



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ALEXANDRE KAMEI GUIMARÃES**

**IDENTIFICAÇÃO DE ADULTERAÇÃO DO DIESEL PELA ADIÇÃO DE  
ÓLEOS VEGETAIS PUROS E RESIDUAIS (OGR) PELA TÉCNICA DE  
ESPECTROFLUORIMETRIA A QUIMIOMETRIA**

Salvador  
2015

**ALEXANDRE KAMEI GUIMARÃES**

**IDENTIFICAÇÃO DE ADULTERAÇÃO DO DIESEL PELA ADIÇÃO DE  
ÓLEOS VEGETAIS PUROS E RESIDUAIS (OGR) PELA TÉCNICA DE  
ESPECTROFLUORIMETRIA A QUIMIOMETRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Química Analítica.

Orientadora: Profa. Dra. Cristina Maria Assis  
Lopes Tavares da Mata Hermida Quintella  
Co-orientadora: Profa. Dra. Marilena Meira

Salvador  
2015



## Sistema de Bibliotecas - IQ/UFBA

Guimarães, Alexandre Kamel .

Identificação de adulteração do diesel pela adição de óleos vegetais puros e residuais (OGR) pela técnica de espectrofluorimetria a quimiometria/ Alexandre Kamel Guimarães.- 2016.

146 f.: il.

Inclui apêndice

Orientadora: Profª. Drª. Cristina Mª Assis Lopes Tavares da Mata Hermida Quintella .

Co-orientadora: Profª. Drª Marilena Meira

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Bahia, Instituto de Química, Salvador, 2015.

1. Diesel - Adulteração e inspeção . 2. Biodiesel. 3. Óleos vegetais. 4. Fluorescência. 5. Espectrofluorimetria. I. Quintella, Cristina Mª Assis Lopes Tavares da Mata Hermida. II, Meira, Marilena. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. III. Título.

CDD -541

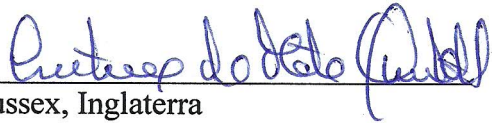
CDU -544.17.665.753

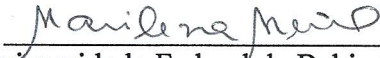
TERMO DE APROVAÇÃO

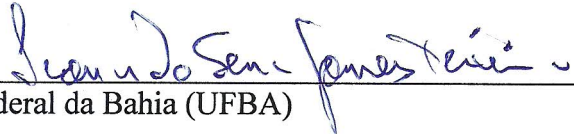
ALEXANDRE KAMEI GUIMARÃES

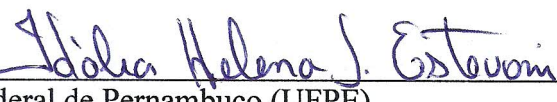
“Identificação de adulteração do diesel pela adição de óleos vegetais puros e residuais (OGR) pela técnica de espectrofluorimetria a quimiometria”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Cristina Maria A. L. T. da Mata H. Quintella   
Doutorado em Ciências Moleculares, Universidade de Sussex, Inglaterra  
Universidade Federal da Bahia

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Marilena Meira   
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Instituto Federal da Bahia

Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira   
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade Federal da Bahia

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Idália Helena Santos Estevam   
Doutorado em Química, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)  
Universidade Estadual da Bahia

Salvador, 22 de setembro de 2015.

Dedico essa dissertação

A Deus por ter me conduzido ao bom desenvolvimento da pesquisa.

A Wilson Guimarães (*in memoriam*), pai querido, por ter me ensinado a ter compaixão e solidariedade para com as pessoas.

A Atsuko, mãe querida, por ter me ensinado a perseverar e nunca desistir.

À Família e aos amigos como um todo, por me ensinar a trilhar pelos caminhos da vida com amor, respeito, honestidade e dignidade.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me conduzido nos meus passos e ter me trazido inúmeras alegrias e muitos aprendizados dos momentos de problemas.

A minha orientadora, a Profa. Dra. Cristina M.A.L.T.M.H. Quintella, por ter me ensinado a trilhar o caminho da curiosidade científica e como ser um pesquisador além me formar como um bom profissional. Muito, muito obrigado mesmo.

A minha co-orientadora Marilena Meira, por me ensinar que com paciência e dedicação se vai ao longe. Pelas conversas de incentivos e de troca de conhecimentos e vivências, tudo é possível de se realizar.

Aos professores Eduardo Mendes, Carla, Paulo Almeida, Rogéria, Jailson Bittencourt, Marcelo Embiruçu, Ricardo Kalid, Silvana Mattedi, Leonardo, Zenira, Cristiano, Vilmar, Leonardo por me ensinarem a acreditar no amanhã e ser um bom profissional.

Aos meus amigos de Lablaser, conhecidos como “velha guarda”: o Angelo, o Yuji Watanabe, a Ana Paula Musse, a Cristiane Gonçalves e em especial a Magela Paula Casiraghi uma grande irmã e incentivadora, e Eduardo Benes da Silva, “o Dudão”, um grande amigo e irmão que sempre me ouviu, me ajudou nos momentos mais difíceis e me incentivou a acreditar que a ciência é um ato contínuo. Aos mais novos amigos (não tão novos) da família Lablaser, Alessandra, Pamela, Humbervânia, Gabi, Paty, Tiago, Landson, Sabrina, Luciana, Irlane, Guilherme, Arlete, Saiô, Robson, Ariane, Lidiane, Wilson, Paulo Hugo, Xará Lopez, Alete, Angela, Auristela, Odete, e Weidson, esses seis últimos em especial que muito respeito e admiro e que nos momentos difíceis de minha vida pessoal ou acadêmica, me ajudaram, ou virando noite, ou no experimental, ou ouvindo e me aconselhando. Muito obrigado, meus amigos, irmãos e irmãs. A Erika e “Jó” por me ajudarem sempre que possível e sempre de braços abertos.

Aos órgãos financiadores Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro em bolsas e em projetos.

A todos, os tantos outros, que me ajudaram direta ou indiretamente para cada conquista ou desafio vencido. MUITO OBRIGADO!!!

*“Não sei ao certo como é o Paraíso, mas sei que quando morrermos e chegar o tempo de Deus nos julgar, ele não perguntará, quantas coisas boas você fez em sua vida?. Antes ele perguntará, quanto amor você colocou naquilo que fez?”*

Madre Teresa de Calcutá



## RESUMO

O presente trabalho visa tornar simples a análise utilizada para identificação de adulterações no diesel, foi utilizada a técnica de espectrofluorimetria total 3D a quimiometria, com variação das concentrações do óleo vegetal puro ou residual (OGR) inserido no diesel. E verificar as técnicas analíticas já empregadas para qualidade do diesel por meio de prospecções de artigos e patentes. As prospecções foram feitas se analisando os bancos de dados do *Espacenet* e *Webofscience*. Nos experimentos 34 amostras foram preparadas nas respectivas concentrações de 0%v/v de óleo vegetal no diesel (diesel puro – O 00 ou OGR 00) até 100%v/v (óleo vegetal puro - O 100 ou OGR 100). Dois espectrofluorímetros foram utilizados, um da Perkin Elmer cujos os espectros de emissão de fluorescência foram medidos na faixa de 430 a 650 com intervalos de 0,5nm enquanto a amostra era irradiada com  $\lambda_{excitação}$  fixos na faixa de 400 a 625 nm. E da Quimis os espectros de emissão foram medidos na faixa de 385 a 1000 nm com intervalos de 1 nm enquanto a amostra era irradiada com LED de 365 nm ( $\lambda_{excitação}$ ). Nos gráficos de contorno (mapas) de fluorescência houveram mudanças dos perfis com as mudanças das concentrações e mudança o tipo de óleo tanto pela mudança das intensidades bem como no deslocamento das bandas de 45 nm (de 500 nm para 545 nm). Nos gráficos de *loadings* foram determinados os comprimentos de onda de emissão ( $\lambda_{emissão}$ ) na faixa de 497,5 a 531 nm e comprimento de onda de excitação ( $\lambda_{excitação}$ ) de 425 nm para as amostras de OGR, para as amostras de óleo *in natura*  $\lambda_{emissão} = 488,5$  nm a 650 nm, com  $\lambda_{excitação} = 425$  nm. No gráfico PLS obtido com OGR apresentou uma correlação de  $R^2 = 0,993$ , e RMSEC = 10,26, que mostra a aproximação dos valores de concentração lidos com os valores de referência com um limite de detecção de 4% de concentração. Com os resultados obtidos foi possível visualizar a interação dos pesquisadores da China, Japão e Estados Unidos (maiores depositantes), com a análise das técnicas analíticas já existentes foi verificado um crescente interesse nas pesquisas na técnicas óticas e principalmente envolvendo fluorescência e encontrado os possíveis fluoroforos envolvidos. Identificou-se a adulteração do diesel por óleos vegetais tanto *in natura* como os usados com o auxílio da técnica espectroscópica de Fluorescência associada à quimiometria.

Palavras-chave: Adulteração do diesel; espectrofluorescência; quimiometria; óleos vegetais; Prospecção de artigos e patentes; calibração multivariada.

## ABSTRACT

This paper aims to make simple analysis used for identification of adulteration in diesel, we used the full spectrofluorimetry 3D technique associated chemometrics, with varying concentrations of pure or waste vegetable oil (OGR) inserted into diesel. And check the analytical techniques already used for quality diesel through surveys of articles and patents. The surveys were made by analyzing banks *Espacenet* and *Webofscience* data. In experiments 34 samples were prepared in the respective concentrations of 0% v/v of vegetable oil diesel (pure diesel - The OGR 00 or O 00) to 100% v/v (Pure Vegetable Oil - The OGR 100 or O 100). Two spectrofluorometers used were a Perkin Elmer whose fluorescence emission spectra were measured in the range 430-650 with 0.5nm intervals while the sample was irradiated with excitation fixed at  $\lambda$  range 400-625 nm. And the Quimis emission spectra were measured in the range 385-1000 nm with 1 nm intervals while the sample was irradiated with 365 nm LED ( $\lambda$  excitation). In contour plots (maps) fluorescence is observed changes in profiles with changing concentrations and change the type of oil either by changing the intensity and the shift of the bands of 45 nm (500 nm to 545 nm). In the graphs loadings were determined emission wavelengths ( $\lambda$  emission) in the range from 497.5 to 531 nm and excitation wavelength ( $\lambda$  excitation) of 425 nm for the samples OGR for oil samples in natura  $\lambda = 488.5$  nm emission at 650 nm with excitation  $\lambda = 425$  nm. In the chart PLS obtained OGR showed a correlation of  $R^2 = 0.993$ , and RMSEC = 10.26, which shows the approach of the concentration values measured with the reference values with a detection limit of 4% concentration. With the results we can see the interaction of researchers from China, Japan and the United States (the largest depositors), with the analysis of analytical techniques already has been a growing interest in research on optical techniques and mainly involving fluorescence and found possible fluorophores involved. It was identified by tampering diesel vegetable oils either in kind as those used with the aid of spectroscopic technique of chemometrics associated fluorescence.

**Keywords:** diesel adulteration; spectrofluorescence; chemometrics; vegetable oils; Prospecting articles and patents; Multivariate calibration.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Quantitativo de venda anual, pelas distribuidoras, de diesel B (diesel misturado com biodiesel), m <sup>3</sup> , também estão incluídas as vendas para consumo termelétrico e aquaviário.....	9
<b>Figura 2.</b> Reação de transesterificação.....	12
<b>Figura 3.</b> Método visual comparativo para identificação de possíveis adulterações do diesel por óleos vegetais (OGR).....	14
<b>Figura 4.</b> Diagrama de Jablonski.....	16
<b>Figura 5.</b> Espectro eletromagnético.....	18
<b>Figura 6.</b> Representação esquemática de um espectrofluorímetro.....	20
<b>Figura 7.</b> Esquema do processamento dos dados para obtenção dos mapas espectrofluorimétricos.....	20
<b>Figura 8.</b> Revistas que mais publicam artigos na área de sobre qualidade de diesel e suas misturas (1981-2015).....	34
<b>Figura 9.</b> Evolução anual (A) e acumulada (B) de publicações sobre qualidade de diesel e suas misturas.....	36
<b>Figura 10.</b> Pesquisadores com mais de 1 artigo publicado (1981-2015).....	38
<b>Figura 11.</b> Quantitativo percentual de artigos por autor (%).....	39
<b>Figura 12.</b> Evolução anual aos documentos de patentes referentes a adulteração de diesel (1981 – 2015).....	46
<b>Figura 13.</b> Quantitativo de patentes por invenção (dispositivo (D), equipamento (E), método (M)) e suas associações.....	47
<b>Figura 14.</b> Quantitativo de patentes por técnicas de detecção ou análise.....	49
<b>Figura 15.</b> Quantitativo de patentes por inventor (%).....	50
<b>Figura 16.</b> Países que mais depositam patentes (1955 – 2015).....	51
<b>Figura 17.</b> Inventores com o maior número de patentes (1955 – 2015).....	53
<b>Figura 18.</b> Depositantes com maior números de patentes.....	54
<b>Figura 19.</b> Mapas espectrofluorimétricos de OGR em diesel com as concentrações variando de 0 100% v/v.....	55

<b>Figura 20.</b> Fluoróforos possíveis de serem encontrados no diesel.....	58
<b>Figura 21.</b> Gráfico de escores de PC 1 versus PC 2 com OGR em diesel com as concentrações variando de 0 a 100%v/v respectivamente.....	59
<b>Figura 22.</b> Gráfico de <i>Loading</i> com os respectivos comprimentos de onda de emissão e excitação expostos para amostras de OGR em diesel com as concentrações variando de 0 a 100%v/v.....	59
<b>Figura 23.</b> Espectros de fluorescência de diferentes concentrações de OGR em diesel colhidos do Fluorimetro Induzido por LED (FIL).....	60
<b>Figura 24.</b> Transformação da riboflavina quando submetida a radiação UV e ao meio alcalino ou ácido, em lumiflavina e lumicromo respectivamente.....	62
<b>Figura 25.</b> Gráfico de escores de PC 1 versus PC 2 com OGR em diesel com as concentrações variando de 0 a 100%v/v respectivamente, analisadas no fluorimetro FIL.....	63
<b>Figura 26.</b> PLS OGR em diesel retirando algumas misturas.....	64
<b>Figura 27.</b> PLS OGR com todas as amostras.....	64
<b>Figura 28.</b> Mapas espectrofluorimetricos de óleo de soja em diesel com as concentrações variando de 0 a 100% v/v.....	66
<b>Figura 29.</b> Espectros de fluorescência de diferentes concentrações óleo de soja em diesel colhidos do Fluorimetro Induzido por LED (FIL).....	68
<b>Figura 30.</b> Gráfico de escores de PC 1 versus PC 2 das amostras de óleo de soja em diesel com as concentrações variando de 0 a 100%v/v respectivamente.....	70
<b>Figura 31.</b> Gráfico de <i>Loading</i> com os respectivos comprimentos de onda de emissão e excitação expostos para amostra de óleo de soja em diesel com as concentrações variando de 0 a 100%v/v.....	71

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Quantitativo de utilização de matérias-primas na produção de biodiesel..	8
<b>Tabela 2.</b> Composição dos ácidos graxos presentes no óleo de soja.....	10
<b>Tabela 3.</b> Quadro comparativo entre alguns parâmetros físico-químicos .....	11
<b>Tabela 4.</b> Excitação x Emissão cujas intensidades foram zeradas.....	26
<b>Tabela 5.</b> Escopo da estratégia de busca dos artigos sobre adulteração em diesel pesquisados em janeiro de 2015.....	33
<b>Tabela 6.</b> Escopo da estratégia de busca das patentes sobre adulteração em diesel.....	44
<b>Tabela 7.</b> Amostras de OGR em diesel que apresentaram intensidades de fluorescência acima do limite superior de detecção instrumental.....	56
<b>Tabela 8.</b> Amostras de óleo de soja em diesel que apresentaram intensidades de fluorescência acima do limite superior de detecção instrumental.....	67
<b>Tabela 9.</b> Alguns fluoroforos prováveis de serem encontrados em vegetais e/ou animais e no diesel.....	72
<b>Tabela 10.</b> Listagem das substâncias que fluorescem após sofrerem modificações, possíveis de serem encontradas em amostras de OGRs e óleos vegetais citados na literatura.....	75



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>Sigla</b>	<b>Significado</b>
PCA	Análise de Componentes Principais
ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
CNT	Confederação Nacional de Transportes
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
<i>FT-Raman</i>	Espectroscopia <i>Raman</i> por Transformada de Fourier
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização por <i>eletrospray</i>
ATR/FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada
PLS	<i>Partial Least Squares</i>
PCA	Análise dos Componentes Principais
LED	<i>Light Emitting Diode</i>
OGR	Óleos e Graxos Residuais
RELAM	Refinaria Landulpho Alves
SER	Ressonância do Spin Eletrônico
RON	<i>Research Octane Number</i>
MON	<i>Motor Octane Number</i>
FAD	Flavina Adenina Dinucleotídeo
ABIOVE	Associação Brasileira das Industrias de Óleos Vegetais
PC	Componente Principal
ASTM	<i>American Society of Testing and Materials</i>
RMSEC	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático da Calibração ( <i>Root Mean Square Error of Calibration</i> )
HPA	Hidrocarbonetos Policiclicos Aromáticos

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	6
2.1 OBJETIVO GERAL .....	6
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	6
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	8
3.1 RELAÇÃO ENTRE O DIESEL, O BIODIESEL E AS SUAS MATÉRIAS-PRIMAS .....	8
3.2 O óleo de soja e o biodiesel de soja .....	9
3.3 Comparação das propriedades do óleo de soja, do biodiesel de soja e óleo diesel. ...	11
3.4 QUALIDADE VERSUS A ADULTERAÇÃO DO DIESEL.....	12
3.5 ESPECTROFLUORIMETRIA.....	15
3.5.1 Transições eletrônicas .....	16
3.5.2 Transição $\sigma \rightarrow \sigma^*$ .....	17
3.5.3 Transição $n \rightarrow \sigma^*$ .....	17
3.5.4 Transições $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$ .....	17
3.5.5 Desativação da fluorescência ( <i>Quenching</i> ).....	18
3.5.6 Espectrofluorímetro .....	19
3.6 QUIMIOMETRIA.....	21
3.7 Mapeamento do Estado da Arte e da Técnica .....	22
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	25
4.1 AMOSTRAS .....	25
4.2 ESPECTROFLUORIMETRIA NO PERKIN ELMER-LS55 .....	25
4.3 ESPECTROFLUORIMETRIA NO FLUORÍMETRO DE LED .....	26
4.4 TÉCNICAS DE ANÁLISE MULTIVARIADA UTILIZADAS NOS DADOS OBTIDOS.....	26
4.4.1 Análise dos Componentes Principais (PCA) .....	26
4.4.2 <i>Partial Least Square</i> no <i>Unscrambler</i> (PLS) .....	27
4.5 MAPEAMENTO DO ESTADO DA ARTE E DA TÉCNICA.....	27

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	30
5.1 PROSPECÇÃO DE ARTIGOS .....	30
5.1.1 Prospecção científica: Triagem dos artigos.....	30
5.1.3 Análise das revistas mais procuradas para publicação de artigos .....	34
5.1.4 Evolução anual das publicações sobre qualidade de diesel e suas misturas.....	35
5.1.5 Pesquisadores que publicam na área .....	36
5.1.6 Análise do quantitativo de artigos por autor .....	39
5.2 PROSPECÇÃO DE DOCUMENTOS DE PATENTES.....	40
5.2.1 Prospecção tecnológica: Triagem das patentes.....	40
5.2.2 Prospecção Tecnológica: Estratégia de busca.....	44
5.2.3 Evolução anual dos documentos de patentes .....	45
5.2.4 Análise do quantitativo de patentes por tipo de invenção .....	47
5.2.5 Análise do quantitativo de patentes por técnica de detecção ou analítica.....	48
5.2.6 Análise do quantitativo de patentes por inventor.....	50
5.2.7 Países que desenvolvem tecnologias relacionadas.....	50
5.2.8 Inventores que desenvolvem tecnologias relacionadas .....	51
5.2.9 Depositantes das patentes.....	54
5.3 AMOSTRAS DE ÓLEOS E GRAXOS RESIDUAIS (OGR) EM DIESEL.....	55
5.3.1 Análise dos mapas espectrofluorimétricos .....	55
5.3.2 Análise quimiométrica – PCA e PLS .....	58
5.3.3 Amostras de OGR em diesel analisadas pelo fluorímetro FIL (Fluorescência Induzida por LED).....	60
5.3.3.1 Análise espectrofluorimétrica.....	60
5.3.3.2 Análise quimiométrica – PCA e PLS .....	62
5.4 AMOSTRAS DE ÓLEO DE SOJA EM DIESEL.....	66
5.4.1 Análise dos mapas espectrofluorimétricos .....	66
5.4.2 Amostras de óleo de soja em diesel analisadas pelo fluorímetro FIL (Fluorescência Induzida por LED).....	68

5.4.2.1 Análise espectrofluorimétrica.....	68
5.4.2.2 Análise quimiométrica – PCA E <i>LOADING</i> .....	70
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83
APÊNDICE A .....	95
APÊNDICE B .....	96
APÊNDICE C .....	103
APÊNDICE D.....	109
APÊNDICE E .....	118
APÊNDICE F .....	123
APÊNDICE G.....	129



## INTRODUÇÃO

## 1. INTRODUÇÃO

O biodiesel é um biocombustível que pode substituir em parte ou na sua totalidade o óleo diesel, possui na sua composição ésteres alquílicos de óleos vegetais ou gorduras (provenientes de origem animal), que apresenta as qualidades ambientais desejáveis, por ser renovável e biodegradável, além de não ser tóxico, diminuindo a quantidade de poluentes emitidos pelo diesel (FUKUDA et al., 2001), e ter propriedades físico-químicas próximas ao diesel (MONTEIRO et al., 2009).

Numa visão geral dos artigos e patentes quando se trata do biodiesel observa-se que existe um padrão de tecnologia emergente, demonstrando ser um campo competitivo em termos de pesquisa científica e da apropriação do conhecimento por patentes (QUINTELLA et al., 2009).

A produção de biodiesel tem como processo fundamental a reação de transesterificação de óleos ou gorduras (novos ou usados), que consiste na reação de triglicerídeos que fazem parte da constituição dessa matéria-prima com a adição de álcool, de preferência o metanol ou o etanol, a uma temperatura controlada (temperatura determinada em cada processo), utiliza-se para acelerar a reação catalisadores ácidos ou básicos a depender do processo (ZHANG et al., 2003; FUKUDA et al., 2001).

Para se ter uma qualidade e confiabilidade no produto final são estabelecidas normas contidas nas resoluções emitidas pela ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis) que são atualizadas periodicamente, que estabelece as análises que devem ser executadas e os parâmetros estabelecidos presente na Resolução ANP nº 45 de 25/08/2014.

Uma das formas de obtenção de lucro de forma ilícita é realizando a adulteração do combustível que segundo a Confederação Nacional de Transportes (CNT, 2012; SETTACOMBUSTIVEIS, 2011) pode trazer danos ao automóvel.

Ainda segundo a Confederação uma fraude comum era a troca do diesel interior pelo diesel metropolitano nas áreas municipais, que tem menos enxofre. Para ajudar a combater essa fraude a ANP determinou a inserção de corante

vermelho no diesel S1800, depois de julho de 2012, a adição não seria mais no diesel S1800 e sim no S500.

Outra fraude relatada é que ao invés de se adicionar o biodiesel no diesel era adicionado óleo de soja no combustível. Esta prática fraudulenta pode ocasionar danos no motor ao longo do tempo, entupimento dos bicos injetores e do filtro de combustível, entupimentos e falhas na bomba de combustível, a dirigibilidade é prejudicada, perda de potencia, aparecimento de borra (biomassa) no tanque e corrosão, em decorrência aumento de gastos com manutenção, troca prematura das peças devido a sua vida útil ser encurtada ou até perda do motor (CNT, 2012; SETTACOMBUSTIVEIS, 2011). Além da contaminação ambiental proveniente da emissão gasosa,

Para a adulteração do diesel por óleos vegetais (novos ou usados), fica ainda mais difícil devido ao fato que os óleos vegetais são miscíveis em diesel (GUIMARÃES, 2006) dificultando a análise visual desta adulteração. Por esse motivo se faz o uso de métodos analíticos para assegurar a qualidade do combustível.

Vários métodos são estudados para se analisar a qualidade do diesel e possíveis adulterações. Dentre esses métodos pode-se citar os métodos envolvendo, a técnica de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) associada a espectroscopia *FT-Raman* para identificação adulteração do diesel/misturas do diesel por óleo vegetal (OLIVEIRA et al., 2007), análise de biodiesel, diesel e suas misturas por cromatografia em camada delgada de alta eficiência combinada com a espectrometria de massa de ionização em ambiente borribo sônico (EBERLIN et al., 2009; ABDELNUR et. al., 2008) e com a mesma técnica utilizada por Eberlin, só que agora Cunha (2012) estuda um método para quantificar e controlar a qualidade das misturas biodiesel/diesel (Bxx). Abdelnur et al. (2013) determina a quantificação direta dos teores de biodiesel de soja em diesel usando espectrometria de massa. Soares et al. (2011) avalia a eficiência das técnicas ESI-MS e ATR/FTIR na determinação de adulteração de Bxx com querosene e óleo residual.

Algumas pesquisas já interpretam os resultados obtidos dos métodos analíticos com a análise quimiométrica multivariada, como a determinação do teor



de biodiesel/diesel usando espectroscopia de infravermelho e calibração multivariada (PIMENTEL 2006; PENA et. al., 2014), estudo das alterações de comportamento das propriedades físico-químicas do biodiesel/diesel (B2) com óleo residual e sua quantificação pela técnica de Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada (ATR-FTIR) associada com o tratamento estatístico PLS (SOARES, 2009).

Outros métodos são aplicados utilizando a técnica da fluorescência associada com métodos quimiométricos. Divya et al. (2007) analisa seus dados espectroscópicos de emissão e excitação de fluorescência em misturas de diesel-querosene com a ajuda de métodos multivariados para compará-los. Já Corgozinho (2008), determina óleo residual em biodiesel por espectrofluorimetria síncrona e análise multivariada.

Em trabalhos anteriores do grupo que são relacionados com controle de qualidade e identificação de adulterações do diesel e óleos vegetais podem-se citar:

No primeiro (GUIMARÃES et al., 2006) foram identificadas adulterações nas misturas de diesel pelo uso de óleo de soja ao invés de biodiesel dentro da faixa de 0 a 50%, utilizando espectrofluorimetria total 3D e análise das componentes principais (PCA). Com o desenvolvimento de um método e um dispositivo sensor para monitorar a qualidade do diesel também utilizando espectrofluorimetria total 3D e PCA (MEIRA et al., 2011a).

Em decorrência desses dois estudos anteriores, foi criado um equipamento para leituras de espectros de fluorescência utilizando LED, sendo mais prático no seu manuseio, espectrofluorímetro Quimis LED modelo Q-798FIL, sendo o método e o equipamento patenteados pelo grupo.

Um outro trabalho (MEIRA et al., 2013) foi a predição das concentrações de gordura animal em misturas com óleos vegetais utilizando como instrumentação analítica para identificação das concentrações o método espectrofluorimétrico com a associação de um modelo de calibração multivariada, conseguindo com isso a predição da diferenciação das gorduras em relação aos óleos vegetais utilizados tanto eles misturados bem como puros. Para o modelo criado foi utilizado o PLS que por meio da regressão dos mínimos quadrados traçou-se as curvas de predição baseadas em misturas de concentrações variando de 0 (óleo puro) a 40% (grau de

saturação máximo da gordura em óleo vegetal). Sendo possível com a curva prever a concentração de gorduras em óleos, atestando a qualidade dos mesmos, por meio de uma análise simples da amostra *in natura*. Que pode ser útil no controle de qualidade das matérias-primas na indústria do biodiesel.

Em Meira et al. (2014a), foi estudado a adulteração de óleo de oliva extra virgem com óleo de soja utilizando espectrofluorescência induzida por LED e analisado esses conjunto de dados obtidos por meio das técnicas de calibração multivariada (PCA e PLS). As amostras tiveram como componentes o óleo de oliva associados com diferentes adulterações com óleo de soja, canola, milho e girassol respectivamente, cada adulterante foi misturado com óleo de oliva nas concentrações de 0 (% de adulterante) e 100 (% de óleo de oliva). Obteve-se curvas distintas para cada tipo de adulterante e também foi diferenciado as amostras puras do adulterante em relação ao óleo de oliva.

Em Ribeiro (2014a), foi feito um monitoramento da reação de transesterificação por meio da espectrofluorimetria e da análise dos espectros do infravermelho (ATR-FTIR) e calibração multivariada. Foi utilizados misturas em diferentes concentrações de 0 a 100% de padrões de trioleína (triglicerídeos presentes nos óleos vegetais) em oleato de metila (ésteres metílicos como produtos das reações de transesterificação), para monitorar uma reação de transesterificação do óleo de soja em diferentes tempos de reação.

O trabalho presente tem como meta tornar a análise de investigação de adulteração do diesel por óleo de soja e óleo residual, mais simples e de baixo custo proporcionando o diagnóstico viável e rápido da possível adulteração em um combustível suspeito, variando a concentração do óleo vegetal em diesel utilizando a técnica de espectrofluorimetria total 3D associado com o PCA fazendo com a análise de gráficos estatísticos de *loading*, escores e PLS.

Outro objeto de estudo é a análise dos trabalhos científicos e tecnológicos que já estão sendo realizados na área de qualidade do diesel e de possíveis fraudes relacionadas com a adição de óleos vegetais novos ou usados. A prospecção tecnológica analisa o estado da arte, e também pode contribuir na identificação de novos campos de interesse científico, tecnológico e inovador para o controle da qualidade e confiabilidade dos combustíveis utilizados.



Também a Criação de um levantamento de possíveis fluoróforos (compostos fluorescentes) presentes nas amostras (óleo, gorduras e seus resíduos) por meio da prospecção científica e tecnológica.

A equipe já possui trabalhos realizados na área de prospecção tecnológica nas áreas de combustíveis e afins, como: Prospecção tecnológica sobre biocombustíveis de segunda geração com ênfase em gaseificação de biomassa (MEIRA et al., 2010a); Prospecção tecnológica de patentes sobre microalgas como matéria-prima para produção de biocombustíveis (MEIRA et al., 2010b); A química na produção de biocombustíveis de 2ª geração: Prospecção tecnológica de gaseificação baseada em patentes (FERRER et al., 2010); Métodos e aparelhos para a análise de adulteração de diesel (GONÇALVES et al., 2010)

Além das prospecções tecnológicas com os seguintes títulos: *Prospecção tecnológica sobre o processo de transesterificação com ênfase na produção de biodiesel* (RIBEIRO et al., 2012); *Prospecção tecnológica sobre métodos para determinação da oxidação de óleos e biocombustíveis com ênfase em métodos óticos* (TANAJURA et al., 2012a); *Prospecção tecnológica como uma ferramenta aplicada em ciência e tecnologia para se chegar à inovação* (QUINTELLA et al., 2011); *Prospecção tecnológica de patentes para determinação de massa específica e viscosidade de óleos, biocombustíveis e combustíveis por métodos óticos* (SILVA et al., 2011); *Prospecção tecnológica de patentes para determinação de métodos utilizados para análise de matéria-prima na produção de biodiesel* (LUNA et al., 2012). *Prospecção tecnológica de patentes relacionadas à avaliação da qualidade de óleos por técnicas de fluorescência* (TANAJURA et al., 2012b).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar metodologias rápidas, fáceis, de baixo custo e eficiente para identificação de adulteração do diesel pela adição de óleos vegetais puros e residuais (OGR) pela técnica de espectrofluorimetria e quimiometria e analisar as áreas de interesse e suas tendências no que tange os aspectos científicos, tecnológicos e inovadores em relação ao controle de qualidade do diesel.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Realizar um estudo sobre as técnicas analíticas de controle de qualidade do diesel, em relação as técnicas empregadas ou em desenvolvimento. Por meio do banco de patentes espacenet e banco de patentes e artigos indexados.
- Identificar as interações e cooperações científicas e tecnológicas entre pesquisadores, empresas e países, para assuntos de inovação na área de qualidade do diesel e suas misturas.
- Desenvolver procedimento para determinação rápida, fácil, de baixo custo e eficiente para identificação de adulteração do diesel pela adição de óleos vegetais ao invés de biodiesel pela técnica de espectrofluorescência total e análise covariante de dados.
- Levantar os possíveis compostos fluorescentes presentes (fluoroforos) nas amostras (óleo, gorduras e seus resíduos) por meio da prospecção científica e tecnológica.



## FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 RELAÇÃO ENTRE O DIESEL, O BIODIESEL E AS SUAS MATÉRIAS-PRIMAS

De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ANP/ABIOVE, 2015), Tabela 1, dentre as matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel, o óleo de soja é o mais utilizado pela sua grande área de cultivo e produção, cerca de 75% (2014) da matéria-prima vem do óleo de soja.

A segunda matéria-prima utilizada são as gorduras animais com cerca de 21% do total das matérias-primas utilizadas.

Observa-se também que os óleos de frituras usados (OGR) só vieram a ser utilizados a partir de 2010. Mostrou ter uma tendência emergente de uso como matéria-prima, pelo baixo custo de obtenção e por ser uma fonte ecologicamente correta dado o reaproveitamento de um dos resíduos da indústria alimentícia.

**Tabela 1.** Quantitativo de utilização de matérias-primas na produção de biodiesel.

##### Produção de biodiesel por matéria-prima (m³)

Matéria-prima	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Óleo de soja	801.320	1.250.577	1.960.822	2.152.298	2.041.667	2.142.990	2.551.813	960.332
Gorduras animais	206.966	258.035	330.574	367.578	481.231	611.215	731.935	271.160
Óleo de algodão	18.353	59.631	57.458	84.711	123.247	65.960	81.666	16.485
Óleo de fritura usado	0	0	4.751	13.044	17.827	30.667	25.949	8.551
Outras	140.489	40.206	32.835	55.130	53.511	66.664	28.475	13.863
<b>Total</b>	<b>1.167.128</b>	<b>1.608.448</b>	<b>2.386.438</b>	<b>2.672.760</b>	<b>2.718.954</b>	<b>2.917.495</b>	<b>3.419.838</b>	<b>1.270.391</b>

Fonte/Elaboração: ANP/ABIOVE - Coordenadoria de Economia e Estatística

##### Produção de biodiesel por matéria-prima (%)

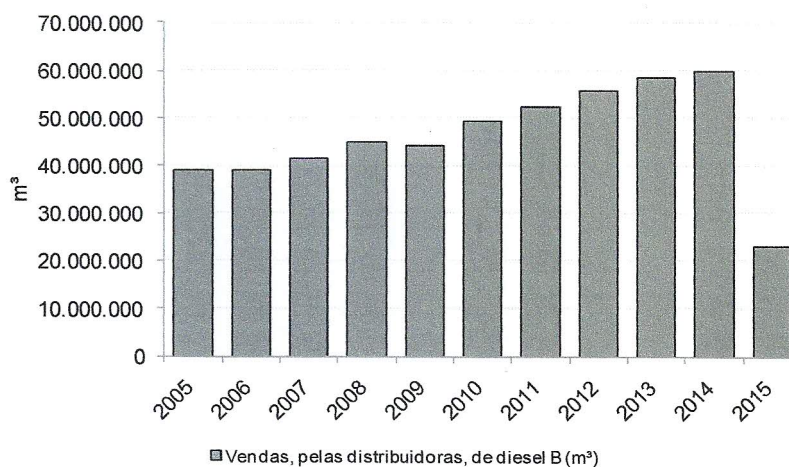
Matéria-prima	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Óleo de soja	69%	78%	82%	81%	75%	73%	75%	76%
Gorduras animais	18%	16%	14%	14%	18%	21%	21%	21%
Óleo de algodão	2%	4%	2%	3%	5%	2%	2%	1%
Óleo de fritura usado	0%	0%	0%	0%	1%	1%	1%	1%
Outras	12%	2%	1%	2%	2%	2%	1%	1%
<b>Total</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>

Fonte/Elaboração: ANP/ABIOVE - Coordenadoria de Economia e Estatística

Nota: Dados disponíveis até abril de 2015.

