais foram separadas usando a técnica de PLS. Foi observado que o uso simultâneo das duas técnicas apresenta grande potencial para a determinação do teor de biodiesel (GAYDOU *et al.*, 2010).

Em 2010, Aliske empregou a espectroscopia de absorção na região do infravermelho médio, ou mais especificamente, a técnica de reflectância total atenuada em espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier para o desenvolvimento de um procedimento analítico capaz de detectar e medir o teor de biodiesel em óleo diesel. Essa abordagem procura evidenciar diferenças espectrais úteis, necessárias para o propósito de identificação e quantificação do biodiesel em óleo diesel. Através de medidas de absorbância no infravermelho médio, ficou demonstrado que existem duas regiões do espectro, nas quais a intensidade de absorção do biodiesel é apreciável, enquanto a do óleo diesel é negligenciavelmente pequena. Trata-se da faixa contendo números de onda entre 900 e 1.300  $\text{cm}^{-1}$ , conhecida como região da “impressão digital”, e da faixa de 1.700 a 1.800  $\text{cm}^{-1}$ , correspondente ao pico de absorção da carbonila, cujo máximo ocorre em cerca de 1.740  $\text{cm}^{-1}$ . Esses são intervalos do espectro que podem ser empregados em análises quantitativas, utilizando-se métodos univariados ou multivariados (ALISKE, 2010).

Neste estudo, foram registrados os espectros no infravermelho de misturas binárias formuladas com óleo diesel e biodiesel composto de ésteres metílicos de óleo de soja. Esse conjunto de dados de espectroscopia propiciou a determinação de parâmetros que ditam o comportamento do pico da carbonila frente ao teor de biodiesel na mistura. Com base nisso, para toda a faixa de misturas possíveis (B0 ao B100), encontrou-se uma relação tipo lei de potência entre a altura ou área do pico da carbonila e o percentual volumétrico de biodiesel em óleo diesel. Para uma faixa de misturas restrita (B0 ao B10), encontrou-se, também, uma relação linear entre a altura ou área do pico da carbonila e o percentual volumétrico de biodiesel em óleo diesel. Todos os ajustes de curva realizados apresentaram excelentes coeficientes de correlação (ALISKE, 2010).

Desta forma, os resultados indicam a viabilidade da metodologia como ferramenta para a avaliação dos percentuais de biodiesel nas misturas, ao longo de toda a faixa entre o B0 e o B100. Assim, esta metodologia pode ser implementada facilmente para a análise direta de amostras, sem pré-tratamento. Uma vez que os espectros de amostras de biodiesel provenientes de matérias-primas diferentes são invariavelmente semelhantes entre si, o estudo também sugere a possibilidade de aplicação do método nesses casos, independentemente da origem do biodiesel, conforme as curvas de calibração requeridas em cada situação. Portanto, o método constitui importante recurso na quantificação do biodiesel em óleo diesel, tanto em medidas de laboratório quanto de campo (ALISKE, 2010).

Em 2011, Fonseca desenvolveu metodologias baseadas na utilização da técnica de espectrometria na região do infravermelho médio (MIR) aliada ao método de calibração por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) visando a quantificação de biodiesel de soja, milho e girassol, oriundos as rotas etílica e metílica, em diesel. Os resultados indicaram que os modelos PLS, baseados em espectros de infravermelho médio, foram, comprovadamente, adequados como métodos analíticos práticos para previsão do conteúdo de biodiesel em misturas com diesel comum na faixa de volume de 1 a 20%. Os modelos PLS foram validados pela análise de um conjunto de amostras independentes, sendo os valores de RMSEP (erro quadrático médio de previsão) inferiores a 0,2266; RMSECs (erros quadráticos médios de calibração) inferiores a 0,1532. Adicionalmente, os erros médios de previsão encontrados foram inferiores a 2,21%.

Em 2012, Correa abordou o uso de cartas de controle multivariadas associadas à espectroscopia no infravermelho médio para o controle de qualidade da blenda biodiesel/diesel. As cartas foram construídas utilizando o Sinal Analítico Líquido (NAS). Foram geradas três cartas de controle, uma correspondente ao analito de interesse na amostra (neste caso o biodiesel), uma dos interferentes que corresponde ao outro constituinte na amostra (neste caso o diesel) e outra dos resíduos corresponde a variações não sistemáticas. Para cada carta de controle foram determinados os limites estatísticos utilizando amostras dentro das especificações de qualidade regulamentada na legislação. Assim, foi possível identificar amostras que continham teor de biodiesel fora da especificação na blenda, bem como a presença de

adulterações com óleos vegetais. Com base nos resultados alcançados, esta metodologia analítica mostrou-se promissora para o controle de qualidade do biodiesel, tanto em postos de abastecimentos, como na produção industrial da blenda (CORREA, 2012).

Em 2012, de Vasconcelos *et al.* utilizaram a espectrometria na região do infravermelho próximo para a quantificação de misturas diesel/biodiesel adulteradas com óleo vegetal. Os autores usaram diferentes caminhos óticos e as técnicas de regressão PLS e regressão linear múltipla (MLR). Observou-se que os melhores resultados obtidos foram quando se empregaram caminhos óticos de 10 e 20 mm e MLR como técnica de regressão.

### **3.4.3 O teste colorimétrico do ácido hidroxâmico**

Os ácidos hidroxâmicos são compostos que possuem em sua estrutura o grupamento R–CO–NR–OH. Normalmente são ácidos fracos, que apresentam valores de pKa do próton N–OH em solventes aquosos na ordem de 8,5 a 10,3 (ROUSHDY *et al.*, 1999; FAZARY, 2005).

Lossen, em 1869, foi um dos primeiros pesquisadores a estudar sobre o ácido hidroxâmico. Neste estudo foi relatada a reação entre o oxalato de dietila e a hidroxilamina, produzindo um composto ácido nomeado de ácido oxalohidroxâmico. Em 1872, Lossen, observou que O–acil derivados de ácidos hidroxâmicos sofriam rearranjos, atualmente, conhecidos como rearranjos de Lossen (LOSSEN, 1872).

Em 1934, Feigl *et al.* desenvolveram um teste rápido para ésteres e anidridos, baseado na reação colorimétrica com íons  $\text{Fe}^{3+}$ . A partir deste ano,

as possibilidades analíticas de ácidos hidroxâmicos foram amplamente exploradas.

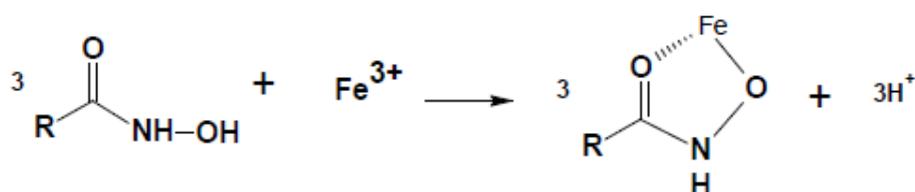
Em 1945, Lipmann e Turtle desenvolveram um método para a identificação de compostos acilfosfatos empregando uma reação com a hidroxilamina.

Em 1946, Hill desenvolveu um método rápido e preciso para a determinação de pequenas quantidades de óleo de palma, óleo de semente de algodão e lanolina aplicado a placa de estanho e outras superfícies de chapa para a prevenção da oxidação, lubrificação, ou para outros fins na fabricação. O método baseia-se na formação de ácido hidroxâmico de ésteres de ácidos graxos, através da utilização de hidrocloreto de hidroxilamina em meio alcalino. Por adição de uma solução acidificada de perclorato férrico alcoólico, um complexo estável, vermelho de hidroxamato férrico, é formado, sendo proporcional a intensidade dos ésteres presentes. Os ácidos são quantitativamente metilados em uma solução de éter anidro com diazometano ou cloreto de tionilo. Os resultados foram comparados com uma determinação gravimétrica mostrando uma boa concordância (HILL, 1946).

Em 1950, Thompson adaptou o método colorimétrico de Hill (1946), para a previsão da estimativa de ésteres voláteis. A investigação dos fatores que influenciam as duas reações envolvidas conduziu a um processo satisfatório para ésteres derivados de ácidos graxos com uma cadeia ramificada de dois a dez átomos de carbono e ésteres de ácidos isobutírico e isovalérico. O grau de conversão para os complexos de hidroxamato férricos foi encontrado por referência aos ácidos hidroxâmicos puros. Os espectros de absorção dos

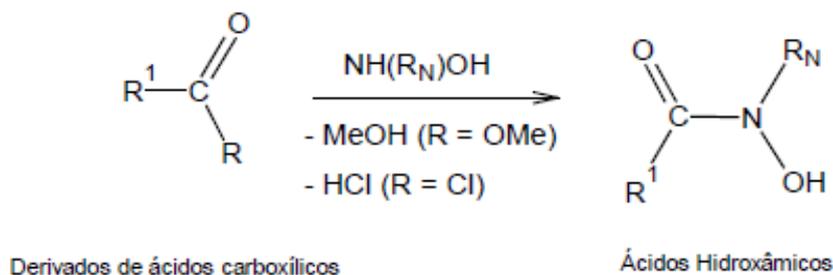
complexos hidroxamato férricos de todos os ésteres examinados apresentam uma absorção máxima a 520 nm. Assim, uma mistura de ésteres pode ser avaliada em termos de um dos ésteres (THOMPSON, 1950).

Em 1955, Goddu *et al.* desenvolveram um estudo sobre as variáveis que influenciam a reação de complexação de ácidos hidroxâmicos com íons ferro (III) (**Figura 5**), determinando por espectrofotometria de UV-vis, conhecido como teste do ácido hidroxâmico (TAH). É importante ressaltar que uma das características dos ácidos hidroxâmicos é a sua afinidade em formar complexos estáveis com metais de transição, em especial com os íons ferro (III) (SILVA, 2009).



**Figura 5.** Reação geral do ácido hidroxâmico com íons ferro (III) (SILVA, 2009).

O teste do ácido hidroxâmico baseia-se na aminólise, que é uma reação nucleofílica entre os derivados de ácidos carboxílicos e a hidroxilamina ( $R_N = \text{H}$ ) ou uma N-alquil/aryl hidroxilamina (**Figura 6**).



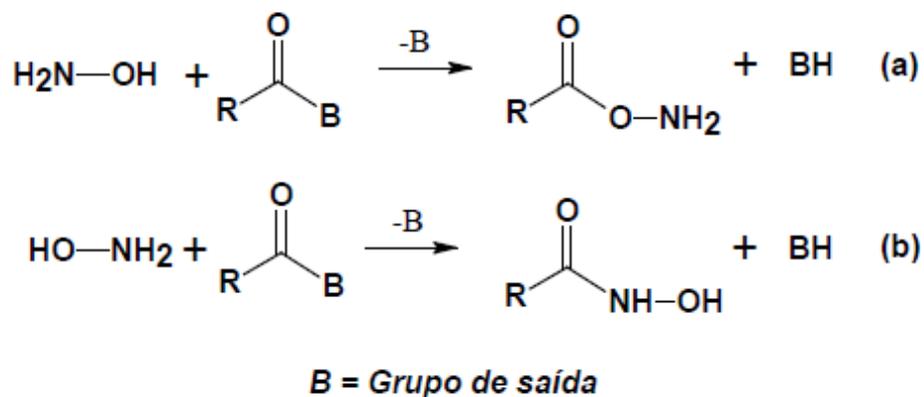
**Figura 6.** Reação de aminólise para síntese de ácidos hidroxâmicos (SILVA, 2009).

Goddu *et al.* mostraram que a concentração de ferro (III) na solução final, e a concentração de ácido, em excesso desejável para neutralizar o hidróxido de sódio necessário para a saponificação são as variáveis mais importantes da reação de complexação de ácidos hidroxâmicos com íons ferro (III). Os resultados mostraram que, para o desenvolvimento da máxima cor, é necessário concentrações de íons férricos iguais ou superiores a 0,002 M. Os resultados também mostraram que uma acidez muito elevada irá dificultar o desenvolvimento da cor. Contudo, com a acidez menor que 0,6 M, cores satisfatórias são obtidas. Uma investigação mais detalhada do efeito da acidez indicou que com a baixa acidez a cor de uma determinada amostra é ligeiramente mais intensa, e é muito mais estável. Como resultado, foi adaptado um procedimento no qual a concentração de ácido após neutralização de hidróxido de sódio é de 0,1 M. As cores assim formadas são estáveis durante várias horas (Goddu *et al.*, 1955).

Goddu *et al.* ainda observaram que ésteres metílicos de ácidos oléico e ésteres metílicos de ácidos aromático apresentaram pouca coloração após 30 minutos da reação em solução alcalina à temperatura de 25°C. Os autores também verificaram que, à temperatura elevada, embora inicialmente houvesse a formação de ácidos hidroxâmicos, contudo, posteriormente, ocorreu à decomposição dos mesmos (Goddu *et al.*, 1955).

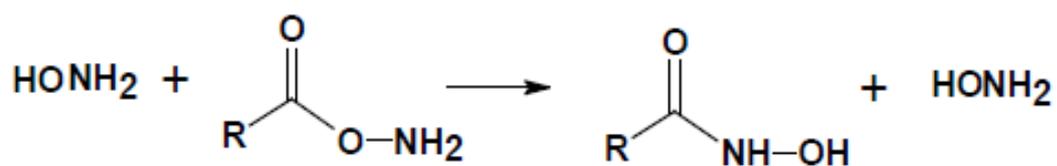
Em 1958, Jencks estudou a reação de grupos acila ativados com hidroxilamina em solução aquosa ou alcoólica (JENCKS, 1958ab). Nesta reação, forma-se, inicialmente, como produto majoritário, um composto instável

(O-acilhidroxilamina, **Figura 7a**) e uma pequena quantidade de N-acilhidroxilamina (ácido hidroxâmico, **Figura 7b**) (JENCKS, 1958ab).



**Figura 7.** Formação da O-acilhidroxilamina (a) e N-acilhidroxilamina (b), a partir da reação de ésteres carboxílicos com hidroxilamina (SILVA, 2009).

Jencks (1958ab) também observou que a O-acilhidroxilamina não produz nenhuma coloração quando reage com o cloreto férrico e reage rapidamente com hidroxilamina concentrada produzindo a N-acilhidroxilamina (**Figura 8**).