A venda do diesel pelas distribuidoras tem demonstrado um aumento, Figura 1, aproximadamente linear desde 2007. Deve-se levar em conta que o ano de 2015 ainda não encerrou, mostrando que a produção de biodiesel tem que acompanhar essa demanda, haja vista que todo diesel vendido deve ser acrescido de 7% de biodiesel em sua composição (BRASIL, 2014). Ao observar a Tabela 01, existe essa

correspondência pelo aumento do consumo de matéria-prima para a produção do biocombustível.



**Figura 1.** Quantitativo de venda anual, pelas distribuidoras, de diesel B (diesel misturado com biodiesel), m<sup>3</sup>, também estão incluídas as vendas para consumo termelétrico e aquaviário. Fonte: ABIOVE, 2015.

### 3.2 O óleo de soja e o biodiesel de soja

A soja pertencente à família das *Fabaceae*, foi introduzida no Brasil em 1882, trazida dos Estados Unidos e essa cultivar encontrou vários fatores propícios para sua expansão, clima favorável, baixo valor da mecanização e terras no período de 1960 a 1980.

A soja hoje representa uma das principais cultivares do Brasil, por ser amplamente utilizada tanto para fins alimentícios como para matéria-prima para combustível. Da soja pode se extrair basicamente o farelo e o óleo (EMBRAPA, 2015).

Pode se utilizar o óleo de soja na produção de biodiesel, pois na sua composição média estão presentes ácidos graxos, que representam 95% da concentração no óleo de soja (RAMOS, 1999), Tabela 02. Que são a matéria-prima para produção de biodiesel.

Devido aos ácidos graxos presentes no óleo de soja, segundo Oliveira (2012), o pH é levemente ácido (pH = 6) e depois de transesterificado fica com pH = 7 (biodiesel).

**Tabela 2.** Composição dos ácidos graxos presentes no óleo de soja.

<b>Ácidos graxos</b>	<b>Concentração (%)</b>
<b>Láurico</b>	0,1
<b>Mirístico</b>	0,2
<b>Palmítico</b>	9,9 – 12,2
<b>Palmitoléico</b>	traços-0,2
<b>Esteárico</b>	3-5,4
<b>Oléico</b>	17,7-26
<b>Linoléico</b>	49,7-56,9
<b>Linolênico</b>	5,5-9,5
<b>Araquídico</b>	0,2-0,5
<b>Gadolêico</b>	0,1-0,3
<b>Behênico</b>	0,3-0,7
<b>Erúcico</b>	0,3
<b>Lignocérico</b>	0,4

Fonte: RAMOS et al., 1999. Adaptada.

A utilização de um combustível depende da sua viscosidade, do ponto de nevoa, índice de cetano, densidade, entre outros parâmetros.

Segundo Ferrari (2004), o óleo de soja não é aconselhado para uso direto no lugar de um combustível, a exemplo o diesel, devido a diferença das suas propriedades físico-químicas em relação as propriedades do combustível tradicional (diesel).

Caso seja utilizado pode formar gomas e entupir os bicos de injeção (SETTACOMBUSTIVEIS, 2011).



### 3.3 Comparação das propriedades do óleo de soja, do biodiesel de soja e óleo diesel.

Na Tabela 03, é possível a visualização de alguns parâmetros do diesel em comparação ao óleo de soja *in natura* e o biodiesel de soja. Os mesmos parâmetros para o óleo de soja usado não foi encontrado.

**Tabela 3.** Quadro comparativo entre alguns parâmetros físico-químicos

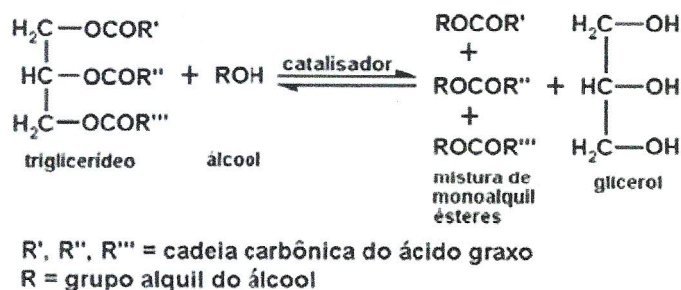
Parâmetros	Óleo de soja	Biodiesel de soja <sup>b</sup>	Óleo Diesel
<b>Poder calorífico (kcal/kg)</b>	9421	---	10950
<b>Ponto de névoa (°C)</b>	13	---	0
<b>Índice de cetano</b>	36-39	49 <sup>b</sup>	40
<b>Densidade a 25°C</b>	0,918 <sup>a</sup>	0,8870 <sup>c</sup>	0,8497
<b>Viscosidade cinemática (mm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>)</b>	31,6 <sup>d</sup> (40°C)	4,2 <sup>b</sup> – 5,37 <sup>c</sup> (40°C)	2,0-4,3 (37,8°C)
<b>Destilação a 90% (°C)</b>	370	---	338

Fonte: RAMOS, 1999. <sup>a</sup>FROEHNER, 2007; <sup>b</sup>RAMOS, 2009; <sup>c</sup>TOMAZZONI, 2014; <sup>d</sup>SILVA, 2012.

O número de cetano é medido por correspondência contra as misturas de dois combustíveis de referência, ou seja, n-cetano e  $\alpha$ -metilnaftaleno. Este parâmetro é amplamente utilizado como parâmetro para medir a qualidade do diesel em relação a qualidade da combustão e o atraso da ignição. Quanto maior o número de cetano melhor a qualidade do diesel. No biodiesel quanto maior o tamanho da cadeia carbônica dos ácidos graxos presentes e maior o número de moléculas saturadas, maior o número de cetano.

As viscosidades dos óleos influenciam no entupimento e fluidez do combustível dentro do automóvel, então quanto menor a viscosidade melhor a qualidade do combustível a ser utilizado. Ao observar as viscosidades do óleo de soja *in natura* (31,6 mm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>), óleo de soja usado (39,41 mm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>), do biodiesel (4,2 – 5,37 mm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>), do diesel (2,0 - 4,3 mm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>) e em comparação com a viscosidade admitida na Resolução ANP nº 45 de 26.8.2014 para o diesel que é de 3,0-6,0 mm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>. Pode-se

notar a necessidade de redução de aproximadamente de 10 vezes em relação a viscosidade dos óleos vegetais. Para haver essa redução é necessário transformar os triacilgliceróis (triglicerídeos) presentes nos óleos vegetais, que podem ser pela literatura a causa mais provável dessa viscosidade elevada, em ésteres metílicos ou etílicos dependendo do álcool utilizado, metílico ou etílico, respectivamente por meio do processo e reação de transesterificação, Figura 2.



**Figura 2.** Reação de transesterificação. Fonte: Racaczski et al, 2006.

### 3.4 QUALIDADE VERSUS A ADULTERAÇÃO DO DIESEL

A qualidade do diesel é uma busca constante, devido que seu uso pode comprometer a eficiência e o funcionamento de um automóvel ou uma máquina industrial quando essa utilizar um motor a diesel, devido a inúmeras consequências quanto ao uso desse combustível de qualidade duvidosa ao entupimento dos cilindros e bicos de injeção e poluição no meio ambiente (CORGOZINHO et al., 2008; KALLIGEROS et al., 2003).

Outra preocupação do controle de qualidade do diesel é quanto a adequação do combustível às normas que a legislação estabelece que são um conjunto regras, leis e parâmetros físico-químicos regidos pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), uma delas é a lei nº 11.097 de 13/01/2005 que introduz o biodiesel na matriz energética brasileira e estabelece as regras para seu uso no diesel (SETTACOMBUSTIVEIS, 2011).

Além da adequação do combustível as normas, é necessário se verificar a procedência e a garantia de qualidade na entrega do combustível ao consumidor final.

Existem práticas ilícitas que tentam abaixar o custo de obtenção dos combustíveis e auferir maiores lucros, como varias formas de adulterações do diesel, seja pela aplicação de solventes com valor menor, ou inserção de substâncias diversas no diesel, óleos usados – vegetais ou lubrificantes, óleos vegetais novos, ao invés das permitidas por lei ou que melhore as propriedades do diesel a exemplo aditivos redutores do ponto de congelamento e antioxidantes (DA SILVA et al., 2010).

O óleo vegetal usado pode ser considerado potencial adulterante devido ao baixo custo de obtenção pois é resíduo da industria alimentícia. Além dele ser solúvel em diesel (GUIMARÃES, 2006) e sua adição ao diesel faz uma mudança de cor no diesel semelhante a colorações que o diesel pode apresentar, Figura 3.

Alguns autores sugerem a adição de corantes marcadores (antraquinonas e os azocorantes) para garantir que o combustível que saiu da distribuidora chegue ao seu destino sem ser substituído por outro. No Brasil e no exterior o diesel é comercializado por pelo menos 2 classes: diesel interior e metropolitano (a depender do teor de enxofre na sua composição), a diferenciação dessas duas classes é feita com a adição de um corante vermelho para o diesel interior e sem corante para o metropolitano. Contudo existe o problema de que é necessário que se faça todas as vezes testes analíticos com o isolamento do corante e posterior caracterização do mesmo por técnicas cromatograficas ou espectrofotométricas com uma análise detalhada dos cromatogramas e espectros UV-Vis respectivamente, e também existem métodos visuais de comparação de cor ou com instrumentos colorimétricos. (TRINDADE, 2011). Outros marcadores polares são utilizados como impressões digitais dos combustíveis como a gasolina, querosene e diesel (HADDAD et. al., 2012).

Como podemos visualizar na Figura 3, a depender da concentração de OGR dissolvida no diesel não é possível diferenciar visualmente qual seria o diesel puro. De fato, alguns tons de cor são muito próximos e não é possível distinguir facilmente, a adulteração.



Por exemplo, na faixa de 35 a 50% de concentração, uma análise visual não observa variação significativa de cor. O diesel puro pode apresentar praticamente todas as cores visualizadas na Figura 3, dificultando ainda mais a identificação de adulteração.



**Figura 3.** Método visual comparativo para identificação de possíveis adulterações do diesel por óleos vegetais (OGR). Fonte: Autoria Própria.

Existem outra série de pesquisas voltadas para a análise do diesel para fornecer informações se o combustível estão dentro dos parâmetros físico-químicos estabelecidos pela ANP e sua procedência.

Algumas análises e métodos analíticos que são discutidos e pesquisados para aplicação no diesel e biodiesel a exemplo são: a espectrometria de infravermelho (OLIVEIRA et al., 2007; ALISKE et al., 2007), espectroscopia de infravermelho e calibração multivariada (PIMENTEL et al., 2006), a cromatografia combinada com espectrometria de massas (EBERLIN et al., 2009; CUNHA et al., 2012),

Todas essas técnicas são eficientes e até práticas, mas necessitam de experiência em diversas áreas do conhecimento.

A espectroscopia envolvendo fluorescência (QUINTELLA et al., 2011a; MEIRA, 2011a; CORGOZINHO et al., 2008; DIVYA, 2007; MEIRA, 2014a), se mostrou mais eficiente em detectar diferenciação do combustível adulterado em relação ao combustível de boa qualidade. Contudo existe a necessidade de torna-lo mais prático e eficaz ao se analisar várias amostras.

Esse presente trabalho tem entre os objetivos analisar os espectros de fluorescência de cada amostra e verificar a contribuição estatística de cada amostra para conseguir diferencia-las pelas técnicas dos *loadings*, PCA (gráfico de escores) e PLS. Além de fazer um breve levantamento de prováveis fluoróforos presentes em amostras de diesel contaminados com óleo vegetal *in natura* ou usado.

### 3.5 ESPECTROFLUORIMETRIA

A técnica de espectrofluorimetria consiste em emitir uma radiação eletromagnética numa amostra (molécula ou átomo) com a finalidade dela absorver essa radiação mudando ela do estado fundamental para o estado excitado e em um segundo momento a mesma amostra excitada volta para seu estado fundamental por meio da perda de energia que pode ser por meio do decaimento não-radiativo (relaxação vibracional) ou por decaimentos radiativos (fluorescência e fosforescência).

Estes últimos decaimentos diferem entre si, quanto ao tempo para emitir (tempo de vida do estado excitado) tal radiação, para fluorescência o tempo de vida do estado excitado é na faixa de  $10^{-7}$  a  $10^{-9}$ s. Em sistemas fracamente absorventes, nos quais a probabilidade do processo de transição é menor, os tempos podem ser longos como  $10^{-6}$  a  $10^{-5}$  s. Assim para a fosforescência os tempos requeridos são na faixa de  $10^{-4}$  a 10s ou mais (SKOOG, 2002).

Pode-se visualizar na Figura 04, um diagrama parcial de energia (diagrama de Jablonski) que demonstra as possíveis formas de transferência de energia e transições eletrônicas, desde quando a amostra (molécula ou átomo) absorve a energia externa a ele, saindo do seu estado fundamental ( $S_0$ ) chegando nos estados excitados singlete,  $S_1$  ou  $S_2$ , a depender da quantidade de energia absorvida, quanto maior a energia, menor o comprimento de onda. Ou seja, comprimento de onda maior,  $\lambda_1$  e comprimento de onda menor,  $\lambda_2$  respectivamente para cada estado excitado correspondente,  $\lambda_1 (S_0 \rightarrow S_1)$  e  $\lambda_2 (S_0 \rightarrow S_2)$ .

A transição entre  $S_1 \rightarrow S_0$  ou  $S_2 \rightarrow S_0$  (decaimentos radiativos) não envolvendo a etapa do cruzamento entre sistemas denominamos de fluorescência.



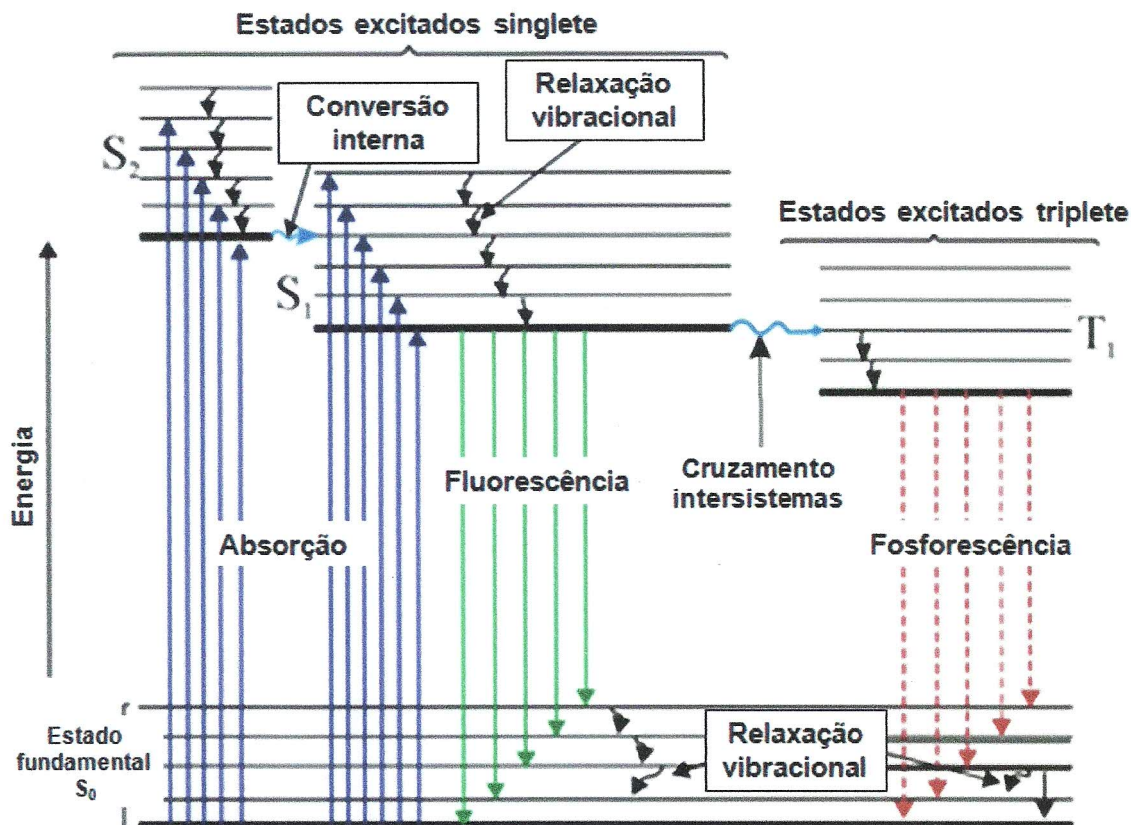


Figura 4: Diagrama de Jablonski. Fonte: Skoog, 2002. Adaptada.

### 3.5.1 Transições eletrônicas

Nas moléculas existem os orbitais das ligações covalentes, orbitais sigma ( $\sigma$ ) e orbitais PI ( $\pi$ ), cujos elétrons correspondentes são nomeados como elétrons  $\sigma$  e  $\pi$  respectivamente, esses são orbitais ligantes, e as formas excitadas destes orbitais expressos da forma,  $\sigma^*$  e  $\pi^*$ , respectivamente são orbitais antiligantes. Também existe o orbital não-ligante, onde os elétrons não são compartilhados e são conhecidos como elétrons não-ligantes, representados pela letra n.

As transições eletrônicas podem ocorrer entre os orbitais moleculares no estado fundamental ( $\sigma$ ,  $\pi$  e n) e os estados excitados ( $\sigma^*$  e  $\pi^*$ ) pela absorção de radiação. Essas transições podem ser dos tipos:

### 3.5.2 Transição $\sigma \rightarrow \sigma^*$

É a transição eletrônica (do estado  $\sigma$  para o estado  $\sigma^*$ ) em que mais necessita energia para ser induzida em relação as outras transições. Como esta transição nunca ocorre em radiações que fazem parte do presente trabalho, então este assunto não será estendido.

### 3.5.3 Transição $n \rightarrow \sigma^*$

Compostos saturados contendo pares de elétrons não-compartilhados (elétrons não-ligantes) são capazes desse tipo de transição. Podem ser produzidas ao absorver a radiação na região de 150 a 250nm, sendo a maioria dos picos presentes na região abaixo de 200nm.

As absorptividades molares associadas a esse tipo de absorção estão entre 100 a 3000  $\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

Os máximos de absorção para transições eletrônicas  $n \rightarrow \sigma^*$ , tendem a deslocar para comprimentos de onda menores, devido a presença de solventes polares. O número de grupos funcionais orgânicos com picos de absorção  $n \rightarrow \sigma^*$  é baixo para as radiações que serão vistas neste trabalho.

### 3.5.4 Transições $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$

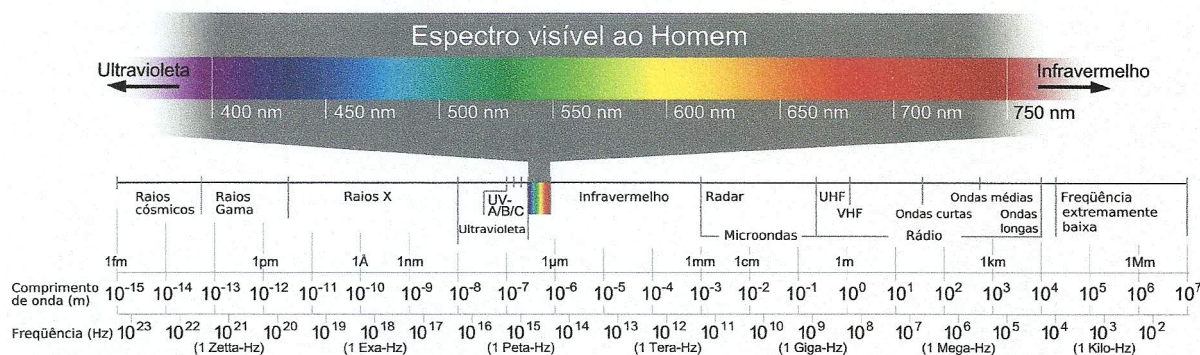
Essas transições eletrônicas são importantes devido ao fato de ocorrerem na faixa da região espectral de 200 a 700nm (região do UV-Vis), Figura 05. Ambas ocorrem pela presença de grupos funcionais orgânicos insaturados, devido a presença das ligações  $\pi$ . As moléculas que possuem essas possibilidades de transições ( $n \rightarrow \pi^*$  e  $\pi \rightarrow \pi^*$ ) são chamadas de cromóforos.

Pode se diferenciar essas duas transições eletrônicas pelas absorptividades molares,  $n \rightarrow \pi^*$  igual a faixa de 10 a 100  $\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$  e a transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  na faixa de 1000 a 10000  $\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$ .



A outra diferença é o efeito exercido pelo solvente nos picos máximos de comprimento de onda que são deslocados. Que pode provocar um deslocamento para comprimentos de onda de absorção ou excitação menores (deslocamento hipsocrômico), uma das razões prováveis é quando se muda o solvente para um mais polar esse deslocamento ocorre. O deslocamento para comprimentos de onda de absorção ou excitação maiores é o deslocamento batocrômico.

Caso haja conjugação de cromóforos os máximos podem se deslocados para comprimentos de onda maiores. Um auxocromo é um grupo funcional que por si só não absorve na região do ultravioleta, mas tem efeitos de deslocar picos do cromóforo para comprimentos de onda maiores e aumentar suas intensidades quando associados com um cromóforo a exemplo, os grupamentos etila, nitro, amino, sulfônico, hidroxila, metóxi, etóxi, cloro e bromo (SKOOG 2002; HARRIS 2001; SKOOG 2006).



**Figura 5:** Espectro eletromagnético. Fonte: sbfisica, 2015

### 3.5.5 Desativação da fluorescência (*Quenching*)

A desativação da fluorescência conhecida como *Quenching* é o processo em que a intensidade da fluorescência é diminuída ou extinta, devido a interação da molécula do estado excitado com outra por interação intra ou intermolecular. A temperatura pode favorecer a desativação da molécula excitada, pois as interações podem aumentar devido ao aumento das velocidades das moléculas e consequente choque entre elas. Outro fator é a transferência de energia por ressonância, que ocorre quando o espectro de emissão de um fluoróforo se sobrepõe com o espectro de excitação (absorção) de uma outra molécula receptora, ou seja, nessa transferência de energia não há emissão de luz, há uma interação direta entre as moléculas

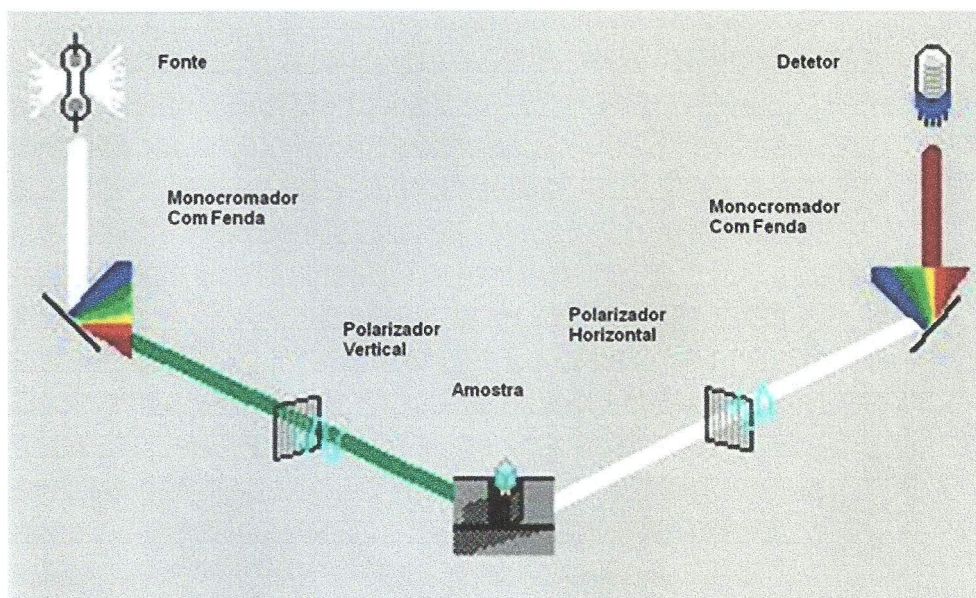
doadora e receptora ocasionando a desativação total ou parcial da molécula do estado excitado (ENGELSEN, 2006).

### 3.5.6 Espectrofluorímetro

As amostras foram analisadas num espectrofluorímetro, que serve para se obter dados de intensidade de fluorescência, por meio da incidência de uma radiação eletromagnética com um comprimento de onda específico (comprimento de onda de excitação) e coleta da radiação fluorescente em um comprimento de onda específico (comprimento de onda de emissão).

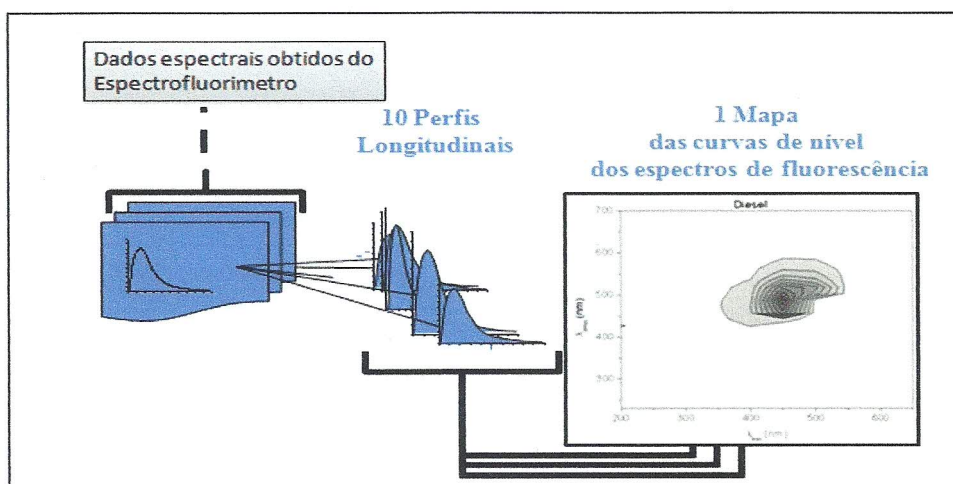
O espectrofluorímetro apresenta na sua estrutura interna (Figura 06) uma fonte luminosa (lâmpada de tungstênio), seguida do monocromador com fenda (utilizado para realizar o desdobramento dos comprimentos de onda presente na luz da fonte luminosa e também seleciona o comprimento de onda de excitação desejado), polarizador vertical (absorve parcialmente toda radiação proveniente do monocromador, só deixando atravessar a radiação eletromagnética plano polarizada vertical), porta amostra (local onde fica armazenada a cubeta com a amostra que esta sendo analisada), polarizador horizontal (absorve toda a radiação fluorescente proveniente da amostra e a radiação remanescente da lâmpada plano polarizada vertical, deixando atravessar só a radiação eletromagnética plano polarizada horizontal proveniente da fluorescência da amostra), monocromador com fenda (seleciona o comprimento de onda de emissão que se deseja obter), detector (serve para transformar a radiação luminosa em pulsos elétricos onde será convertido, por meio de um transdutor, em números que por sua vez irão ser armazenados no programa do equipamento instalado num computador acoplado no equipamento).





**Figura 6.** Representação esquemática de um espectrofluorímetro. Fonte: Perkin Elmer LS55, Firmware: F1, Serial Number: 73809

A Figura 07 representa o esquema ilustrativo do processamento das informações de intensidade de fluorescência e comprimento de onda de emissão versus comprimento de onda de excitação, desenvolvidas no grupo, que são obtidas e organizadas em uma tabela fornecidas pelo programa do espectrofluorímetro, cada tabela representa um comprimento de onda de excitação programada pelo pesquisador.



**Figura 7.** Esquema do processamento dos dados para obtenção dos mapas espectrofluorimétricos. Fonte: Watanabe, 2002. Adaptado.

Essas tabelas são inseridas lado a lado em uma tabela única criada no programa de tratamento de dados Origin<sup>®</sup>, sendo que a primeira tabela é preservada as duas

colunas (comprimento de onda de emissão e intensidade de fluorescência respectivamente) e nas subsequentes é excluída a primeira coluna.

Logo em seguida é gerado um gráfico de curvas de nível ou contorno conhecidos como mapas de espectrofluorescência 3D, onde um dos eixos são os comprimentos de onda de excitação, o outro, comprimentos de onda de emissão e o terceiro eixo de intensidade de fluorescência, representado rebatido em forma de linhas de contorno ou degrade de cores no plano (excitação x emissão).

Em uma análise espectral de um mapa pode se fazer uma varredura dos perfis espectrofluorimétricos de toda a faixa espectral de 200 a 700nm de uma só vez (excitação e emissão juntos), sem a perda de informações devido a escolha de algum comprimento de onda esquecido ou não planejado.

Além de ser mais prático comparar dois mapas de duas amostras em estudo em relação a uma série de gráficos de espectros de fluorescência isolados das duas amostras.

### 3.6 QUIMIOMETRIA

A quimiometria é um conjunto de métodos que utiliza tratamentos matemáticos e estatísticos para a análise de dados químicos de natureza multivariada.

Quando se trabalha com amostras complexas, como óleos e combustíveis, com mais um componente e variadas propriedades física e químicas ou que não apresentem aparentemente muita correlação entre os dados obtidos, necessita do emprego de métodos quimiométricos, que se utiliza do grau de espalhamento e dispersão dos dados e sua contribuição, influência e correlação que um dado tem em relação a outro.

A maioria dos métodos modernos para tratamento de dados multivariados é o PCA (Principal Component Analysis) que é a manipulação de uma matriz de dados com o objetivo de representar as variações presentes em muitas variáveis. Para um conjunto de dados muito diferentes entre si, é necessário que se façam cálculos de pré-tratamento estatístico como centrar os dados na média (calcula a média dos dados e depois subtrai cada dado do seu valor médio), autoescalar (centra os dados na média e divide-se eles pelo desvio padrão).



No caso de trabalhos com os apresentados nessa pesquisa são de natureza espectroscópica é aconselhado o pré-tratamento dos dados como centrar na média os dados. O método do PCA consiste em se criar um novo modelo de eixos (denominados como componentes principais ou fatores ou variáveis latentes ou autovetores) para representar as amostras no qual a natureza multivariada pode ser analisada em poucas dimensões. Os componentes principais podem ser considerados como a variação ou o espalhamento entre os pontos (variância) utilizando o menor número de eixos possíveis. As novas coordenadas nesse novo sistema de eixos das coordenadas principais são chamadas de escores. Cada componente principal (PC) é construída pela combinação linear das variáveis originais. Os coeficientes dessa combinação linear (peso da contribuição da variável antiga) são chamados de *loadings*, que são na verdade os cossenos dos ângulos formados entre os eixos originais e o novo eixo dos componentes principais (FERREIRA, 1999)

As possíveis adições de OGRs e óleo de soja em diesel podem ser identificadas por meio da análise de espectros de fluorescência e para uma análise mais detalhada podemos utilizar métodos quimiométricos de interpretação de dados, pelo qual utilizou-se neste trabalho a análise de componentes principais (PCA), o *Partial Least Square* (PLS) e os *loadings*.

### 3.7 Mapeamento do Estado da Arte e da Técnica

#### Prospecção Tecnológica e Científica

É um conjunto de atividades que visa a busca de encontrar: novas perspectivas tecnológicas ou científicas, as tendências de mercado financeiro ou de pesquisa, as parcerias existentes entre grupos de pesquisa, empresas, pesquisadores ou inventores, países e as políticas praticadas nesses países em relação a inovação científica e tecnológica (AMPARO et. al., 2012).

Isto só é possível com a busca e análise de documentos de patentes ou artigos científicos nos bancos de dados científicos e tecnológicos, também nos sites oficiais das empresas ou notícias divulgadas em órgãos de imprensa oficiais no tema ou

escopo proposto (RIBEIRO et al., 2012; QUINTELLA et al., 2011; SANTOS et al., 2015; CARUSO E TIGRE, 2004).

Segundo Santos (2015), hoje em dia existem muitas formas de analisar o futuro e suas consequências, por exemplo, *Forecast(ing)*, *Foresight(ing)* e *Future Studies*, *Futuribles*, *La Prospective*, *Scenarios*, *Technology Assessment*, *Technological Watch*, *Veille Technologique*, *Environmental Scanning* e *Vigilância Tecnológica*.

## PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1 AMOSTRAS

A amostra de diesel S50 foi adquirida da Refinaria Landulpho Alves (RELAM) localizada em São Francisco do Conde, Bahia, Brasil. A amostra de OGR foi coletada das frituras dos alimentos provenientes de restaurantes. A amostra de óleo de soja foi comprada no comércio local, da marca Perdigão®.

As amostras foram de misturas de OGR em diesel nas concentrações de 0 a 100% (0%, 1%, 3%, 5%, 7%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%) foi utilizada uma bureta de 25 mL para efetuar as medidas volumétricas. Também foram preparadas misturas de óleo de soja em diesel com as mesmas concentrações utilizadas para o OGR. Todas as amostras não tiveram tratamento prévio para serem misturadas.

### 4.2 ESPECTROFLUORIMETRIA NO PERKIN ELMER–LS55

Os espectros de emissão fluorescente das amostras foram realizadas em cubetas de quartzo de 1 cm, com o software FL WinLab utilizando fenda de 2,5nm e velocidade de scan de 1200nm/min. detectando a emissão de 430 a 650nm em intervalos de 0,5nm enquanto na amostra incidia radiação eletromagnética para a promoção da excitação em comprimentos de onda fixos na faixa de 400 a 625nm, com incremento de 25nm, perfazendo um total de 10 comprimentos de onda de excitação e 442 comprimentos de onda de emissão.

Após as leituras de fluorescência de cada amostra os dados foram importados no Origin Pro 8 e agrupados em uma matriz. As colunas foram os valores de fluorescência para comprimentos de onda de excitação variando de 400 a 625nm com um  $\Delta\lambda$  de 25 nm.

As linhas foram os valores de fluorescência para os comprimentos de onda de emissão variando de 430 a 650nm variando com um  $\Delta\lambda$  de 0,5nm, originando uma matriz  $A_{442 \times 10}$ . Os espectros também foram corrigidos considerando um  $\Delta\lambda$  de 30 nm entre emissão e excitação, sendo substituídas por zero as intensidades obtidas



neste intervalo, de acordo com a Tabela 04. Deste modo retirou-se as intensidades correspondentes à lâmpada.

**Tabela 4.** Excitação x Emissão cujas intensidades foram zeradas ou não escaneadas.

Excitação (nm)	Emissão (nm)
400	400 a 430
425	400 a 455
450	400 a 480
475	400 a 505
500	400 a 530
525	400 a 555
550	400 a 580
575	400 a 605
600	400 a 630
625	400 a 655

#### 4.3 ESPECTROFLUORIMETRIA NO FLUORIMETRO DE LED

Os espectros de emissão de fluorescência das amostras foram obtidos excitando-as com luz LED de 365 nm e captando a emissão na faixa de 385 nm a 1000 nm com incremento de 1 nm, conseguindo-se um total de 1 comprimentos de onda de excitação e 615 comprimentos de onda de emissão. As leituras foram feitas com tempo de integração de 1s.

#### 4.4 TÉCNICAS DE ANÁLISE MULTIVARIADA UTILIZADAS NOS DADOS OBTIDOS

##### 4.4.1 Análise dos Componentes Principais (PCA)

Com as matrizes de dados dos mapas de fluorescência foram processados por PCA. Para isso, as matrizes foram inseridas no software Matlab<sup>®</sup>. Sendo sobrepostas, formando um “cubo” de dados. Nele, cada “camada” horizontal é uma matriz de dados formando o cubo,  $B_{442 \times 10 \times n}$ , onde o “n” é o número de matrizes

inseridas, cada matriz foi convertida em autovalores. Depois este grupo de matrizes já convertida em autovalores são colocados em uma subrotina conhecida como *unfolding* no Matlab para depois ser submetido a análise de componentes principais, que separa em grupamentos similares, ou seja, em grupos que oferecem maior semelhança de propriedades e espécies químicas.

#### 4.4.2 *Partial Least Square* no *Unscrambler* (PLS)

Os espectros originados do fluorímetro LED foram organizados em matriz de 615x24 (onde as linhas foram os comprimentos de onda de emissão e as colunas foi o número de amostras), pré-processadas utilizando o método de centrar na média e em seguida submetidas a análise *Partial Least Squares Regression* (PLS). A análise PLS consiste em encontrar uma função que descreva a variância entre as matrizes X e Y maximizando a correlação entre elas.

As matrizes e mapas espectrofluorimétricos, foram gerados com auxílio do Origin 8.0<sup>®</sup> (OriginLab, E.U.A., 2007). Os modelos de calibração foram construídos usando a técnica de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) com o software *Unscrambler*<sup>®</sup> 10.0.1 (CAMO). O número de variáveis latentes para o PLS foi determinado baseado no erro de validação usando o default do software.

## 4.5 MAPEAMENTO DO ESTADO DA ARTE E DA TÉCNICA

Prospecção de documentos de patentes e artigos

Escopo da estratégia de busca e levantamento de dados

Durante a abordagem do assunto da prospecção dos documentos de patentes, será utilizado ao invés de “documento(s) de patente(s)”, o termo “patente(s)”. Os radicais das palavras chave foram escolhidas seguindo o critério de idioma inglês para ambas prospecções. A presente prospecção de patentes ou artigos, foi realizada tendo como tema principal a qualidade do diesel focando possível controle ou identificação científica de adulterações em diesel se utilizando óleos vegetais. Foram escolhidas as palavras chave: *Qualit\**, *biodiesel\**, *diesel\**, *adulterat\**, *biofuel\**, *fuel\**, *oil\**, *vegetab\**, *edible\**, *fluoresce\**, *waste\**, *grease\**, *bio-diesel\**, *spectrofluorimet\**.

Em relação aos documentos de patentes, são existentes até o momento do término da prospecção, códigos específicos para adulteração em combustíveis, só existem códigos para análises óticas G01N21, investigação e análise de materiais com o uso de medidas óticas, isto é, usando infravermelho, visível ou ultravioleta e G01N33, investigação e análise de materiais por métodos específicos não cobertos pelos grupos anteriores. Vale ressaltar o significado de cada parte desses códigos, G: física; G01: medição ou teste; G01N: Investigando ou analisando materiais com determinação de suas propriedades físico-químicas (ESPACENET, 2015). Por isso só foram utilizados esses dois códigos internacionais (G01N21 E G01N33).

As informações desses documentos foram exportados dos bancos de dados de patentes e artigos/patentes utilizando os sites *spacenet*<sup>®</sup> e *webofscience*<sup>®</sup> respectivamente, diretamente para o programa *excel*<sup>®</sup> em planilhas distintas foram separados os artigos das patentes.

Durante o tratamento das informações no *Excel*<sup>®</sup> nas duas prospecções, foram retirados: as multiplicidades da mesma patente ou artigo, as patentes ou artigos que não são do escopo do presente trabalho.

Logo após foram importados os resumos das patentes para o *Excel*<sup>®</sup>, pois a importação não é automática. Esta planilha é utilizada para gerar os gráficos por exemplo, do período evolutivo acumulado dos artigos e das patentes, do quantitativo das patentes ou artigos por pesquisador, e tantos outros que o pesquisador julgar necessário.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 PROSPECÇÃO DE ARTIGOS

#### 5.1.1 Prospecção científica: Triagem dos artigos

Depois de feito o levantamento nos bancos de artigos em janeiro de 2015, Tabelas 05 e 06, foram triadas as combinações dos radicais das palavras-chave para os artigos.

Devido ao grande número de artigos relacionados a qualidade de biodiesel e/ou diesel cerca de 794, dentre estes, foi observado que os artigos de interesse (adulteração ou contaminação com óleos usados ou vegetais no diesel) estavam também distribuídos em outras combinações de radicais.

Relacionados com os radicais combinados: diesel\*, oil\*, waste\* e grease\* obteve-se um total de 147 artigos, mostrando a preocupação quanto ao óleo diesel e resíduos graxos (por exemplo, óleo de motor), segundo Balat (2008) é possível transformar por meio de uma reação de pirolise catalítica, o óleo de motor usado em óleo diesel. Enquanto isso nessa mesma busca com esses radicais, existe o trabalho de Souza (2014) no qual demonstra que pode se ter adulterações do diesel com óleo de motor usado, e já existe pesquisa para analisar quantitativamente diesel S-10 (10% de enxofre na composição do diesel) por meio da espectroscopia MIR e PLS.

Ao total são 87.985 artigos relacionados com a temática do *oil\* and diesel\**, mostrando ser uma área vasta de pesquisas desse combustível. Seguidos de 2.186 artigos relacionados com a qualidade do biodiesel\*. Sendo uma curiosidade na variação do nome do biodiesel que alguns pesquisadores publicam hifenando a palavra bio-diesel\* demonstrando ser uma prática de escrita comum (1.546 artigos).

Contudo pode se observar que existe um forte interesse no assunto (qualidade de combustíveis), já que os artigos mencionam outros combustíveis adulterando o diesel sem ser o óleo usado ou vegetal, a exemplo, simulação e análise do desempenho do motor com adulteração no diesel com querosene (PATIL & THIPSE, 2015) avaliando propriedades físico-químicas como viscosidade, poder calorífico, emissões de NOx e observar os efeitos do melhorador oxigenado de cetano éter

etilico (DEE), no desempenho do motor e nas emissões (NO e CO); outro artigo é um sensor para análise colorimétrica em amostras de querosene em diesel também (PARK et. al., 2014), amostras de combustível de álcool etílico hidratados ou contaminados com metanol, usando técnicas de infravermelho (SILVA et al., 2012), ou adulterações de gasolina e diesel com querosene analisados pelo índice de refração (ROY, 1999).

Relacionados às adulterações de *diesel\** e *biodiesel\** foram 29, e *biofuel\** e *adulterat\** foram 12, coincidentemente o número de artigos envolvendo o tema *adulterat\** associado com *fuel\** e *fluoresce\** com *adulterat\** tem os totais iguais de 189 artigos.

Agora com relação aos assuntos *adulterat\** e *diesel\** foram 95 artigos; com a combinação dos três radicais *adulterat\**, *oil\** e *edible\** foram 264 artigos; com a combinação dos quatro radicais *adulterat\**, *fuel\**, *oil\** e *vegetab\** foram 12 artigos.

Outro grupo de radicais associados foram *Adulterat\**, *fuel\**, *oil\** e *edible\** que se esperava vários artigos publicados e só foi encontrada uma publicação. Que tem como autores Soni e Kasana (2008), trata de um sistema sensor de detecção fotoacústico que usa o índice de refração do líquido para produzir o fenômeno de difração da luz, e um gerador, com cristais piezoelétricos, de ondas de ultrassom que incidem na amostra em que esta se analisando, as amostras segundo os autores podem ser óleos combustíveis, óleos comestíveis, vinhos, etc. A adulteração é determinada pelos conhecimentos da posição dos pontos de difração.

Associando as palavras chaves e o radical *biodiesel\**, *diesel\** e *spectrofluorimet\** temos um total 3 artigos, que por ser uma tecnologia nova, os 3 artigos são de autores brasileiros (CORGOZINHO et al., 2008; MEIRA et al., 2012; MEIRA et al., 2011a), que pesquisam sobre a fluorescência do biodiesel e diesel, no primeiro artigo se utiliza fluorescência síncrona para identificar adulterações de óleos usados em diesel.

No segundo artigo os autores predizem algumas propriedades físico-químicas das misturas de biodiesel em diesel usando as técnicas analíticas de espectrofluorimetria e calibração multivariada.

O terceiro faz o estudo da identificação de adulteração de biocombustível por óleos residuais ao diesel por espectrofluorimetria total 3D e Análise dos Componentes

Principais (PCA), mostrando que é possível diferenciar as amostras de biodiesel das amostras de óleos vegetais diluídas em diesel ou puras por meio da análise de todos os espectros de excitação e emissão (mapas espectrofluorimétricos), e os mapas tratados, com o método estatístico dos componentes principais.

Depois de triados os conjuntos dos radicais das palavras chave, foram selecionados 67 artigos dos 141 artigos marcados em amarelo nas Tabelas 05 e 06, por serem representativos em relação aos objetivos desse trabalho. Com eles foram feitas algumas análises gráficas, para se obter maiores informações.



## 5.1.2 Prospecção científica: Estratégia de busca

**Tabela 5.** Escopo da estratégia de busca dos artigos sobre adulteração em diesel pesquisados em janeiro de 2015 (Fonte: Autoria Própria).

Qualit*	Biodiesel*	Diesel*	Adulterat*	Biofuel*	Fuel*	Oil*	Vegetab*	Edible*	Fluoresce*	Waste*	Grease*	Bio-diesel*	Spectrofluorimet*	Total (Artigos)
X	X	X												794
	X	X	X											29
			X	X										12
			X		X									189
			X		X	X	X							12
			X		X	X		X						1
			X			X		X						264
		X	X											95
												X		1546
	X	X											X	3
			X						X					189
X	X													2186
		X				X								87985
		X				X				X	X			147

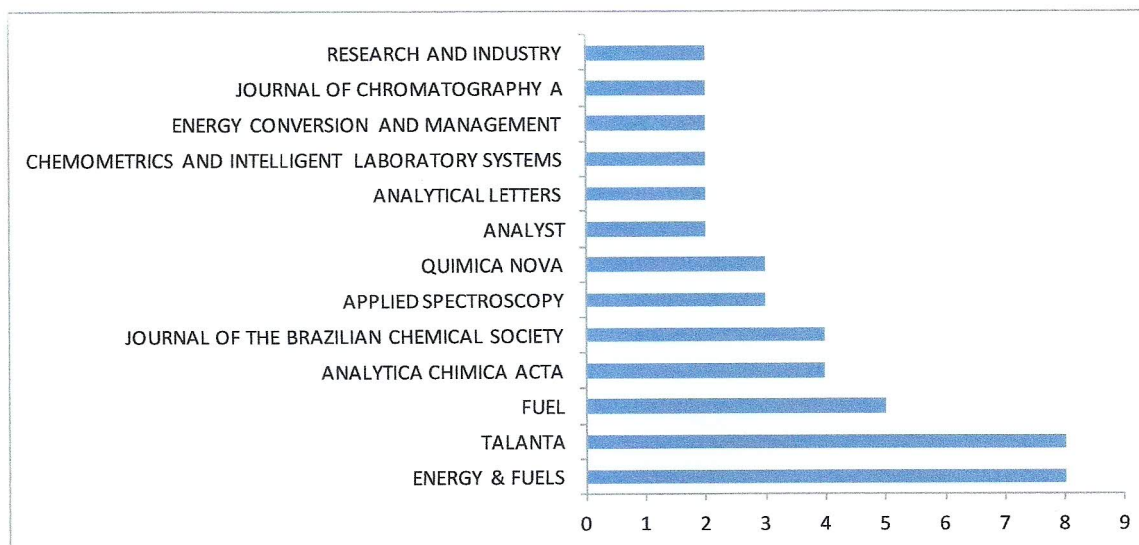
### 5.1.3 Análise das revistas mais procuradas para publicação de artigos

A Figura 08 retrata as revistas que mais publicaram artigos na área de sobre qualidade de diesel e suas misturas entre os anos de 1981 a 2015, foi construída com o objetivo de monitorar em quais revistas é mais requisitadas.

Os pesquisadores preferem 4 tipos de revistas referentes aos temas sobre energia, a *Energy & Fuels*, a revista *Fuels*, e a revista *Energy Conversion and Management* em desse grupo em especial as duas primeiras revistas são as mais requisitadas. No segundo grupo, as que aceitam trabalhos na área da química analítica em geral as revistas, *Talanta*, *Analytica Chimica Acta*, *Analyst*, *Analytical Letters*, *Analyst*, sendo a primeira e a *Energy & Fuels* que mais os pesquisadores procuram publicar com 8 publicações cada.

O terceiro grupo de pesquisadores publica em revistas que apresentam temas variados nas suas publicações, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *Química Nova*, *Research and Industry*.

O quarto grupo, publica em revistas específicas de cada técnica utilizada, *Applied Spectroscopy*, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*.



**Figura 8.** Revistas que mais publicam artigos na área de sobre qualidade de diesel e suas misturas (1981-2015). Fonte: Autoria própria

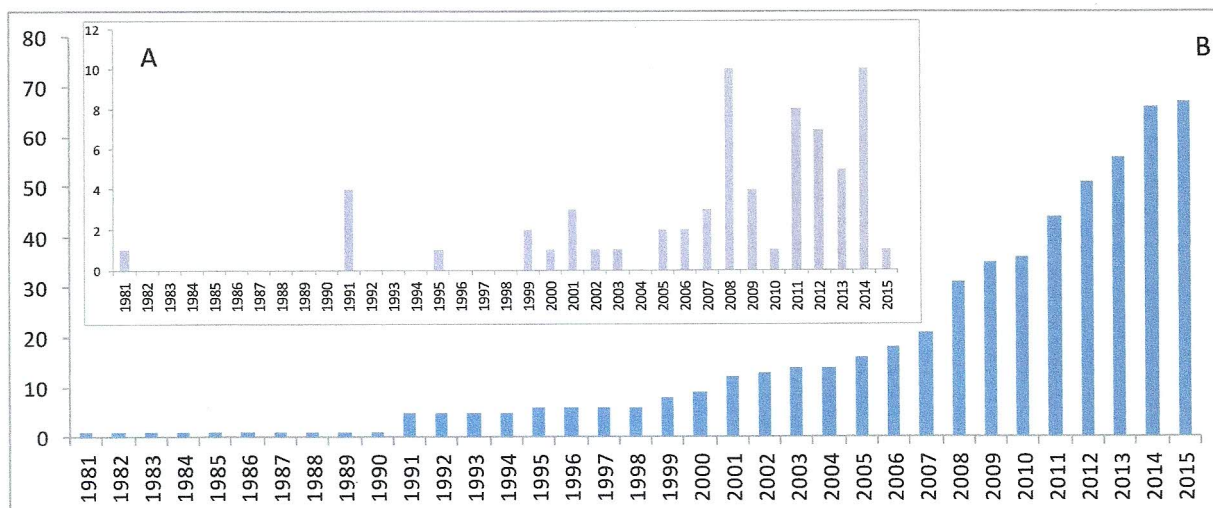
É possível com essa informação encontrar artigos de interesse na qualidade do diesel e também dos assuntos desenvolvidos na área de adulteração do diesel com

diferentes linhas de pesquisa nessa mesma temática (OLIVEIRA et al., 2007, MEIRA et al. 2015b, PENA, 2014).

#### 5.1.4 Evolução anual das publicações sobre qualidade de diesel e suas misturas

Desde a reunião das Nações Unidas que culminaram na declaração de Estocolmo em 1972 que fazia menção a preocupação de proteção do meio ambiente perante a poluição enfrentada, provavelmente começam se a elaboração de leis no mundo todo a exemplo no Brasil, lei federal 6938/81 que estabelece a Política Nacional do meio ambiente. Então em 1991, como observado na Figura 09, se iniciam as publicações de trabalhos sobre as análises de combustíveis como o diesel, pelo advento também da criação da Agenda 21 na Rio-92, as pesquisas para o controle da qualidade dos combustíveis começam e depois de 1997 com a elaboração do protocolo de Quioto de diminuição de emissões gasosas observa-se um crescimento acelerado das publicações em 1999 na área de adulterações de combustíveis. Em 2008 constata-se um aumento significativo de quase 10 artigos nesse ano, onde até então eram publicados no máximo 4 artigos por ano, devido provavelmente a conferencia internacional sobre meio ambiente, a ECO 2008, realizada em Brasília/Brasil. Normalmente há um aumento no número de publicações devido a divulgação e a oportunidade de uma ampla discussão das pesquisas realizadas na área. É observado o uso de técnicas espectroscópicas infravermelho e fluorescência maior depois de 2005.





**Figura 9.** Evolução anual (A) e acumulada (B) de publicações sobre qualidade de diesel e suas misturas. Fonte: Autoria Própria.

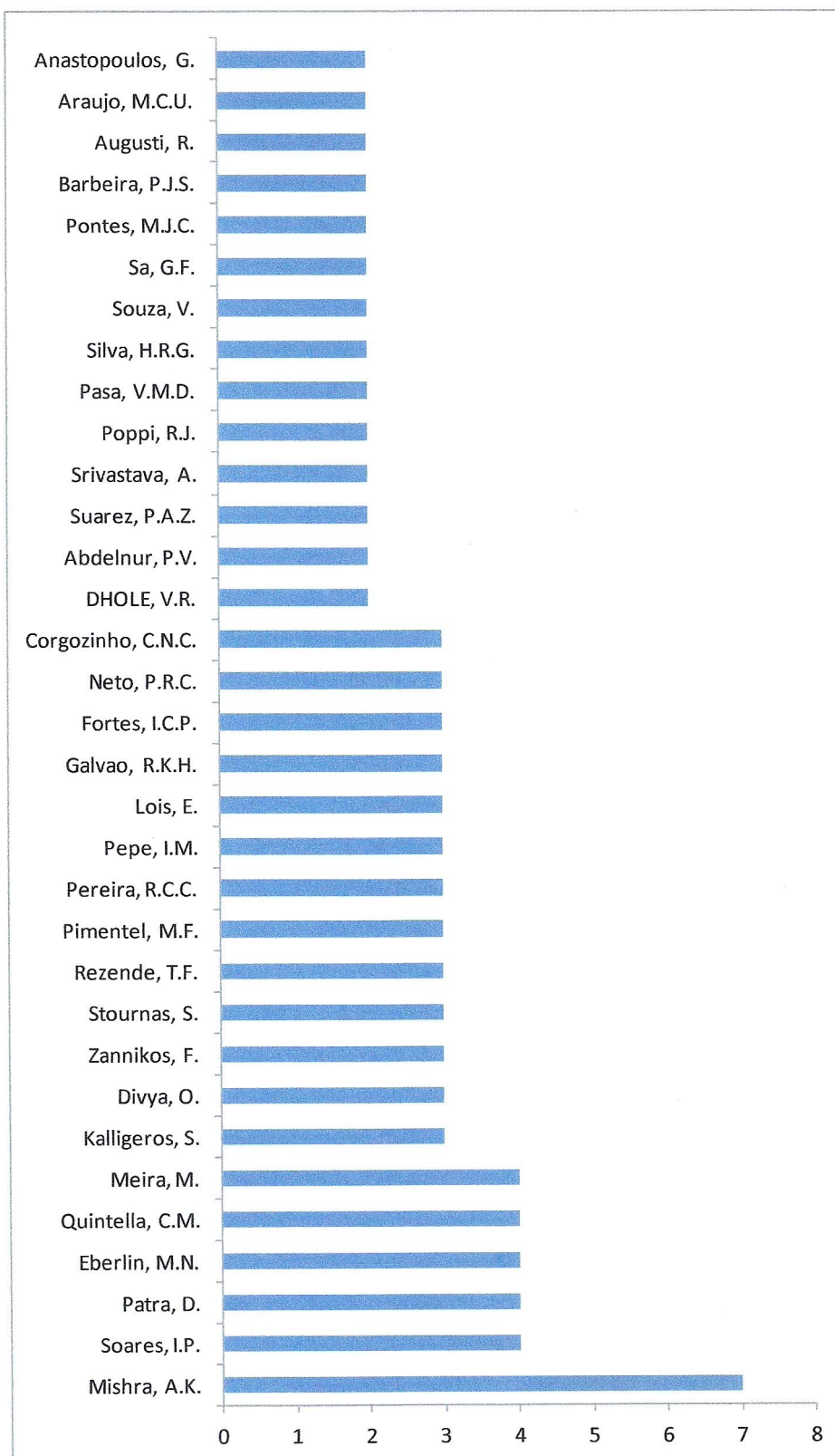
Na evolução anual pode-se observar o forte interesse em desenvolver técnicas analíticas para melhoria da qualidade do diesel em especial nas técnicas espectroscópicas (PATRA, 2002; PIMENTEL, 2006; MEIRA et al., 2011).

### 5.1.5 Pesquisadores que publicam na área

As publicações na área de adulteração de diesel são recentes, na Figura 10, os pesquisadores que publicam na área na sua maioria publicaram até 3 artigos sendo 6 autores que merecem destaque Meira, Quintella, Eberlin, Patra, Soares e Mishra, os cinco primeiros com 4 artigos e o ultimo que merece destaque com 7 artigos.

O indiano Ashok.K. Mishra, mestre em Ciências pela University Delhi merece destaque, pois publica desde o ano de 2000 sendo um dos pioneiros na área de adulteração com uso de querosene (adulterante) utilizando técnicas de fluorescência e infravermelho, associada com quimiometria (DIVYA et al., 2008a; DIVYA et al., 2008b; DIVYA et al., 2007; MISHRA et al., 2002; PATRA et al., 2001a; PATRA et al., 2001b; PATRA et al., 2000), e já publicou nas revistas: Applied Spectroscopy(2), Proceedings of the National Academy of Sciences India section A – Physical Sciences (1), Analytica Chimica Acta (2), Indian Journal of Chemistry Setion A – Inorganic Bioinorganic Physical Theoretical & Analytical Chemistry (1) e a Analyst (1). Em suas publicações interage com os pesquisadores Divya, O. (3); Patra, D. (4) e Sireesha, LK (1).

Existem também grupos de pesquisa no Brasil onde já se pesquisa com adulteração de diesel, como o pioneiro grupo coordenado pela pesquisadora Profa. Dra. Cristina Maria Quintella do Instituto de Química da universidade Federal da Bahia (4), que interagiu com a pesquisadora Profa. Dra. Marilena Meira (4) que fez pós-doc e que depois se tornou docente do Instituto Federal da Bahia e equipe, localizado em Salvador na Bahia (QUINTELLA et al., 2011a; GONÇALVES et al., 2010; MEIRA et al., 2012; TOMAZZONI et al., 2014).



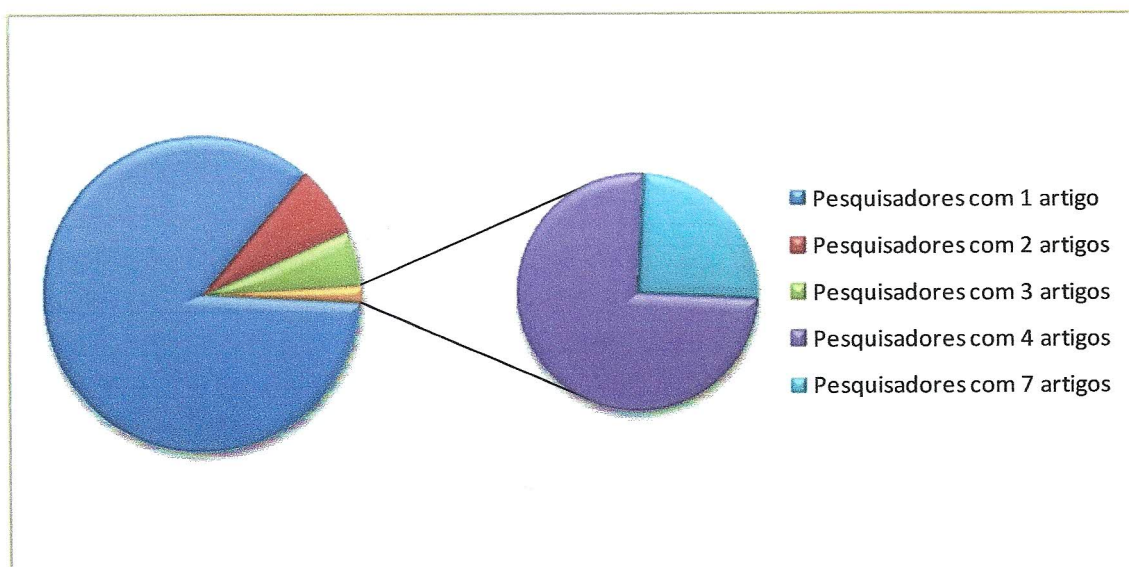
**Figura 10.** Pesquisadores com mais de 1 artigo publicado (1981-2015). Fonte: Autoria Própria.



Conforme a Figura 10 e visto nos artigos dos respectivos autores, mostrou as competências e as linhas de pesquisas desenvolvidas em torno do tema de adulteração do diesel em técnicas de fluorescência do diesel para se determinar a sua qualidade (MEIRA, 2013; MISHRA, 2008; MEIRA, 2015; PATRA, 2002)

### 5.1.6 Análise do quantitativo de artigos por autor

É observado na Figura 11 que existem na sua maioria (85,3%) de pesquisadores com um artigo, em relação aos com dois artigos (7,4%) e os pesquisadores com mais de 3, 4 ou 7 artigos (5,6%, 1,3% e 0,4% respectivamente) chegam a 7,3% juntos.



**Figura 11.** Quantitativo percentual de artigos por autor (%). Fonte: Autoria Própria.

Para a temática em estudo e a análise estatística dos artigos por autor, fica evidenciado a riqueza de diversidade de assuntos que podem ser pesquisados com a qualidade do diesel associados com a espectroscopia (POULLI, 2005; QUINTELLA, 2011; RIBEIRO, 2014a)

## 5.2 PROSPECÇÃO DE DOCUMENTOS DE PATENTES

### 5.2.1 Prospecção tecnológica: Triagem das patentes

Após efetuado o levantamento nos bancos de documentos de patentes (*spacenet e science direct*) em janeiro de 2015, Tabelas 07 e 08, foram triadas as combinações de palavras-chave e radicais para as patentes, também foram buscados códigos internacionais de classificação de patentes sobre adulteração de diesel, como não existe ainda tais códigos, foram pesquisados os códigos G01N21 e G01N33 relacionados com métodos analíticos, por se tratar de métodos e técnicas de potencial interesse tecnológico, haja vista que esses são bastante utilizados nas invenções com eficiência comprovada nas contaminações do diesel com fuligem, óleos lubrificantes, óleos vegetais novos e usados, (US2004135584; US2004135585), além da determinação e monitoramento de compostos poluentes emitidos por motores a diesel através de métodos e técnicas analíticas óticas (CN201828555; KR20100036491),

As patentes relacionadas a qualidade de biodiesel ou diesel cerca de 197, dentre estas 161 patentes foram analisadas, por mostrarem terem assuntos de interesse (adulteração ou contaminação do diesel) que estavam também distribuídos em outras combinações de radicais e códigos.

Associando as palavras-chave Biodiesel\*, diesel\*, o radical qualit\* com o código G01N21 foi obtido um total de 2 patentes (US2010116991, WO2010081212), as mesmas apresentaram métodos para controle da qualidade das misturas do biodiesel em diesel por meio da técnica do infravermelho e a outra para controle de qualidade de combustíveis ao longo da linha produtiva desde a sua produção até sua distribuição nos postos de combustíveis por meio de um sensor de fluorescência.

Associando a palavra-chave fuel\*, o radical adulterat\* e o código G01N21\* foram encontradas 5 patentes. Duas patentes foram relacionadas com adição de marcadores no combustível (US2013179090, US2011229983), duas relacionadas com a análise por meio de métodos utilizando infravermelho médio associado com o método de calibração multivariada – PLS (CN102221534; CN101806794), e um



sistema de análise em combustível por meio de associação de emissão de luz por diodos e fotodiodos acoplados com um microprocessador (ES2105956).

Associando a palavra-chave edible\*, oil\*, o radical adulterat\* e o código G01N21\* foram encontradas 4 patentes. As quatro patentes são relacionadas com óleos comestíveis. Uma monitora e identifica a oxidação dos óleos por meio de adição de reagente, verifica-se a mudança de cor quando o óleo está adulterado. Outras 3 são relacionadas análises utilizando espectrofotometro nas regiões dos espectros no visível e ultravioleta (CN103454267; CN103217393; CN102221533; KR20110006887).

Associando a palavra-chave diesel\*, o radical adulterat\* e o código G01N21 obteve-se um total de 3 patentes. Uma refere-se a um sistema de verificação e coleta de dados do óleo adulterado por um posto de combustível para a inspeção da autenticidade do óleo por meio da medição de uma taxa de variação de transmitância de luz em relação às alterações de temperatura durante a injeção do óleo num veículo movido a diesel e medição da constante dielétrica, da condutividade elétrica ou taxas de variação dos mesmos, dependendo das alterações de temperatura em tempo real, no caso do combustível ser a gasolina (KR20140098359). A segunda foi descartada da análise gráfica, pois é a mesma encontrada na busca, fuel\* + adulterat\* + G01N21\*, US2013179090, para se evitar a duplicidade de informações na análise gráfica. A terceira (US3973123) trata-se de uma patente de monitoramento (por meio de uma fonte de infravermelho) da contaminação, das superfícies confinantes de navio, devido aos gases de escape dos motores a diesel.

Associando as palavras-chave biodiesel\*, diesel\*, o radical spectrofluorimet\* e o código G01N21\* foi encontrada a patente que identifica adulteração do diesel e biodiesel por meio da espectrofluorimetria (WO2010081212), esta foi descartada da análise gráfica devido que a mesma está já registrada na pesquisa da associação das palavras-chave, Biodiesel\* + diesel\* + qualit\* + G01N21. Com isso evitando a duplicidade de informações analisadas.

Associando as palavras-chave diesel\*, oil\* e o código G01N33, foram encontradas 111 patentes, número elevado justificado devido que o código G01N33, especifica as análises de materiais utilizando métodos e técnicas analíticas em



geral, excluindo os métodos baseados em medidas óticas. Porém não impede do autor colocar os dois códigos (G01N21 e G01N33) na mesma patente. Como exemplo a patente: *"Apparatus and method for determining the concentration of species in a substance"*, que os inventores adicionam os dois códigos. A patente refere-se a um instrumento que analisa por medidas óticas, vários graus de contaminação de óleo de motor, óleo diesel, e fluido hidráulico pela água, etileno-glicol, partículas de desgaste, e a perda de anti-oxidantes. Por esse motivo, foi feita uma triagem das patentes nesse montante, 103 patentes foram selecionadas, retirando repetições e temas fora da área proposta na pesquisa.

Associando os radicais das palavras-chave adulterat\* e fluoresce\* com o código G01N21\* foram encontradas 3 patentes, uma das patentes foi retirada por apresentar tema fora da área da pesquisa (kit para identificação dos componentes presentes no rabanete), a segunda patente refere-se a um detector de diversas substâncias por meio de espectro de fluorescência, e a terceira (US2013179090) que utiliza marcadores em combustíveis, para se evitar a multiplicidade de informações na análise gráfica.

Associando a palavra-chave biodiesel\*, o radical qualit\* e o código G01N21\* foram encontradas 2 patentes e retiradas devido ao fato que elas já foram colocadas no conjunto de dados para a análise gráfica, quando se associaram as expressões, Biodiesel\* + diesel\* + qualit\* + G01N21\*.

Associando as expressões diesel\*, oil\* e G01N21\*, foram encontradas 66 patentes, considerando a retirada das duplicidades e das patentes que não abordavam o tema em estudo, foram analisadas 44 patentes.

Nas demais combinações das palavras-chave, radicais e códigos (biodiesel\* + diesel\* + adulterat\* + G01N21\*; adulterat\* + biofuel\* + G01N21\*; adulterat\* + fuel\* + oil\* + vegetab\* + G01N21\*; adulterat\* + fuel\* + oil\* + edible\* + G01N21\*; bio-diesel\* + G01N21\* + G01N33\*; biodiesel\* + diesel\* + spectrofluorimet\* + G01N33; diesel\* + oil\* + waste\* + grease\* + G01N21\* + G01N33\*) não foram encontradas patentes. Ao analisar este fato pode-se destacar que a temática que envolve adulteração de diesel e suas misturas de biodiesel em diesel, são poucos grupos de pesquisa com interesse em apropriar e desenvolver novas tecnologias específicas relacionadas a possíveis adulterações com substâncias, como óleos vegetais (novos ou usados),

em diesel envolvendo as propriedades óticas do diesel e seus possíveis adulterantes.

## 5.2.2 Prospecção Tecnológica: Estratégia de busca

Tabela 6. Escopo da estratégia de busca das patentes sobre adulteração em diesel. Fonte: Autoria Própria.

Qualit*	Biodiesel*	Diesel*	Adulterat*	Biofuel*	Fuel*	Oil*	Vegetab*	Edible*	Fluoresce*	Waste*	Grease*	Bio-diesel*	Spectrofluorimet*	G01N21*	G01N33*	Total (Patentes)
X	X	X												X		2
	X	X	X											X		0
			X	X										X		0
			X	X	X									X		5
			X	X	X	X	X							X		0
			X	X	X	X		X						X		0
			X	X	X	X		X						X		4
		X	X											X		3
												X		X	X	0
	X	X											X		X	0
	X	X											X	X		1*
		X				X									X	111
			X						X					X		3
X	X													X		2
		X				X								X		66
		X				X				X	X			X	X	0



### 5.2.3 Evolução anual dos documentos de patentes

Na Figura 12, observa-se um crescimento acentuado ao longo do tempo no desenvolvimento de novas tecnologias relacionadas com o diesel e algumas curiosidades levantadas ao se analisar os documentos de patentes, como:

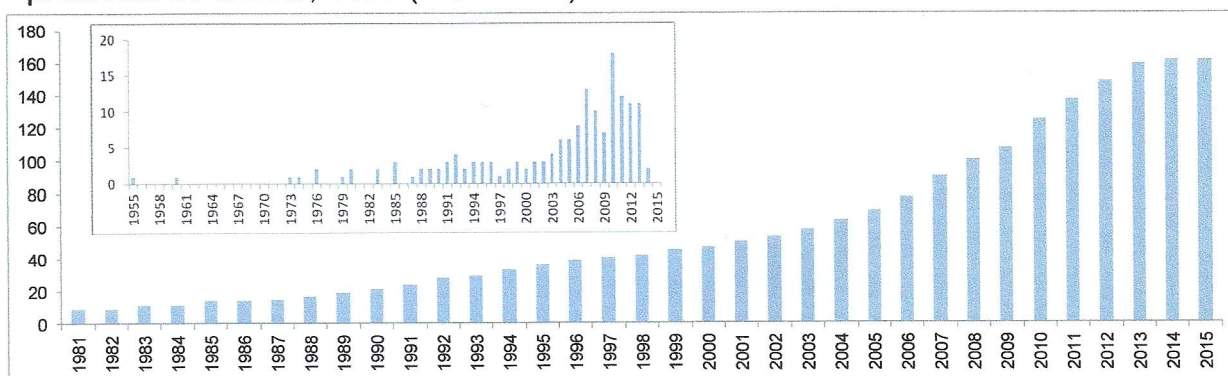
A primeira patente foi em 1955 (GB825451), com a construção de um detector fotoelétrico para detecção de névoas de óleo diesel. A segunda patente no que se tem história é de 1960 (GB915321) que é um aprimoramento da primeira patente, utilizando luz para identificar material em suspensão em fluidos gasosos (nevoas do óleo diesel), seguindo o princípio de um turbidímetro.

Após esse período não houve mais desenvolvimento de patentes relacionadas a tecnologia para o diesel, até que em 1973 (US3945243) foi montado um método para fazer análise contínua para controle da filtração do óleo diesel e outras substâncias, 1974 (US3973123), com um método de medição da transparência de gases, principalmente a transmissão ótica dos gases de escape dos motores de combustão interna. Em 1976 (US3945243), retomaram novas pesquisas sobre a tecnologia de controle da filtração contínua do óleo diesel.