**Figura 8.** Formação de N-acilhidroxilamina a partir da reação de O-acilhidroxilamina e hidroxilamina (SILVA, 2009).

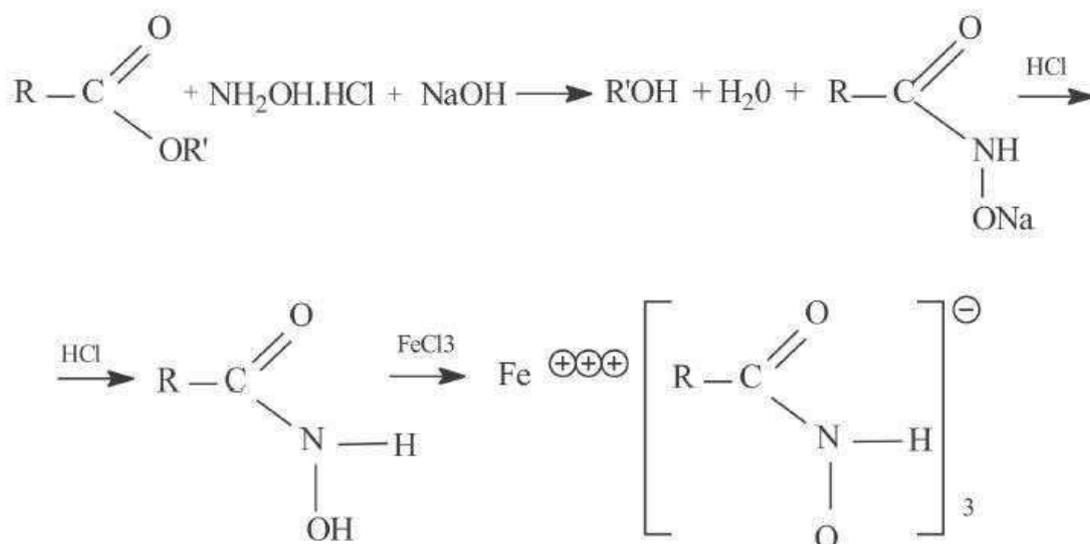
A reação de ácido hidroxâmico de ferro (III) é realizada em meio ácido. Sulfato de amônio férrico tem sido proposto como reagente, o cloreto férrico,

mas especialmente o perclorato férrico é mais comumente utilizado (BARTOS,1979). Os hidroxamatos reagem com sais férricos produzindo um complexo de cor vermelha à violeta, que é extraído em *n*-hexano, e a solução resultante é analisada por espectrofotometria de UV-visível (FEIGL, 1966; COSTA NETO, 2004).

Em 1997, Becker *et al.* relataram que diferentes classes de compostos (os ésteres de ácidos carboxílicos, as lactonas, os anidridos, os halogenetos de acila, os tri-halogenetos geminais, as nitrilas e os nitroalcanos) sofrem reação ao teste do ácido hidroxâmico. Entretanto, os ésteres de ácidos carbônicos, os uretanos, os ésteres do ácido clorofórmico, os ésteres de ácidos sulfônicos, os ésteres de ácidos inorgânicos, os hidrocarbonetos aromáticos e os fenóis não sofrem reação ao teste do ácido hidroxâmico. Vale ressaltar que compostos aromáticos não interferem na reação do teste do ácido hidroxâmico, sendo este um dos compostos constituintes do óleo diesel (BECKER *et al.*, 1997).

Em 2000, Reddy *et al.* estudaram a conversão de ácidos carboxílicos a ácidos hidroxâmicos, sendo que os primeiros devem ser convertidos a anidridos.

Em 2006, Correa *et al.* determinaram o teor de biodiesel em misturas biodiesel:diesel, na faixa de B0 a B5, por um método baseado na reação dos ésteres presentes no biodiesel com o cloridrato de hidroxilamina, em meio alcalino. O sal alcalino do ácido hidroxâmico formado é complexado por uma solução de cloreto férrico e os ésteres são convertidos em hidroxamato férrico por reação com a hidroxilamina. A **Figura 9** apresenta a reação de formação deste complexo (CORREA *et al.*, 2006).



**Figura 9.** Reações químicas envolvidas no teste do ácido hidroxâmico (TAH) para confirmação da presença de ésteres (CORREA *et al.*, 2006).

Em 2009, Brandão *et al.* realizaram a determinação do teor de biodiesel em misturas biodiesel:diesel comerciais com bandeiras, utilizando a espectrofotometria na região do visível como ferramenta analítica nesta determinação. O complexo formado foi analisado no espectrofotômetro UV-Vis na faixa de comprimento de onda de 380 a 650 nm, observando-se o máximo de absorvância no comprimento de onda de 400 nm. Construiu-se a curva analítica com as misturas biodiesel:diesel (B0,5; B1; B2; B3; B4 e B5), obtendo-se um coeficiente de correlação linear de 0,993. A partir da equação da reta calculou-se o teor de biodiesel nas amostras comerciais, depois que as mesmas foram submetidas ao teste do ácido hidroxâmico. O teor de biodiesel encontrado nas amostras analisadas foram próximos ao estabelecido pela legislação em vigor (BRANDÃO *et al.*, 2009). É importante ressaltar que neste trabalho foram analisadas apenas duas amostras pelo teste colorimétrico do

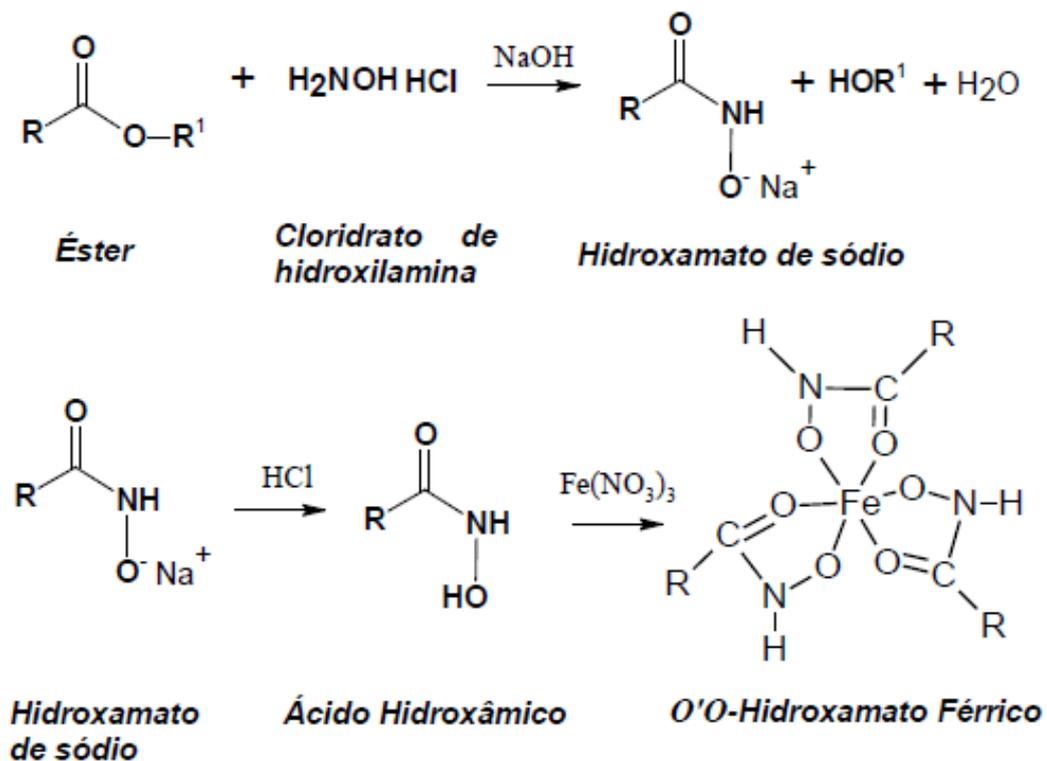
ácido hidroxâmico, e que, também, não foi realizada nenhuma comparação com o método de referência descrito pela ANP (método EN 14078) para tal determinação.

Silva, em 2009, desenvolveu uma metodologia analítica quantitativa para a determinação do teor de biodiesel metílico em óleo diesel por meio da reação dos ésteres metílicos de ácidos graxos com o cloridrato de hidroxilamina em meio alcalino, transformando-os em sais alcalinos do ácido hidroxâmico. Estes foram acidificados e convertidos à ácidos hidroxâmicos, seguido pelo tratamento com íons ferro (III), resultando em complexos coloridos de hidroxamato férrico.

Neste trabalho foi feita uma modificação (**Figura 10**) no teste do ácido hidroxâmico original, descrito por CORREA *et al.*, 2006. Empregou-se o  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  ao invés do  $\text{FeCl}_3$ . Os complexos coloridos de hidroxamato férrico foram posteriormente extraídos em *n*-heptano e analisados por espectroscopia de UV-visível. Vale lembrar que no procedimento descrito por CORREA *et al.*, 2006, os complexos coloridos foram extraídos com *n*-hexano. Neste estudo, fez-se a otimização das variáveis que interferem na reação e, também, se avaliou a exatidão, precisão, e o limite de detecção (LD), entre outros parâmetros, no sentido de avaliar a qualidade do método desenvolvido.

O método mostrou excelente linearidade em pequenos intervalos de variação volumétrica de biodiesel, excelente coeficiente de correlação para a curva de calibração ( $R^2 > 0,99$ ), em uma ampla faixa de comprimento de onda (420 a 440 nm). Desta forma, o método desenvolvido mostrou ser aplicável em uma faixa de teor de biodiesel metílico em óleo diesel (B1 ao B20), sendo

adequado para o controle de qualidade da produção de misturas BX. É importante ressaltar que a técnica de determinação do teor de biodiesel em diesel, desenvolvida é de fácil realização e necessita apenas de instrumentação, reagentes convencionais e conhecimentos básicos em química.



**Figura 10.** Reações envolvidas no teste do ácido hidroxâmico modificado (SILVA, 2009).

Em 2012, Santos, utilizou o teste do ácido hidroxâmico para identificar adulterações por óleo vegetal em misturas biodiesel:diesel. Neste trabalho foi empregada a extração em fase sólida para a separação da mistura biodiesel:diesel:óleo vegetal em duas frações, uma constituída de diesel (fração F<sub>1</sub>) e outra constituída de biodiesel e óleo vegetal (fração F<sub>2</sub>). A partir

da fração F<sub>2</sub>, foi realizada outra extração em fase sólida, para a separação da mistura biodiesel:óleo vegetal nas frações F<sub>3</sub> e F<sub>4</sub>, contendo, respectivamente, biodiesel e óleo vegetal, baseados no método desenvolvido por Andrade, 2011 (Santos, 2012).

Santos empregou o TAH nas frações constituídas por diesel (fração F<sub>1</sub>), biodiesel (fração F<sub>3</sub>) e óleo vegetal (fração F<sub>4</sub>). Como a fração F<sub>1</sub> é constituída apenas por diesel, esta fração não apresentou coloração. Entretanto, as frações F<sub>3</sub> e F<sub>4</sub> apresentaram uma coloração amarela, laranja ou vermelha, dependendo da concentração de biodiesel e/ou óleo vegetal. Com isso, o aparecimento de cor na fração F<sub>4</sub> é uma forma de identificar a presença de adulteração por óleo vegetal na mistura biodiesel/diesel (SANTOS, 2012).

Em 2013, Leite e Fernandes, empregaram o TAH para a identificação de adulteração de óleo vegetal em misturas biodiesel:diesel. Foram analisadas misturas com percentual de biodiesel e/ou óleo vegetal no diesel de até 7 % v/v (B7 – 93% de diesel + 7% de biodiesel com diferentes graus de adulteração com óleos vegetais). O TAH foi realizado nas frações F<sub>1</sub> (constituída de diesel), F<sub>3</sub> (constituída de biodiesel) e F<sub>4</sub> (constituída de óleo vegetal) e nas amostras originais (mistura biodiesel:diesel:óleo vegetal). Os resultados foram comparados com os métodos de espectroscopia na região do IV e a CLAE-UV. O TAH mostrou-se adequado para a detecção de adulterações de misturas de diesel:biodiesel por óleo vegetal, apenas após a etapa prévia de duas extrações em fase sólida, mas, apresentou grande vantagem em relação às outras metodologias, pois pode facilmente, ser adaptado a análises em campo, representando um ganho de agilidade na obtenção de resultados (LEITE, FERNANDES, 2013).

## Capítulo 4. Material e Métodos

### 4.1 Reagentes e Solventes

Os solventes e reagentes utilizados neste trabalho foram obtidos da VETEC (Rio de Janeiro, Brasil) e encontram-se apresentados a seguir: hidróxido de sódio, cloridrato de hidroxilamina P.A. ( $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ), etanol P.A., ácido clorídrico, cloreto férrico hexahidratado P.A. ( $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) e *n*-hexano P.A.

### 4.2 Preparo das amostras de diesel com biodiesel

Neste projeto foram preparadas amostras padrão de diferentes composições de biodiesel em diesel (BX). Para isto foram empregados dois tipos diferentes de diesel, o diesel tipo A S50 (sem biodiesel e com teor de enxofre de até  $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) de coloração amarela e o diesel tipo A S500 (sem biodiesel e com teor de enxofre de até  $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) de coloração vermelha. O biodiesel empregado nas amostras foi o metílico, obtido através do óleo de fritura, cedido pelo Laboratório de Modelagem, Simulação e Controle de Processos (LMSCP/COPPE/UFRJ). O diesel tipo A S50 foi fornecido pela Companhia Brasileira de Petróleo Ipiranga, e o diesel tipo A S500 foi fornecido pela Companhia Raízen.

Foram preparadas dez amostras com composições variadas de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10% v/v (B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9 e B10) de biodiesel no óleo diesel tipo A S50 (diesel amarelo). Preparou-se apenas cinco amostras com composições de 2, 4, 6, 8 e 10% v/v (B2, B4, B6, B8 e B10) de biodiesel no óleo diesel tipo A S500 (diesel vermelho).

Neste projeto também foram analisadas doze amostras reais, ou seja, amostras provenientes de postos de distribuição, constituídas, teoricamente, de diesel com 5% de biodiesel, segundo previsto na atual especificação da ANP (Resolução ANP Nº 14/2012). Destas doze amostras, dez eram constituídas de diesel S500 (diesel de coloração vermelha, com teor de enxofre de até 500 mg.kg<sup>-1</sup>) e apenas duas eram constituídas de diesel S10 (diesel de coloração amarela, com teor de enxofre de até 10 mg.kg<sup>-1</sup>).