Então até meados da década de 70 a tecnologia para o diesel desenvolvida era para o estado gasoso. Na segunda parte da década de 70 começou-se a pensar a desenvolver tecnologias para o diesel no estado líquido associado a colorimetria e métodos óticos.

Na década de 80, algumas patentes já eram direcionadas para o controle de qualidade do diesel, alguns métodos e equipamentos foram criados para controle da qualidade do óleo de motor aplicando medidas óticas que viriam a serem estudadas em seguida, para controle de qualidade dos combustíveis, a exemplo, em 1980 é desenvolvido um equipamento de medição do teor de fuligem no óleo do motor diesel (US4281533), de um equipamento que mede a densidade relativa e a viscosidade (JPS59211859) para atestar a qualidade do diesel (1983), de equipamentos que analisam a quantidade de água presente no diesel (US4638305; BE897387) por meio de um sistema de sifão e por meio do fluxo de corrente elétrica respectivamente (1985 e 1983), simulação da oxidação do óleo de motor a diesel (JPS61253464) com a aceleração desse processo (1986), um sistema de filtragem

(1987) que identifica a estabilidade do diesel (CN87205514), um processo e um equipamento para determinação do ponto de turvação do diesel (US5007733) por meio de um fluxo de luz e um detector fotoelétrico (1985), aparelho para medir a quantidade de material carbonáceo disperso em óleo de motor a diesel (EP0291363) pela diferença de potencial elétrico (1987), um equipamento e método para identificar a quantidade de cetano no diesel (WO8908253), por meio de oxidação catalítica e sensores de CO<sub>2</sub> formado (1988), foi criado um método para determinação das propriedades do óleo diesel (FR2632408) com o uso de um espectrofotômetro de infravermelho próximo (1988), o LED começou a ser empregado num detector de degradação de óleo de motor (JPH02242139) por meio da transmitância do feixe de luz na amostra (1989). Observou-se um aumento de interesse em medir as propriedades do diesel, para se garantir uma qualidade do combustível, nota-se que as tecnologias do diesel tem aumentado, evidenciado isso a partir da década de 80, na década de 90, o número de patentes mais que dobrou em relação a década de 80 saiu de 12 e subiu para 25 patentes. No período de 2000 a 2015 pode-se notar um crescimento exponencial levando em conta que o ano de 2015 ainda não terminou e as patentes demoram 18 meses para serem divulgadas devido ao período de sigilo. Então os números de patentes de 2014 e 2015 podem aumentar. Este fato pode estar relacionado com a necessidade de se procurar um aumento da eficiência dos combustíveis, por meio do controle de qualidade e obediência as políticas de diminuição da emissão de poluição incentivadas pelo protocolo de Quioto, 1997 (MCT 2015).



**Figura 12.** Evolução anual aos documentos de patentes referentes a adulteração de diesel (1981 – 2015). Fonte: Autoria Própria.

Com essa evolução de patentes, mostra a recente migração das linhas de pesquisa de novas tecnologias para a qualidade do diesel com métodos óticos de análise para



redução do tempo de resposta de análise e também uma preocupação da redução dos custos de análises (QUINTELLA, 2010; 2012; GAOYOU, 2010; 2011).

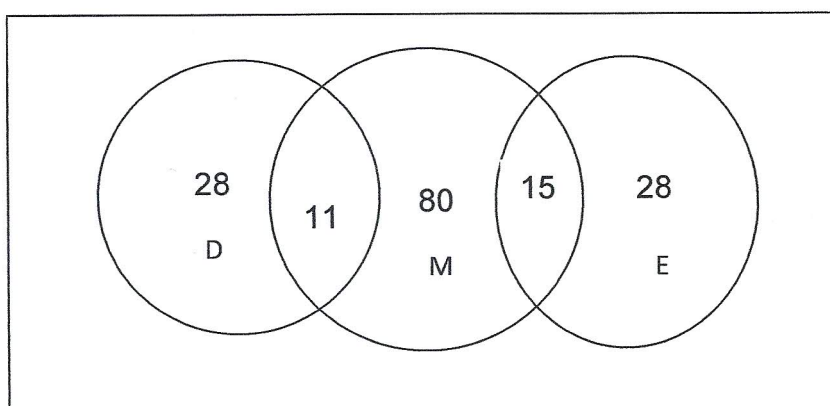
#### 5.2.4 Análise do quantitativo de patentes por tipo de invenção

Esta análise foi realizada visando a identificação da relação entre dispositivo (D), método (M) e equipamento (E) e suas associações.

Foram verificadas em algumas patentes o desenvolvimento de equipamentos e métodos (15) e dispositivo associado com um método (11) reunido em uma mesma patente, bem como invenções que foi dedicado o estudo para um método (80), um equipamento (28) e um dispositivo específico respectivamente, Figura 13.

Pode se observar que 49,4% das patentes são relacionadas a desenvolvimento de metodologias, 17,3% com equipamentos somente e dispositivos com igual valor 17,3%, com as associações, método e dispositivo, 6,8% e método e equipamento 9,2% aproximadamente.

Evidenciando um forte interesse no desenvolvimento de métodos, seguidos dos equipamentos e dispositivos e suas respectivas associações, na área para desenvolvimento de novas tecnologias envolvendo o diesel.



**Figura 13.** Quantitativo de patentes por invenção (dispositivo (D), equipamento (E), método (M)) e suas associações. Fonte: Autoria Própria.

Essa demonstra uma estratégia e melhoria das tecnologias envolvidas já existentes ou em desenvolvimento com diferentes focos de aprimoramento que não necessariamente tem que ser desenvolvidos os três (dispositivos, equipamentos, métodos) ao mesmo tempo. Na tecnologia do diesel associado com a



espectroscopia fluorescente, mostrou-se que isso pode ocorrer ao mesmo tempo também (QUINTELLA, 2010; 2012).

### 5.2.5 Análise do quantitativo de patentes por técnica de detecção ou analítica.

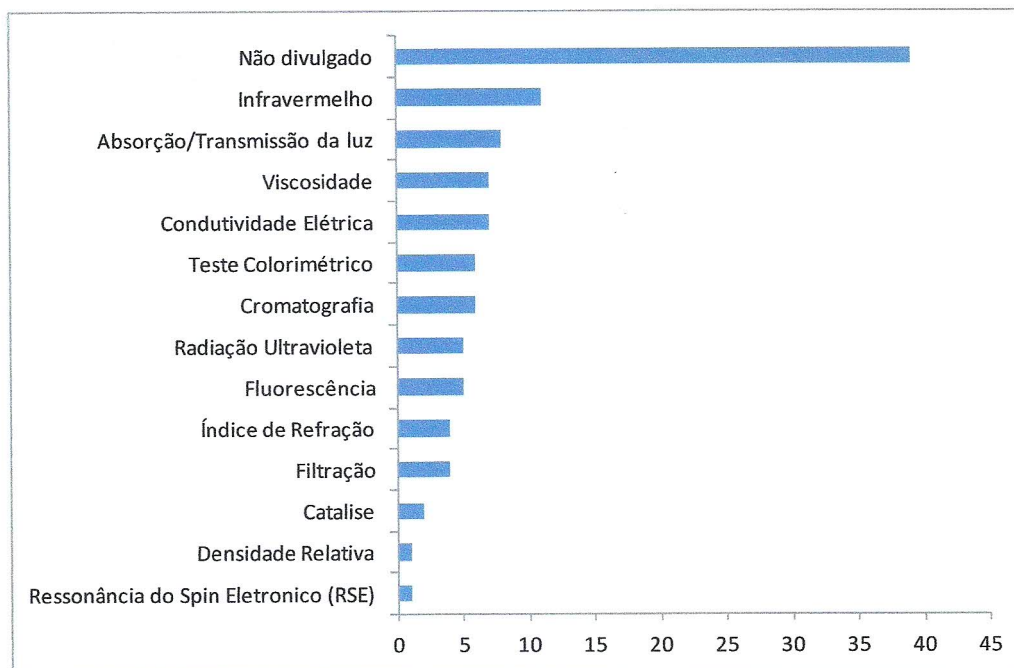
Do total de 106 patentes analisadas que envolvem alguma técnica de detecção de contaminação, adulteração, para caracterização de parâmetros que identifiquem a qualidade do diesel, foram identificados 13 itens, Figura 14.

Ao se analisar essas patentes, foi observado que a área sobre adulteração de diesel nos métodos, dispositivos ou equipamentos que no passado foram usados para determinar a contaminação ou atestar a qualidade dos óleos lubrificantes ou gases de escape, ou contaminação ambiental das águas por combustíveis oleosos, foram em grande parte adaptados (modificados) para serem usados na identificação de adulterações ou controle da qualidade do diesel como avaliação da contaminação do diesel por água, por fuligem (verificação da eficiência do sistema de filtragem e degradação do diesel), por óleos lubrificantes ou solventes orgânicos leves, por exemplo o querosene.

Além de indiretamente ser possível o desenvolvimento de métodos ou técnicas de identificação de adulteração de combustível ao se analisar os gases provenientes da combustão do combustível, conhecidos como gases de escape. Ao fato desses gases serem mais poluentes em combustíveis adulterados, devido a sua composição química diferenciada quando comparada com os gases provenientes da combustão de um combustível certificado (CNT. 2012)

Por se tratar de assuntos sigilosos determinados aplicantes e/ou inventores não divulgam de forma clara a técnica utilizada, por esse motivo foi utilizado o termo “não divulgado”. É notado uma grande quantidade de patentes que empregam o infravermelho próximo ou médio. Seguidos das técnicas analíticas ou de monitoramento de alguma propriedade físico-química da substância: de absorção/transmissão da luz, condutividade elétrica, viscosidade, teste colorimétrico, cromatografia, radiação ultravioleta e fluorescência, filtração, índice de refração, catalise, densidade relativa, Ressonância do spin eletrônico (RSE).

Ao verificar essas informações mais especificamente na parte de espectrofluorimetria em 3D associado com quimiometria, pode constatar que não existem muitas pesquisas tecnológicas na área para investigação da adulteração de diesel além das já relatadas, e que essa técnica e metodologias desenvolvidas são promissoras. Assim há uma forte tendência de crescimento, já que se trata de uma técnica sensível e simples de ser executada.



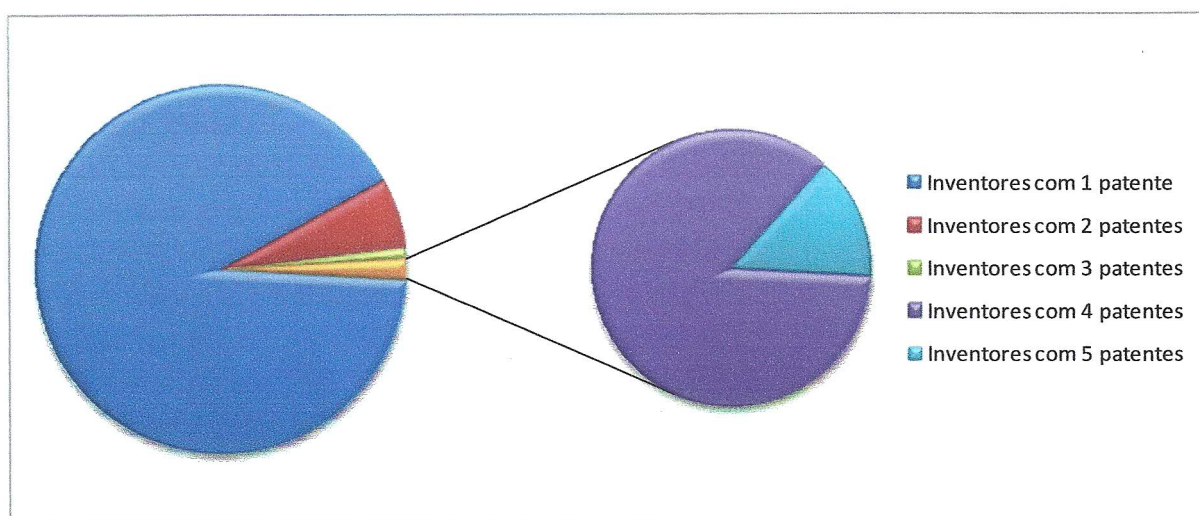
**Figura 14.** Quantitativo de patentes por técnicas de detecção ou análise do diesel.

Fonte: Autoria Própria.

Como existem poucas patentes na área da qualidade do diesel associada com a técnica da fluorescência, mostrando um potencial em desenvolver novas tecnologias nessa temática (QUINTELLA, 2010; 2012).

### 5.2.6 Análise do quantitativo de patentes por inventor

É observado na Figura 15 que existem na sua maioria (91,1%) de inventores com uma patente, em relação aos com duas patentes (6,2%) e os inventores com mais de 3, 4 ou 5 patentes (1%, 1,5% e 0,2% respectivamente) não chegam a 3%.



**Figura 15.** Quantitativo de patentes por inventor (%). Fonte: Autoria Própria.

Muitos inventores que patenteiam na área de qualidade do diesel, utilizando as propriedades óticas protegem suas invenções fazendo pedidos de patentes a medida que é aprimorado o invento (RENAULT, 1988; GAOYOU, 2011)

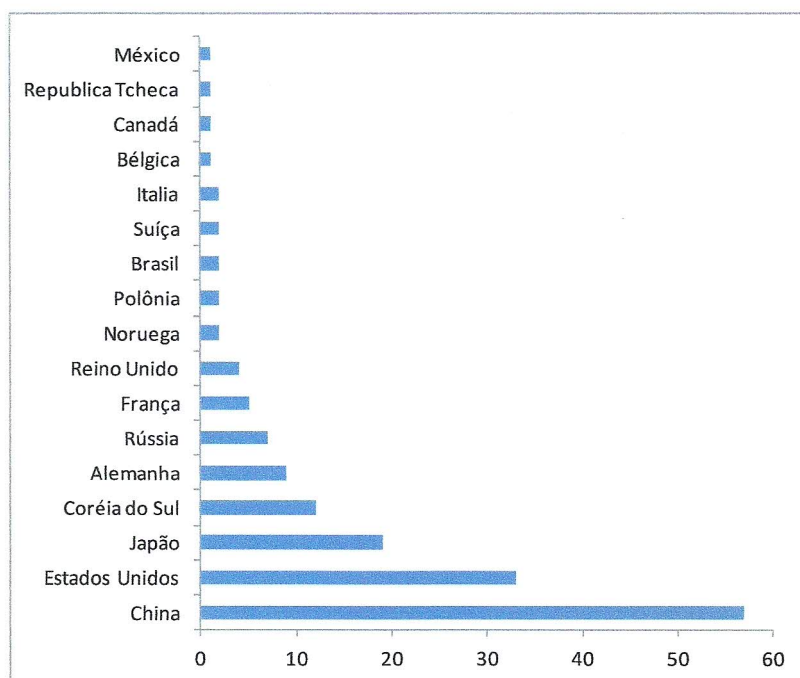
### 5.2.7 Países que desenvolvem tecnologias relacionadas

A Figura 16 mostra os países que mais possuem patentes depositadas. A China é o país que mais deposita patentes provavelmente devido a tentativa de melhoria da eficiência dos automóveis e do maquinário que utiliza o diesel como força motriz. Além da alta demanda de combustíveis (relacoesinternacionais, 2015) e da crise internacional asiática iniciada em 1998. Os Estados Unidos e o Japão também são dependentes dos derivados de petróleo e precisam desenvolver tecnologia para garantir a qualidade, além da concordância de todos os países (China, Japão e Estados Unidos) participarem do acordo de Quioto.

Outro fator desencadeador do desenvolvimento dessas tecnologias é a presença dos centros tecnológicos destinados e associados com grandes empresas



de automóveis sediadas nesses países, a exemplo, a empresa *Mitsubishi Heavy Ind LTD* cuja sede tecnológica da Mitsubishi esta no Japão. Estas empresas desenvolvem essas tecnologias para melhorar a qualidade dos combustíveis ou fluidos que serão empregados nos veículos e poder garantir a vida útil dos mesmos no ato da venda dos mesmos, além de poder melhorar o desempenho do veículo automotor.



**Figura 16.** Países que mais depositam patentes (1955 – 2015). Fonte: Autoria Própria.

Os países mostrados na Figura 16, tem interesse em desenvolver patentes na área de qualidade do diesel e suas emissões gasosas ao meio ambiente devido às normas de combate a poluição preconizadas pelo protocolo de Kyoto (NAGY, 2004a; QUINTELLA, 2012)

### 5.2.8 Inventores que desenvolvem tecnologias relacionadas

O desenvolvimento de tecnologias na área de qualidade do diesel é recente sendo evidenciado, pois grande maioria dos inventores detém de 1 a 3 patentes, como mostrado anteriormente são de origem chinesa.

Os sete inventores que mais desenvolvem tecnologias têm entre 4 a 5 patentes sendo que 1 inventor estadunidense, Louis L. Nagy (1918 - 2012), interagiu com a

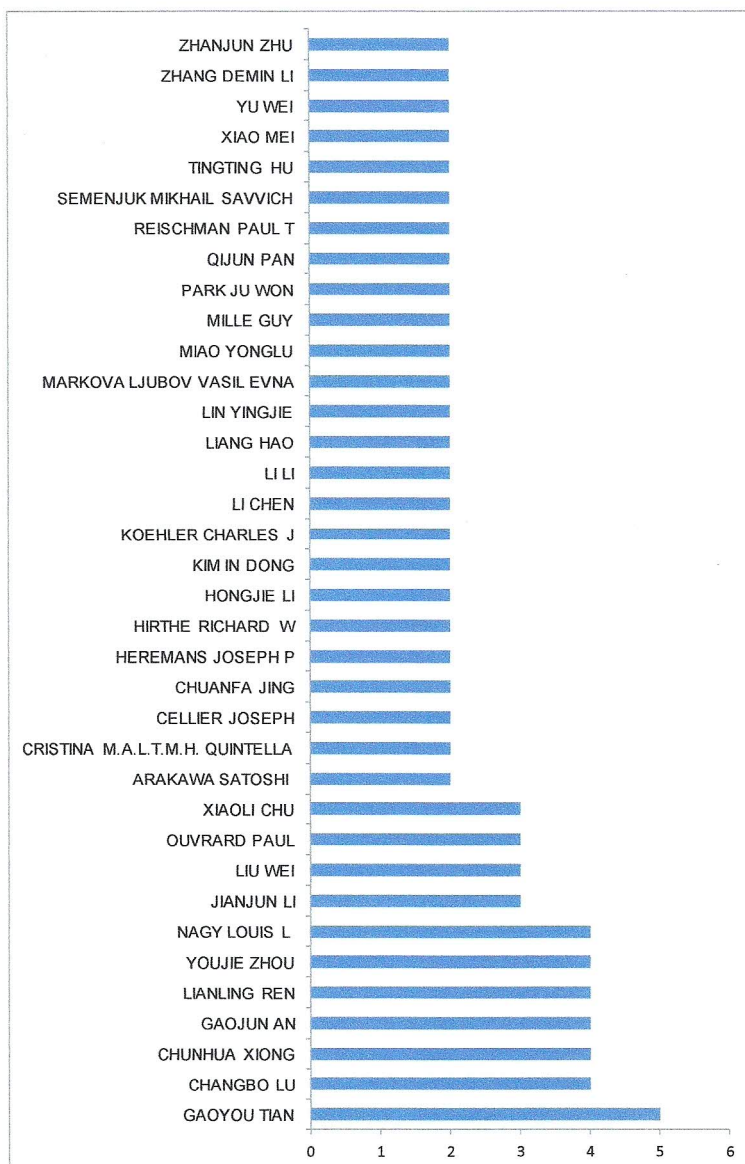
empresa *Delphi Technologies Inc.*, sediada nos Estados Unidos, desenvolveu 4 patentes na área de detecção de fuligem em óleos de motor e óleo diesel, água em óleo diesel ou contaminantes presentes no óleo diesel ou óleo lubrificante utilizando a medição da constante dielétrica dessas amostras. Teve como depositantes das patentes, o próprio, a Delphi (US2004135584; US2004135585; US2004135584) e GEN MOTORS CORP (US4345202) Heremans Joseph Pierre, Wang Su-Chee Simon, Schroeder Thaddeus, Nicholson Warren Baxter.

Os seis inventores, Figura 17, com 4 a 5 patentes são chineses e representam o grupo que mais gera patentes.

Uma curiosidade é que todos fazem parte da mesma equipe e fazem desenvolvimento tecnológico na instituição *Petro Oil Research Institute of the PLA General Logistics Department* com sede na China. Que são os pesquisadores Chunhua Xiong, ChangboLu, Youjie Zhou, Lianling Ren, Gaojun An e Gaoyou Tian. Esses pesquisadores trabalham com a análise e controle de qualidade dos combustíveis fixando segundo os inventores índices de qualidade por meio de equações lineares por meio da tecnologia de regressão linear stepwise, a técnica analítica que os auxiliaram no desenvolvimento desses índices de qualidade foi a técnica de infravermelho.

Esses índices de qualidade segundo os pesquisadores são os índices RON (*Research Octane Number*) e MON (*Motor Octane Number*) de gasolina, 9 índices de qualidade, tais como índices de cetano e pontos de condensação de óleo diesel e 10 índices de qualidade, tais como pontos de congelamento e pontos de inflamação do combustível de jato pode ser rapidamente detectado por meio dos espectro de infravermelhos. O ultimo autor também interagiu de outro grupo de pesquisadores, no qual gerou uma patente como titulo: *Quick identification method of engine lubricating oil types*. Este outro grupo era formado pelos pesquisadores Xiaoli Chu, Rujian Yi e o próprio Gaoyou Tian.

Pelo tema da ultima invenção pode-se notar que com o desenvolvimento dos conhecimentos de identificação dos índices na área de combustíveis oleosos, lhe conferiu o conhecimento técnico suficiente para identificar tipos diferentes de óleos lubrificantes, devido possivelmente as dificuldades analíticas serem similares as enfrentadas aos trabalhar com os dois temas.



**Figura 17.** Inventores com o maior número de patentes (1955 – 2015). Fonte: Autoria Própria.

Este fato é evidenciado na prospecção de tecnologias desenvolvidas na área de óleos lubrificantes, serem aplicadas depois de adaptadas para controle de qualidade ou até mesmo na identificação de possíveis adulterações em combustíveis diversos, sendo mais comum serem adaptadas para o óleo diesel ou gasolina.

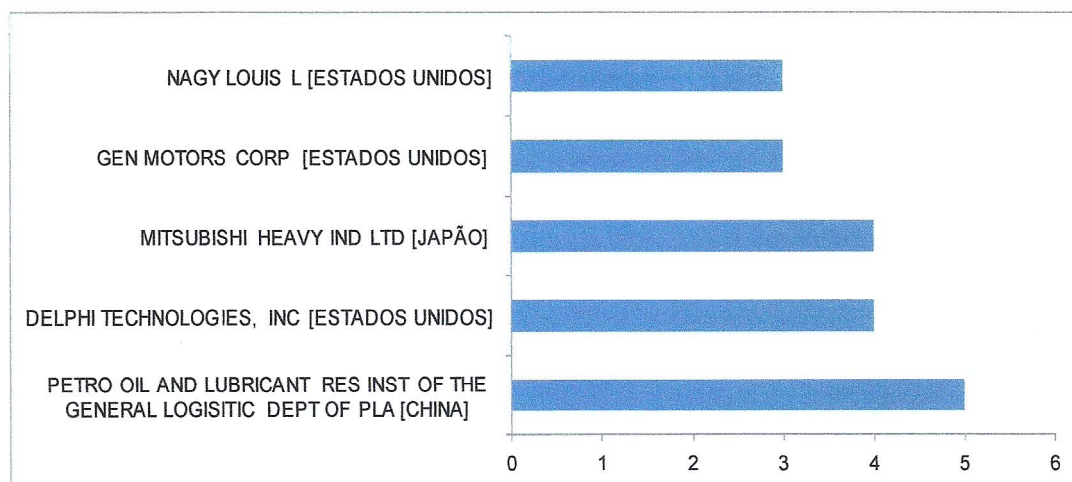
Dentre os inventores brasileiros, temos a professora Cristina Maria Quintella do instituto de Química da Universidade Federal da Bahia com duas patentes na área de qualidade do diesel (WO2010081212; BR 0000221106730261).



### 5.2.9 Depositantes das patentes

Os depositantes podem ser pessoas físicas independentes ou vinculadas a empresa, a pessoa física Nagy Louis com a empresa *Delphi Technologies Inc.*, é um exemplo com as três patentes do pesquisador (Figura 18) associadas com a empresa como depositantes.

Contudo o pesquisador Nagy, tem uma patente, mas só a empresa *Gen Motors Corp.* é a depositária. Ao analisar as patentes desse inventor houve uma migração da interação da *Gen Motors Corp.* para *Delphi Technologies Inc.*, um dos motivos que o pesquisador que pode ter desencadeado essa migração para outra empresa seria a colocação do mesmo na parte depositária. Já nas instituições, *Mitsubishi Heavy Ind LTD* e *Petro Oil Research Institute of the PLA General Logistics Department*, possuem uma política aparente de não inserção dos pesquisador como a parte depositária.



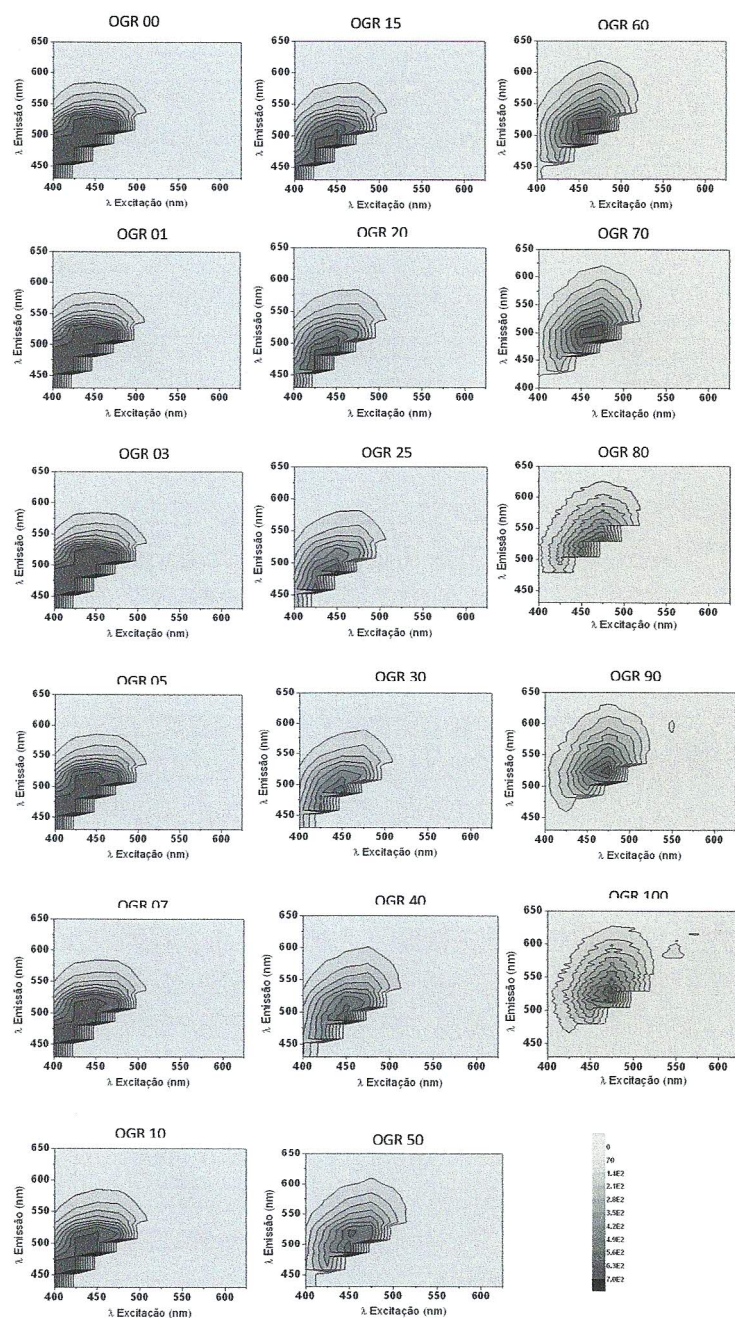
**Figura 18.** Depositantes com maior números de patentes. Fonte: Autoria Própria.

Este interesse aflorou no Brasil em relação a qualidade do diesel associada a técnica de fluorescência com o prêmio Petrobras (GUIMARÃES, 2006) e seus pedidos de patentes (QUINTELLA, 2010; 2012; MEIRA, 2011). Pelo qual também originou o presente trabalho.

### 5.3 AMOSTRAS DE ÓLEOS E GRAXOS RESIDUAIS (OGR) EM DIESEL

#### 5.3.1 Análise dos mapas espectrofluorimetricos

Os mapas espectrofluorimétricos de OGR em diesel, Figura 19, foram obtidos a partir de amostras com concentrações variando de 0 a 100%v/v, as mesmas foram identificadas na Figura 19 com subtítulos na parte superior em cada mapa a saber, OGR 10, cujo valor numérico representa a concentração dada em percentual.



**Figura 19.** Mapas espectrofluorimetricos de OGR em diesel com as concentrações variando de 0 100% v/v. Fonte: Autoria Própria.



Os mapas espectrofluorimétricos foram dimensionados no eixo das abscissas como os comprimentos de onda de excitação variando de 400 a 625nm com um  $\Delta\lambda$  de 25nm e no eixo das ordenadas como os comprimentos de onda de emissão variando de 430 a 650nm variando com um  $\Delta\lambda$  de 0,5nm.

Foram selecionados 10 níveis de intensidade da fluorescência para efeito comparativo de cada mapa em relação aos demais, facilitando com isso uma identificação visual dos contornos dos espectros gerados pela intensidade do sinal de fluorescência cuja propriedade é intrínseca a cada amostra, onde foi atribuído um degrade de cores do cinza escuro (maior intensidade fluorescente) ao branco (menor intensidade fluorescente).

Verifica-se que a emissão predominante ocorreram em 3 faixas de comprimento de onda, na faixa de 400 e 570nm até a concentração de 30%, na faixa de 400 a 600nm nas concentrações de 40 a 50% e na faixa de 400 a 625nm de 60 a 100% e a excitação ocorreu na faixa de 400 a 525nm nas concentrações de 0 a 100%, nas concentrações de 90 a 100% apresentaram o surgimento de fluorescência na faixa de 540 a 570nm, não surgido anteriormente. As intensidades de fluorescência nas concentrações de 0 a 70% ultrapassaram o limite superior de detecção instrumental em faixas de comprimentos de onda distintas, Tabela 7.

**Tabela 7.** Amostras de OGR em diesel que apresentaram intensidades de fluorescência acima do limite superior de detecção instrumental.

<b>Concentração (%)</b>	<b><math>\lambda_{exc.}</math> (nm)</b>	<b><math>\lambda_{emis.}</math> (nm)</b>
<b>0 a 07</b>	400 - 475	400 - 520
<b>10 a 15</b>	400 - 460	400 - 520
<b>20 a 25</b>	425 - 460	450 - 500
<b>30 a 40</b>	425 - 460	475 - 500
<b>50</b>	440 - 460	475 - 500
	450 - 460	510 - 525
<b>60 a 70</b>	450 - 475	475 - 525

Fonte: Autoria Própria.



Acima de 70% de OGR em diesel, nota-se que a intensidade da fluorescência se reduz e não apresenta mais a região (faixa) que ultrapassa o limite superior instrumental da intensidade fluorescente.

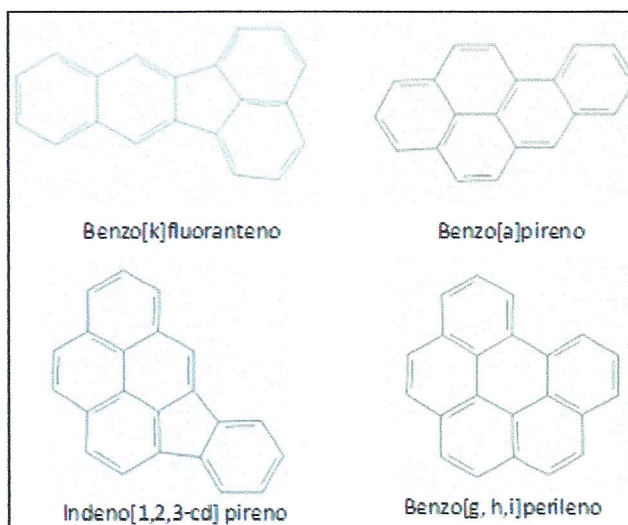
Ao se analisar os mapas de espectrofluorescência das amostras em diferentes concentrações de OGR em diesel no espectrofluorímetro da Perkin Elmer<sup>®</sup> observou-se que na variação da concentração dos óleos residuais (Figura 19), há uma mudança das intensidades de fluorescência nos mapas espectrofluorimétricos como consequência da variação da quantidade dos fluoróforos presentes no diesel e dos possíveis fluoróforos presentes nos OGRs (Tabela 9), devido a diluição do OGR no diesel.

Prevalecendo até a concentração de 25% de OGR em diesel a contribuição das substâncias fluorescentes no diesel no comportamento dos espectros, observado pela presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, HPAs, que fluorescem nesta faixa de comprimento de onda, a exemplo dos benzopirenos, perileno e benzofluorantenos, Tabela 9.

Geralmente, à medida que número de anéis no HPAs aumenta, o máximo de fluorescência desloca para bandas de comprimentos de onda maiores.

Por exemplo, HPAs com dois anéis fluorescem ao redor de 300-340 nm, HPAs com três anéis fluorescem ao redor de 360-390 nm enquanto que HPAs com 5 anéis fluorescem em torno de 420-480 nm (MEIRA et al., 2011).

O diesel analisado provavelmente tem maior teor de HPAs com 5-6 anéis (MEIRA et al., 2011; PATRA e MISHRA, 2002), como mostrado na Figura 20 possíveis fluoróforos presentes.

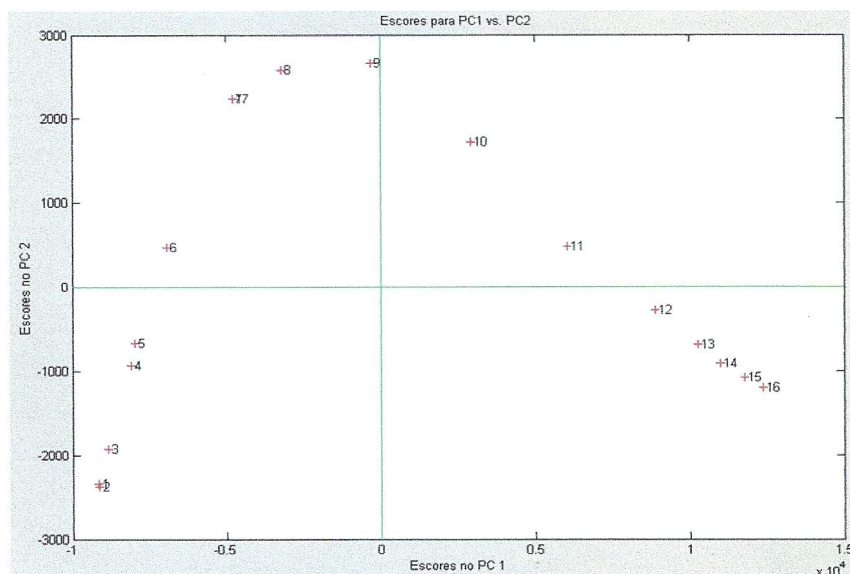


**Figura 20:** Fluoróforos possíveis de serem encontrados no diesel. Fonte: PUBLICHEM, 2015.

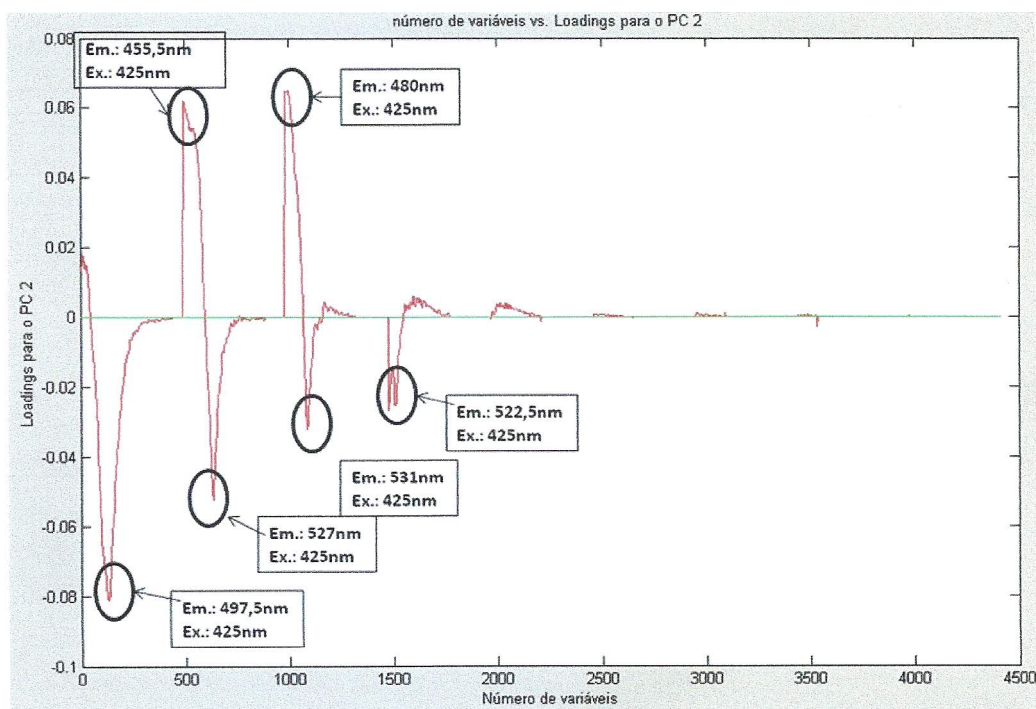
Proporcionando com isso um aumento de fluorescência em altas concentrações de diesel que apresenta poucos compostos não degradados em relação ao OGR.

### 5.3.2 Análise quimiométrica – PCA e PLS

Evidenciados tanto pelo tratamento estatístico quando se analisa o gráfico de escores PC1 versus PC2, Figura 21 com 98,89% de variância acumulada, nota-se uma mudança de comportamento crescente até 25% e acima destes valores há um comportamento decrescente dos escores mostrando uma prevalência cada vez crescente da contribuição dos fluoróforos do OGR. Vale salientar que com o tratamento estatísticos dos *loadings*, Figura 22, é possível observar as contribuições significativas do comprimento de onda de excitação de 425nm para diferenciação e detecção das diferentes concentrações de OGR em diesel, pode-se analisar as amostras com uma fonte monocromática específica para este tipo de adulteração e também é possível verificar neste gráfico de *loadings*, uma faixa de 455,5nm a 531nm, com isso irá ser possível com um detector simples com uma faixa estreita de detecção se obter informações de contaminações de óleos residuais (OGRs) em diferentes concentrações.



**Figura 21.** Gráfico de escores de PC 1 versus PC 2 com OGR em diesel com as concentrações variando de 0 a 100%v/v respectivamente. Fonte: Autoria Própria.



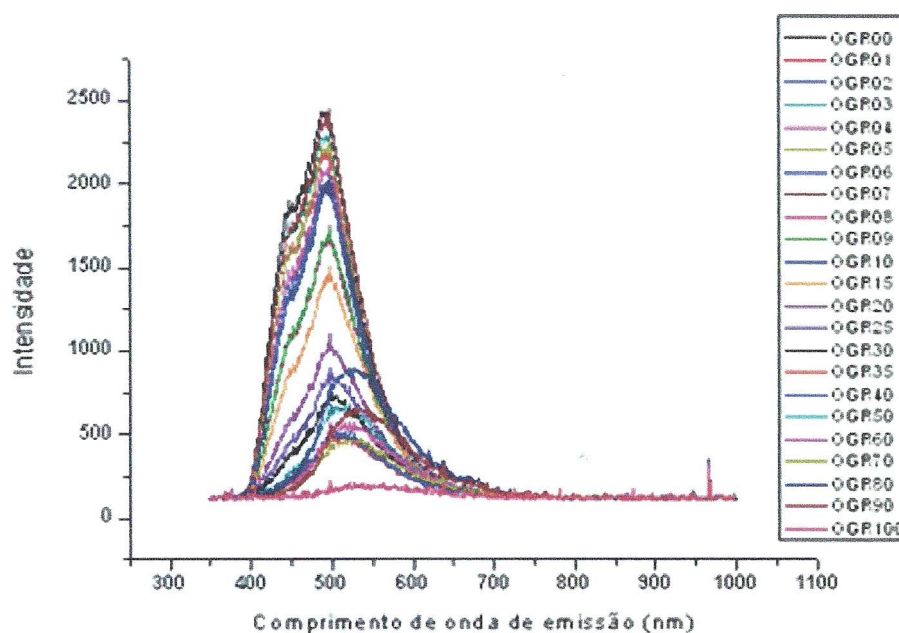
**Figura 22.** Gráfico de *Loading* com os respectivos comprimentos de onda de emissão e excitação expostos para amostras de OGR em diesel com as concentrações variando de 0 a 100%v/v. Fonte: Autoria Própria.



### 5.3.3 Amostras de OGR em diesel analisadas pelo fluorímetro FIL (Fluorescência Induzida por LED)

#### 5.3.3.1 Análise espectrofluorimétrica

A Figura 23 mostra os espectros de emissão molecular fluorescente de misturas de OGR em diesel nas concentrações de 0 a 100% (OGR00 a OGR100 respectivamente), com excitação através de LED violeta com banda centrada em 365nm.



**Figura 23.** Espectros de fluorescência de diferentes concentrações de OGR em diesel colhidos do Fluorímetro Induzido por LED (FIL). Fonte: Autoria Própria.

Ao se realizar as análises das diferentes concentrações de OGR em diesel no equipamento conhecido por Fluorescência Induzida por LED (FIL). Verificou-se que a emissão ocorreu na faixa de 400 a 700nm, sendo observadas duas bandas de emissão entre 400 nm e 450nm (banda 1) e outra banda entre 450 a 700nm (banda 2).

Em relação a banda 1, há um decréscimo com quase total desaparecimento desta banda ao longo do acréscimo da concentração de OGR. Isto pode ser devido a retirada de fluoróforos (Tabela 9) em menor concentração no diesel que vai proporcionalmente se reduzindo a medida que se vai diluindo o diesel com OGR,

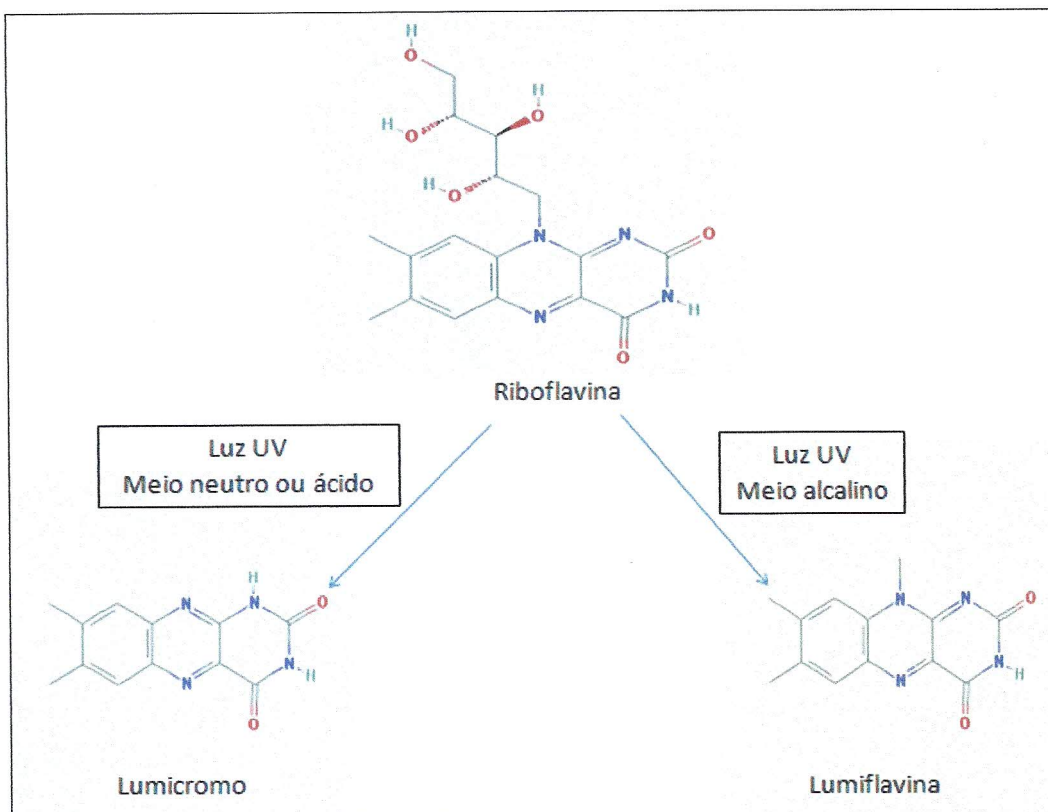
chegando a valores de concentração e conseqüentemente de intensidade de fluorescência não claramente detectáveis pelo equipamento que fluorescem nessa faixa de comprimento de onda.

Observa-se na banda 2, um deslocamento de 45nm aproximadamente (de 500nm para 545nm) do comprimento de onda de emissão dos máximos de intensidade fluorescente em concentrações superiores a 40%.

Mostra uma possível contribuição de compostos de processos fotodegradativos de moléculas como a riboflavina se transformando em compostos como o lumicromo (radiação UV + meio neutro ou levemente ácido) ou a lumiflavina (radiação UV + meio alcalino), com espectros de emissão distintos (Tabela 11).

O composto lumiflavina ou o lumicromo por serem lipossolúveis (VILLELA, 1942) podem estar presentes no OGR. Que pode ter sido inserido durante o processo de obtenção do óleo de soja *in natura* (prensagem, filtragem, centrifugação, entre outras etapas) a depender do pH do meio pode se ter prevalência do lumicromo ou da lumiflavina, Figura 24.

Pode promover um deslocamento de banda devido a presença do lumicromo dissolvido no óleo, emissão em 535nm (WOLF et al., 2001), cujas concentrações destes fluoróforos são aumentadas, ao longo do aumento de concentração de OGR nas amostras.



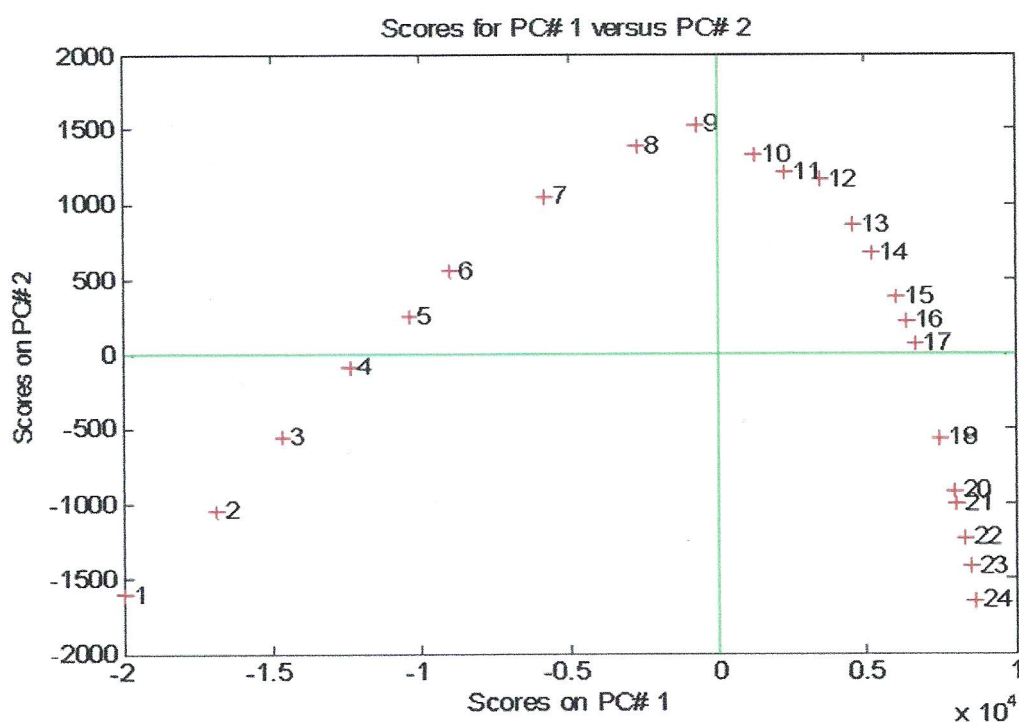
**Figura 24.** Transformação da riboflavina quando submetida a radiação UV e ao meio. Fonte: WOLF et al., 2001. Adaptada.

Nestas faixas, bandas 1 e 2 da Figura 23, notam-se também um decréscimo da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração de OGR em diesel. Seria que a fluorescência do diesel esteja se reduzindo de intensidade (efeito *Quenching*) devido a interação com espécies supressoras de fluorescência. Ou pode ser associado também pelo fato que as espécies fluorescentes “doadoras” são retiradas por diluição também. Tendo vista que no OGR existem muitos fluoróforos degradados que podem estar causando esses efeitos.

### 5.3.3.2 Análise quimiométrica – PCA e PLS

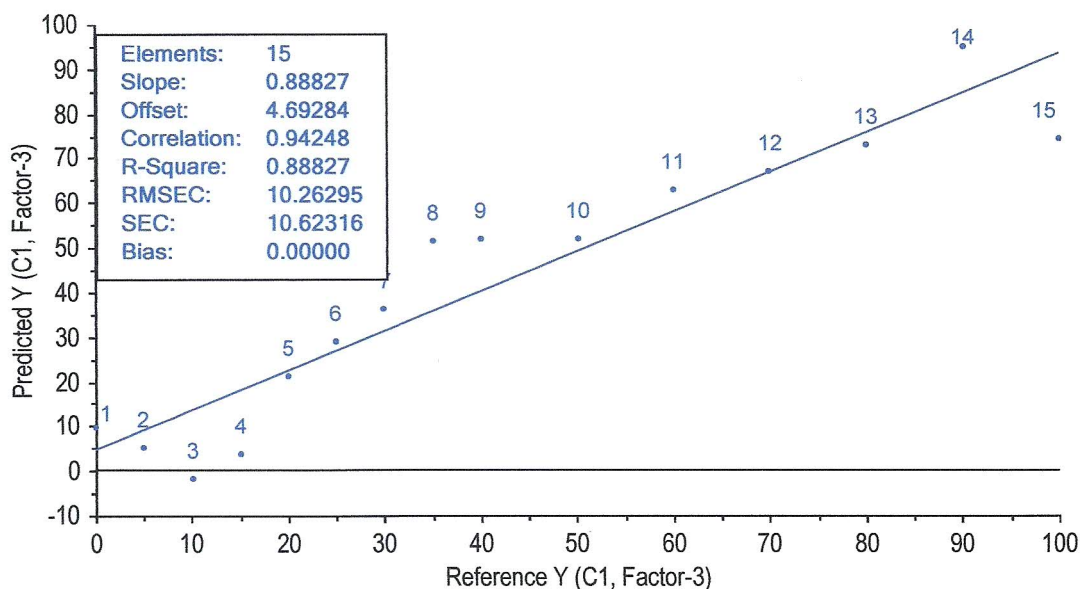
Realizou-se também a análise estatística covariante de dados (PCA), Figura 25, e análise do PLS dos dados colhidos, Figuras 26 e 27.





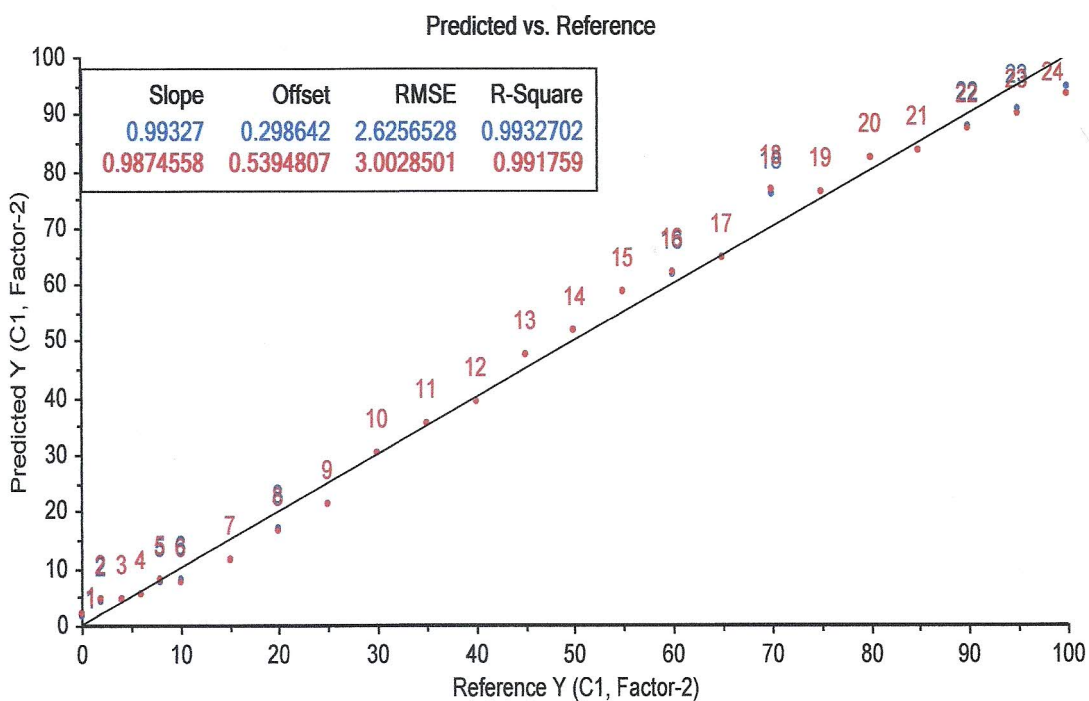
**Figura 25.** Gráfico de escores de PC 1 versus PC 2 com OGR em diesel com as concentrações variando de 0 a 100%v/v respectivamente, analisadas no fluorímetro FIL. Fonte: Autoria Própria.

Na análise dos escores o gráfico de escores PC1 versus PC2 com 99.91% de variância acumulada, nota-se uma mudança de comportamento crescente até 25% e entre 25 a 40% a um comportamento peculiar decrescente e acima destes valores há um comportamento decrescente, diferente do anteriormente citado, dos escores mostrando uma prevalência cada vez crescente da contribuição dos fluoróforos do OGR.



**Figura 26.** PLS OGR em diesel retirando algumas misturas. Fonte: Autoria Própria.

Pela análise do PLS, Figura 26, os dados obtidos não apresentaram um comportamento linear ideal devido a possíveis erros operacionais como uma limpeza efetiva da cubeta ou mais provavelmente no preparo das amostras com uma micropipeta descalibrada, gerando flutuações nas leituras e distanciando do comportamento linear esperado ( $R^2 = 0,888$  e correlação de 0,9424).



**Figura 27.** PLS OGR com todas as amostras. Fonte: Aatoria Própria.

Também no PLS foi observado um comportamento similar a uma senoide até a concentração de 40%, e logo na sequência assume um comportamento próximo a uma reta com um pequeno desvio da linearidade, Figura 27.

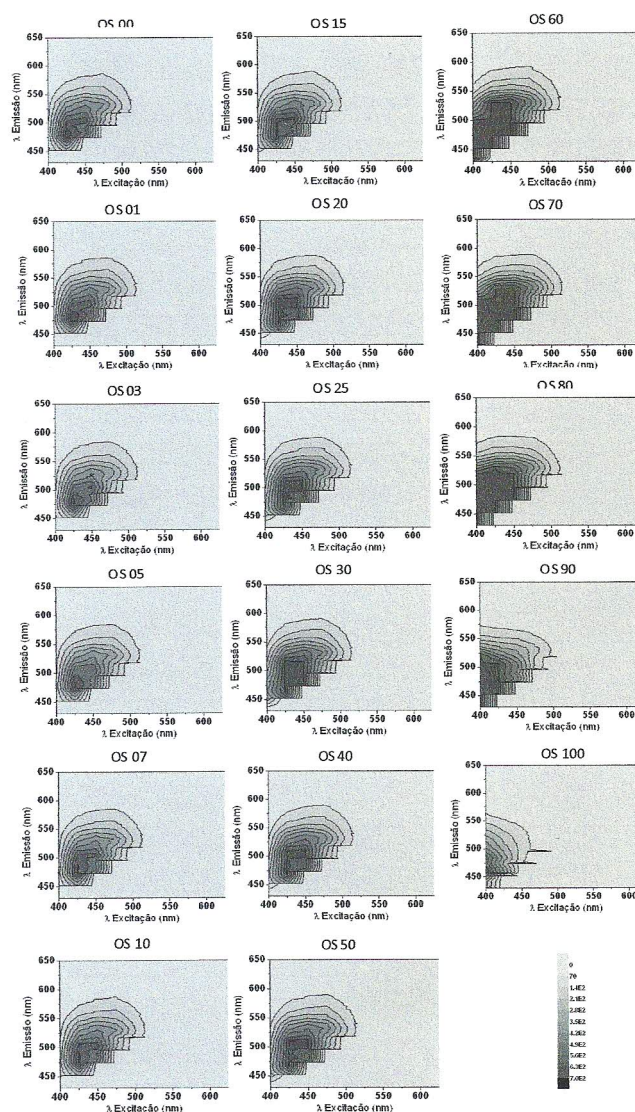
Contudo estes erros dos resultados obtidos foram suavizados em grande parte quando foram consideradas todas as amostras ( $R^2 = 0,993$  e correlação igual a 0,99) com um comportamento próximo ao esperado (predito) pelo método dos mínimos quadrados.



## 5.4 AMOSTRAS DE ÓLEO DE SOJA EM DIESEL

### 5.4.1 Análise dos mapas espectrofluorimétricos

Os mapas espectrofluorimétricos de óleo de soja em diesel, Figura 28, foram obtidos a partir de amostras com concentrações variando de 0 a 100%v/v, as mesmas foram identificadas na Figura como subtítulos na parte superior em cada mapa a saber, OS 10, cujo valor numérico representa a concentração dada em percentual.



**Figura 28.** Mapas espectrofluorimétricos de óleo de soja em diesel com as concentrações variando de 0 a 100% v/v. Fonte: Autoria Própria

Os mapas espectrofluorimétricos foram dimensionados no eixo das abscissas como os comprimentos de onda de excitação variando de 400 a 625nm com um  $\Delta\lambda$  de 25nm e no eixo das ordenadas como os comprimentos de onda de emissão variando de 430 a 650nm variando com um  $\Delta\lambda$  de 0,5nm.

Foram selecionados 10 níveis de intensidade da fluorescência para efeito comparativo de cada mapa em relação aos demais, facilitando com isso uma identificação visual dos contornos dos espectros gerados pela intensidade do sinal de fluorescência cuja propriedade é intrínseca a cada amostra.

Verifica-se que a emissão predominante ocorreram em 2 faixas de comprimento de onda, na faixa de 450 e 580nm até a concentração de 80%, na faixa de 400 a 575nm nas concentrações de 90 a 100% e a excitação ocorreu na faixa de 400 a 575nm nas concentrações de 0 a 90%, nas concentrações de 90 a 100% apresentaram na faixa de 400 a 500nm.

A Tabela 8 mostra os comprimentos de onda (de excitação e emissão) com as respectivas concentrações das intensidades de fluorescência acima do limite superior de detecção instrumental.

**Tabela 8.** Amostras de óleo de soja em diesel que apresentaram intensidades de fluorescência acima do limite superior de detecção instrumental.

Concentração (%)	$\lambda_{exc.}$ (nm)	$\lambda_{emis.}$ (nm)
0 a 01	425 – 435	450 – 480
03 a 10	425	475 – 490
15	425 – 450	460 – 500
20 a 25	425 – 450	460 – 510
30	425 – 450	450 – 520
40 a 50	425 – 450	470 – 520
60 a 80	400 – 450	450 – 525
90	400 – 425	450 – 510

Fonte: Autoria Própria.

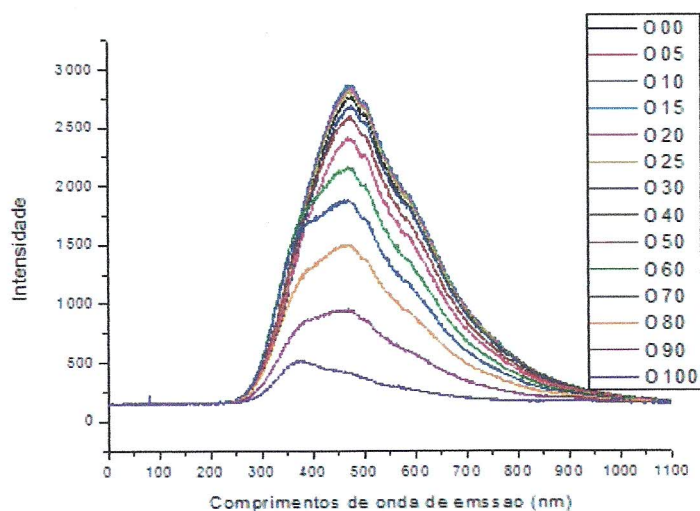
Ao se analisar as amostras em diferentes concentrações de óleo de soja em diesel no equipamento tradicional observou-se que na variação da concentração do óleo de soja (Figura 19), há uma mudança dos comprimentos de onda que indicam o máximo das intensidades de fluorescência nos mapas espectrofluorimétricos como consequência da variação da quantidade dos fluoróforos presentes no diesel e dos fluoróforos presentes no óleo vegetal (Tabela 9), prevalecendo até a concentração de 50% de óleo de soja em diesel a contribuição das substâncias fluorescentes no diesel no comportamento dos espectros.

Um exemplo de fluoróforo presente no diesel no qual está contribuindo com esse comportamento fluorescente é o Indeno [1,2,3-cd] pireno. E os fluoróforos que podem estar presentes no óleo de soja são Flavina Adenina Dinucleotídeo (FAD) e o lumicromo.

#### 5.4.2 Amostras de óleo de soja em diesel analisadas pelo fluorímetro FIL (Fluorescência Induzida por LED)

##### 5.4.2.1 Análise espectrofluorimétrica

A Figura 29 mostra os espectros de emissão molecular fluorescente de misturas de óleo de soja em diesel nas concentrações de 0 a 100% (O 00 a O 100 respectivamente), com excitação através de LED violeta com banda centrada em 365 nm.



**Figura 29.** Espectros de fluorescência de diferentes concentrações óleo de soja em diesel colhidos do Fluorímetro Induzido por LED (FIL). Fonte: Autoria Própria.



Ao verificar as análises espectrofluorimétricas das concentrações de óleo de soja em diesel no equipamento FIL. Verificou-se que os espectros de emissão ocorreram na faixa de 300 a 900 nm, foram observadas duas bandas de emissão entre 370 nm e 550 nm (banda 1) e outra banda entre 550 a 900nm (banda 2). Nas duas bandas pode se notar um decréscimo da intensidade fluorescente com o aumento da concentração de óleo de soja em diesel.

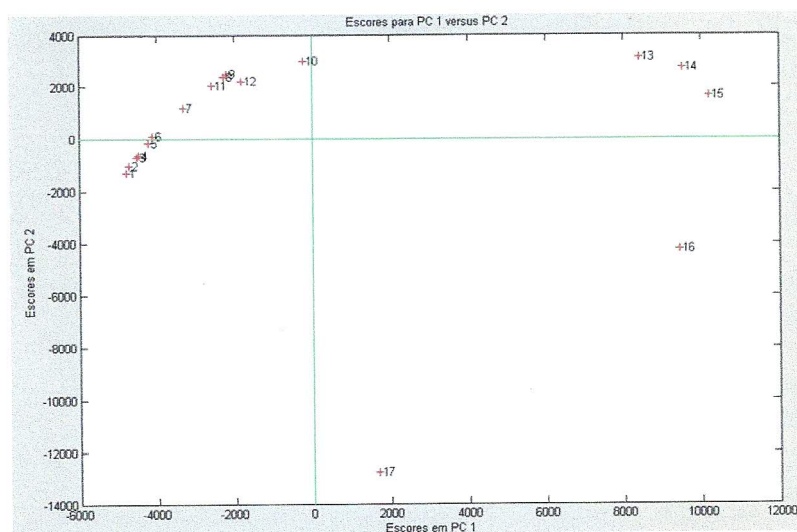
Em relação a banda 2, há uma redução da intensidade fluorescente com quase total desaparecimento desta banda com o acréscimo da concentração de óleo de soja. Isto pode ser devido a retirada gradativa de fluoróforos provenientes do diesel (Tabela 11) em decorrência da redução do diesel a medida que se vai diluindo o diesel com o óleo de soja, chegando a valores de concentração e conseqüentemente de intensidade de fluorescência não claramente detectáveis pelo equipamento que fluorescem nessa faixa de comprimento de onda.

Observa-se na banda 1, um deslocamento de 100 nm aproximadamente (de 470 nm para 370 nm) do comprimento de onda de emissão dos máximos de intensidade fluorescente em concentrações superiores a 50%, com um alargamento também da banda próximo ao ponto de máximo, demonstrando uma redução de compostos policíclicos com grande número de anéis aromáticos (mais que 5 anéis) que influenciam no aumento do comprimento de onda de emissão, por exemplo, o indeno [1,2,3-CD] pireno e um aumento de compostos policíclicos com menores números de anéis, como os compostos acenaftaleno (3 anéis), que emitem em comprimentos de onda mais baixos (MEIRA, 2011).

#### 5.4.2.2 Análise quimiométrica – PCA E *LOADING*

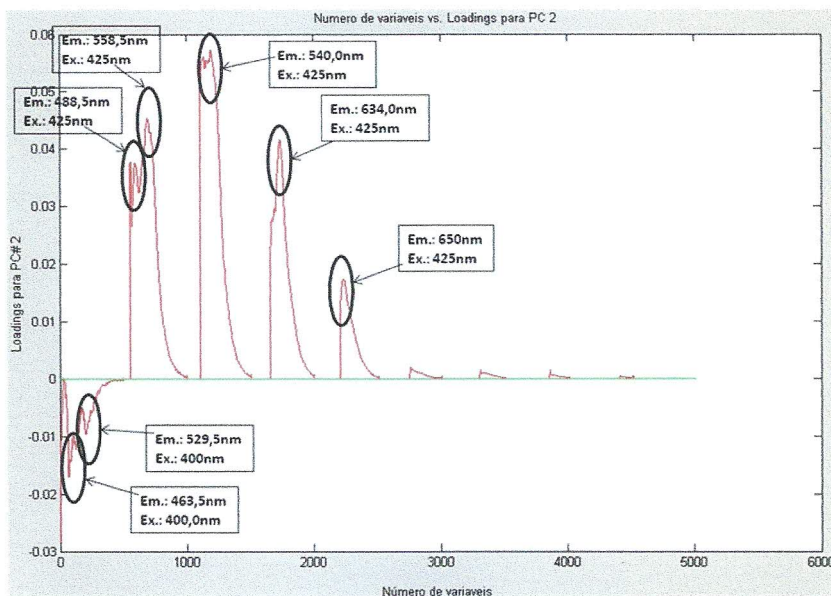
Evidenciados tanto pelo tratamento estatístico (Figura 30 e Figura 31, escores e *loading* respectivamente), quando se analisa o gráfico de escores PC1 versus PC2 com 96,23% de variância acumulada, mostra uma separação das concentrações de óleo de soja em diesel.

Nota-se uma mudança de comportamento crescente até 50% e acima destes valores há um comportamento decrescente circular no sentido horário dos escores mostrando uma prevalência cada vez crescente da contribuição dos fluoróforos do óleo de soja.



**Figura 30.** Gráfico de escores de PC 1 versus PC 2 das amostras de óleo de soja em diesel com as concentrações variando de 0 a 100%v/v respectivamente. Fonte: Autoria Própria.

Vale salientar que com o tratamento estatísticos dos *loadings*, Figura 31, é possível observar as contribuições significativas dos comprimentos de onda de excitação de 400 a 425 nm para diferenciação e detecção das diferentes concentrações de óleo de soja em diesel, pode-se analisar as amostras com uma fonte monocromática específica para este tipo de adulteração e também é possível verificar neste gráfico de *loadings*, uma faixa de emissão de 463,5 nm a 650 nm, com isso irá ser possível com um detector simples com uma faixa estreita de detecção se obter informações de contaminações de óleo de soja em diferentes concentrações.



**Figura 31.** Gráfico de *Loading* com os respectivos comprimentos de onda de emissão e excitação expostos para amostra de óleo de soja em diesel com as concentrações variando de 0 a 100%v/v. Fonte: Autoria Própria.

A Tabela 9 foi criada com o objetivo de facilitar as pesquisas na área de adulteração, nela estão reunidos prováveis fluoróforos que direta ou indiretamente são responsáveis pela fluorescência das amostras. Caso numa medida inicial dos espectros de fluorescência forem encontrados algumas bandas características, a Tabela 9 pode ser usada como um referencial para a investigação, para verificação de qual padrão comprar, ou quais técnicas analíticas de isolamento e caracterização da substância a ser pesquisada.

Tendo em vista que se trata de amostras complexas e no caso do OGR, provem do óleo utilizado em frituras dos mais diversos produtos cárneos provenientes de peixes, frangos, porcos, e vísceras em geral, além dos vegetais, a exemplo, alho, cebola, batata dentre outros. O óleo usado acaba extraindo substâncias fluorescentes ou seus produtos degradados lipossolúveis e também fluorescentes como mostrado anteriormente que tais fluoróforos dessas fontes não se apresentam nos combustíveis fósseis com facilidade.