#### **4.3 Análise das amostras por espectroscopia na região do infravermelho**

Todas as amostras estudadas neste projeto foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho, para a determinação do teor de biodiesel no diesel, de acordo com o método de referência, EN 14078 (2009), presente na especificação vigente para diesel (Resolução ANP Nº 65 de 09 de dezembro de 2011).

As análises por espectroscopia na região do IV foram realizadas em um equipamento da Thermo Scientific, modelo Nicolet iS5 (**Figura 11**).



**Figura 11.** Equipamento Nicolet iS5 da Thermo Scientific.

As análises foram efetuadas inserindo-se uma pequena quantidade da amostra a ser caracterizada em uma célula de fluoreto de cálcio ( $\text{CaF}_2$ ) para obtenção do seu espectro. A absorvância máxima da banda típica do grupamento carbonila presente em ésteres é obtida em torno do comprimento de onda de  $1745 \text{ cm}^{-1}$ , sendo a quantificação do teor de biodiesel no óleo diesel calculada por meio de uma curva de calibração preparada com amostras de referência (EN 14078, 2009).

Vale lembrar que para as amostras que apresentavam concentrações de biodiesel acima de 6 % (v/v), foi necessário uma diluição prévia com querosene de modo a inseri-las na faixa de linearidade da curva de calibração obtida com diesel.

#### **4.4 Análise das amostras por cromatografia líquida de alta eficiência**

As doze amostras reais foram analisadas por CLAE, para verificar adulteração com óleo vegetal, segundo procedimento descrito por Andrade (2011), em um equipamento da Thermo Scientific (Massachusetts, EUA), modelo Ultimate 3000 (**Figura 12**), 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<sup>TM</sup> de 250mm de comprimento por 4,6 mm de diâmetro interno, com fase octadecilsilano de  $5 \mu\text{m}$  de tamanho de partícula e com  $120 \text{ \AA}$  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 12.** Equipamento Ultimate 3000 da Thermo Scientific.

A análise 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 (ANDRADE, 2011; ANDRADE, MAZZEI, d'AVILA, 2011). As doze amostras foram diluídas 100 vezes (10 µL de amostra e 990 µL da mistura de solventes 2-propanol/n-hexano (5:4, v/v)) e injetadas em duplicata para avaliar possíveis adulterações por óleo vegetal. O volume de injeção das amostras foi de 10 µL.

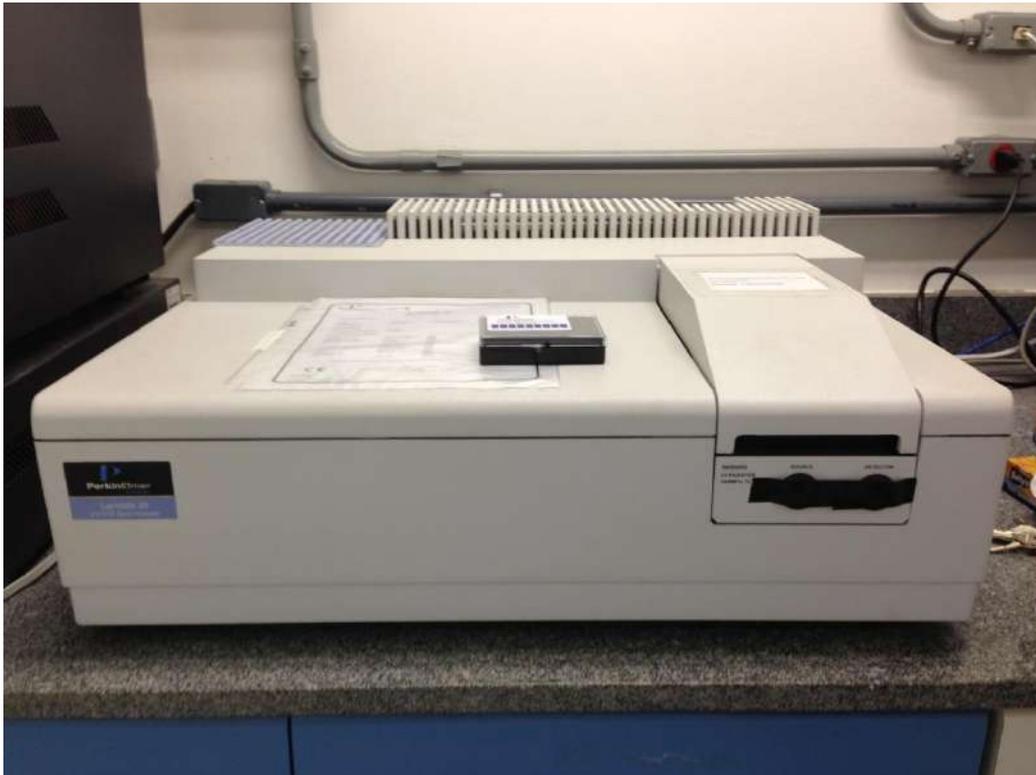
#### **4.5 Análise das amostras pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico**

Todas as amostras estudadas neste projeto foram analisadas pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, segundo procedimento descrito por Correa *et al.*, em 2006.

Neste teste, foram adicionados em tubos de ensaio 1 mL de solução de cloridrato de hidroxilamina (0,5 mol/L em etanol a 95%) e 0,2 mL da solução de hidróxido de sódio (6 mol/L). Estes reagentes foram adicionados a 0,5 mL da amostra e ao branco (contendo apenas etanol 99%), seguido de agitação em vortex.

Os tubos foram colocados no bloco digestor (marca Policontrol) por 3 minutos a uma temperatura de 130°C. Resfriou-se os tubos em água corrente e, em seguida, adicionou-se 4 mL da solução de ácido clorídrico (1 mol/L) em cada tubo e agitou-se. Adicionou-se 2 mL de etanol PA 99% e agitou-se a mistura. Adicionou-se 100 µL da solução de cloreto férrico (5% m/v), sob agitação e finalmente, acrescentou-se 5 mL de *n*-hexano. Os tubos foram novamente agitados e esperou-se ocorrer à separação das fases (CORREA *et al.*, 2006). A fase superior apresentou coloração amarelada à avermelhada, dependendo da quantidade de biodiesel presente na amostra, já que a intensidade da cor é proporcional à concentração do biodiesel.

Após a separação em duas fases, a fase superior de cada amostra foi removida e analisada por espectroscopia na região do UV-Visível, no comprimento de onda de 440 nm. As análises foram realizadas no equipamento Perkin Elmer Lambda 35 UV/VIS (**Figura 13**).



**Figura 13.** Equipamento Perkin Elmer Lambda 35 UV/VIS.

Para serem analisadas no espectro UV-Visível, as amostras foram diluídas em etanol 99%, numa proporção de 1:8 (200  $\mu$ L de amostra em 1400  $\mu$ L de etanol 99%) e lidas no comprimento de onda de 440 nm, utilizando o etanol 99% para zerar o equipamento.

Para encontrar o máximo de absorção, realizou-se uma varredura, no comprimento de onda de 300 a 700 nm, em uma amostra B2 (2% de biodiesel + 98% de diesel amarelo S50). No comprimento de onda de 440 nm observou-se o máximo de absorção da amostra, sendo este o comprimento de onda que foi utilizado para todas as análises feitas no espectrômetro UV-Visível.

#### 4.6 Tratamento estatístico para comparação entre as inclinações de duas retas

De modo a avaliar as inclinações de duas curvas de calibração obtidas com diferentes tipos de diesel (S50, cor amarelo e S500, cor vermelho), fez-se um tratamento estatístico dos dados obtidos. Este tratamento estatístico visa identificar se existe ou não, diferença significativa entre a inclinação das duas retas, e assim verificar se o tipo de diesel utilizado (S50 ou S500) pode influenciar nos resultados do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico. Desta forma, uma seqüência de cálculos estatísticos foi necessária, conforme mostrado a seguir.

Primeiramente, calculou-se a variância residual de cada reta ( $S_e^2$ ) referente às curvas de calibração para os diferentes tipos de diesel. A variância residual de cada reta foi obtida de acordo com a **Equação 1** (MASSART, 1997).

$$S_e^2 = \frac{\sum(e_i)^2}{n - 2}$$

**Equação 1**

Onde:

$e_i$  = resíduo

$n$  = número de concentrações da reta

O resíduo ( $e$ ) é a diferença entre o valor medido ( $y$ ) e a previsão da reta  $\hat{y}$ , e pode ser definido através da **Equação 2** (MASSART, 1997):

$$e_i = y_i - \hat{y}_i$$

**Equação 2**

Após o cálculo da variância residual de cada reta aplicou-se o teste F de Snedecor.

O teste de hipóteses (teste F), proposto por Snedecor, em 1934, avalia o desvio bilateral das variâncias a um nível de significância de 5%, e pode ser descrito através da **Equação 3** (MASSART, 1997).

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

**Equação 3**

Onde:

$S_1^2$  = maior variância

$S_2^2$  = menor variância

Aplicando-se este teste duas hipóteses são testadas:

A) Se as variâncias residuais são iguais ( $S_{e1}^2 = S_{e2}^2$ )

Se o valor do F calculado for menor que o valor do F tabelado ( $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$ ), pode-se afirmar que a hipótese foi aceita e as variâncias são, significativamente, semelhantes. Assim, pode-se calcular a variância agrupada ( $S_{ep}^2$ ) pela **Equação 4** (FERNANDES, 2004).

$$S_{ep}^2 = \frac{(n_1 - 2)S_{e1}^2 + (n_2 - 2)S_{e2}^2}{n_1 + n_2 - 4}$$

**Equação 4**

Onde:

$n_1$  = número de concentrações da reta 1

$n_2$  = número de concentrações da reta 2

$S_{e1}^2$  = variância residual da reta 1

$S_{e2}^2$  = variância residual da reta 2

Em seguida, obtêm-se o valor de t calculado ( $t_{\text{calculado}}$ ) pela **Equação 5** (FERNANDES, 2004).

$$t = \frac{b_{11} - b_{12}}{\sqrt{S_{ep}^2 \left[ \frac{1}{\sum (xi_1 - x_1)^2} + \frac{1}{\sum (xi_2 - x_2)^2} \right]}}$$

**Equação 5**

Onde:

$b_{11}$  = coeficiente angular da reta 1

$b_{12}$  = coeficiente angular da reta 2

$xi$  = valores de concentração

Depois de obtido o valor de t calculado através da **Equação 5**, compara-se com o valor de t tabelado para  $n_1 + n_2 - 4$  graus de liberdade, a um nível de significância de 5 %. Se o valor de t calculado for menor do que o valor de t tabelado, pode-se afirmar que as inclinações das retas são iguais e a mudança de tipo de diesel não influencia os resultados (FERNANDES, 2004).

B) Se as variâncias residuais são diferentes ( $S_{e1}^2 \neq S_{e2}^2$ )

Se o valor do F calculado for maior que o valor do F tabelado ( $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ ), pode-se afirmar que a hipótese não é aceita, e as variâncias residuais das retas são diferentes, logo, não é possível agrupá-las. Então, deve-se calcular o  $t'$  pela **Equação 6** (FERNANDES, 2004).

$$t' = \frac{t_1 S_{b11}^2 + t_2 S_{b12}^2}{S_{b11}^2 + S_{b12}^2}$$

**Equação 6**

Onde:

$t_1$  = t tabelado para  $(n_1 + n_2 - 4)$  graus de liberdade

$t_2$  = t tabelado para  $(n_1 + n_2 - 4)$  graus de liberdade

$$S_{b11}^2 = \frac{S_{e1}^2}{\sum (x_{i1} - x_1)^2} \quad \text{e} \quad S_{b12}^2 = \frac{S_{e2}^2}{\sum (x_{i2} - x_2)^2}$$

Depois de obtido o valor de  $t'$  calculado pela **Equação 6**, deve-se comparar com o valor de t calculado pela **Equação 5**. Se o  $t'$  calculado for menor que o t calculado, tem-se que as inclinações das duas retas são, significativamente, iguais e não existe influência nos resultados devido à mudança de tipo de diesel (FERNANDES, 2004).

#### **4.7 Aplicação do teste T de Student para comparação entre métodos**

Usualmente, nos laboratórios, deseja-se estudar se há diferenças entre dois métodos e, na ocasião da realização dos ensaios, existem duas situações:

a) **amostras independentes**, quando os dados são coletados de tal maneira

que as observações não são relacionadas umas às outras e b) **amostras dependentes** (normalmente, chamadas de pareadas), quando uma mesma amostra é analisada por dois métodos diferentes (LOPES, 2007).

No caso de amostras independentes, faz-se, primeiramente, o teste F para verificar se as variâncias das amostras podem ser consideradas iguais; no caso de amostras dependentes, a aplicação deste teste não é necessária. Em quaisquer dessas situações, os resultados são comparados por meio do teste denominado t (de Student) (LOPES, 2007).

No presente projeto foi realizado um estudo comparativo entre os resultados obtidos pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico e a espectroscopia na região do infravermelho em doze amostras reais. Desta forma, as amostras são dependentes não sendo, portanto, necessária a aplicação do teste F. Assim, para a comparação estatística destes métodos, aplicou-se apenas o **Teste T: duas amostras em par para médias**.

O teste T de Student é um teste de hipóteses, utilizado para avaliar as diferenças entre as médias de dois grupos. Consulta-se a tabela de T, para encontrar o valor de T tabelado e compara-se com o valor de T calculado. Se o valor de T calculado for menor que o valor de T tabelado ( $t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$ ), pode-se afirmar, com 95% de confiança, que os métodos podem ser considerados equivalentes (FERNANDES, 2004).

## Capítulo 5. Resultados e Discussão

### 5.1 Análise das amostras por espectroscopia na região do infravermelho

Todas as amostras estudadas neste projeto (**item 4.2**) foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho (método de referência), segundo procedimento descrito no **item 4.3**, e os resultados, do percentual de biodiesel no diesel, encontram-se apresentados nas **Tabelas 1, 2 e 3**.

A **Tabela 1** apresenta os teores de biodiesel no diesel, teórico e experimental (método EN 14078/2009) de todas as amostras padrão que foram preparadas com o diesel S50 (coloração amarela).

**Tabela 1.** Comparação entre o teor de biodiesel teórico e experimental das amostras preparadas com o diesel amarelo (S50).