**Tabela 9.** Alguns fluoróforos prováveis de serem encontrados em vegetais e/ou animais e no diesel.

Nome vulgar	Nomenclatura	$\lambda_{exc.}(nm)$	$\lambda_{emis.}(nm)$	Fonte
<b>Vitamina A</b>	Retinol e axeroftol	290 <sup>a</sup>	600-660 <sup>a</sup>	Vegetal
		330-390 <sup>e</sup>	480-510 <sup>e</sup>	
<b>Vitamina B2 (riboflavina)</b>	7,8-dimetil-10-(D-1'- ribitol)- isoalloxazina	450 <sup>b</sup>	524-	Animal e vegetal
		400-480 <sup>e</sup>	560 <sup>c,b,e,i</sup>	
		260 – 440 <sup>i</sup>		
<b>Vitamina B6</b>	Piridoxina ou piridoxol	296 <sup>b</sup>	390 <sup>b</sup>	Animal e vegetal
		280-350 <sup>e</sup>	385-425 <sup>e</sup>	
<b>Vitamina D</b>	Calciferol	290 <sup>a</sup>	500 <sup>a</sup>	Animal e vegetal
		330-390 <sup>e</sup>	480-510 <sup>e</sup>	
<b>Vitamina E</b>	$\alpha$ -tocoferol	250-310 <sup>e</sup>	300-450 <sup>e</sup>	Animal e vegetal
<b>Vitamina K1</b>	2-metil-3-fetil-1,4- naftoquinona	290 <sup>a</sup>	575 <sup>a</sup>	Vegetal
		330-390 <sup>e</sup>	480-510 <sup>e</sup>	
<b>Clorofilas</b>	Clorofila	350-420 <sup>e</sup>	640-800 <sup>e</sup>	Vegetal
<b>Triptofano</b>	Ácido 2-amino-3- indolpropiónico	250 <sup>h</sup>	400-500 <sup>h</sup>	Animal
		280 <sup>h,j</sup>	357 <sup>h,j</sup>	
		350 <sup>h</sup>		
		380 <sup>h</sup>		
<b>NADH</b>	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo reduzido	332-344 <sup>h</sup>	400-500 <sup>h</sup>	Animal
		290-350 <sup>e</sup>	440-464 <sup>e</sup>	
<b>Lumicromo</b>	7,8-dimetil-alloxazina	260-440 <sup>i</sup>	420 - 535 <sup>i</sup>	Vegetal e animal
<b>Lumiflavina</b>	7,8,10-trimetil- isoalloxazina	260-440 <sup>i</sup>	510-530 <sup>c</sup>	Vegetal e animal

<b>ATP</b>	Adenosine 5'-triphosphate	280-300 <sup>h</sup>	340-410 <sup>h</sup>	Animal
<b>Colágeno</b>	Colágeno	332 -380 <sup>h</sup>	650-700 <sup>h</sup>	Animal
<b>Hematoporfirina</b>	Hematoporfirina	396 <sup>h,j</sup>	614 <sup>h,j</sup>	Animal
<b>Aflatoxina</b>	Aflatoxina	360 <sup>h</sup>	450-500 <sup>h</sup>	Fungo
<b>α-Lactalbumina</b>	α-Lactalbumina	295 <sup>h</sup>	320-335 <sup>h</sup>	Animal
<b>β-Lactoglobulina</b>	β-Lactoglobulina	295 <sup>h</sup>	325-345 <sup>h</sup>	Animal
<b>Caseína</b>	Caseína	295 <sup>h</sup>	335-360 <sup>h</sup>	Animal
<b>Ácido oleico</b>	Ácido (9Z)-9-octadecenoico	325 <sup>f</sup>	405 <sup>f</sup>	Animal e vegetal
<b>Ácido butírico</b>	Ácido butanoico	193 <sup>f</sup>	273 <sup>f</sup>	Vegetal
<b>Ácido linoleico</b>	9-12-octadecadienoico	245 <sup>f</sup>	325 <sup>f</sup>	Animal e vegetal
<b>FAD</b>	Flavina adenina dinucleotídeo	250-480 <sup>e</sup>	520-535 <sup>e</sup>	Animal e vegetal
<b>Feofitinas</b>	Feofitinas	350-420 <sup>e</sup>	640-800 <sup>e</sup>	Vegetal
<b>Tocoferóis</b>	Tocoferóis	270-310 <sup>g</sup>	300-350 <sup>g</sup>	Animal e vegetal
<b>Fenilalanina</b>	Ácido 2-amino-3-fenilpropânicos	258 <sup>h,j</sup>	284 <sup>h,j</sup>	Animal e vegetal
<b>Aminoácidos</b>	Aminoácidos	250-300 <sup>h</sup>	270-360 <sup>h</sup>	Animal e vegetal
<b>Naftaleno</b>	Naftaleno	319 <sup>k</sup> ; 302 <sup>k</sup> ;	322 <sup>k</sup>	Diesel
<b>Acenaftileno</b>	Acenaftileno	456 <sup>k</sup> ; 324 <sup>k</sup>	541 <sup>k</sup>	Diesel
<b>Acenafteno</b>	Acenafteno	320 <sup>k</sup> ; 300 <sup>k</sup>	347 <sup>k</sup>	Diesel
<b>Fluoreno</b>	Fluoreno	300 <sup>k</sup>	310 <sup>k</sup>	Diesel
<b>Fenantreno</b>	Fenantreno	346 <sup>k</sup> ; 330 <sup>k</sup>	364 <sup>k</sup>	Diesel
<b>Antraceno</b>	Antraceno	374 <sup>k</sup> ; 356 <sup>k</sup>	399 <sup>k</sup>	Diesel
<b>Fluoranteno</b>	Fluoranteno	359 <sup>k</sup> ; 280 <sup>l</sup>	462 <sup>k</sup> ; 450 <sup>l</sup>	Diesel

<b>Pireno</b>	Pireno	373 <sup>k</sup> ; 336 <sup>k</sup> 265 <sup>l</sup>	383 <sup>k</sup> 385 <sup>l</sup>	Diesel
<b>Benzo[a]antraceno</b>	Benzo[a]antraceno	385 <sup>k</sup> ; 300 <sup>k</sup> ; 265 <sup>l</sup>	385 <sup>k,l</sup>	Diesel
<b>Criseno</b>	Criseno	265 <sup>l</sup> ; 362 <sup>k</sup> ; 321 <sup>k</sup>	381 <sup>k</sup> ; 385 <sup>l</sup>	Diesel
<b>Benzo[k]fluoranteno</b>	Benzo[k]fluoranteno	297 <sup>l</sup> ; 402 <sup>k</sup> ; 308 <sup>k</sup>	430 <sup>l</sup> 402 <sup>k</sup>	Diesel
<b>Benzo[b]fluoranteno</b>	Benzo[b]fluoranteno	297 <sup>l</sup> ; 369 <sup>k</sup> ; 302 <sup>k</sup>	430 <sup>l</sup> 446 <sup>k</sup>	Diesel
<b>Benzo[a]pireno</b>	Benzo[a]pireno	297 <sup>l</sup> ; 404 <sup>k</sup> ; 385 <sup>k</sup> ;	403 <sup>k</sup> ; 430 <sup>l</sup>	Diesel
<b>Benzo[g, h, i]perileno</b>	Benzo[g, h, i]perileno	406 <sup>k</sup> ; 300 <sup>k</sup> ; 297 <sup>l</sup> ;	419 <sup>k</sup> ; 430 <sup>l</sup>	Diesel
<b>Indeno[1,2,3-cd]pireno</b>	Indeno[1,2,3-cd]pireno	460 <sup>k</sup> ; 302 <sup>k</sup> ; 305 <sup>l</sup>	503 <sup>k</sup> ; 500 <sup>l</sup>	Diesel
<b>Dibenz[a,h]antraceno</b>	Dibenz[a,h]antraceno	297 <sup>l</sup> ; 394 <sup>k</sup> ; 322 <sup>k</sup> ;	430 <sup>l</sup> 394 <sup>k</sup> ;	Diesel

Fonte: <sup>a</sup>(PAIXÃO e STAMFORD, 2004); <sup>b</sup>(PRESOTO E ALMEIDA-MURADIAN, 2008); <sup>c</sup>(VILLELA, 1942) <sup>d</sup>(RIOS e Pentead, 2003); <sup>e</sup>(ZANDOMENEGHI et al., 2005); <sup>f</sup>(POULLI et al., 2005); <sup>g</sup>(SIKORSKA et al., 2005); <sup>h</sup>(ENGELSEN et al., 2006); <sup>i</sup>(WOLF et al., 2001); <sup>j</sup>(CHRISTENSEN, 2005); <sup>k</sup>(MEIRA et al., 2011a); <sup>l</sup>(VENKATARAMAN et al., 2002); <sup>m</sup>(PATRA e MISHRA, 2002). Adaptada.

Algumas substâncias só fluorescem após serem transformadas em condições reacionais específicas, Tabela 10, e estes produtos transformados podem estar também presentes nos óleos vegetais in natura ou usados.

**Tabela 10:** Listagem das substâncias que fluorescem após sofrerem modificações, possíveis de serem encontradas em amostras de OGRs e óleos vegetais citados na literatura.

<b>Nome vulgar</b>	<b>Nomenclatura</b>	<b><math>\lambda_{exc.}(nm)</math></b>	<b><math>\lambda_{emis.}(nm)</math></b>	<b>Fonte</b>	<b>Método reacional</b>
<b>Vitamina A</b>	Retinol e axeroftol	260-355 <sup>c</sup>	600-660 <sup>a</sup> 480-510 <sup>b</sup>	Vegetal	Conversão para Acetato de Vitamina A
<b>Vitamina B1</b>	Tiamina	368 <sup>b</sup>	440 <sup>c</sup>	Vegetal	Conversão de tiamina em tiocromo



---

<b>Vitamina</b>	Niacina	322 <sup>b</sup>	380 <sup>c</sup>	Vegetal	Fotoquímico –
<b>PP</b>					radiação
					ultravioleta

---

Fonte: <sup>a</sup>(PAIXÃO e STAMFORD, 2004); <sup>b</sup>(ZANDOMENEGHI et al., 2005);  
<sup>c</sup>(PRESOTO E ALMEIDA-MURADIAN, 2008).

Em decorrência desse trabalho direta e indireta foram gerados artigos (apêndices de A a F), e os pedidos de patentes relacionados com a pesquisa (apêndice G).

CONCLUSÕES

## 6. CONCLUSÕES

Devido as prospecções de artigos e de patentes, foi verificado que o tema sobre qualidade do diesel é recente e emergente, ganhando interesse a partir de 1972 com a declaração de Estocolmo.

Depois teve forte crescimento a partir de 1990. Muito provavelmente em decorrência a séries de eventos internacionais relacionados a proteção do meio ambiente que ocorreram nessa década, Rio-92 com a criação da Agenda 21, elaboração do protocolo de Quioto (1997) gerando a formação de políticas ambientais de controle de emissão de poluentes para o ambiente nos países.

Outro motivo provável é o aumento da demanda de combustíveis e consequente exigência de mercado por equipamentos mais eficientes, com maior desempenho e menor consumo de combustível, com menores emissões de poluentes.

Existe uma tendência em migrar as técnicas e métodos analíticos utilizados em controle de qualidade de diesel e outros fluidos envolvidos na tecnologia do motor a ciclo Diesel, para técnicas e métodos de combate a combustíveis adulterados ou fora da especificação.

A China, os Estados Unidos, a Coréia do Sul e o Japão são os países que mais patenteiam, esse fato pode ser atribuído ao número de grandes indústrias automotivas com seus centros tecnológicos neles presentes. Além das políticas de incentivo a diminuição dos poluentes praticadas pelos governos internacionais.

Grande parte das técnicas analíticas não são divulgadas por motivo de sigilo industrial, devido a forte concorrência do mercado automotivo por controle da qualidade.

As técnicas mais utilizadas no controle de qualidade e combate a adulterações são as que envolvem o emprego do espectro UV-Vis na determinação analítica (Infravermelho, Absorção/Transmissão de Luz, Testes Colorimétricos, Radiação Ultravioleta, Fluorescência, Índice de Refração e cromatografia).

A técnica de espectrofluorimetria associada com a análise multivariada (PCA, *loadings*, *escores* e PLS) aplicada nesse trabalho mostrou que é possível identificar



de forma segura, rápida, de baixo custo de forma eficiente, a adulteração por óleos vegetais puros ou residuais (OGR) quando estes são inseridos no diesel em relação as técnicas analíticas utilizadas nas últimas décadas .

É possível com essa técnica identificar marcadores (fluoróforos naturais) das próprias substâncias, com o auxílio das tabelas 9 e 10, necessitando testes confirmatórios (RMN, cromatografia, entre outros) para identificação da substância marcadora a ser estudada.

As análises do PCA e dos espectros de fluorescência mostram as contribuições dos fluoróforos dos óleos e do diesel nas misturas.

Com a análise dos *loadings* das misturas é possível determinar os comprimentos de onda (excitação ou emissão) que serão mais significativos para o desenvolvimento de sensores ou equipamentos que detectem a adulteração de misturas específicas.

Foi possível determinar e identificação a adulteração de OGR em diesel combinando dados de espectrofluorimetria total com PLS.

## **Propostas Futuras**

## 7. Propostas Futuras

Algumas sugestões para propostas futuras:

Isolar e caracterizar compostos fluorescentes, por exemplo Lumicromo e Lumiflavina. Com o uso de padrões sintetizados no laboratório a partir da Riboflavina, e utilizando a técnica por meio das técnicas da espectroscopia de Infravermelho (ATR-FTIR) e Cromatografia Gasosa acoplada com Espectrômetro de Massas (CG-MS).

Comparar diferentes óleos vegetais e misturas deles em diesel com as propriedades físico-químicas estabelecidas pela ANP seguindo as normas contidas nas resoluções como as da ASTM (*American Society of Testing and Materials*).

Comparar diferentes tipos de frituras de preparos (batata frita, peixe frito, *Tempuras*, acarajé, entre outros) nos quais são mais utilizados em abundância óleos vegetais com os tempos de cocção diferentes, verificando a migração dos fluoroforos presentes nos alimentos para o óleo vegetal utilizando a espectrofluorimetria com a quimiometria juntamente com as técnicas da espectroscopia de Infravermelho (ATR-FTIR) e Cromatografia Gasosa acoplada com Espectrômetro de Massas (CG-MS).

Caracterizar os principais fluoroforos presentes nas amostras de óleos residuais e óleo de soja por meio da cromatografia gasosa e verificar quais os potenciais marcadores naturais vegetais nos óleos para identificação de adulteração por contaminação de origem vegetal no combustível fóssil.

Aplicar a metodologia tratada no presente trabalho para misturas ternárias e identificar as principais substâncias fluorescentes que diferenciam as amostras adulteradas das legalizadas.

Aplicar a metodologia da presente pesquisa para misturas ternárias com outros tipos de adulterações, como óleos lubrificantes automotivos usados, e identificar os principais fluoroforos que diferenciam as amostras adulteradas das normatizadas.

Construir um guia rápido para identificar adulterações do diesel por meio de metodologias, mapas espectrofluorimétricos, comprimentos de onda (excitação e emissão) característico para cada tipo de adulteração, e tabelas dos principais



fluoroforos relatados na literatura e testados experimentalmente que podem identificar substâncias adulterantes no diesel.

Construir dispositivos sensores, e validá-los para o controle da qualidade do diesel e possíveis adulterações com outros solventes, óleo lubrificante usado ou óleos e gorduras. Os equipamentos desenvolvidos serão calibrados baseando-se em metodologias e no processo, já patenteados pela equipe, e que ganhou o prêmio Petrobras de Tecnologia em 2006 (GUIMARÃES, 2006).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELNUR, P.A.; SERGIO A. SARAIVA, S.A.; CATHARINO, R.R.; COELHO, M.; NICOLAS SCHWAB, N.; GARCIA, C.M.; SCHUCHARDT, U.; SOUZA, V.; EBERLIN, M.N. Blends of Soybean Biodiesel with Petrodiesel: Direct Quantitation via Mass Spectrometry. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 24, n. 6, p. 946-952, 2013.

ABDELNUR, P.V.; EBERLIN, L.S.; SÁ, G.F.; SOUZA, V.; EBERLIN, M.N. Single-Shot Biodiesel Analysis: Nearly Instantaneous Typification and Quality Control Solely by Ambient Mass Spectrometry. **Anal. Chem.**, v. 80, n. 20, p. 7882-7886, 2008. Brasil – recife

ALISKE, M. A.; ZAGONEL, G. F.; COSTA, B. J.; VEIGA, W.; SAUL, C. K.; Measurement of biodiesel concentration in a diesel oil mixture, **Fuel**, v. 86, n. 10, p. 1461-1464, 2007.

AMPARO, K. K. S.; RIBEIRO, M. C. O.; GUARIEIRO, L. L. N. Estudo de caso utilizando mapeamento de prospecção tecnológica como principal ferramenta de busca científica. **Perspectivas em Ciência da Informação**, v.17, n.4, p.195-209, 2012.

ANP/ABIOVE. ANP/ABIOVE - Coordenadoria de Economia e Estatística. <http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=estatistica&area=NC0yLTE=>. **ABIOVE**. Acessado em 25 de julho de 2015.

ANTAR PETROLES ATLANTIQUE. Ouvrard Paul. **Method and device for the continuous automatic analysis of the filterability point of liquid substances, particularly diesel oil**. US3945243. 19 set 1973. 23 mar 1976.

AUTHENTIX INC. Wilkinson Timothy G.; Dorland Erwin. **Marking fuel for authentication**. US2011229983. 22 set 2011.

BALAT, M. Diesel-like Fuel Obtained by Catalytic Pyrolysis of Waste Engine Oil. **Energy exploration & exploitation**. v. 26, n. 3, p. 197-208, 2008.

BOSCH GMBH ROBERT. Adolph Dietrich; Dinkelacker Walter. **Measuring transparency of gases, particularly the optical transmission of internal combustion engine exhaust gases**. US3973123. 28 mai 1974. 03 ago 1976.

BP FRANCE. Lambert Didier Charles; Ventron Gilbert; Martens Andre. **Method for determining the properties of a diesel oil obtained from a complex mixture based on petroleum products, or the constitution of a final product of the diesel oil type having properties defined by near-infrared spectrophotometric analysis of the constituents of the mixture**. FR2632408. 01 jun 1988. 08 dez 1989.



BRASIL. <http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2014/05/governo-aumenta-porcentagem-de-biodiesel-no-diesel>. Acesso em: mai 2015.

CAELS ROBERT J A. Caels Robert J. A. **Water detection in hydrocarbon by electrical conductivity measurement - between two spaced metal wire grid electrodes**. BE897387. 14 nov 1983.

CARUSO, L.A.; TIGRE, P. B. Modelo SENAI de Prospecção: Documento Metodológico. OIT/CINTERFOR, 2004.

CHRISTENSEN, J. **Foodfluor - food fluorescence library**, Copenhagen, Dinamarca, Department of Food Science, Faculty of Science, University of Copenhagen. Disponível em: [http://www.models.kvl.dk/foodfluor#LS50\\_Fluorophores](http://www.models.kvl.dk/foodfluor#LS50_Fluorophores). Acesso em: 26 jan. 2015.

CNT. Os impactos da má qualidade do óleo diesel brasileiro. CNT, 28p., 2012 <[http://www.cnt.org.br/riomais20/resources/cartilhas/Oleo\\_Diesel\\_Final.pdf](http://www.cnt.org.br/riomais20/resources/cartilhas/Oleo_Diesel_Final.pdf)>. CNT. Acesso em: jan 2015.

CONROY JEFFREY L; FORSHEE PHILIP B; CRONIN PAUL JOHN; AUTHENTIX INC. Conroy Jeffrey I.; Forshee Philip B.; Cronin Paul John; **Determining the Quantity of a Taggant in a Liquid Sample**. US2013179090. 11 JULHO 2013.

CORGOZINHO, C. N. C.; PASA, V. M. D.; BARBEIRA, P. J. S.; Determination of Residual Oil in Biodiesel Oil by Spectrofluorimetric and Chemometric Analysis. *Talanta*, v. 76, N. 2, p. 479-484, 2008.

CUNHA, I.B.S.; FERNANDES, A.M.A.P.; TEGA, D.U.; SIMAS, R.C.; NASCIMENTO, H.L.; SÁ, G.F.; DARODA, R.J.; EBERLIN, M.N.; ALBERICI, R.M. Quantitation and Quality Control of Biodiesel/Petrodiesel (Bn) Blends by Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry. *Energy & Fuels*, v. 26, n. 11, p. 7018-7022, 2012. BRASIL (Campinas)

DA SILVA, G. V.; FALLA, M.D.P.H; VERAS, C. A. G.. Estudo das emissões de B5 com aditivos. In: **VI CONGRESSO NACIONAL DE ENGENHARIA MECÂNICA**. Campina Grande/Paraíba, 2010.

EBERLIN, L. S.; ABDELNUR, P. V.; PASSERO, A.; SA, G. F.; DARODA, R. J.; SOUZA, V.; EBERLIN, M. N.; Analysis of biodiesel and biodiesel-petrodiesel blends by high performance thin layer chromatography combined with easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. *Analyst.*, v. 134, p. 1652-1657, 2009.

ELF FRANCE. Laurent Dominique; Fortunato Gerard; Damin Bernard; Napoleon Marcel. **Process and device for determining the cloud point of a diesel oil**. US5007733. 07 jun 1985. 16 abril 1991.

EMBRAPA. <http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm> Acessado em 25 de julho de 2015.

ENGELSEN, S.B.; BRO, R.; NØRGAARD, L.; CHRISTENSEN, J. Multivariate Autofluorescence of Intact Food Systems. **Chem. Rev.**, v. 106, n. 6, p. 1979–1994, 2006.

ESPAENET. [www.espacenet.com](http://www.espacenet.com). Acesso em: jan 2015.

FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Quím. Nova**, vol. 22, n. 5, 1999.

FERRER, T. M.; CERQUEIRA, G. S.; MEIRA, M.; COSTA NETO, P. R.; QUINTELLA, C. M.. A química na produção de biocombustíveis de 2ª geração: prospecção tecnológica de gaseificação baseada em patentes. In: **33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Águas de Lindóia. 2010.

FROEHNER, S.; LEITHOLD, J.; LIMA JUNIOR, L. F. Transesterificação de óleos vegetais: caracterização por cromatografia em camada delgada e densidade. **Quím. Nova [online]**. v. 30, n.8, p. 2016-2019, 2007.

FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. **J. Biosci. Bioeng.**, v. 92, p. 405-416, 2001.

GEN MOTORS CORP. Eesley Gary I.; Demaggio Gregory B.; Buchholz Jeffrey C. **Apparatus for measuring soot concentration in engine oil**. US4281533. 14 jan 1980. 04 ago 1981.

GEN MOTORS CORP. Louis L. Nagy; Mark E. Myers Jr; **Method of detecting soot in engine oil using microwaves**. US4345202. 17 AGO 1982.

GEN MOTORS CORP. Sutton Stephen J. **Apparatus for detecting water in fuel**. US4638305. 22 MAR 1985.

GILBERT, A.; BAGOTT, J. Essentials of Molecular Photochemistry. **Blackwell Scientific Publications**, Oxford. 1991.

GONÇALVES, H. R.; MEIRA, M.; COSTA NETO, P. R.; QUINTELLA, C. M.. Métodos e aparelhos para análise de adulteração de diesel. **ENAPID**. Rio de Janeiro. 2010.

GONZALEZ CIRIACO FRANCISCO. Gonzalez Ciriaco Francisco. **Improvements introduced into Invention Patent 9302195 for a Liquid analyser system**. ES2105956. 16 out 1997.

GRAVINER MANUFACTURING CO. Churchill John Godwyn; Lovie Richard Henry. **Improvements in detectors of light-absorbing fluids**. GB915321. 01 mar 1960. 09 jan 1963.

GRAVINER MANUFACTURING CO. Mathisen Anders. **Improvements in detectors of oil mists and other light obscuring fluids**. GB825451. 17 dez 1955. 16 dez 1959.



GUIMARÃES, A. K.; QUINTELLA, C. M.; MUSSE, A. P.; Proposta para identificar a adulteração de biocombustível: adição ao diesel de óleos vegetais ao invés de biodiesel. **Prêmio Petrobrás de Tecnologia**, 2006.

HADDAD, R.; REGIANI, T.; KLITZKE, C.F.; SANVIDO, G.B.; CORILO, Y.E.; AUGUSTI, D.V.; PASA, V.M.D.; PEREIRA, R. C.C.; ROMÃO, W.; VAZ, B.G.; AUGUSTI, R.; EBERLIN, M.N. Gasoline, kerosene and diesel fingerprinting via polar markers. **Energy & Fuels**, v. 26, n. 6, p. 3542-3547, 2012.

HARRIS, D. C., *Análise Química Quantitativa*, Editora LTC, RJ, 5ª edição, 2001.

HIGHLY RELIAB MARINE PROPUL. Watanabe Masami; Kimijima Takanao; Nonogaki Minoru. **Method and apparatus for testing lubricant**. JPS61253464. 01 MAIO 1985. 11 nov 1986.

HIRANO SHINSAKU. Hirano Shinsaku. **Control method of automatic measuring and purifying apparatus of diesel engine fuel oil**. JPS59211859. 17 mai 1983. 30 nov 1984.

INDUSTRIFORSKNING SENTER. Ruzicka Dalibor J.; Oestvold Geir. **Method and apparatus for determining the ability of heavy fuels to self-ignite under diesel conditions**. WO8908253. 01 mar 1988. 08 set 1989.

INST DE TECNOLOGIA DO PARANA T. Saul Cyro Ketzer; Aliske Marcelo Adriano; Veiga Wanderley ketzer. **Method for measuring biodiesel concentration in a biodiesel diesel oil mixture**. US2010116991. 13 maio 2010.

KALLIGEROS, S.; ZANNIKOS, F.; STOURNAS, S.; LOIS, E.; Fuel adulteration issues in Greece, **Energy**, V. 28, N. 1, p.15-26, 2003.

KWANGSAN CO LTD. Kim Hong Soon; Kang Bu Nyung; Kim In Dong; Lee Dong Hyung; Lee Jin Woo; Seoh Sang Won; Moon Byung Chun; Park Ju Won. **Oil mist detecting apparatus**. KR20100036491. 08 abril 2010.

KWON SANG KIL. Kwon Sang Kil; Min Dong Hoon. **The test and the data acquisition/processing system of the adulterated oil for gas station**. KR20140098359. 08 ago 2014.

LOUIS L. NAGY; NICHOLSON WARREN BAXTER; DELPHI TECHNOLOGIES INC. Nagy Louis L.; Nicholson Warren Baxter. **Apparatus and method for sensing particle accumulation in a medium**. US2004135584. 13 jan 2003. 15 jul 2004.

LUNA, S.; MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.. Prospecção tecnológica de patentes para determinação de métodos utilizados para análise de matéria-prima na produção de biodiesel. **Cadernos de prospecção**, v. 5, p. 159-167, 2012.



MCT. Ministério da Ciência e Tecnologia: Protocolo de Quioto. <[http://www.mct.gov.br/upd\\_blob/0012/12425.pdf](http://www.mct.gov.br/upd_blob/0012/12425.pdf)>. Acesso em: jan 2015.

MEIRA, M., QUINTELLA, C. M.; FERRER, T. M.; COSTA NETO, P. R.; SILVA, H.R.G.; GUIMARÃES, ALEXANDRE K.; SANTOS, M. A.; PEPE, I. M.. **Patente Método de Identificação de Amostras de Óleos através de Análise Espectral e Quimiometria**. Protocolo INPI BR 0000221106730261 depositada em 16/12/2011.

MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; COSTA NETO, P. R.; FERRER, T. M.; CERQUEIRA, G. S.. Prospecção tecnológica sobre biocombustíveis de segunda geração com ênfase em gaseificação de biomassa. **ENAPID**. Rio de Janeiro. 2010a.

MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; COSTA NETO, P. R.; FERRER, T. M.; NASCIMENTO, L. L.. Prospecção tecnológica de patentes sobre microalgas como matéria-prima para a produção de biocombustíveis. **ENAPID**. Rio de Janeiro. 2010b.

MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; FERRER, T. M.; SILVA, H. R. G.; GUIMARÃES A. K.; SANTOS, M. A.; COSTA NETO, P. R.; PEPE, I. M. Identificação de adulteração de biocombustível por adição de óleo residual ao diesel por espectrofluorimetria total 3d e análise das componentes principais. **Quím. Nova**, v. 34, n. 4, p. 621-624, 2011a.

MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; NETO, P. R. C.; PEPE, I. M.; RIBEIRO, E. M. O.; CID, A. L. D.; GUIMARÃES, A. K. Validation of LED spectrofluorimeter for determination of both biodiesel nontransesterified residual cooking oil in diesel samples. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 136, Part B, p. 726-730, 2015a.

MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; PEPE, I. M.; NETO, P. R. C.; TANAJURA, A. S.; SILVA, H.R.G.; Prediction of properties of biodiesel-diesel blends using spectrofluorimetry and multivariate calibration. **Central European Journal of Chemistry**, v. 10, p. 1328-1337, 2012.

MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; RIBEIRO, E. M. O.; GUIMARÃES, A. K.; SILVA, W. L. Determination of adulterants in diesel by multivariate calibration associated with LED spectrofluorimetry. **Int. J. Chem.**, v. 6, n. 4, p. 24-30, 2014b.

MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; RIBEIRO, E. M. O.; GUIMARÃES, A. K.; SANTOS, M. A.; CERQUEIRA, G. S.; CID, A. L. D.; LUNA, S.; SILVA, W. L. Prediction of concentration of animal fat in mixture with vegetable oil by multivariate calibration associated with spectrofluorimeter. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 4, p. 99-103, 2013.

MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; RIBEIRO, E. M. O.; SANTOS, M. A.; LUNA, S.; CID, A. L. D.. Identification of adulteration of olive oil with other edible oils by LED-induced fluorescence and multivariate calibration. **Int. J. Chem.**, v. 6, n. 4, p. 31-37, 2014a.

MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; RIBEIRO, E. M. O.; SILVA, H. R.G.; GUIMARÃES, A. K.; LUNA, S.; SILVA, W. L.; BRITO, I. J. Determination of adulterants in diesel by

integration of LED fluorescence spectra. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 26, n. 7, p. 1351-1356, 2015b.

MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; TANAJURA, A. S.; SILVA, H. R. G.; FERNANDO, J. D. E. S.; NETO, P. R. C.; PEPE, I. M.; SANTOS, M. A.; NASCIMENTO, L. L. Determination of the oxidation stability of biodiesel and oils by spectrofluorimetry and multivariate calibration. **Talanta (Oxford)**, v. 85, p. 430-434, 2011b.

MISHRA, A. K.; PATRA, D. Study of diesel fuel contamination by excitation emission matrix spectral subtraction fluorescence. **Anal. Chim. Acta**, v. 454, n. 2, p. 209-215, 2002.

MISHRA, A.K.; DIVYA, O. Chemometric study of excitation-emission matrix fluorescence data: Quantitative analysis of petrol-kerosene mixtures. **Applied Spectroscopy**. V. 62, n. 7, p. 753-758, 2008a.

MISHRA, A.K.; DIVYA, O. Development of an analytical method combining chemometrics and synchronous fluorescence: analysis of diesel-kerosene mixtures. **Proceedings of the national academy of sciences india section a**. v. 78, p. 115-122. 2008b.

MISHRA, A.K.; DIVYA, O. Multivariate methods on the excitation emission matrix fluorescence spectroscopic data of diesel-kerosene mixtures: A comparative study. **Anal. Chim. Acta**, v. 592, n.1, p. 82-90, 2007.

MISHRA, A.K.; PATRA, D Effect of sample geometry on synchronous fluorimetric analysis of petrol, diesel, kerosene and their mixtures at higher concentration. **Analyst**. V. 125, p. 1383-1386, 2000.

MISHRA, A.K.; PATRA, D. Excitation emission matrix spectral subtraction fluorescence to check adulteration of petrol by kerosene. **Applied Spectroscopy**. V. 55, n.3, p.338-342, 2001b

MISHRA, A.K.; PATRA, D; SIREESHA, LK; Characterization and investigation of polycyclic aromatic compounds present in petrol, diesel, kerosene and 2T oil using excitation emission matrix fluorescence. **Indian Journal of Chemistry**. Section A, v. 40A. p. 374-379, 2001a.

MONTEIRO, M. R.; AMBROZIN, A. R. P.; SANTOS, M. S.; BOFFO, E. F.; PEREIRA-FILHO, E. R.; LIÃO, L. M.; FERREIRA, A. G.; Evaluation of Biodiesel-Diesel Blends Quality Using <sup>1</sup>H NMR and Chemometrics. **Talanta**, v. 78, nº 3, p. 660-664, 2009.

NAGY LOUIS L; DELPHI TECHNOLOGIES, INC. Louis L. Nagy. **Apparatus and method for sensing particle and water concentrations in a medium**. US2004135585. 15 jul. 2004b.



NAGY LOUIS L; NICHOLSON WARREN BAXTER; DELPHI TECHNOLOGIES, INC.  
Louis L. Nagy; Warren Baxter Nicholson. **Apparatus and method for sensing particle accumulation in a medium.** US2004135584. 15 jul. 2004a.

NANJING GLASS FIBRE DESIGNING INST.; STATE BUILDING MATERIAL INDUSTRY BUREAU. Lin Wenxin; Jiang Zhizhong. **Testing device for stability of diesel.** CN87205514. 30 nov 1987.

OLIVEIRA, A.K.C.; SILVA, L.H.N.; SILVA, L.L.N.; OLIVEIRA, K.R.R.; SILVA, S.I.F.; COSTA, A.C.J. Produção e avaliação comparativa do biodiesel de soja e biodiesel de linhaça através de dois métodos de preparação aplicados aos óleos vegetais. **VII CONNEPI.** Tocantins, 2012.

OLIVEIRA, F. C. C.; BRANDÃO, C. R. R.; RAMALHO, H. F.; COSTA, L. A. F.; SUAREZ, P. A. Z.; RUBIM, J. C.; Adulteration of diesel/biodiesel blends by vegetable oil as determined by Fourier transform (FT) near infrared spectrometry and FT-Raman spectroscopy. **Anal. Chim. Acta**, v. 587, p. 194–199, 2007.

PAIXÃO, J.A.; STAMFORD, T.L.M. Vitaminas lipossolúveis em alimentos – uma abordagem analítica. **Quím. Nova**, V. 27, N. 1, p. 96-105, 2004.

PARK, D-H.; HONG, J.; PARK, I. S.; LEE, C. W.; Kim, J-M. A Colorimetric Hydrocarbon Sensor Employing a Swelling-Induced Mechanochromic Polydiacetylene. **Advanced Functional Materials**. V. 24, N. 33, p. 5186–5193, 2014.

PATIL, K. R.; THIPSE, S. S. Experimental investigation of CI engine combustion, performance and emissions in DEE-kerosene-diesel blends of high DEE concentration. **Energy conversion and management**. V. 89, N. 1, p. 396–408, 2015.

PATRA, D.; MISHRA, A.K. Total synchronous fluorescence scan spectra of petroleum products. **Anal Bioanal Chem.**, v. 373, n. 4-5, p. 304-309, 2002.

PENA, Armando Guerrero et al. Fourier transform infrared-attenuated total reflectance (FTIR-ATR) spectroscopy and chemometric techniques for the determination of adulteration in petrodiesel/biodiesel blends. **Quím. Nova [online]**. V. 37, n. 3, p. 392-397, 2014.

PETRO OIL AND LUBRICANT RES INST OF THE GENERAL LOGISITIC DEPT OF PLA. Gaoyou Tian; Xiaoli Chu; Chunhua Xiong; Changbo Lu; Youjie Zhou; Lianling Ren; Gaojun An. **Mid-infrared spectrum method for quickly identifying engine fuel type.** CN102221534. 19 out 2011.

PETRO OIL AND LUBRICANT RES INST OF THE GENERAL LOGISITIC DEPT OF PLA. Xiaoli Chu; Gaoyou Tian; Rujuan Yi. **Quick identification method of engine lubricating oil types.** CN101806794. 18 AGO 2010.



PIMENTEL, M. F.; RIBEIRO, G. M. G. S.; CRUZ, R. S.; STRAGEVITCH, L.; PACHECO FILHO, J. G. A.; TEIXEIRA, L. S. G.; Determination of biodiesel content when blended with mineral diesel fuel using infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Microchem. J.**, v. 82, n. 2, p. 201-206, 2006.

POULLI, K.I.; MOUSDIS, G. A.; GEORGIU, C.A. Classification of edible and lampante virgin olive oil based on synchronous fluorescence and total luminescence spectroscopy, **Analytica Chimica Acta**, v. 542, no. 2, pp. 151-156, 2005.

PRESOTO, A.E.F.; ALMEIDA-MURADIAN. Validação de métodos cromatográficos por clae para análise das vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> e niacina naturalmente presentes em farinha de cereais. **Quim. Nova**. v. 31, n. 3, p. 498-502, 2008.

PUBLICHEM. <<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: ago 2015.

QUINTELLA, C. M.; MEIRA, M; GUIMARÃES, A. K.; TANAJURA, A. S.; SILVA, H. R. G.; Prospecção tecnológica como uma ferramenta aplicada em ciência e tecnologia para se chegar à inovação. **Revista Virtual de Química**, v. 3, p. 406-415, 2011.

QUINTELLA, C. M.; TEIXEIRA, L. S. G.; KORN, M. G. A.; COSTA NETO, P. R.; TORRES, E. A.; CASTRO, M. P.; JESUS, C. A. C.; Cadeia do biodiesel da bancada à indústria: uma visão geral com prospecção de tarefas e oportunidades para P&D&I. **Quím. Nova [online]**., v.32, n.3, p. 793-808, 2009.

RICACZESKI, C. C.; ZANCANARO, D.; ALZANI, A. ; FERREIRA, E. A. Biodiesel, um combustível em expansão. **Synergismus scyentifica UTFPR**, Pato Branco, v.1, n.1-4, p.324-330, 2006.

RAMOS, L. P.; ZAGONEL, G. F.; NETO, P. R. C.; ROSSI, L. F. S. Produção de Biocombustível Alternativo ao Óleo Diesel, Através da Transesterificação de Óleo de Soja Usado em Frituras. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 531-537, 1999.

RAMOS, M. J.; FERNÁNDEZ, C.M.; CASAS, A.; RODRIGUEZ, L.; PÉREZ, Á. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. **Bioresource Technology**. V.100, p. 261-268, 2009.

RELACOESINTERNACIONAIS. <<http://relacoesinternacionais.com.br/2015/04/27/crescimento-asiatico-e-exportacoes-brasileiras-entraves-logisticos/>>acesso em: ago 2015.

RENAULT. Warenghem Michel; Fauconnet Jean-Francois; Bellard Jean-Pierre; Labaune Camille. **Method for measuring the content of carbonaceous matters in an oil for diesel engines**. EP0291363. 10 fev 1987. 17 nov 1988.

REPUBLIC KOREA MAN RURAL DEV. Kang Suk Won; Lee Kang Jin; Son Jae Ryong; Hong Hyun You. **The adulteration evaluation apparatus for sesame oil**. KR20110006887. 21 jan 2011.

RIBEIRO, E. M. O.; MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; SILVA, H. R.G.; GUIMARÃES, A. K. Overview of the challenges in the production of biodiesel. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v.1, p. 1-6, 2014b.

RIBEIRO, E. M. O.; QUINTELLA, C. M.; LUNA, S.; BRAGA, J. L. S.; CERQUEIRA, G. S. Prospecção tecnológica sobre o processo de transesterificação com ênfase na produção de biodiesel. **Cadernos de prospecção**. v. 5, p. 53-62, 2012.

RIBEIRO, E. M. O.; QUINTELLA, C. M.; MEIRA, M; LUNA, S.; GUIMARÃES, A. K.; SILVA, W. L. Monitoring of soybean oil transesterification by spectrofluorimetry and multivariate calibration. **Open Access Library J.**, v. 1, p. 1-6, 2014a.

RIOS, M. D. G.; PENTEADO, M. V. C. Determinação de  $\alpha$ -tocoferol em alho irradiado utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). **Quim. Nova**, V. 26, N. 1, p.10-12, 2003.

ROY, S. Fiber optic sensor for determining adulteration of petrol and diesel by kerosene. **Sensors and Actuators B: Chemical** v. 55, N. 2–3, p. 212–216, 1999.

SANTOS, M. M.; COELHO, G. M.; SANTOS, D. M.; FILHO, L. F. Prospecção de tecnologias de futuro: métodos, técnicas e abordagens. <[http://seer.cgee.org.br/index.php/parcerias\\_estrategicas/article/viewFile/253/247](http://seer.cgee.org.br/index.php/parcerias_estrategicas/article/viewFile/253/247)>. Acesso em julho de 2015.

SBFISICA.<http://www.sbfisica.org.br/v1/novopion/index.php/publicacoes/imagens/130-espectro-eletromagnetico>. Acesso em: julho 2015

SETTACOMBUSTIVEIS. Cartilha do posto revendedor de combustíveis: inclui procedimentos para testes de qualidade de combustíveis e normas para comercialização da mistura diesel-biodiesel (B2). Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Rio de Janeiro. 2007 <[http://www.settacombustiveis.com.br/arquivos/download/cartilha\\_postos\\_anp\\_2007.pdf](http://www.settacombustiveis.com.br/arquivos/download/cartilha_postos_anp_2007.pdf)>, acesso em: Janeiro 2011.

SIKORSKA, E.; GLISZCZYŃSKA-SWIGŁO, A; KHMELINSKII, I; SIKORSKI, M. Synchronous fluorescence spectroscopy of edible vegetable oils. Quantification of tocopherols. **J. Agric Food Chem**. V. 53; n.18, p. 6988-6994, 2005.

SILVA, A.C.; PONTES, L.F.; Pimentel, M.F.; PONTES, M.J. Detection of adulteration in hydrated ethyl alcohol fuel using infrared spectroscopy and supervised pattern recognition methods. **Talanta**. v. 93, p. 129-34, 2012.

SILVA, H. R. G.; CID, A. L. D.; TANAJURA, A. S.; MIYAZAKI, S. F.; MEIRA, M; QUINTELLA, C. M. Prospecção tecnológica de patentes para determinação de massa específica e viscosidade de óleos, biocombustíveis e combustíveis por métodos óticos. **Cadernos de prospecção**. v. 4, p. 12-22, 2011.

SILVA, C.R.; CARVALHO, M. W. N. C.; LÍBIA DE S. CONRADO, L. S.; MARCUS V. L. FOOK, M. V. L.; LEITE, K. P. S. Caracterização físico-química e dielétrica de óleos biodegradáveis para transformadores elétricos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** v.16, n.2, p.229–234, 2012.



SKOOG, D. A. et al. **Princípios de Análise Instrumental**. 5.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 803 p.

SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R., **Fundamentos de Química Analítica**, Editora Thomson, 8ª edição, SP, 2006.

SOARES, I. P.; RUSSO, R.M.O.; PRATES, R.G.D.; FORTES, R.A.I.C.P.; PASA, V.M.D. Avaliação da eficiência das técnicas ESI-MS e ATR/FTIR na determinação de adulteração de BX com querosene e óleo residual. **Quím. Nova [online]**, v.34, n.8, p. 1439-1442, 2011. BRASIL

SOARES, I.P.; REZENDE, T.F.; FORTES, I.C.P. Study of the Behavior Changes in Physical-Chemistry Properties of Diesel/Biodiesel (B2) Mixtures with Residual Oil and Its Quantification by Partial Least-Squares Attenuated Total Reflection-Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (PLS/ATR-FTIR). **Energy & Fuels**, v. 23, p. 4143–4148, 2009.

SONI, K; KASANA, R.S. Use of acousto-optic grating as a sensor for determining the adulteration in liquids being used in daily life. **Optics and Lasers in Engineering**. V. 46, N. 1, p. 6-11, 2008.

SOUZA, L. M.; MITSUTAKE, H.; GONTIJO, L. C.; BORGES NETO, W. Quantification of residual automotive lubricant oil as an adulterant in Brazilian S-10 diesel using MIR spectroscopy and PLS. **Fuel**, v. 130, p. 257–262, 2014.

SUZUKI MOTOR CO. Kuroishi Nobuhiro; Amano Hidehiko. **Oil degrading detector**. JPH02242139. 15 mar 1989. 26 set 1990.

TANAJURA, A. S.; MEIRA, M; RIBEIRO, E. M. O.; SILVA, H. R. G.; QUINTELLA, C. M.; Prospecção tecnológica sobre métodos para determinação da oxidação de óleos e biocombustíveis com ênfase em métodos óticos. **Cadernos de prospecção**. v. 5, p. 141-151, 2012a.

TANAJURA, A. S.; MEIRA, M; RIBEIRO, E. M. O.; SILVA, H. R. G.; QUINTELLA, C. M.; Prospecção tecnológica de patentes relacionadas à avaliação da qualidade de óleos por técnicas de fluorescência. **Cadernos de prospecção**, v. 5, p. 115-120, 2012b.

TOMAZZONI, G.; MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; ZAGONEL, G. F.; COSTA, B. J.; OLIVEIRA, P. R.; PEPE, I. M.; NETO, P. R. C. Identification of vegetable oil or biodiesel added to diesel using fluorescence spectroscopy and principal component analysis. **J. Am. Oil Chem. Soc.** V. 91, p. 215-227, 2014.

TRINDADE, M.A.G.; STRADIOTTO, N. R.; ZANONI, V.B. Corantes marcadores de combustíveis: legislação e métodos analíticos para detecção. **Quím. Nova**, Vol. 34, No. 10, p. 1683-1691, 2011.



UNIV NORTHWEST A&F. Xiuzhu Yu; Chen Yang; Shuangkui Du; Jinming Gao; Zhicheng Li. **Method for quantitatively detecting adulteration of peanut oil based on ultraviolet spectrum**. CN102221533. 19 out 2011.

UNIV SOUTH CHINA AGRICULT. Wu Xuehui; Zheng Yanyan. **Detection method for adulterated tea oil**. CN103217393. 24 jul 2013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA (BRASIL). QUINTELLA, C. M.; GUIMARÃES, A. K.; MUSSE, A. P. **Método para monitorar qualidade em processos de obtenção de combustíveis e dispositivo sensor para sua operação**. PI09059768, acesso em: Junho 2012.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA; CRISTINA MARIA ASSIS LOPES TAVARES DA MATA H QUINTELLA; ANA PAULA SANTANA MUSSE; ALEXANDRE KAMEI GUIMARÃES. **Quality control method and device for fuel production processes**. WO2010081212. 22 julho 2010.

VENKATARAMAN, C.; NEGI, G; SARDAR, S.B.; RASTOGI, R. Size distributions of polycyclic aromatic hydrocarbons in aerosol emissions from biofuel combustion. **J. Aerosol Science**, v. 33, p. 503–518, 2002.

VILLELA, G. G. Sobre a dosagem fluorimétrica da riboflavina na urina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. V. 37, n. 4, p. 427-441, 1942.

WANG JUN; WANG GUANPING. Wang Jun; Wang Guanping. **Edible oil security detection method**. CN103454267. 18 dez 2013.

WATANABE, Y. N.; QUINTELLA, C. M.; KORN, M; QUINA, F. H.; Cinética e Dinâmica Molecular do Processo de Dispersão Bidimensional em Sistemas de Injeção em Fluxo(FI): construção e validação de um aparato experimental. 2002. 119 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Bahia. Orientador: Cristina Maria Assis Lopes Tavares da Mata Hermida Quintella.

WOLF, J.P.; PAN, Y.L.; PINNICK, R.G.; HILL, S.C.; NILES, S.; HOLLER, S.; BOTTIGER, J.R.; CHANG, R.K. Dynamics of photon-induced degradation and fluorescence in riboflavin microparticles. **Appl. Phys.**, v. 72, p. 449-454, 2001.

WUHAN TIANHONG INST GROUP. Hongjie li; Chuanfa Jing; Li Chen; Qijun Pan; Jianxin Li; Li Li. **Automobile tail gas online monitor**. CN201828555. 11 maio 2011.

ZANDOMENEGHI, M.; CARONARO, L.; CAFFARATA, C. Fluorescence of Vegetable Oils: Olive Oils. **J. Agric. Food Chem**, v. 53, n. 3, p. 759-766, 2005.

ZHANG, Y.; DUBE, M.A.; MCLEAN, D.D.; KATES, M. Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technological assessment. **Bioresource Technology**, v. 89, p. 1–16, 2003.

## APÊNDICES

## APÊNDICE A

## PUBLICAÇÕES DECORRENTES DO TRABALHO

MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; RIBEIRO, E. M. O.; GUIMARÃES, A. K.; SILVA, W. L. Determination of adulterants in diesel by multivariate calibration associated with LED spectrofluorimetry. . **Int. J. Chem.**, v. 6, n. 4, p. 24-30, 2014

MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; RIBEIRO, E. M. O.; SILVA, H. R.G.; GUIMARÃES, A. K.; LUNA, S.; SILVA, W. L.; BRITO, I. J. Determination of adulterants in diesel by integration of LED fluorescence spectra. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 26, n. 7, p. 1351-1356, 2015

RIBEIRO, E. M. O.; MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; SILVA, H. R.G.; GUIMARÃES, A. K. Overview of the challenges in the production of biodiesel. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v.1, p. 1-6, 2014

MEIRA, M; QUINTELLA, C. M.; NETO, P. R. C.; PEPE, I. M.; RIBEIRO, E. M. O.; CID, A. L. D.; GUIMARÃES, A. K. Validation of LED spectrofluorimeter for determination of both biodiesel nontransesterified residual cooking oil in diesel samples. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 136, Part B, p. 726-730, 2015

RIBEIRO, E. M. O.; QUINTELLA, C. M.; MEIRA, M; LUNA, S.; GUIMARÃES, A. K.; SILVA, W. L. Monitoring of soybean oil transesterification by spectrofluorimetry and multivariate calibration. **Open Access Library J.**, v. 1, p. 1-6, 2014



## APÊNDICE B

# Determination of Adulterants in Diesel by Multivariate Calibration Associated With LED Spectrofluorimetry

Marilena Meira<sup>1</sup>, Cristina M. Quintella<sup>2</sup>, Erika M. de O. Ribeiro<sup>2</sup>, Alexandre K. Guimarães<sup>2</sup> & Weidson Leal Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Campus Simões Filho, BA, Brazil

<sup>2</sup> Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Campus de Ondina, Salvador, BA, Brazil

Correspondence: Marilena Meira, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Campus Simões Filho, CEP: 43.700-000, BA, Brazil. E-mail: marilenameira@gmail.com

Received: June 17, 2014 Accepted: September 11, 2014 Online Published: October 20, 2014

doi:10.5539/ijc.v6n4p24

URL: <http://dx.doi.org/10.5539/ijc.v6n4p24>

### Abstract

In this paper, multivariate calibration models have been developed for determination of common adulterants (kerosene, turpentine and residual oil from fried foods) added to diesel. The samples were analyzed by LED spectrofluorimetry and the multivariate calibration models were developed by Partial Least Squares (PLS). The proposal is suggested as an analytical methodology of low-cost, fast and non-destructive able to quantify the presence of contaminants in the diesel. The results showed that adulterants concentrations were adequately reproduced by the fluorescence spectral data.

**Keywords:** adulteration, diesel, PLS, spectrofluorimetry

### 1. Introduction

The intentional addition of adulterants to diesel has a negative effect on fuel properties and on the engine performance, such as fuel consumption, engine start-up control and engine heating. In addition, adulteration of fuel increases the emission of exhaust gases, hydrocarbons and particulate material (Corgozinho, Pasa, & Barbeira, 2008).

Several analytical methodologies have been developed for identification or quantification of adulterants in diesel and biodiesel-diesel blends in recent years. Patra and Mishra developed a method for detected contamination in diesel by excitation-emission matrix spectral subtraction fluorescence (Patra & Mishra, 2002). Corgozinho et al. related a method for quantifying of residual vegetable oil in diesel oil using synchronous spectrofluorimetry and PLS (Corgozinho, Pasa, & Barbeira, 2008). Oliveira et al. reported a method to determine adulteration of diesel/biodiesel blends by vegetable oil using Fourier transform (FT) near infrared spectrometry and FT-Raman spectroscopy (Oliveira, Brandão, Ramalho, Costa, Suarez, & Rubim, 2007). Vasconcelos et al. using near-infrared overtone regions determined biodiesel content and adulteration of diesel/biodiesel blends with vegetable oils (Vasconcelos, Souza Jr., Pimentel, Pontes, & Pereira, 2012). Pontes et al. detected adulteration in diesel/biodiesel blends using a method based near infrared spectrometry and multivariate classification (Pontes, Pereira, Pimentel, Vasconcelos, & Silva, 2011). Gaydou et al. detected vegetable oil as an adulterant in diesel/biodiesel blends associating NIR/MIR PLS (Gaydou, Kister, & Dupuy, 2011). Roy developed a fiber-optic sensor for determining kerosene as an adulterant in petrol and diesel (Roy, 1999). Souza et al. determined adulteration of Brazilian S-10 diesel by lubricant oil using MIR spectroscopy and PLS (Souza, Mitsutake, Gontijo, & Borges Neto, 2014). Brandão et al. used high performance liquid chromatography and multivariate methods to determine adulteration of diesel by vegetable oils and fats (Brandão, Braga, & Suarez, 2012).

In a previous work, our team developed a method and a sensor for monitoring quality in processes for obtaining fuels using spectrofluorimetry and Principal Component Analysis (PCA) (Quintella, Guimarães, & Musse, 2009). Also we reported a method for identification of the adulteration to diesel by the addition of residual cooking oil using spectrofluorimetry total 3D and PCA (Meira et al., 2011) and a spectrofluorimeter was patented (Quintella et al., 2011). This present study focuses on the quantification of adulterants added to diesel (kerosene, turpentine and residual oil from fried foods) by high-power light-emitting diode (LED) spectrofluorimetry and partial least squares (PLS) regression. LEDs have the following advantages as alternatives sources of excitation in

spectrofluorimetry: They are near monochromatic, have low cost, produce very little heat, have no coherence problems, have extended life, are small and can easily be modulated (Young, Garini, Dietrich, van Oel, & Liqui Lung, 2004).

## 2. Materials and Methods

Standard of diesel was supplied by Petrobras-Brazil and the mixtures of diesel with adulterants (kerosene, turpentine and residual oil from fried foods) were prepared at concentrations of 0 to 100%. Diesel neat and mixtures were analyzed in a LED Fluorescence Spectrometer of Quimis Q-798FIL. These standards were analyzed in duplicate without any prior treatment being used the natural fluorescence of fluids, with quartz cuvettes of 1 cm. The standards were excited with violet LED and emission was detected from 335-1000 nm at intervals of 0.38 nm in LED spectrofluorimeter.

To assess the applicability of the fluorescence method for quantifying the adulterants content multivariate calibration models were developed by Partial Least Squares (PLS) using the software Unscrambler X 10.0.1. Through the PLS models fluorescence spectra are correlated with the corresponding values of the concentration of each adulterant. Each PLS was developed using mean centered fluorescence spectra as independent variables and the concentration values as dependent variables. In calibration step of each PLS, the relationship between spectra and concentration values was estimated from a set of reference samples, and in the validation step the results of the calibration were used to estimate the concentrations from samples that were not used in the calibration step. In this case, mixtures of diesel with adulterant (kerosene, turpentine or residual oil from fried foods).

## 3. Results and Discussion

### 3.1 Calibration of the PLS models

Table 1 shows the mixtures of each adulterant added to diesel (kerosene, turpentine and residual oil from fried foods) analyzed by LED spectroluorimetry and used in the construction of the multivariate calibration models that were developed by partial least squares (PLS) regression using the entire spectral and the entire calibration set described in Table 1. The PLS models were built using the whole fluorescent spectra as independent variables and the values of the concentrations of each adulterant in diesel as dependent variables (Table 1).

Table 1. Concentration of adulterant added to diesel used in the construction of the PLS models

Kerosene (%)	Turpentine (%)	Residual oil from fried foods (%)
0	0	0
2	2	2
4	4	4
6	6	6
8	8	8
10	10	10
20	20	20
30	30	30
40	40	40
50	50	50
60	60	60
70	70	70
80	80	80
90	90	90
100	100	100

Figures 1 and 2 present respectively fluorescence spectra and PLS for the mixtures of kerosene in diesel. The

coefficient of correlation of the curve presented near to 1 (0.9969) and  $R^2$  of 0.99818 indicate the strength of the association between the two variables and the efficiency of the PLS to carry out the predictions. Figure 3 presents that two latent variables predicted 100% of the total variance (almost 100% for the first latent variable). Therefore, the model was proved useful to predict changes in concentration of turpentine added to diesel based on the fluorescence spectral variance.

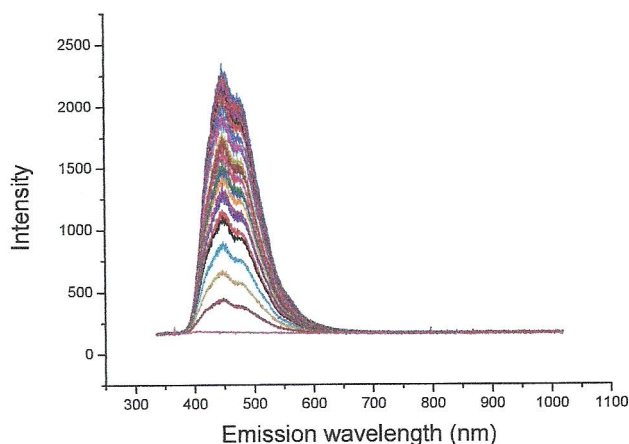


Figure 1. Fluorescence spectra of mixtures of kerosene in diesel (0-100%)

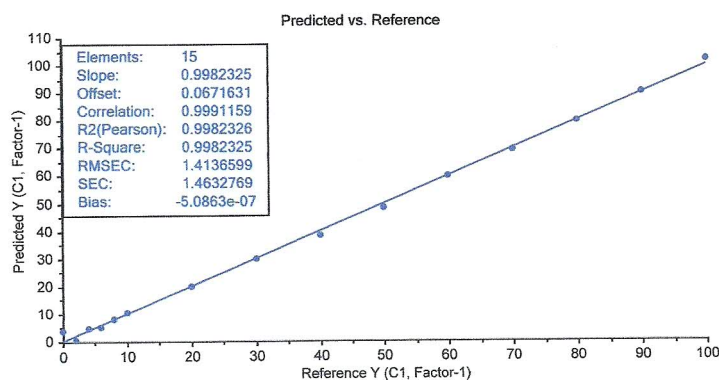


Figure 2. PLS model de mixtures of kerosene added to diesel

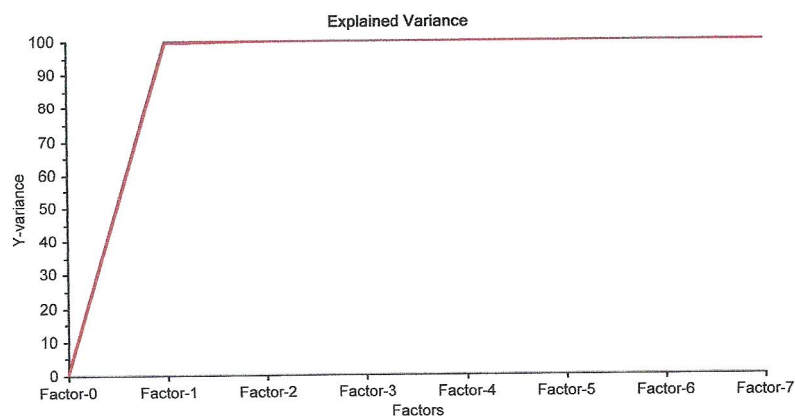


Figure 3. Explained variance of the PLS model de mixtures of kerosene added to diesel



Figures 4 and 5 present respectively fluorescence spectra and PLS for the mixtures of turpentine in diesel. The coefficient of correlation of the curve presented near to 1 (0.9991) and  $R^2$  of 0.9982 indicate the strength of the association of the two variables and the efficiency of the PLS to carry out the predictions. Only two latent variables predicted almost 100% of the total variance (Figure 6).

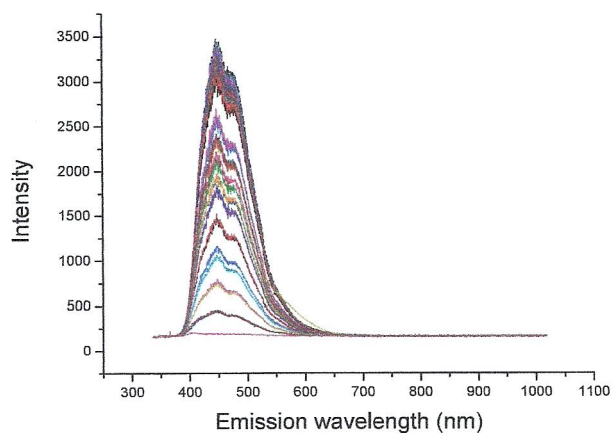


Figure 4. Fluorescence spectra for mixture of turpentine in diesel (0-100%)

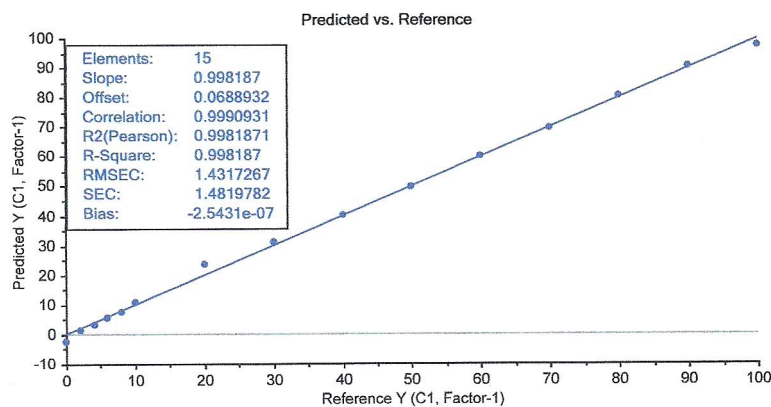


Figure 5. PLS model de mixtures of turpentine added to diesel

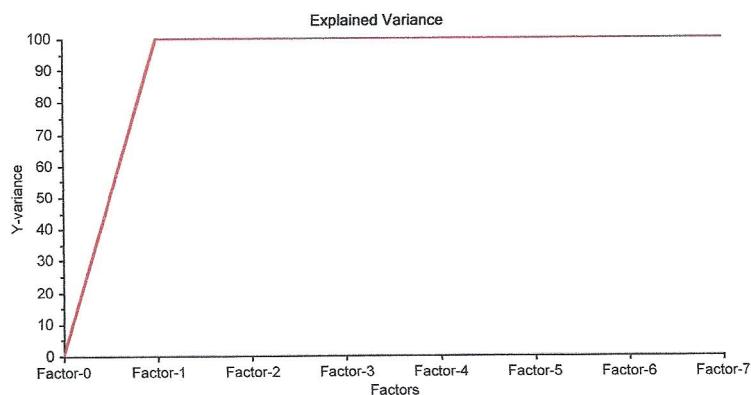


Figure 6. Explained variance of the PLS model de mixtures of turpentine added to diesel

Figures 7 and 8 present respectively fluorescence spectra and PLS for the mixtures of residual oil from fried foods in diesel. The coefficient of correlation of the curve presented near to 1 (0.9991) and  $R^2$  of 0.9938 indicated the strength of the association of the two variables and the efficiency of the PLS to carry out the predictions. For mixtures of residual oil from fried foods added to diesel only two latent variables were shown to predict almost 100% of the total variance, 86% for the first and 13% for the second latent variable) (Figure 9). Therefore, the model was proved useful to predict changes in concentration of residual oil from fried foods added to diesel based on the fluorescence spectral variance.

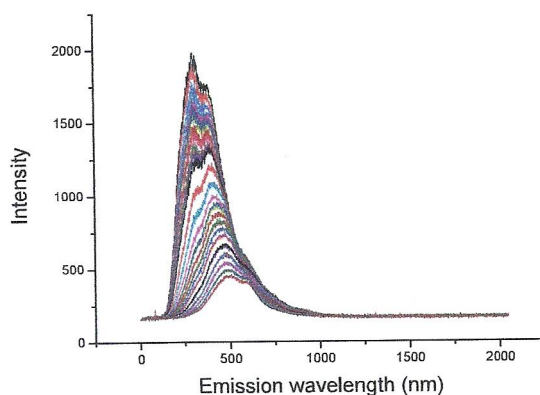


Figure 7. Fluorescence spectra for mixture of residual oil from fried foods in diesel (0-100%)

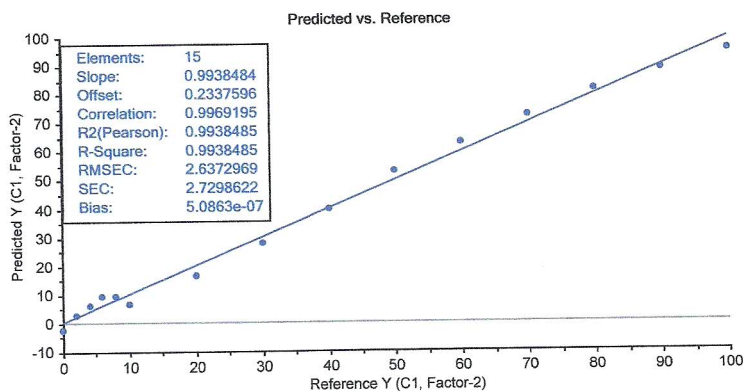


Figure 8. PLS model de mixtures of residual oil from fried foods added to diesel

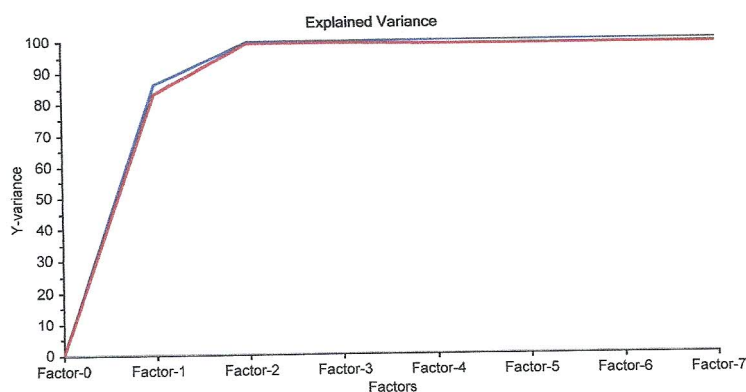


Figure 9. Explained variance of the PLS model de mixtures of residual oil from fried foods added to diesel

### 3.2 Validation of the PLS Models

The results of the calibration were used to estimate the concentrations from samples that were not used in the PLS models. The concentration values of the mixtures of diesel with adulterant (kerosene, turpentine or residual oil from fried foods) used in this validation procedure are shown in the Table 2. The mixtures of each adulterant added to diesel were analyzed by LED values. Table 2 also shows the values of the concentrations predicted by the PLS models. For mixtures of turpentine in diesel and residual oil in diesel some anomalous samples determined by the software Unscrambler were excluded of the data set of validation.

Table 2. Concentration values of the mixtures of diesel with adulterant (kerosene, turpentine or residual oil from fried foods) used in validation procedure

Kerosene		Turpentine		Residual oil from fried foods	
Reference concentration (%)	Predicted concentration (%)	Reference concentration (%)	Predicted concentration (%)	Reference concentration (%)	Predicted concentration (%)
4	4.447487	4	2.275425	4	4.882298
6	7.13217	6	6.629976	8	7.487326
7	6.610565	7	6.524025	9	8.7575
8	6.716967	8	8.505703	20	16.39527
9	10.24765	9	10.05119	25	22.19561
10	11.11698	10	8.880089	35	32.90361
15	15.35029	20	23.57909	40	38.77464
20	19.18914	30	31.68184	45	45.54182
25	26.73995	35	37.47498	50	52.12151
30	29.39688	45	44.97174	60	62.11739
35	33.88729	50	49.81948	70	72.27793
40	40.12534	60	59.53387	80	80.72224
45	43.4324	70	72.39371	90	88.56984
50	50.78994	80	81.3277		
60	56.99543	90	90.1039		
70	69.38918				
80	79.42979				
90	90.06597				

### 4. Conclusion

The association of spectrofluorimetry and PLS was suitable to predict the concentration of adulterants (kerosene, turpentine or residual oil from fried foods) added to diesel.

The advantages of the fluorescence spectroscopy induced by LED, such as simplicity, quickness, low-cost suggest this method as an analytical procedure for the evaluation of the concentration of adulterants previously identified qualitatively in diesel.

The  $R^2$  near to 1 for mixtures of diesel with kerosene, turpentine and residual oil from fried foods indicated the accuracy of the models to predict concentrations values of these adulterants added to diesel.

### Acknowledgements

We acknowledge the CNPq, FAPESB and CAPES for technological scholarships and financial support.

### References

Brandão, L. F. P., Braga, J. W. B., & Suarez, P. A. Z. (2012). Determination of vegetable oils and fats adulterants



- in diesel oil by high performance liquid chromatography and multivariate methods. *Journal of Chromatography A*, 1225, 150-157. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2011.12.076>
- Corgozinho, C. N. C., Pasa, V. M. D., & Barbeira, P. J. S. (2008). Determination of residual oil in diesel oil by spectrofluorimetric and chemometric analysis. *Talanta*, 76, 479-484. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2008.03.003>
- Gaydou, V., Kister, J., & Dupuy, N. (2011). Evaluation of multiblock NIR/MIR PLS predictive models to detect adulteration of diesel/biodiesel blends by vegetal oil. *Chemom Intell Lab Syst*, 106, 190-197. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemolab.2010.05.002>
- Meira, M., Quintella, C. M., Ferrer, T. M., Silva, H. R. G., Guimarães, A. K., Santos, M. A., ... Pepe, I. M. (2011). Identification of adulteration of biofuel by addition of residual oil instead of biodiesel to the diesel by total spectrofluorimetry and principal component analysis. *Quim Nova*, 34, 621-624. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422011000400013>
- Oliveira, F. C. C., Brandão, C. R. R., Ramalho, H. F., Costa, L. A. F., Suarez, P. A. Z., & Rubim, J. C. (2007). Adulteration of diesel/biodiesel blends by vegetable oil as determined by Fourier transform (FT) near infrared spectrometry and FT-Raman spectroscopy. *Anal. Chim. Acta.*, 587, 194-199. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2007.01.045>
- Patra, D., & Mishra, A. K. (2002). Study of diesel fuel contamination by excitation emission matrix spectral subtraction fluorescence. *Anal. Chim. Acta*, 454, 209-215. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01568-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01568-9)
- Pontes, M. J. C., Pereira, C. F., Pimentel, M. F., Vasconcelos, F. V. C., & Silva, A. G. B. (2011). Screening analysis to detect adulteration in diesel/biodiesel blends using near infrared spectrometry and multivariate classification. *Talanta*, 85, 2159-2165. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2011.07.064>
- Quintella, C. M., Guimarães, A. K., Musse, A. P., & Patent, B. R. (2009). PI000022080730742-1.
- Quintella, C. M., Meira, M., Silva, H. R. G., Guimarães, A. K., Ferrer, T. M., Santos, M. A., ... Pepe, I. M. (2011). Patent BR PI 011110000662.
- Roy, S. (1999). Fiber optic sensor for determining adulteration of petrol and diesel by kerosene. *Sensors Actuat B: Chem. Actuat. B: Chemical*, 55, 212-216. [http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4005\(99\)00171-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4005(99)00171-9)
- Souza, L. M., Mitsutake, H., Gontijo, L. C., & Borges, N. W. (2014). Quantification of residual automotive lubricant oil as an adulterant in Brazilian S-10 diesel using MIR spectroscopy and PLS. *Fuel*, 15, 257-262. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2014.03.051>
- Vasconcelos, F. V. C., Souza, Jr., P. F. B., Pimentel, M. F., Pontes, M. J. C., & Pereira, C. F. (2012). Using near-infrared overtone regions to determine biodiesel content and adulteration of diesel/biodiesel blends with vegetable oils. *Anal. Chim. Acta*, 716, 101-107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2011.12.027>
- Young, I. T., Garini, Y., Dietrich, H. R. C., van Oel, W., & Liqui Lung, G. (2004). LEDs for fluorescence microscopy. *Proc. of SPIE*, 5324, 208-215. <http://dx.doi.org/10.1117/12.525932>

### Copyrights

Copyright for this article is retained by the author(s), with first publication rights granted to the journal.

This is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).