Amostra	Teor de biodiesel no diesel (% v/v)	
	Teórico	Experimental (EN 14078)
B10	10,0	9,2 ± 0,3
B9	9,0	8,5 ± 0,3
B8	8,0	7,8 ± 0,3
B7	7,0	6,8 ± 0,3
B6	6,0	5,9 ± 0,3
B5	5,0	4,9 ± 0,3
B4	4,0	4,0 ± 0,3
B3	3,0	3,0 ± 0,3
B2	2,0	2,1 ± 0,3
B1	1,0	1,2 ± 0,3

A **Tabela 2** apresenta os teores de biodiesel no diesel, teórico e experimental (método EN 14078/2009), de todas as amostras padrão que foram preparadas com o diesel S500 (coloração vermelha).

**Tabela 2.** Comparação entre o teor de biodiesel teórico e experimental das amostras preparadas com o diesel vermelho (S500).

Amostra	Teor de biodiesel no diesel (% v/v)	
	Teórico	Experimental (EN 14078)
B10	10,0	9,5 ± 0,3
B8	8,0	7,8 ± 0,3
B6	6,0	6,0 ± 0,3
B4	4,0	4,1 ± 0,3
B2	2,0	2,1 ± 0,3

Os resultados apresentados nas **Tabelas 1 e 2** mostram a similaridade dos valores percentuais de biodiesel no diesel, obtidos teoricamente e experimentalmente, mostrando assim a eficiência do método de referência (EN 14078, 2009) na determinação do teor de biodiesel em misturas com o diesel.

Para as amostras com concentrações de biodiesel acima de 6 % (v/v), foi realizada uma diluição prévia com querosene de modo a inseri-las na faixa de linearidade da curva de calibração obtida com diesel, e provavelmente por esse motivo que as amostras acima dessa concentração estão com uma diferença maior entre o valor experimental e o valor teórico.

A **Tabela 3** apresenta os resultados dos teores de biodiesel no diesel, segundo o método de referência, EN 14078/2009, de todas as amostras reais estudadas neste projeto.

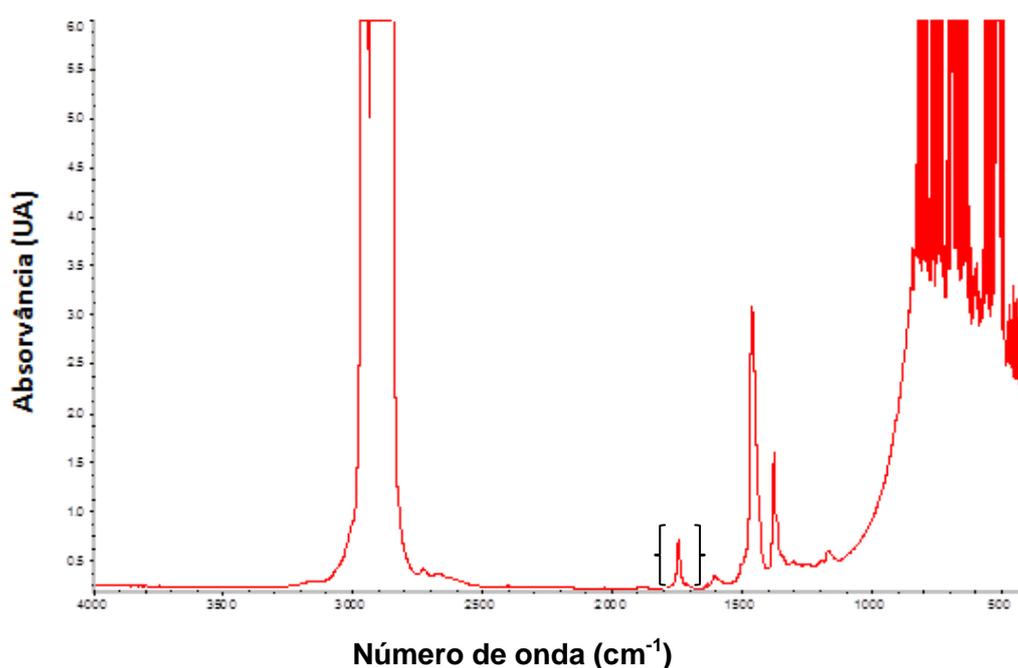
**Tabela 3.** Resultados do teor de biodiesel no diesel das amostras reais.

Amostra	Tipo de diesel	Teor de biodiesel no diesel (% v/v)
1	S500	2,2 ± 0,3
2	S500	4,1 ± 0,3
3	S500	4,5 ± 0,3
4	S500	4,6 ± 0,3
5	S500	4,7 ± 0,3
6	S500	4,8 ± 0,3
7	S500	4,9 ± 0,3
8	S500	4,9 ± 0,3
9	S500	5,0 ± 0,3
10	S500	5,0 ± 0,3
11	S10	5,0 ± 0,3
12	S10	5,3 ± 0,3

Os resultados apresentados na **Tabela 3** mostram que das doze amostras reais (amostras provenientes de postos de distribuição), analisadas pelo método EN 14078/2009, apenas duas (amostras 1 e 2 ) apresentam teor de biodiesel fora da especificação vigente ( $5 \pm 0,5$  % v/v) (Resolução ANP N° 14/2012). Apesar de ter sido analisado um número relativamente pequeno de amostras (doze amostras), este resultado nos sugere que a maioria dos postos

de distribuição tem seguido a determinação da ANP quanto ao teor de biodiesel no diesel.

No **Anexo A** deste trabalho, encontram-se todos os espectros na região de infravermelho, das amostras analisadas pelo método EN 14078/2009. A título de exemplo, na **Figura 14** é apresentado o espectro na região do IV da amostra B5 (5 % de biodiesel e 95% de diesel S500).



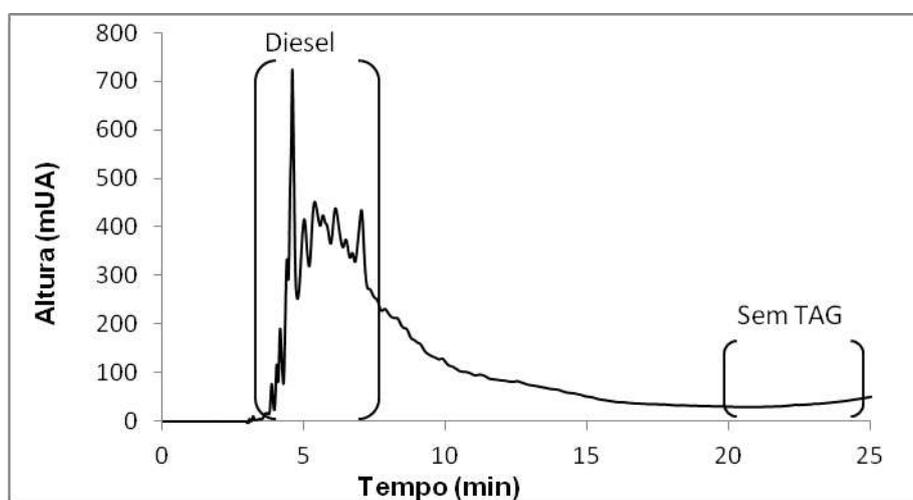
**Figura 14.** Espectro na região do IV da amostra B5.

A banda em destaque na **Figura 14** se refere à banda típica do grupamento carbonila, detectada na região em torno do comprimento de onda de 1745 cm<sup>-1</sup>. Desta forma, quanto maior a altura da banda (absorvância), maior a concentração de compostos carbonilados e conseqüentemente maior será o teor de biodiesel no diesel.

## 5.2 Análise das amostras por cromatografia líquida de alta eficiência

As doze amostras reais estudadas neste projeto foram analisadas por CLAE, de modo a verificar a presença de possíveis adulterações por óleo vegetal. Os cromatogramas de todas essas amostras encontram-se apresentados no **Anexo B** deste trabalho.

A título de exemplo, na **Figura 15** é apresentado o cromatograma obtido por CLAE da amostra real 9 (5 % de biodiesel e 95% de diesel S500).



**Figura 15.** Cromatograma obtido por CLAE da amostra real 9.

Através do perfil cromatográfico apresentado na **Figura 15** é possível concluir que esta amostra não está adulterada com óleo vegetal, uma vez que não apresentou picos na região entre 20 e 25 min, que são característicos dos triacilgliceróis (principal constituinte do óleo vegetal), conforme já discutido na **Figura 3**. Os picos largos na região entre 3 e 10 min é devido à presença de diesel na amostra. Vale lembrar que todas as amostras reais analisadas por CLAE apresentaram o mesmo perfil cromatográfico da **Figura 15**, logo pode-se

concluir que nenhuma das amostras reais estudadas foi adulterada com óleo vegetal.

### 5.3 Análise das amostras pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico

Todas as amostras estudadas neste projeto (ver item 4.2) foram analisadas pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, segundo procedimento descrito no item 4.5. Previamente, as análises quantitativas, as amostras B1 a B10, preparadas com o diesel tipo A S50 (diesel amarelo), foram analisadas qualitativamente e os resultados encontram-se na **Figura 16**.



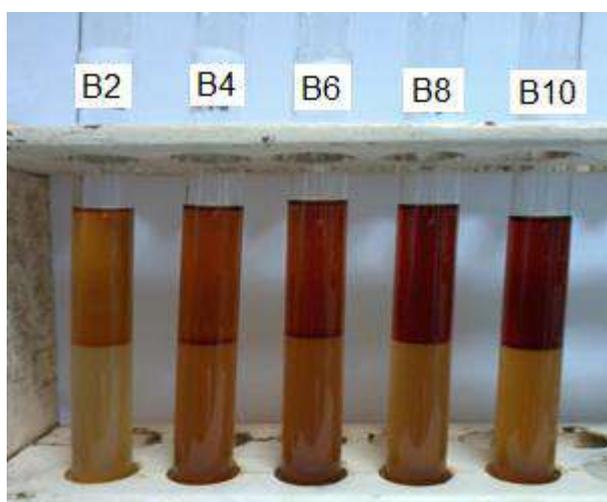
**Figura 16.** Resultado do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas amostras B1 a B10 preparadas com diesel amarelo (S50).

A **Figura 16** mostra que quanto maior o teor de biodiesel no diesel, mais intensa é a cor do complexo formado na fase superior, isso porque, para concentrações mais altas de biodiesel, há mais consumo de sal férrico o que irá produzir uma concentração do complexo hidroxamato férrico maior.

Visualmente, não é possível ver uma diferença significativa na cor em concentrações próximas, por isso a fase superior foi separada e analisada por

espectrofotometria na região do UV-visível, diferentemente de Santos, 2012, que utilizou uma tabela padrão de cores para identificar semi-quantitativamente o teor de biodiesel no diesel. Por espectrofotometria na região do UV-visível, a quantificação do teor de biodiesel no diesel é mais exata.

Para a confecção de uma curva de calibração, as amostras B2, B4, B6, B8 e B10 foram analisadas pelo TAH, em triplicata, e os resultados são apresentados na **Figura 17**.



**Figura 17.** Resultado do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas amostras B2, B4, B6, B8 e B10 preparadas com diesel amarelo (S50).

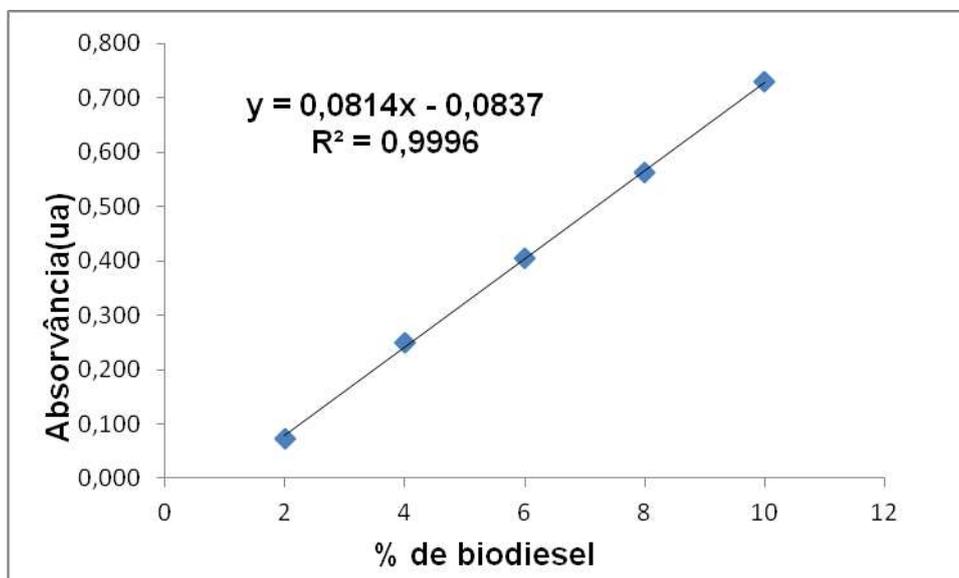
A **Figura 17** também mostra que quanto maior o teor de biodiesel no diesel, mais intensa é a cor do complexo formado na fase superior. Como as concentrações não estão tão próximas consegue-se perceber melhor a diferença na intensidade da cor. No entanto, para a determinação do teor de biodiesel, foi realizada a análise da fase superior por espectrofotometria na região do UV-visível. Os valores de absorvância das amostras B2, B4, B6, B8 e

B10 preparadas com o diesel tipo A S50 (amarelo) encontram-se apresentados na **Tabela 4**.

**Tabela 4.** Valores de absorvância das amostras preparadas com diesel tipo A S50 (amarelo).

<b>Amostra</b>	<b>Absorvâncias (UA)</b>	<b>Média das absorvâncias (UA)</b>
B2	0,116	0,074
	0,017	
	0,090	
B4	0,269	0,249
	0,261	
	0,216	
B6	0,384	0,406
	0,463	
	0,372	
B8	0,584	0,592
	0,512	
	0,590	
B10	0,736	0,731
	0,697	
	0,759	

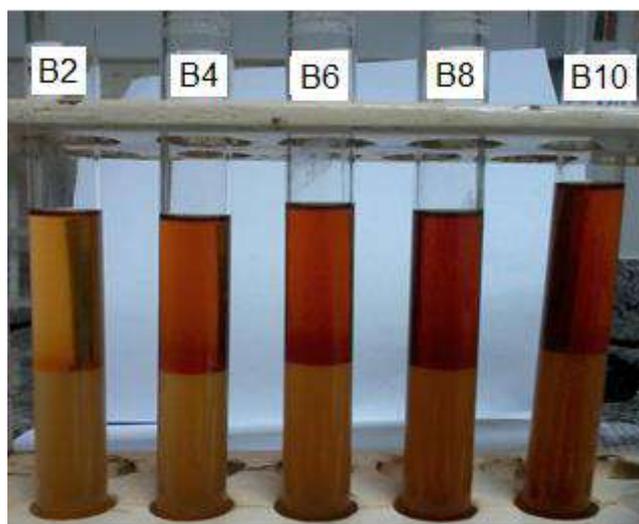
Para a obtenção da curva de calibração, plotou-se um gráfico de percentual de biodiesel versus absorvância e encontrou-se a equação da reta (Figura 18).



**Figura 18.** Curva de calibração para o diesel amarelo (S50).

É observada na **Figura 18** uma relação linear entre o teor de biodiesel e a absorvância. O coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,9996$ ) indica uma forte correlação entre as duas variáveis.

Para a realização de uma curva de calibração para o diesel vermelho (S500), as amostras B2, B4, B6, B8 e B10 foram submetidas ao teste colorimétrico do ácido hidroxâmico (TAH), em triplicata, e os resultados são apresentados na **Figura 19**.



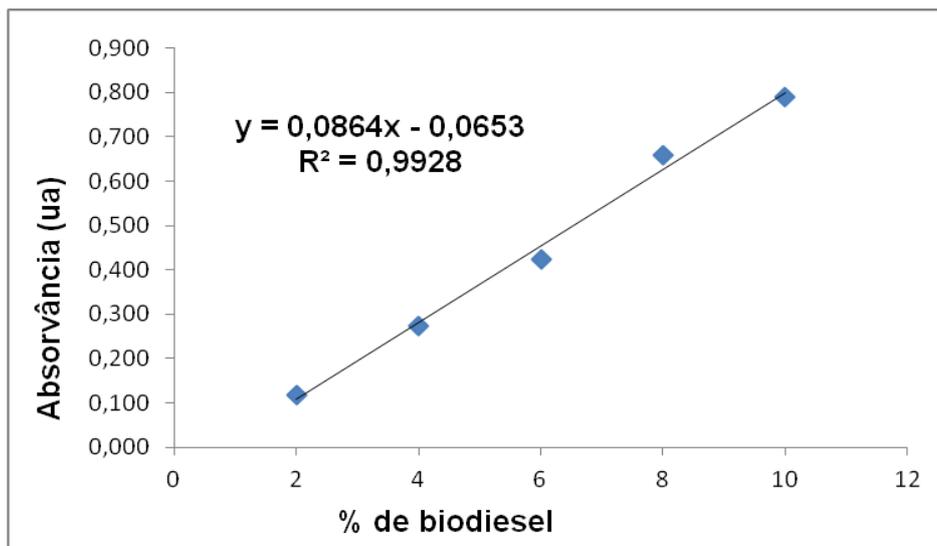
**Figura 19.** Resultado do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico realizado nas amostras B2, B4, B6, B8 e B10 preparadas com diesel vermelho (S500).

Na **Figura 19** também é possível observar a relação direta existente entre a intensidade da cor do complexo formado na fase superior e o teor de biodiesel no diesel. Ou seja, quanto maior o teor de biodiesel no diesel, mais intensa é a cor do complexo formado. Assim, para a quantificação do teor de biodiesel, é necessário a análise da fase superior por espectrofotometria na região do UV-visível. Os valores de absorvância das amostras B2, B4, B6, B8 e B10 preparadas com o diesel tipo A S500 (vermelho) encontram-se apresentados na **Tabela 5**.

**Tabela 5.** Valores de absorvância das amostras preparadas com diesel tipo A S500 (vermelho).

<b>Amostra</b>	<b>Absorvâncias (UA)</b>	<b>Média das absorvâncias (UA)</b>
	0,114	
B2	0,130	0,118
	0,109	
	0,281	
B4	0,283	0,274
	0,259	
	0,409	
B6	0,433	0,424
	0,431	
	0,720	
B8	0,535	0,659
	0,722	
	0,628	
B10	0,874	0,7890
	0,865	

Para a obtenção da curva de calibração, plotou-se um gráfico de percentual de biodiesel versus absorvância, e encontrou-se a equação da reta **(Figura 20)**.



**Figura 20.** Curva de calibração para o diesel vermelho (S500).

É observado, na **Figura 20**, uma relação linear entre o teor de biodiesel e a absorvância. O coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,9928$ ) indica uma forte correlação entre as duas variáveis.

Através dos resultados observamos que quanto maior o teor de biodiesel no diesel, mais intensa é a cor do complexo formado na fase superior. Como as concentrações das amostras são muito próximas, com exceção da amostra 1, que apresenta um teor de biodiesel no diesel de 2,2%, segundo o método de referência (EN 14078, 2009), não consegue-se perceber claramente a diferença na intensidade da cor da fase superior. Desta forma, para a quantificação do teor de biodiesel nas amostras, a camada superior foi separada e analisada por espectrofotometria na região do UV-visível. Os valores da média das absorvâncias, referente à análise em triplicata, das doze amostras reais, encontram-se apresentados na **Tabela 6**.

**Tabela 6.** Valores de absorvância das amostras reais.

<b>Amostra</b>	<b>Média das absorvâncias (UA)</b>
1	0,160
2	0,300
3	0,347
4	0,327
5	0,394
6	0,410
7	0,381
8	0,390
9	0,337
10	0,337
11	0,401
12	0,407

Aplicando-se dos dados apresentados na **Tabela 6**, nas equações das retas mostradas na **Figura 18** (curva de calibração para o diesel amarelo -S50) e na **Figura 20** (curva de calibração para o diesel vermelho - S500), obteve-se o teor de biodiesel, pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, das doze amostras reais (**Tabela 7**). Nesta tabela, além dos resultados obtidos pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico, também se encontram os resultados obtidos pela espectroscopia na região do IV.

**Tabela 7.** Resultado do teor de biodiesel das amostras reais, utilizando o teste colorimétrico do ácido hidroxâmico e a espectroscopia na região do IV.

<b>Teor de biodiesel no diesel (% v/v)</b>			
<b>Amostra</b>	<b>IV*</b>	<b>TAH – diesel Amarelo**</b>	<b>TAH – diesel Vermelho**</b>
1	2,2 ± 0,3	3,0 ± 1,1	2,6 ± 0,8
2	4,1 ± 0,3	4,7 ± 1,1	4,2 ± 0,8
3	4,5 ± 0,3	5,3 ± 1,5	4,8 ± 1,2
4	4,6 ± 0,3	5,0 ± 1,2	4,5 ± 0,9
5	4,7 ± 0,3	5,9 ± 1,4	5,3 ± 1,1
6	4,8 ± 0,3	6,1 ± 1,2	5,5 ± 0,9
7	4,9 ± 0,3	5,7 ± 1,2	5,2 ± 0,9
8	4,9 ± 0,3	5,8 ± 2,4	5,3 ± 2,0
9	5,0 ± 0,3	5,2 ± 1,1	4,7 ± 0,9
10	5,0 ± 0,3	5,2 ± 1,1	4,7 ± 0,9
11	5,0 ± 0,3	6,0 ± 1,1	5,4 ± 0,9
12	5,3 ± 0,3	6,0 ± 1,3	5,5 ± 1,0

*\*Incerteza expandida calculada pelo Labcom.\*\*Incerteza padrão tipo A estimada através do desvio padrão de três determinações em condições de repetibilidade.*

Através dos resultados apresentados na **Tabela 7** podemos verificar que os resultados do teor de biodiesel, obtidos pelo TAH estão bem semelhantes aos resultados obtidos pela espectroscopia na região do IV. Observa-se também, que de um modo geral, os resultados do TAH obtidos usando a equação da reta do diesel vermelho possuem valores relativamente menores do que os resultados obtidos usando a equação da reta do diesel amarelo.

Mesmo assim os resultados se mostraram bem concordantes, entretanto, só pode-se ter certeza se os resultados fornecidos pelas duas equações das retas são semelhantes, se for efetuado um tratamento estatístico para comparação das inclinações das duas retas, conforme descrito no **item 4.6**.

#### **5.4 Tratamento estatístico para comparação entre as inclinações de duas retas**

A fim de avaliar se as inclinações das duas curvas de calibrações, obtidas com o diesel S50 (cor amarelo) e o diesel S500 (cor vermelho), são significativamente semelhantes, fez-se o tratamento estatístico descrito no **item 4.6**.

O primeiro passo foi calcular a variância residual de cada reta ( $Se^2$ ), pela **Equação 1 (item 4.6)**, referente às curvas de calibração para os diferentes tipos de diesel. Para isto, fez-se necessário calcular, previamente, o resíduo ( $e$ ), através da **Equação 2 (item 4.6)**. Os resultados da variância residual da reta da curva de calibração com o diesel tipo A S50 (amarelo) e S500 (vermelho), encontram-se, respectivamente, apresentados nas **Tabelas 8 e 9**.

**Tabela 8.** Resultado da variância residual ( $Se^2$ ) da reta da curva de calibração do diesel amarelo (S50) – Reta 1.

<b>Teor</b>	<b>Valor</b>	<b>Previsão da</b>	<b>Resíduo</b>		<b>Variância</b>
<b>biodiesel</b>	<b>Medido (Y)</b>	<b>Reta1 (^Y)</b>	<b>(e)</b>	<b>e<sup>2</sup></b>	<b>(Se<sup>2</sup>)</b>
<b>(%)</b>	<b>(Abs)</b>	<b>(Abs)</b>			
<b>2</b>	0,114	0,1075	0,006	0,000042	0,023001
	0,130	0,1075	0,023	0,000104	
	0,109	0,1075	0,001	0,000002	
<b>4</b>	0,281	0,2803	0,001	0,000000	
	0,283	0,2803	0,003	0,000007	
	0,259	0,2803	-0,021	0,000454	
<b>6</b>	0,409	0,4531	-0,044	0,001945	
	0,433	0,4531	-0,020	0,000404	
	0,431	0,4531	-0,022	0,000488	
<b>8</b>	0,535	0,6259	-0,091	0,008263	
	0,720	0,6259	0,094	0,008855	
	0,722	0,6259	0,096	0,009235	
<b>10</b>	0,628	0,7987	-0,171	0,029138	
	0,874	0,7987	0,075	0,005670	
	0,865	0,7987	0,066	0,004396	
			$\Sigma e^2$	0,069004	

**Tabela 9.** Resultado da variância residual ( $Se^2$ ) da reta da curva de calibração do diesel vermelho (S500) – Reta 2.

<b>Teor biodiesel (%)</b>	<b>Valor Medido (Y) (Abs)</b>	<b>Previsão da Reta 2(^Y) (Abs)</b>	<b>Resíduo (e)</b>	<b><math>e^2</math></b>	<b>Variância (<math>Se^2</math>)</b>
2	0,116	0,0789	0,037	0,00138	0,00594
	0,017	0,0789	-0,062	0,00383	
	0,090	0,0789	0,011	0,00012	
4	0,269	0,2415	0,028	0,00076	
	0,261	0,2415	0,020	0,00038	
	0,216	0,2415	-0,026	0,00065	
6	0,384	0,4041	-0,020	0,00040	
	0,463	0,4041	0,059	0,00347	
	0,372	0,4041	-0,032	0,00103	
8	0,584	0,5667	0,017	0,00030	
	0,512	0,5667	-0,055	0,00299	
	0,590	0,5667	0,023	0,00054	
10	0,736	0,7293	0,007	0,00004	
	0,697	0,7293	-0,032	0,00104	
	0,759	0,7293	0,030	0,00088	
			$\Sigma e^2$	0,01783	

O segundo passo, depois de calculada a variância residual de cada reta, foi aplicar o teste F de Snedecor. Desta forma, calculou-se o valor de F (F calculado), através da **Equação 3 (item 4.6)** e comparou-se com o valor tabelado de F (**Anexo C**). Os resultados de F calculado e tabelado são apresentados na **Tabela 10**.

**Tabela 10.** Valores de F tabelado e F calculado.

F tabelado	F calculado
9,605*	3,87

\*O F tabelado foi retirado da tabela F (Anexo C), com número de graus de liberdade do numerador e denominador igual a 4.

Como o valor de F calculado é menor do que o valor de F tabelado (**Tabela 10**) pode-se afirmar que a hipótese foi aceita e as variâncias das duas equações são, significativamente, semelhantes. Sendo assim, calculou-se variância agrupada ( $S_{ep}^2$ ), pela **Equação 4 (item 4.6)**, o valor de t pela **Equação 5 (item 4.6)** e comparou-se com o valor tabelado de t (**Anexo D**). Os resultados da variância agrupada ( $S_{ep}^2$ ), t calculado e t tabelado são apresentados na **Tabela 11**.

**Tabela 11.** Valores de variância agrupada ( $S_{ep}^2$ ), t tabelado e t calculado.

$S_{ep}^2$	t calculado	t tabelado
1,02	0,039	2,45*

\*O t tabelado foi retirado da tabela t (Anexo D), para  $n_1 + n_2 - 4$  graus de liberdade (6 graus de liberdade), com 5 % de significância ( $P=0,05$ ).

Como o valor de t calculado é menor que o valor de t tabelado (**Tabela 11**), pode-se afirmar que as inclinações das retas são iguais, logo o tipo de diesel (S50, amarelo ou S500, vermelho) não influencia nos resultados do teste colorimétrico do ácido hidroxâmico.

### 5.5 Aplicação do teste t de Student para comparação entre métodos

Para verificar se os resultados fornecidos pelo teste colorimétrico do ácido hidroxâmico são equivalentes aos obtidos pelo método tradicional, previsto na ANP (EN 14078/2009), aplicou-se o teste t nas doze amostras reais. Os resultados de t calculado e tabelado são apresentados na **tabela 12**.

**Tabela 12.** Resultados do teste t para as amostras reais.

Diesel Amarelo		Diesel Vermelho	
<b>t tabelado</b>			
2,205*			
<b>t calculado</b>	0,00022	<b>t calculado</b>	0,026

\*O t tabelado foi obtido por interpolação da tabela t (Anexo D), para n - 1 graus de liberdade (11 graus de liberdade), com 5 % de significância (P=0,05).

Como o valor de t calculado (diesel amarelo e vermelho) é menor que o valor de t tabelado (**Tabela 12**), pode-se afirmar com 95% de confiança que os métodos (TAH e espectroscopia na região do IV) podem ser considerados equivalentes.

## Capítulo 6. Conclusões

O teste do ácido hidroxâmico mostrou-se eficaz para a determinação qualitativa e quantitativa do teor de biodiesel em misturas diesel:biodiesel. Este método apresentou resultados estatisticamente semelhantes ao método da espectroscopia na região do IV e que o tipo de diesel utilizado (S500 ou S50) não influencia no resultado das análises.

O teste do ácido hidroxâmico destaca-se em relação ao método da espectroscopia na região do IV por ser simples, rápido, de baixo custo e pode facilmente ser adaptado a análises em campo, representando um ganho de agilidade para a detecção do teor de biodiesel no diesel. Além disso, a utilização de reagentes de baixo custo e de baixa toxicidade torna o método ainda mais promissor.

A espectroscopia na região do IV (método de referência EN 14078) é capaz de determinar o teor de biodiesel de maneira simples e rápida, porém é uma técnica de alto custo e não aplicada para análises em campo. Este método ainda possui como desvantagem o fato de não detectar adulterações com óleos vegetais.

A cromatografia líquida de alta eficiência se mostrou útil para a determinação de adulteração, por óleos vegetais, em amostras reais. Assim, esta metodologia é uma boa alternativa para a detecção de adulterações de misturas biodiesel:diesel já que o método tradicional (EN 14078) não é capaz de detectar adulterações, por óleos vegetais.

## **Capítulo 7. Perspectivas Futuras**

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

- 1) Otimizar o método a fim de diminuir suas incertezas.
- 2) Realizar extração em cartucho de fase sólida, conforme descrito por Santos 2012, de modo a identificar possíveis adulterações por óleo vegetal.
- 3) Validar o método do TAH, a fim de mostrar se o método apresenta capacidade de desempenho adequada para a sua finalidade.

## 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: 14 de agosto de 2013.)

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS – ANP. Resolução nº 14, de 19 de março de 2012. Disponível em: <<http://www.anp.org.br>>. Acesso em: 14 de agosto de 2013.)

ALISKE, M. A. **Medidas de espectroscopia no infravermelho médio para a determinação do teor de biodiesel em óleo diesel**; Dissertação de M.Sc., Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais – PIPE, Curitiba, 2010.

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.

ARAUJO, M.R.; Regulação do Biodiesel - **Especificação e Controle de Qualidade**. Superintendência de Qualidade de Produtos, Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 2005.

BARTOS, J. **Colorimetric Determination Organic Compounds by Formation of Hydroxamic Acids**, Centre de Recherches Roussel-Uclaf, F-93230 Romainville, Dezembro, 1979.

BIOTECHNOS. **Programa de Responsabilidade Sócio-Ambiental**. Disponível em: <<http://www.biotechnos.com.br/programas-de-responsabilidade-socio-ambiental>>. Acesso em: 12 de agosto de 2013.

BRANDAO, C.M.; ROSA, L.S.; CORDEIRO, C.I.; VIANA, F.B.; MARTINS, C.R.; VASCONCELOS, A.F.F; MARTINS L.S.P; **Determinação de teor de biodiesel em misturas biodiesel: diesel utilizando espectrofotometria UV-Vis**; 32<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, 2009.

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

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.

CAETANO, M.; **Produção de biodiesel até maio é recorde no Brasil** Disponível em: <http://www.valor.com.br/agro/3182208/producao-de-biodiesel-ate-maio-e-recorde-no-brasil-diz-abiove>. Acesso em 03/07/2013.

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

CANDEIA R.A.; **Biodiesel de Soja: Síntese, Degradação e Misturas Binárias,** Tese de doutorado, Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

CASTRO, Bruno César Santos de. **Otimização das Condições da Reação de Transesterificação e Caracterização dos Rejeitos dos Óleos de Fritura e de Peixe para Obtenção de Biodiesel,** Dissertação de M.Sc., Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

CORREA, CAMILA; **Avaliação do uso de espectroscopia no infravermelho para controle e garantia da qualidade da blenda biodiesel/diesel usando cartas de controle multivariadas;** Trabalho de conclusão de graduação, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 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.

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

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

FAGUNDES, F. P.; SILVA, A. S.; SOUTO, C. R. O.; GARCIA, R. B.; COSTA, M; **Utilização de técnicas espectroscópicas na determinação do percentual de biodiesel em misturas binárias com o diesel; 4º PDPETRO,** São Paulo, 2007.

FARIA; R.C.M; REZENDE, M.J.C; REZENDE, C.M; PINTO, A.C.; **Desenvolvimento e validação de metodologia de análise de misturas**

**biodiesel:diesel utilizando cromatografia gasosa-espectrometria de massa**; Química Nova, v.30, p.1900-1905, 2007.

FAZARY, A.E. **Thermodynamic studies on the o=protonation equilibria of some hydroxamic acids in NaNO<sub>3</sub> solutions in water and I mixtures of water and dioxane**; Journal of Chemical & Engineering Data, v.59, p.888-895, 2005.

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

FERNANDES, D. R.; **Estudo da determinação eletroquímica de enxofre elementar em gasolina**, Dissertação de M.Sc., Universidade Federal do Rio de Janeiro , Rio de Janeiro, 2004.

FERTIBOM TECNOLOGIA LTDA. (BR/SP); Carla Cristina Costa Macedo da Silva / Donato Alexandre Gomes Aranda, **Processo para determinação volumétrica de biodiesel em diesel**. BR n. PI 1004178-8 A2, 29 outubro 2010, 20 agosto 2013.

FONSECA, Fábio dos Santos. **Espectrometria no infravermelho médio e calibração multivariada por PLS para quantificação de biodiesel metílico e etílico de soja, milho e girassol em misturas com diesel**, Dissertação de M.Sc., Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

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

GAYDOU, V; KISTER, J; KISTER, N.D; **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, 2010.

GODDU, R. F; LEBLANC, N. F; WRIGHT C. M; **Spectrophotometric Determination of Esters and Anhydrides by Hydroxamic Acid Reaction**, Analytical Chemistry, v.27, p.1251–1255, 1955.

GOES, T., ARAÚJO, M., MARRA, R. **Biodiesel e sua Sustentabilidade**, EMBRAPA, p.19, 2010. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2010>> Acesso em: 23 maio 2013.

GUARIEIRO, L.L.N; PINTO, A.C; AGUIAR, P.F; RIBEIRO, N.M; **Metodologia analítica para quantificar o teor de biodiesel na mistura biodiesel: diesel**

**utilizando espectroscopia na região do infravermelho**, Química Nova, v. 31, p.421-426, 2008.

GUARIEIRO, L.L.N; RIBEIRO, N.M; PINTO, A.C; **Desenvolvimento de metodologia para quantificação das misturas biodiesel:diesel por infravermelho**, 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás, Salvador, 2004.

GUINOTE, P. A. V. R., **Procedimentos laboratoriais para o controlo da qualidade do Biodiesel**, Dissertação de M.Sc, Instituto superior técnico, Universidade técnica de Lisboa, 2007.

HILL, UNO T. ;**Colorimetric Determination of Fatty Acids and Esters**, Inland Steel Company, East Chicago, maio, 1946.

JENCKS, W.P.; **The reaction of hydroxylamine with activated acyl group.I. Formation of O-Acylhydroxylamine**; Journal of the American Chemical Society; v.80, p. 4581-4584, 1958a.

JENCKS, W.P.; **The reaction of hydroxylamine with activated acyl group.II. Mechanism of reaction**; Journal of the American Chemical Society; v.80, p. 4585-4588, 1958b.

KNOTHE, G.; **Determining the blend level of mixtures of biodiesel with conventional diesel fuel by fiber-optic near-infrared spectroscopy and 1H nuclear magnetic resonance spectroscopy**, Journal of American Oil Chemical Society, v.78, p. 1025-1028, 2001.

LEITE, D.S.S; FERNANDES, T.E.S, **Desenvolvimento de Método para Separação e Identificação de Biodiesel e/ou Óleos Vegetais em BX**, Projeto final de curso, Escola de Química, Universidade federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

LIMA, J. R. O.; SILVA, R. B.; SILVA, C. C. M.; SANTOS, L. S. S.; SANTOS JR., J. R.; MOURA, E. M.; MOURA, C. V. R.; **Biodiesel de Babaçu (Orbignya sp.) Obtido por Via Etanólica**, Química Nova, v.30, p.600-603, 2007.

LIPMANN, F.; TUTTLE, L.C.A. **Specific micromethod for the determination of acyl phosphates**, Biological Chemistry, v.159, p.21-28, 1945.

LÔBO, I.P.; FERREIRA, S. L. C. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, v.32, 2009.

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

LOSSEN, W. Annalen der Chemie, v.161, p.347,1872.

- MA, F.; HANNA, M. A. **Biodiesel production: a review**, Bioresource Technology, v.70, p.1-15, 1999.
- MARTINS, H.; CARVALHO, A. M.. **Biodiesel: produção e desafios**, Sempre, p.224, 2007.
- MASSART, D.L. *et al*; **Handbook of chemometrics and qualimetrics: part A**, v. 20A, Elsevier: New York, 1997.
- MEDEIROS DE LIMA, A. **Estudos recentes e perspectivas da viabilidade técnico-econômica da produção de biodiesel**. Documento da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2011.
- MONTEIRO, M. R.; AMBROZIN, A. R. P.; CHINELATTO, M. A.; **Utilização de FT-IR para a quantificação de misturas de biodiesel e diesel mineral**, Anais da 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, São Paulo, 2008.
- MONTEIRO, M. R.; AMBROZIN, A. R. P.; LIAO, L. M.; FERREIRA, A. G.; **Determination of biodiesel blend levels in different diesel samples by 1H NMR**, Fuel, v.88, p.691-696, 2009.
- MORAES, M. S. A.; ZINI, C. A.; GOMES, C. B.; **Uso da cromatografia gasosa bidimensional (GCxGC) na caracterização de misturas biodiesel/diesel: Aplicação ao biodiesel de sebo bovino**, Química Nova, v.34, p.1188-1192, 2011.
- MUDGE, S. M.; PEREIRA, G. **Stimulating biodegradation of crude oil with biodiesel preliminary results**, Spill science and Technology Bulletin, v. 5, p.353-355, 1999.
- OLIVEIRA, F.C.C.; BRANDÃO, C.R.R.; RAMALHO, H.F.; COSTA, L.A.F.; SUAREZ, P.A.Z.; RUBIM, J.C.A.; **Adulteration of diesel/biodiesel blends by vegetable oil as determined by Fourier transform (FT) near infrared spectrometry and FT-Raman spectroscopy**, Analytica Chimica Acta, v.587, p.194-199, 2007.
- NEVES, L.C., **Avaliação do método analítico para quantificação do teor de biodiesel em óleo diesel empregando a titrimetria**, Dissertação de M.Sc., Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Rio de Janeiro, 2012.
- 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, F. P.; TEIXEIRA, L. S. G.; RIBEIRO, G. M. S.; CRUZ, R. S.; Stragevitch, L.; Filho, J. G.A. P.; **Determination of biodiesel content when blended with mineral diesel fuel using infrared spectroscopy and multivariate calibration**, Microchemical Journal, v.82, p.201-206, 2006.

PINHEIRO, L. I. E FERREIRA, C. S. L; **Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos**, Química Nova, v.32, p.1596-1608, 2009.

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

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.

REDDY, A.S.; KUMAR, M.S.; RDDY, G.R.A.; **A convenient method for the preparation of hydroxamic acids**, Tetraedron letters, v.41, p.6285-6288, 2000.

RINALDI, R., GARCIA, C., MARCINIUK, L.L., ROSSI, V., SCHUCHARDT, U. **Síntese de biodiesel: uma proposta contextualizada de experimento para laboratório de química geral**. Química Nova, v.30, p. 1374-1380, 2007.

ROUSHDY, M.I.; ISSA, Y.M.; EL-ZEIN, S.M.; EL-DEEN HARB, F.M.S.; **Potentiometric and conductometric studies on Fe<sup>3+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, and Cu<sup>2+</sup> complexes with some hydroxamicacis derivatives**; Materials chemistry and physics, v.58, p.182-186, 1999.

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 M. Sc., 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.

SILVA, M.A.A; **Determinação espectrofotométrica do teor de biodiesel metílico em misturas com óleo diesel**, Dissertação de M.Sc., Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

SILVA, W.P.; BURLAMAQUI, M. G. B.; **As Reações Químicas do Biodiesel**, 2009. Disponível em:< <http://portaldoprofessor.mec.gov.br/fichaTecnicaAula.html?aula=6100>>. Acesso em: 26 de agosto de 2013.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X.; **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6a Ed., Editora Livros Técnicos e Científicos, São Paulo, 1998.

SKROBO, L. VINICIUS; **Especificação e Controle da Qualidade do Biodiesel e do Óleo Diesel**, Disponível em: <[http://www.cnpae.embrapa.br/eventos/apresentacoes-biodiesel/0000012766-Vinicius\\_ANP.pdf](http://www.cnpae.embrapa.br/eventos/apresentacoes-biodiesel/0000012766-Vinicius_ANP.pdf)>. Acesso em 03/07/2013.

THOMPSON, A.R; **A Colorimetric Method for the Determination of Esters**, Australian Journal of Scientific Research, v.3, p.128, 1950.

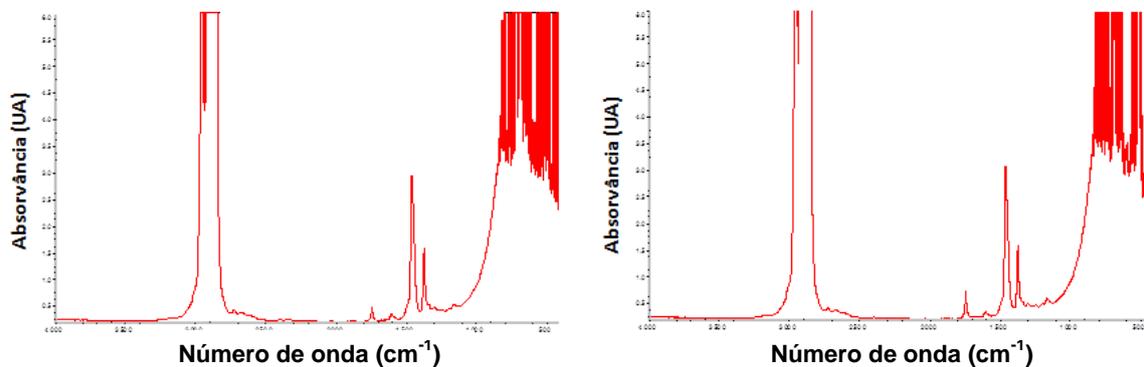
VASCONCELOS, F. V. C. DE; SOUZA JÚNIOR, P. F. B. DE; PIMENTEL, M. F.; PONTES, M. J. C.; PEREIRA, C. F.; **Using Near-Infrared Overtone Regions to Determine Biodiesel Content And Adulteration Of Diesel/Biodiesel Blends With Vegetable Oils**. Analytica Chimica Acta, v.716, p.101-107, 2012.

ZAGONEL, G.F., RAMOS, L.P. **Multivariate monitoring of soybean oil ethanolysis by FTIR**; Talanta, v.63, p.1021-1025, 2004.

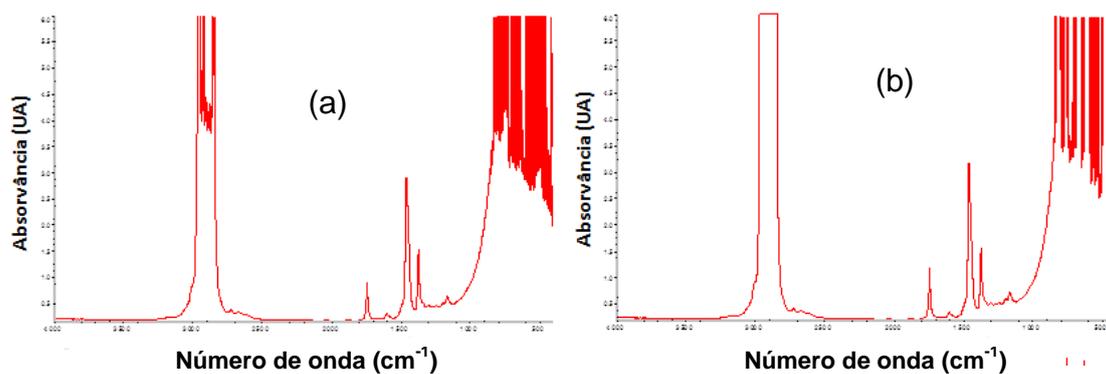
**ANEXO A – IDENTIFICAÇÃO, POR CLAE, DOS COMPONENTES PRESENTES NOS PRODUTOS DE TRANSESTERIFICAÇÃO (ADAPTADO DE ANDRADE, 2011).**

<b>Classes</b>	<b>Código</b>	<b>Nome</b>
MAG	A	1 + 2-Monolinolenina
	B	1 + 2-Monolinoleína
	C	1 + 2-Monooleína
EsMAG	D	Linolenato de metila
	E	Linoleato de metila
	F	Oleato de metila
DAG	G	1,2 + 1,3-Dilinenina
	H	1,2 + 1,3-Linoleoil-linolenoil-glicerol
	I	1,2 + 1,3-Dilinoeína + 1,2 + 1,3-Oleoil-linolenoil-glicerol
	J	1,2 + 1,3-Oleoil-linoleoil-glicerol
	L	1,2 + 1,3-Dioleína
TAG	M	Trilinenina
	N	Dilinenoil-linoleoil-glicerol
	O	Dilinoeoil-linolenoil-glicerol+ Dilinenoil-oleoil-glicerol
	P	Trilinoeína+ oleoil-linoleoil-linolenoil-glicerol
	Q	Dilinoeoil-oleoil-glicerol+ Dioleoil-linolenoil-glicerol
	R	Dioleoil-linoleoil-glicerol
	S	Trioleína
	T	Dioleoil-gadoleoil-glicerol

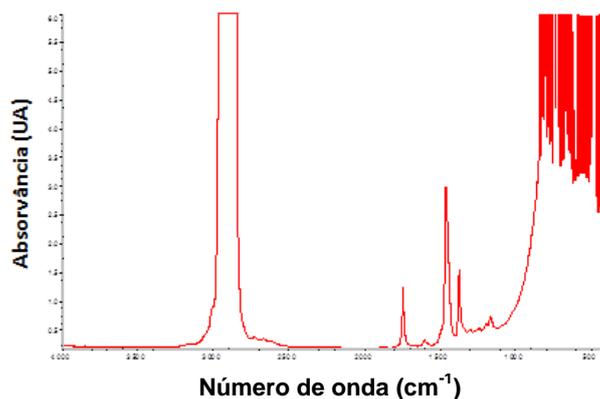
## ANEXO B – ESPECTROS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO



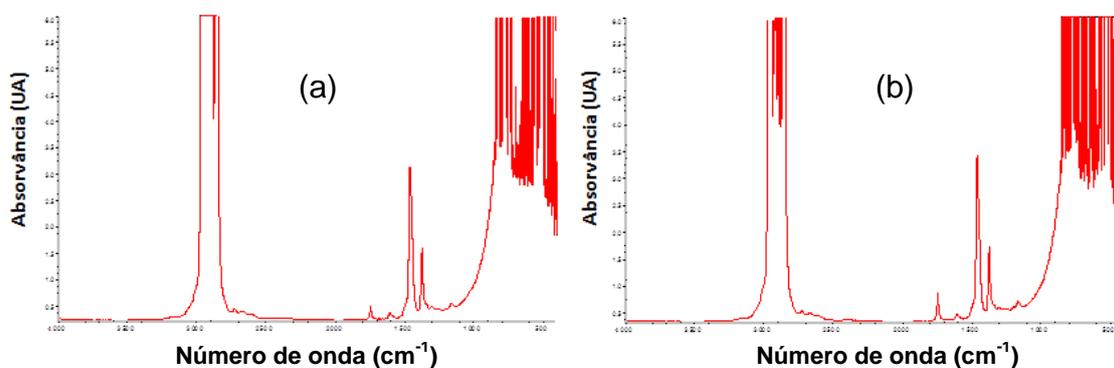
**Figura 1.** Espectro na região do IV das amostras B2 (a) e B4 (b) feitas com diesel amarelo (S50).



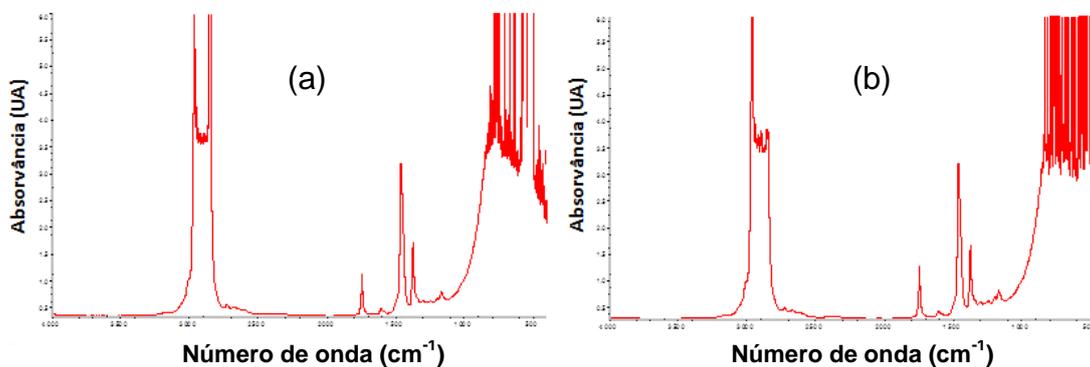
**Figura 2.** Espectro na região do IV das amostras B6 (a) e B8 (b) feitas com diesel amarelo (S50).



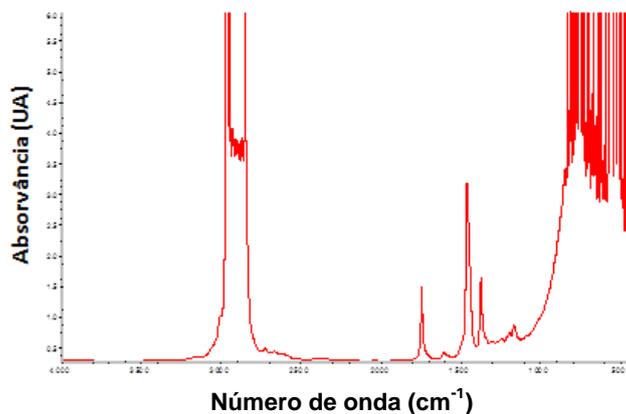
**Figura 3.** Espectro na região do IV da amostra B10 feita com diesel amarelo (S50).



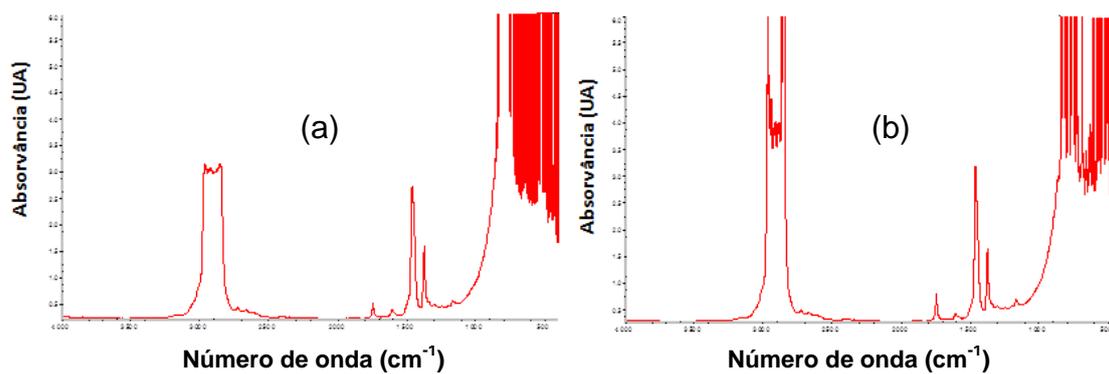
**Figura 4.** Espectro na região do IV das amostras B2 (a) e B4 (b) feitas com diesel vermelho (S500).



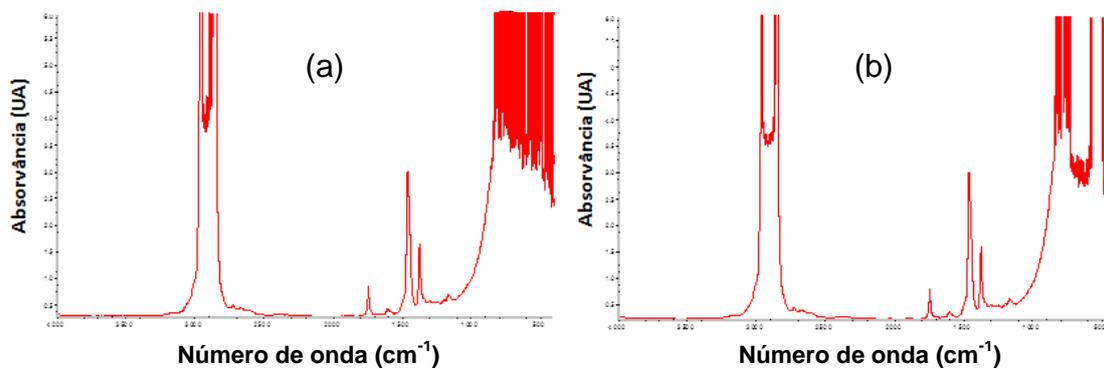
**Figura 5.** Espectro na região do IV das amostras B6 (a) e B8 (b) feitas com diesel vermelho (S500).



**Figura 6.** Espectro na região do IV da amostra B10 feita com diesel vermelho (S500).



**Figura 7.** Espectro na região do IV das amostras reais 1 (a) e 2 (b).



**Figura 8.** Espectro na região do IV das amostras reais 3 (a) e 4 (b).

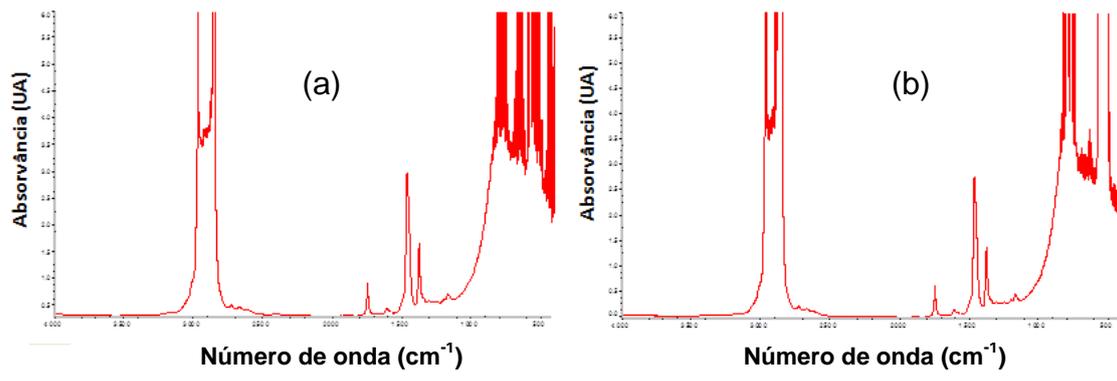


Figura 9. Espectro na região do IV das amostras reais 5 (a) e 6 (b).

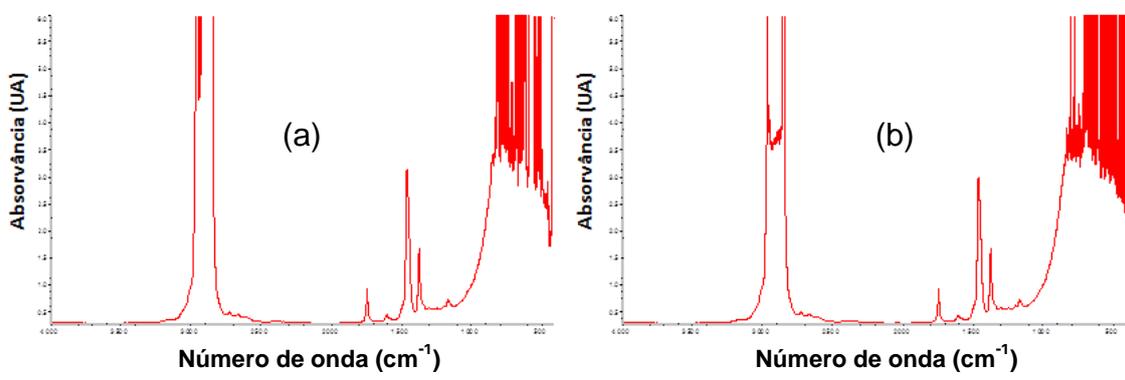


Figura 10. Espectro na região do IV das amostras reais 7 (a) e 8 (b).

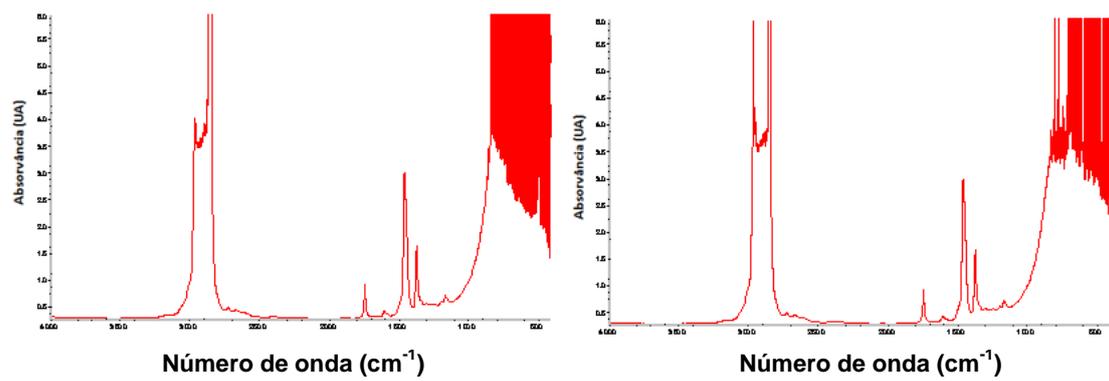


Figura 11. Espectro na região do IV das amostras reais 9 (a) e 10 (b).

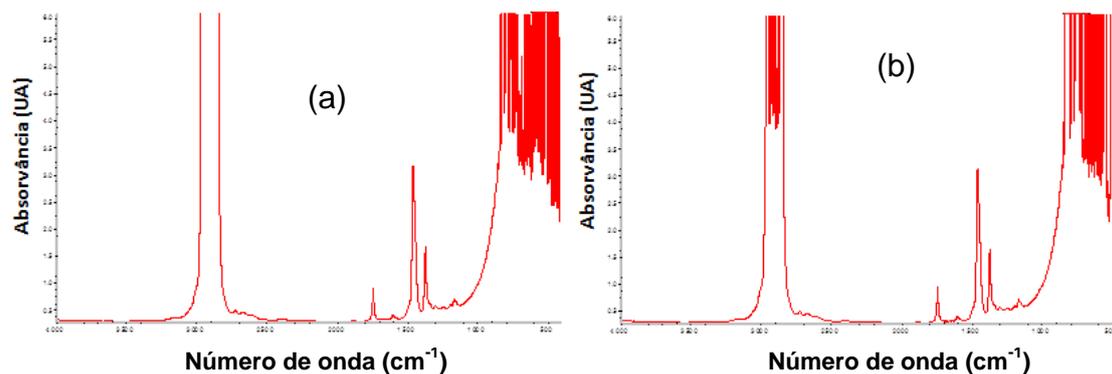


Figura 12. Espectro na região do IV das amostras reais 11 (a) e 12 (b).

## ANEXO C – CROMATOGRAMAS OBTIDOS POR CLAE DAS AMOSTRAS

### REIAS

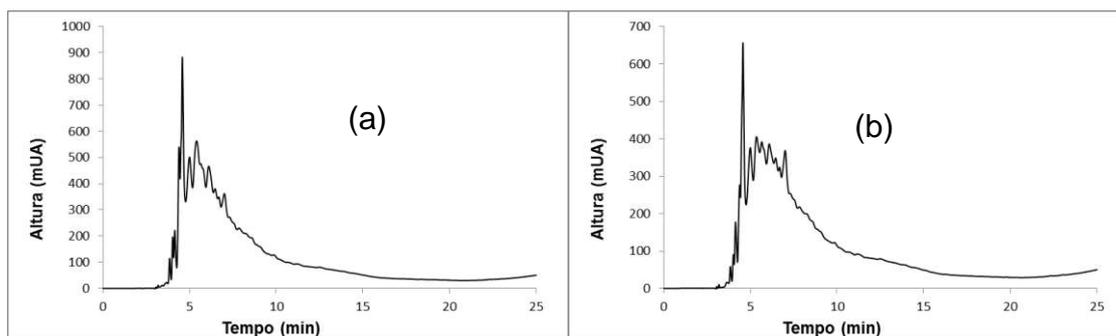


Figura 1. Cromatograma obtido por CLAE da amostra real 1 (a) e 2 (b).

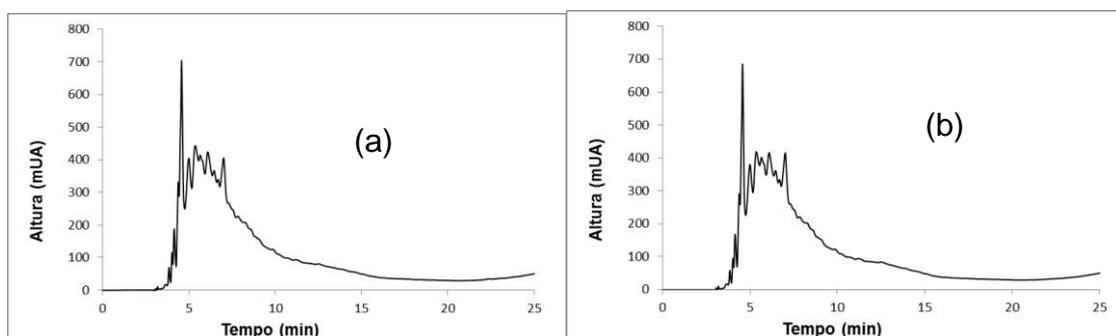
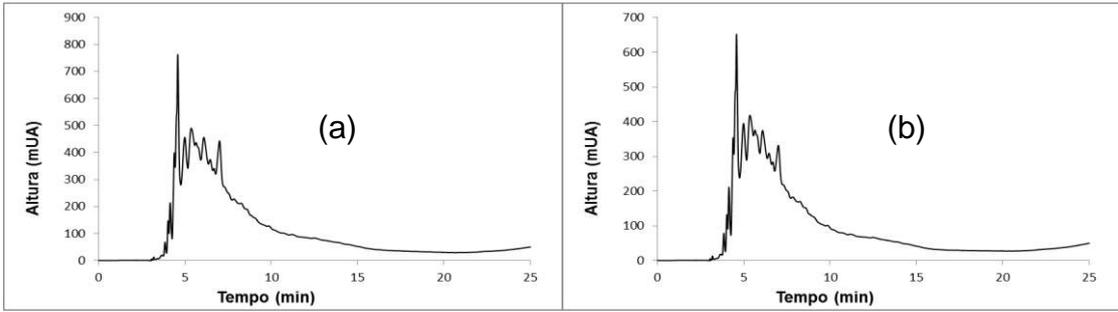
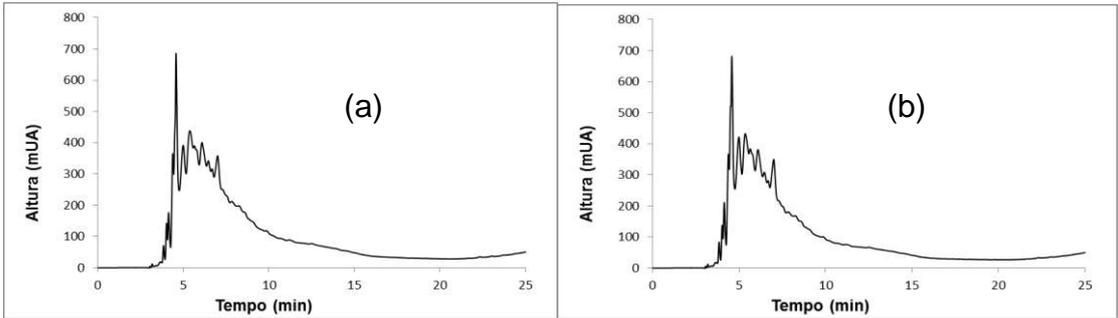


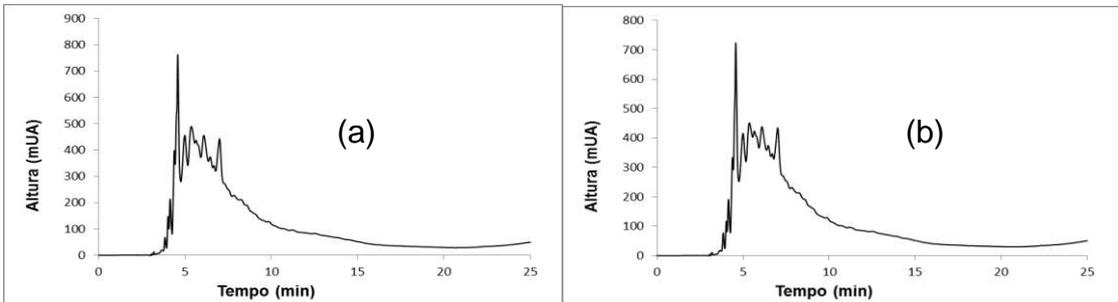
Figura 2. Cromatograma obtido por CLAE da amostra real 3 (a) e 4 (b).



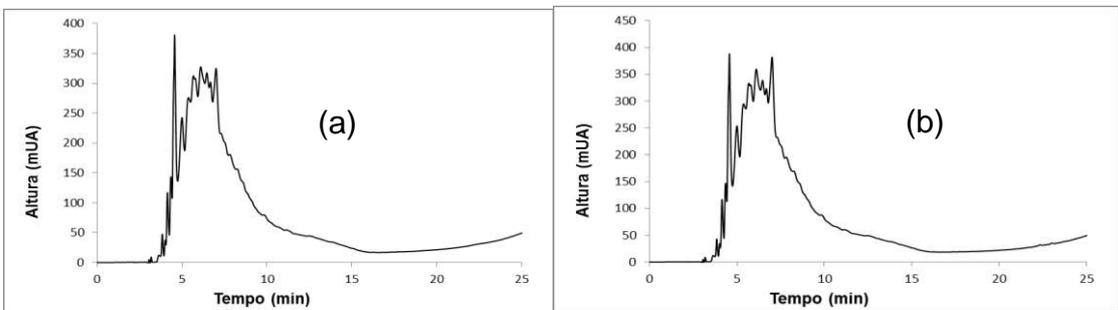
**Figura 3.** Cromatograma obtido por CLAE da amostra real 5 (a) e 6 (b).



**Figura 4.** Cromatograma obtido por CLAE da amostra real 7 (a) e 8 (b).



**Figura 5.** Cromatograma obtido por CLAE da amostra real 9 (a) e 10 (b).



**Figura 6.** Cromatograma obtido por CLAE da amostra real 11 (a) e 12 (b).

## ANEXO D – TABELA DE TESTE F (MILLER, 1984)

$\nu_1 \backslash \nu_2$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	647.8	799.5	864.2	899.6	921.8	937.1	948.2	956.7	963.3	968.6	976.7	984.9	993.1
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39	39.40	39.41	39.43	39.45
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47	14.42	14.34	14.25	14.17
4	12.22	10.65	9.979	9.605	9.364	9.197	9.074	8.980	8.905	8.844	8.751	8.657	8.560
5	10.01	8.434	7.764	7.388	7.146	6.978	6.853	6.757	6.681	6.619	6.525	6.428	6.329
6	8.813	7.260	6.599	6.227	5.988	5.820	5.695	5.600	5.523	5.461	5.366	5.269	5.168
7	8.073	6.542	5.890	5.523	5.285	5.119	4.995	4.899	4.823	4.761	4.666	4.568	4.467
8	7.571	6.059	5.416	5.053	4.817	4.652	4.529	4.433	4.357	4.295	4.200	4.101	3.999
9	7.209	5.715	5.078	4.718	4.484	4.320	4.197	4.102	4.026	3.964	3.868	3.769	3.667
10	6.937	5.456	4.826	4.468	4.236	4.072	3.950	3.855	3.779	3.717	3.621	3.522	3.419
11	6.724	5.256	4.630	4.275	4.044	3.881	3.759	3.664	3.588	3.526	3.430	3.330	3.226
12	6.554	5.096	4.474	4.121	3.891	3.728	3.607	3.512	3.436	3.374	3.277	3.177	3.073
13	6.414	4.965	4.347	3.996	3.767	3.604	3.483	3.388	3.312	3.250	3.153	3.053	2.948
14	6.298	4.857	4.242	3.892	3.663	3.501	3.380	3.285	3.209	3.147	3.050	2.949	2.844
15	6.200	4.765	4.153	3.804	3.576	3.415	3.293	3.199	3.123	3.060	2.963	2.862	2.756
16	6.115	4.687	4.077	3.729	3.502	3.341	3.219	3.125	3.049	2.986	2.889	2.788	2.681
17	6.042	4.619	4.011	3.665	3.438	3.277	3.156	3.061	2.985	2.922	2.825	2.723	2.616
18	5.978	4.560	3.954	3.608	3.382	3.221	3.100	3.005	2.929	2.866	2.769	2.667	2.559
19	5.922	4.508	3.903	3.559	3.333	3.172	3.051	2.956	2.880	2.817	2.720	2.617	2.509
20	5.871	4.461	3.859	3.515	3.289	3.128	3.007	2.913	2.837	2.774	2.676	2.573	2.464

$\nu_1$  = number of degrees of freedom of the numerator and  $\nu_2$  = number of degrees of freedom of the denominator.

## ANEXO E – TABELA DE TESTE t (MILLER, 1984)

Value of $t$ for a confidence interval of	95%	98%	99%
Critical value of $ t $ for $P$ values of	0.05	0.02	0.01
Number of degrees of freedom			
1	12.71	31.82	63.66
2	4.30	6.96	9.92
3	3.18	4.54	5.84
4	2.78	3.75	4.60
5	2.57	3.36	4.03
6	2.45	3.14	3.71
7	2.36	3.00	3.50
8	2.31	2.90	3.36
9	2.26	2.82	3.25
10	2.23	2.76	3.17
12	2.18	2.68	3.05
14	2.14	2.62	2.98
16	2.12	2.58	2.92
18	2.10	2.55	2.88
20	2.09	2.53	2.85
30	2.04	2.46	2.75
50	2.01	2.40	2.68
$\infty$	1.96	2.33	2.58