## Determination of Adulterants in Diesel by Integration of LED Fluorescence Spectra

Marilena Meira,<sup>\*,a</sup> Cristina M. Quintella,<sup>b</sup> Erika M. O. Ribeiro,<sup>b</sup> Humbervânia R. G. Silva,<sup>b</sup>  
Alexandre K. Guimarães,<sup>b</sup> Saionara Luna,<sup>b</sup> Weidson L. Silva<sup>b</sup> and Irlane J. de Brito<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Campus Simões Filho,  
43700-000 Simões Filho-BA, Brazil

<sup>b</sup>Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Campus de Ondina,  
40170-290 Salvador-BA, Brazil

This paper describes a simple and rapid methodology for determining the content of adulterants in diesel by the integration of fluorescence spectra. The procedure consists of constructing analytical curves using the concentrations of each adulterant in diesel and the relative change in the fluorescence area of each blend with respect to the fluorescence area of the diesel. The results indicated that the proposed method can be used to determine adulterants such as non-transesterified residual cooking oil, kerosene, and turpentine in diesel. The detection limits were 3, 4 and 5% for non-transesterified residual cooking oil, kerosene and turpentine in diesel, respectively. The method was also successfully used to determine the non-transesterified residual cooking oil content in B5 biodiesel-diesel blend (5% biodiesel) in the range of 0-70%, with a limit of detection of 4%.

**Keywords:** adulterants, diesel, LED fluorescence spectroscopy

### Introduction

The intentional addition of adulterants, such as kerosene, turpentine, or non-transesterified residual cooking oil (RCO) to diesel has a negative effect on fuel properties and, consequently, on the engine performance, such as engine start-up control, engine heating, acceleration, and fuel consumption; it also increases the emission of particulate material, hydrocarbons, and exhaust gases.<sup>1</sup>

Patra and Mishra<sup>2</sup> developed a method for detecting diesel fuel contamination by excitation-emission matrix spectral subtraction fluorescence, which has good accuracy and sensitivity. However, it requires more expensive equipment, as an excitation-emission matrix fluorescence spectrum is collected in the excitation wavelength range of 250-500 nm within an interval of 5 nm and in the emission wavelength range of 300-600 nm within an interval of 5 nm. Corgozinho *et al.*<sup>1</sup> also developed a method with good accuracy and sensitivity for the determination of non-transesterified residual vegetable oil in diesel oil using a spectrofluorimetric technique. However, the method of Corgozinho *et al.* requires skill in chemometric analysis.<sup>1</sup> Oliveira *et al.*<sup>3</sup> reported

a method for the determination of the adulteration of diesel-biodiesel blends of vegetable oil by Fourier transform (FT) near-infrared (NIR) spectrometry and FT Raman spectroscopy. Vasconcelos *et al.*<sup>4</sup> developed a method based on NIR overtone regions to determine the biodiesel content and adulteration of diesel-biodiesel blends with vegetable oils. Pontes *et al.*<sup>5</sup> reported screening analysis to detect adulteration in diesel-biodiesel blends using NIR spectrometry and multivariate classification. Gaydou *et al.*<sup>6</sup> developed a multiblock NIR/mid-infrared (MIR) partial least squares (PLS) predictive model to detect the adulteration of diesel-biodiesel blends by vegetable oil. Roy<sup>7</sup> reported a fiber-optic sensor for determining the adulteration of petrol and diesel by kerosene. Raman and FTIR spectroscopy are techniques with good accuracy and sensitivity. However, Raman and FTIR spectrometers are more expensive than the equipment used in this work, and they also require specialized personnel to handle them.

In previous work, we developed a method and a sensor for monitoring the quality during processes for obtaining fuels using spectrofluorimetry and principal component analysis (PCA).<sup>8</sup> The study also reported a method for the identification of the adulteration of biofuels by adding residual cooking oil to diesel through 3D spectrofluorimetry and PCA;<sup>9</sup> a spectrofluorimeter was developed by our team,

\*e-mail: marilenameira@gmail.com



whose technology was transferred to the company Quimis and is now being marketed as the Model Q798FIL.

The Q798FIL is a single-beam UV-Vis spectrofluorimeter, which is compact with system of acquisition and processing of embarked data, lightweight, easy to handle, and robust in construction. The major advantage is the low cost of the equipment when compared with other spectroscopic apparatus, as the cost of Q798FIL is about three times less than an FTIR spectrometer and nearly four times less than a fluorescence spectrometer with a pulsed xenon lamp and 3D excitation-emission scans. Another advantage is the analysis time, as the signal integration time is between 1 ms and 65 s.

Despite the various sophisticated methods developed, it is essential to develop simpler methods that are less costly, but maintain the capability of detecting and quantifying adulterants in diesel, in order to help control the quality of the fuel. Spectrofluorimetry is one of the most sensitive techniques for determining several fluorescence compounds, especially aromatics that exhibit particularly intense fluorescence.<sup>10</sup> Fluorescence in diesel is attributed to the presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) of various ring sizes.<sup>11</sup> The fluorescence of petroleum products has been studied by several authors.<sup>1,2,9,11-17</sup>

The present paper describes a simple, fast, accurate, and low-cost methodology for determining adulterants such as kerosene, turpentine, and non-transesterified RCO contents in diesel by the integration of fluorescence spectra; this is based on the assumption that the fluorescence area caused by the presence of PAHs in a sample of neat diesel or diesel blended with non-transesterified RCO is quantitatively related to these PAHs of a similar standard. The present work is different from the method developed previously,<sup>9</sup> owing to its simplicity, as it does not require covariant analysis and has the advantage of being able to quantify the adulterants.

## Experimental

A sample of S50 diesel was supplied by Landulpho Alves Refinery (RLAM) located in São Francisco do Conde, Bahia State, Brazil. The sample of RCO was collected from restaurants, and was obtained following the frying of foods. Samples of kerosene and turpentine were purchased from a local market. Daily samples of used oils were collected throughout one month in a restaurant. The samples of RCO were mixed, homogenized, and filtered to extract any solid residues. After filtration, the RCO was immediately blended with diesel.

A known volume of diesel and each adulterant (kerosene, turpentine, or non-transesterified RCO) was pipetted in order to prepare the desired adulterated synthetic

mixture at concentrations of 0-100% (v/v). The standards were analyzed in triplicate without any fluorescent additive being used; the region of fluorescence for the aromatic compounds present in diesel was analyzed.<sup>9</sup>

The equipment used in this procedure was a Quimis Q798FIL LED fluorescence spectrometer with a quartz cuvette of 1 cm path length as well as one violet light-emitting diode (LED) centered at 400 nm as the excitation source. The emission range was 350-700 nm at intervals of 0.38 nm. The average values of triplicate spectral data were calculated, which were then integrated using Origin Pro8 software.

To assess the applicability of the fluorescence method in quantifying the adulterant content, an analytical curve was constructed using the concentrations of each adulterant in diesel and the relative change in fluorescence area of each blend with respect to the fluorescence area of the diesel ( $\delta$  parameter). This relative change ( $\delta$ ), as a percentage, is calculated as  $\delta = [(A_0 - A_i) / A_0] \times 100$ , where  $A_0$  and  $A_i$  are the integrated fluorescence areas of the diesel and adulterated diesel, respectively.

Similarly, the proposed method was also used to determine the non-transesterified RCO content in a B5 biodiesel-diesel blend (5% biodiesel) in the range of 0-70%.

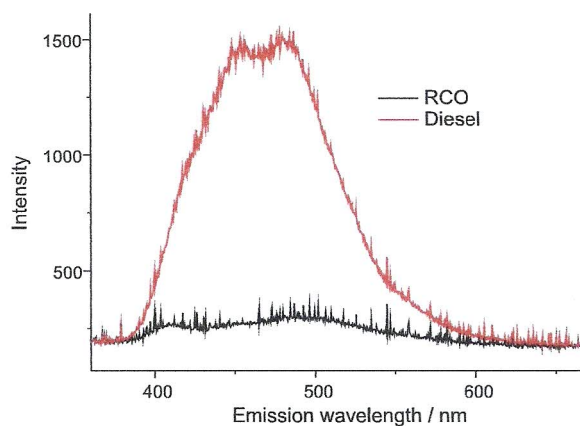
To determine the validity and variability of the analytical curve, predictions were made for the concentrations of samples that were not used in the construction of the individual analytical curves (external validation).

## Results and Discussion

Figure 1 shows the spectra of the diesel and non-transesterified RCO after excitation with a violet LED and emission from 350 to 700 nm. The emission was concentrated in a range of 400-600 nm. Diesel oil presents two peaks of greater intensity at 452 and 480 nm, owing to the presence of PAHs, whereas the spectrum of non-transesterified RCO presents two peaks of greater intensity at 407 and 488 nm. Pure RCO produces an emission, but it is very minor when compared to the signal from pure diesel. The difference in signal intensity between RCO and diesel in the region of 400-600 nm is one of the reasons why the present method works. The sample of non-transesterified RCO has a variable composition, which includes animal fats, vegetable oils, food, refuse, and other organic material. However, the fluorescence region of non-transesterified RCO is concentrated in the range of 400-600 nm, which is the same fluorescence region for diesel when both are excited with a violet LED.

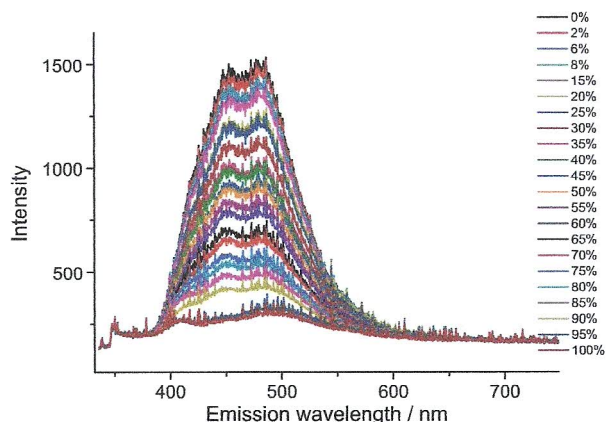
Figure 2 shows the spectra obtained with mixtures of non-transesterified RCO in diesel at concentrations of





**Figure 1.** Spectrum of diesel and RCO after excitation with a violet LED, with emission from 350 to 700 nm at intervals of 0.38 nm, which were obtained using a Quimis model Q798FIL spectrofluorimeter.

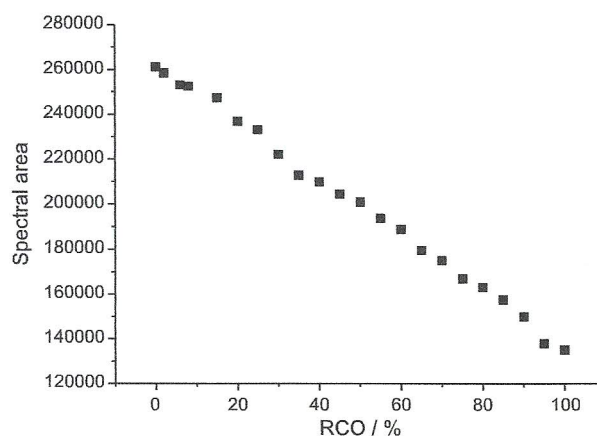
0-100% using the LED spectrofluorimeter. The emission was concentrated in a range between 400 and 600 nm, showing two bands; the first was initially centered at 452 nm and the second at 480 nm. The addition of non-transesterified RCO to diesel promotes a significant decrease in the intensity of the peaks of diesel. Figure 3 shows the reduction in the spectral areas (Table 1) with increasing non-transesterified RCO concentration, as the adulterants effectively dilute the diesel.



**Figure 2.** Spectrum of mixtures of RCO in diesel excited with violet LED and emission from 350-700 nm at intervals of 0.38 nm obtained in a Quimis model Q-798FIL spectrofluorimeter.

Using the procedure proposed in this paper for the spectra obtained with an LED spectrofluorimeter, we obtained a straight line, which increased in the plot of  $\delta$  vs. non-transesterified RCO concentration with good linear correlation,  $R^2 = 0.99623$  using all data (Figure 4) and  $R^2 = 0.99868$  (Figure 5) when some samples were omitted for external validation (Table 2).

Similarly, the same procedure was performed for the other adulterants mixed with diesel. When comparing the

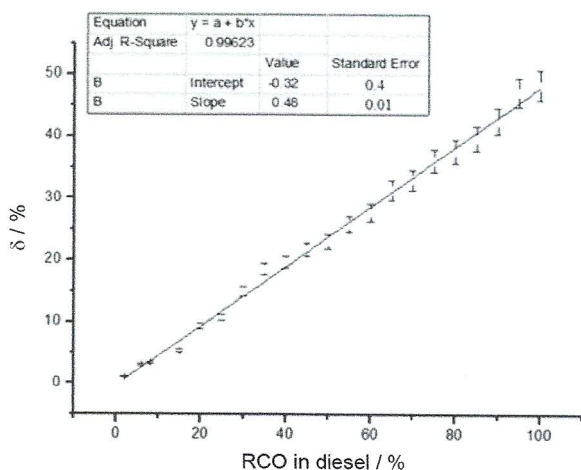


**Figure 3.** Graph constructed using the concentration values of RCO in diesel as the x axis and the fluorescence area of each blend as the y axis.

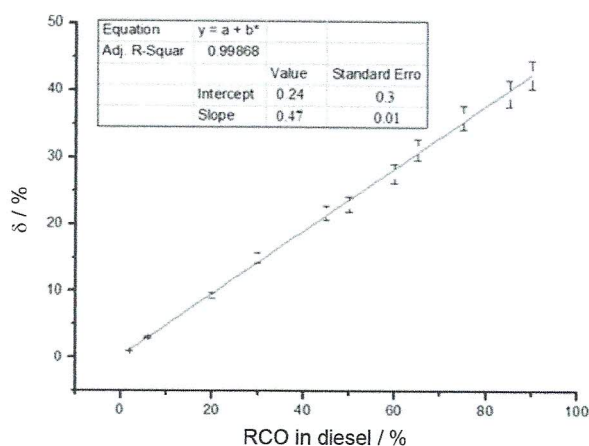
**Table 1.** Integrated spectral areas of diesel and mixtures of RCO and diesel, as well as the relative changes in fluorescence area of each blend with respect to the fluorescence area of the diesel ( $\delta$  parameter)

Residual oil in diesel	Spectral area	$\delta$ / %
0	261222.6	0
2	258478.7	1.05
6	253151.7	3.09
8	252566.6	3.31
15	247393.2	5.29
20	236836.5	9.34
25	233117.9	10.76
30	222139.2	14.96
35	212757.3	18.55
40	209814.5	19.68
45	204319.3	21.78
50	200818.2	23.12
55	193699.7	25.85
60	188878.5	27.69
65	179500.5	31.28
70	175080.9	32.98
75	166975.9	36.08
80	163136.2	37.55
85	157585.5	39.67
90	150066.8	42.55
95	137899.9	47.21
100	135082.3	48.29

turpentine, kerosene, and diesel spectra, diesel is more fluorescent. This is expected, considering that both kerosene and turpentine are formed predominantly from paraffinic hydrocarbons and diesel has a higher concentration of aromatic hydrocarbons. We obtained a straight line, rising in the plot of  $\delta$  vs. the concentration of kerosene in diesel and the concentration of turpentine in diesel, with  $R^2 = 0.99834$  (Figure 6) and  $R^2 = 0.9976$  (Figure 7), respectively.



**Figure 4.** Graph constructed using the concentration values of RCO in diesel as the x axis and the relative change in the fluorescence area of each blend with respect to the fluorescence area of the diesel ( $\delta$  parameter) as the y axis.



**Figure 5.** Graph constructed excluding anomalous samples using the concentration values of RCO in diesel as the x axis and the relative change in the fluorescence area of each blend with respect to the fluorescence area of the diesel ( $\delta$  parameter) as the y axis.

To determine the validity and variability of the method, predictions were made for the concentrations of samples that were not used in the construction of each analytical curve through Student's *t*-test, which was applied to the actual concentrations of adulterant in the diesel and those concentrations predicted by the linear equations of each curve. For RCO in diesel, a calculated *t*-value of  $-0.336738$  (Table 2) was found.

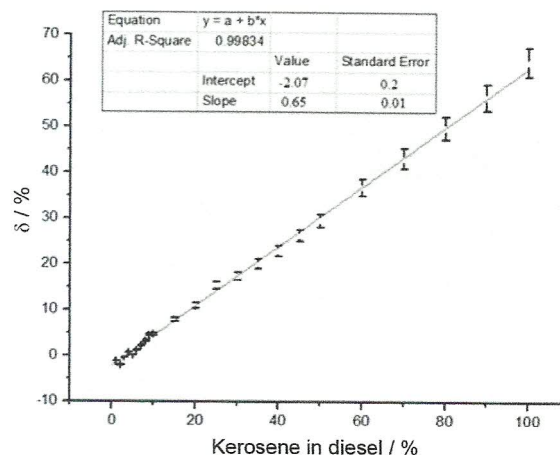
The *t*-value calculated for nine degrees of freedom was  $-2.262$ . Thus, it follows that the Student's *t*-test showed no significant difference at 95% confidence between the actual and the predicted concentrations of non-transesterified RCO in diesel.

Similarly, the Student's *t*-test showed no significant difference at 95% confidence between the actual and the

**Table 2.** External validation by application of the Student's *t*-test for paired data of RCO in diesel

Actual RCO in diesel / %	Predicted RCO in diesel / %	d (actual - predicted) <sup>a</sup>
8	6.5	1.5
15	10.8	4.2
25	22.4	2.6
35	39.0	-4.0
40	41.4	-1.4
55	54.5	0.5
70	69.7	0.3
80	79.4	0.6
95	100.0	-5.0
100	102.3	-2.3

<sup>a</sup>Student's *t*-test for paired data:  $d_m = -0.3$ ,  $s = 2.88$ ,  $S_m = 0.91$ ,  $t_{cal} = -0.336738$ ,  $t_{tab} = -2.262$ , where *d* is the difference between each pair,  $d_m$  is the mean of the differences, *s* is the standard deviation,  $S_m$  is the standard error of the differences, and  $t_{cal} = d_m / S_m$ .

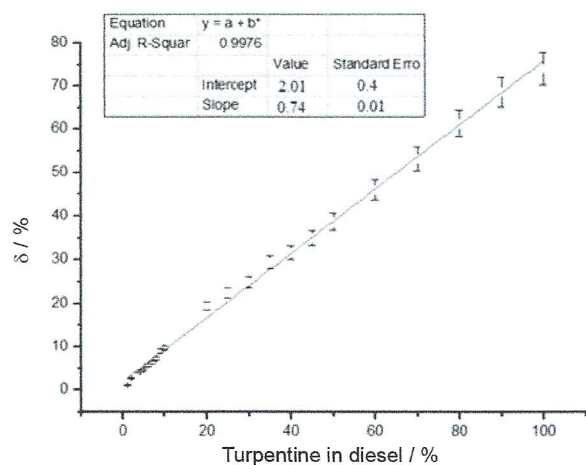


**Figure 6.** Graph constructed using the concentration values of kerosene in diesel as the x axis and the relative change in the fluorescence area of each blend with respect to the fluorescence area of the diesel ( $\delta$  parameter) as the y axis.

predicted concentrations of kerosene in diesel or turpentine in diesel (Tables 3 and 4, respectively).

Table 5 shows the validation parameters found from the analytical curves (Figures 5-7). The detection limits were 3, 4 and 5% for non-transesterified RCO, kerosene, and turpentine in diesel, respectively.

The proposed method was also successfully used to determine the content of non-transesterified RCO in a B5 biodiesel-diesel blend (5% biodiesel) with  $R^2 = 0.99635$  in the range of 0-70%. The detection limit was 4% for RCO in B5. The results are shown in Figure 8 and Table 6.



**Figure 7.** Graph constructed using the concentration values of turpentine in diesel as the x axis and the relative change in the fluorescence area of each blend with respect to the fluorescence area of the diesel ( $\delta$  parameter) as the y axis.

**Table 3.** External validation by application of Student's *t*-test for paired data of kerosene in diesel

Actual kerosene in diesel / %	Predicted kerosene in diesel / %	d (actual – predicted) <sup>a</sup>
2	4.3	-2.3
4	4.7	-0.7
6	7.4	-1.4
8	7.1	0.9
10	10.8	-0.8
20	19.3	0.7
30	29.8	0.2
40	40.2	-0.2
50	51.2	-1.2
60	57.3	2.7
70	69.4	0.6
80	79.4	0.6
90	90.0	0.0

<sup>a</sup>Student's *t*-test for paired data:  $d_m = -0.07$ ,  $s = 1.27$ ,  $S_m = 0.35$ ,  $t_{cal} = -0.19434$ ,  $t_{tab} = -2.179$ , where  $d$  is the difference between each pair,  $d_m$  is the mean of the differences,  $s$  is the standard deviation,  $S_m$  is the standard error of the differences, and  $t_{cal} = d_m / S_m$ .

**Table 5.** Validation parameters found for the determination of adulterants in diesel

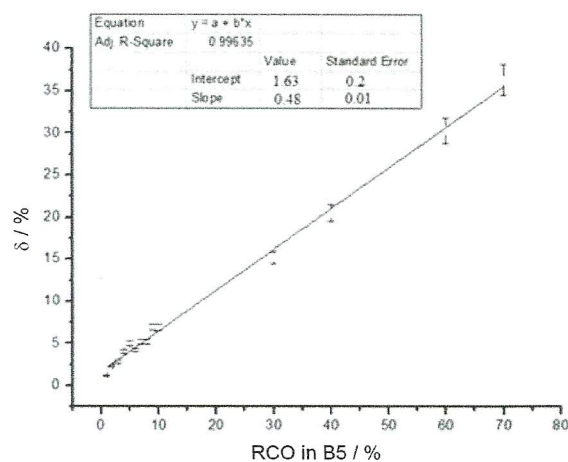
Validation parameters	RCO in diesel	Kerosene in diesel	Turpentine in diesel
Number of points	11	24	21
Degrees of freedom (DOF)	9	22	19
Residual sum of squares (RSS)	2.44154	14.5146	24.2346
Residual standard deviation (RSD) <sup>a</sup> / %	0.52	0.81	1.12
Limit of detection (LOD) <sup>b</sup> / %	3	4	5
Limit of quantification (LOQ) <sup>c</sup> / %	11	12	15
Sensibility (slope)	0.5	0.6	0.7

<sup>a</sup>RSD =  $\sqrt{RSS / DOF}$ ; <sup>b</sup>LOD =  $3RSD / \text{slope}$ ; <sup>c</sup>LOQ =  $10RSD / \text{slope}$ .

**Table 4.** External validation by application of Student's *t*-test for paired data of turpentine in diesel

Actual turpentine in diesel / %	Predicted turpentine in diesel / %	d (actual – predicted) <sup>a</sup>
4	2.0	2.0
6	6.3	-0.3
8	8.1	-0.1
10	8.4	1.6
20	23.3	-3.3
25	28.4	-3.4
30	31.5	-1.5
40	45.1	-5.1
50	49.7	0.3
60	59.3	0.7
70	72.2	-2.2
80	81.1	-1.1
90	89.9	0.1

<sup>a</sup>Student's *t*-test for paired data:  $d_m = -0.94$ ,  $s = 2.10$ ,  $S_m = 0.58$ ,  $t_{cal} = -1.62438$ ,  $t_{tab} = -2.179$ , where  $d$  is the difference between each pair,  $d_m$  is the mean of the differences,  $s$  is the standard deviation,  $S_m$  is the standard error of the differences, and  $t_{cal} = d_m / S_m$ .



**Figure 8.** Graph constructed using the concentration values of RCO in the B5 biodiesel-diesel blend as the x axis and the relative change in the fluorescence area of each blend with respect to the fluorescence area of the B5 biodiesel-diesel blend ( $\delta$  parameter) as the y axis.



**Table 6.** Validation parameters found for the determination of RCO in B5

Validation parameter	Value found (of the analytical curve)
Number of points	14
Degrees of freedom (DOF)	12
Residual sum of squares (RSS)	5.35908
Residual standard deviation (RSD) <sup>a</sup> / %	0.67
Limit of detection (LOD) <sup>b</sup> / %	4
Limit of quantification (LOQ) <sup>c</sup> / %	14
Sensibility (slope)	0.5

<sup>a</sup>RSD =  $\sqrt{\text{RSS} / \text{DOF}}$  ; <sup>b</sup>LOD = 3RSD / slope; <sup>c</sup>LOQ = 10RSD / slope.

## Conclusions

The results confirm that the proposed method is simple, fast, and efficient, and that it can be used for the determination of adulterants such as non-transesterified RCO, kerosene, and turpentine in diesel, in the range of 0-100%. The detection limits were 3, 4, and 5% for non-transesterified RCO, kerosene, and turpentine in diesel, respectively. The method was also successfully used to determine the non-transesterified RCO content in a B5 biodiesel-diesel blend (5% biodiesel) in the range of 0-70%, with a limit of detection of 4%. High LOQ values limit the application of the method, as many adulterations occur at concentrations below 10%.

## Acknowledgements

We acknowledge CNPq, FAPESB, and CAPES for technological scholarships and grant support for this work. We also thank Quimis for partnership. C. M. Q. acknowledges a senior research scholarship from CNPq. E. M. O. R acknowledges CAPES for a postdoctoral scholarship. M. M. acknowledges FAPESB for a research scholarship.

## References

1. Corgozinho, C. N. C.; Pasa, V. M. D.; Barbeira, P. J. S.; *Talanta* **2008**, *76*, 479.
2. Patra, D.; Mishra, A. K.; *Anal. Chim. Acta* **2002**, *454*, 209.
3. Oliveira, F. C. C.; Brandão, C. R. R.; Ramalho, H. F.; Costa, L. A. F.; Suarez, P. A. Z.; Rubim, J. C.; *Anal. Chim. Acta* **2007**, *587*, 194.
4. Vasconcelos, F. V. C.; Souza Jr., P. F. B.; Pimentel, M. F.; Pontes, M. J. C.; Pereira, C. F.; *Anal. Chim. Acta* **2012**, *716*, 101.
5. Pontes, M. J. C.; Pereira, C. F.; Pimentel, M. F.; Vasconcelos, F. V. C.; Silva, A. G. B.; *Talanta* **2011**, *85*, 2159.
6. Gaydou, V.; Kister, J.; Dupuy, N.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2011**, *106*, 190.
7. Roy, S.; *Sens. Actuators, B* **1999**, *55*, 212.
8. Quintella, C. M.; Guimarães, A. K.; Musse, A. P.; *Br PI* 000022080730742-1, **2009**.
9. Meira, M.; Quintella, C. M.; Ferrer, T. M.; Silva, H. R. G.; Guimarães, A. K.; Santos, M. A.; Costa Neto, P. R.; Pepe, I. M.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 621.
10. Mzoughi, N.; Dachraoui, M.; Villeneuve, J. P.; *C. R. Chim.* **2005**, *8*, 97.
11. Patra, D.; Mishra, A. K.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, *373*, 304.
12. Divya, O.; Mishra, A. K.; *Talanta* **2007**, *72*, 43.
13. Prakash, J.; Mishra, A. K.; *Fuel* **2013**, *108*, 351.
14. Patra, D.; *Sens. Actuators, B* **2008**, *129*, 632.
15. Insausti, M.; Romano, C.; Pistonesi, M. F.; Band, B. S. F.; *Microchem. J.* **2013**, *108*, 32.
16. Divya, O.; Mishra, A. K.; *Anal. Chim. Acta* **2007**, *592*, 82.
17. Caires, A. R. L.; Lima, V. S.; Oliveira, S. L.; *Renewable Energy* **2012**, *46*, 137.

Submitted: October 3, 2014

Published online: April 30, 2015

## Overview of the challenges in the production of biodiesel

M. Meira · C. M. Quintella · E. M. O. Ribeiro ·  
H. R. G. Silva · A. K. Guimarães

Received: 9 June 2014 / Revised: 26 August 2014 / Accepted: 28 August 2014 / Published online: 7 September 2014  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

**Abstract** This paper presents an overview of the main challenges in the production of biodiesel. Whereas the cost of biodiesel is determined for about 85 % by the cost of the raw material and that the most employed feedstock are oils used also for nutrition, it seems obvious that it is necessary to search for nonedible feedstock with low cost for the production of biodiesel. The choice of feedstock is based on variables such as the oil yield, local availability, cost, and government support. Feedstocks with higher oil yields are more preferable in the biodiesel industry because they can reduce the production cost. In Brazil, approximately 80 % of the biodiesel produced is made from soybean despite of its low oil content (18–21 %). The leadership of soybeans as feedstock for biodiesel production is explained by the increasing demand for more protein meal. Coconut and babassu with more oil yield respectively with 62 and 60 % of oil content are likely substitutes for soybean. Castor bean, despite of its high oil content (50 %) and advantages, such as low production cost and its resistance to hydric stress, has some difficulties to meet the ANP regulations, mainly due to its high viscosity. However, castor bean biodiesel-diesel blends of up to 40 % are within specifications. Yield per hectare is another factor that should be considered in the choice of raw material for the production of biodiesel. Among the various oilseeds, oil palm deserves to be highlighted as the most productive.

**Keywords** Biodiesel · Production · Feedstock · Cost

M. Meira (✉)  
Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Campus  
Simões Filho, Simões Filho, Bahia, Brazil  
e-mail: marileneameira@gmail.com

C. M. Quintella · E. M. O. Ribeiro · H. R. G. Silva · A. K. Guimarães  
Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador,  
Bahia, Brazil

### 1 Introduction

Biodiesel is increasingly important in the world energy matrix, and the demand for biodiesel worldwide is expected to increase significantly in the near future. In 2011, Brazil produced 2.6 million m<sup>3</sup>. It was surpassed by the USA which produced 3.7 million m<sup>3</sup>, Germany which produced 2.8 million m<sup>3</sup>, and Argentina which produced 2.7 million m<sup>3</sup> of biodiesel [1].

Biodiesel has several advantages when compared to diesel, such as it is biodegradable, with superior lubricity, renewable, nontoxic, has little or no sulfur content, ecologically friendly, and emission of CO<sub>2</sub> is greatly reduced, with appreciable reduction of some emitted pollutants, and nonhazardous to handle because its flash point is above 110 °C [2]. The main disadvantages of biodiesel are its higher viscosity, lower energy content, higher nitrogen oxide (NO<sub>x</sub>) emissions, lower engine speed and power, injector coking, engine compatibility, high cost, and higher engine wear [3]. The advantages of biodiesel far outweigh their disadvantages, and for this reason, even if the cost of biodiesel is still greater than diesel, many governments sustain this production.

The biodiesel called of first generation is characterized by being derived from feedstock with concurrent use in foods, such as soybean, corn, sunflower, and peanut. Competition with food makes edible oil not an ideal feedstock for biodiesel production due to the inevitable increase in food prices. More than 95 % of feedstocks used for biodiesel production come from edible oils [4]. As the world faces food shortage and rising prices of fuel, scientists worldwide are striving to develop raw materials for biofuels that do not divert food crops into energy. In this regard, several feedstocks have been investigated for the production of biodiesel [5–12]. Nonedible oil crops have advantages of being grown in wastelands that are not suitable for food crops, has low cost of cultivation, and can still sustain reasonably high yield without intensive care.



However, most nonedible oils highly contain free fatty acids [4, 12]. Thus, they may increase the production cost and may lower the ester yield of biodiesel below the standards [4].

The main feedstock used in Brazil for production of biodiesel is soybean followed by bovine lard and cottonseed oil [13]. This country is the second largest world producer of soybeans. Brazil is currently operating only at 47 % of its capacity for the production of biodiesel. Therefore, it is expected that the production of biodiesel in this country will further increase. Brazil is a major producer of oilseeds, cattle, and poultry and so is able to meet the demand arising from the production of biodiesel with several types of oilseeds and animal fat [1].

## 2 Main technologies for the production of biodiesel

The transesterification reaction is the most common technology of biodiesel production that proceeds with catalyst or without any catalyst by using short-chain aliphatic alcohols. Generally, in the absence of a catalyst, transesterification reaction is very slow. The most important operating conditions which influence the transesterification process are reaction temperature, reaction time, pressure, ratio of alcohol to oil, concentration and type of catalyst, mixing intensity, and kind of feedstock. The type of catalysis can be homogeneous or heterogeneous respectively if the catalyst remains in the same (liquid) phase to that of the reactants during transesterification or if the catalyst remains in a different phase (solid, immiscible liquid, or gaseous) [5–14].

### 2.1 Homogeneous catalysis

Homogenous catalysts are categorized into basic and acidic catalysts. The homogenous process especially the basic type requires a high purity of feedstock. The homogeneous catalysts have some disadvantages, such as the catalyst cannot be reused, high consumption of energy and costly separation from the reaction mixture, large amounts of wastewater, and produce, as a byproduct, a low grade of glycerol [14]. Biodiesel is generally produced using homogeneous base catalysts, such as alkaline metal alkoxides or hydroxides, and sodium or potassium carbonates [6, 8, 14]. Sodium hydroxide or potassium hydroxide have been used both in concentration from 0.4 to 2 % *w/w* of oil. Homogeneous base catalysts are commonly used in the industries due to modest operation condition, high conversion, low reaction time (typically 1 h), high catalytic activity, wide availability, and low cost. In general, base catalytic transesterification processes are carried out at low temperatures and pressures (333–338 K and 1.4–4.2 bar) with low catalyst concentrations (0.5–2 wt%) [6, 14].

The limitations of homogenous base catalyst are due to the sensitivity to purity of reactants, free fatty acid content, as well

as to the water concentration of the sample. When the oils contain free fatty acid and water, they can form large amount of soap. The fatty acids will react with the basic catalyst to produce soaps which inhibit the separation of glycerin and biodiesel. Water makes the reaction to partially change to saponification and reduces catalyst efficiency. The soap causes an increase in viscosity and formation of gels which reduces ester yield and hinders the separation of glycerol [6, 14].

Acid catalytic transesterification of biodiesel is generally used with low-cost feedstock. Sulfuric acid, hydrochloric acid, and sulfonic acid are the common acid catalysts [12, 14]. In acid-catalyzed transesterification, the alcohol acts both as a solvent and as esterification reagent. The process consists in mixing the oil directly with the acidified alcohol, so that separation and transesterification occur in single step. One advantage of homogeneous acid catalytic over homogeneous base catalytic transesterification is their low susceptibility to the presence of free fatty acid in the feedstock [12, 14]. However, homogeneous acid catalytic transesterification is more sensitive to water contents of the feedstock [14]. The presence of water inhibits the conversion to biodiesel. Other disadvantages are corrosion of equipment, more waste, formation of secondary products, higher temperature, long reaction times, and weak catalytic activity [5, 11, 14].

### 2.2 Heterogeneous catalysis

Heterogeneous catalysis offers simplified production; easy separation, purification, and reuse; low cost; and lower environmental impact, besides not yielding soap. Other advantages of the heterogeneous process are higher yield of biodiesel and higher purity of glycerin, as well as lower cost of catalyst, and the heterogeneous catalytic transesterification process can still tolerate extreme reaction conditions. The temperature could go from 70 °C to as high as 200 °C to achieve more than 95 % of yield using MgO, CaO, and TiO<sub>2</sub> catalysts [14, 15].

### 2.3 Noncatalytic biodiesel production

There are two noncatalytic transesterification processes. These are the supercritical alcohol process and the BIOX process [10, 16]. Supercritical alcohol methods consist of using high pressure and temperature instead of using catalysts to carry out the transesterification reaction [10, 14]. The reaction is fast and conversion rises to 50–95 % for the first 10 min, but it requires a temperature range of 250–400 °C. This method has proved to be the most promising process, and it uses the supercritical conditions of alcohols, such as methanol, ethanol, propanol, or butanol. The disadvantages of the supercritical methods are the necessity of high pressure and



temperature and high methanol to oil ratios and consequently expensive production [10, 14].

The rate of conversion of oil into ester is very slow due to low solubility of methanol in oil. A way to overcome these problems without using a catalyst is the use of cosolvent which is soluble in both methanol and oil (BIOX process). The result is a fast reaction, on the order of 5–10 min, without catalyst residues. Tetrahydrofuran is an example of such cosolvents. It has a boiling point very close to that of methanol, and the system requires a rather low operating temperature of 30 °C. The process consists in the conversion of triglycerides and free fatty acids at atmospheric pressures and near ambient temperatures in a two-step, single-phase, and continuous process, all in less than 90 min. This process can to convert not only vegetable oils but also waste cooking oils and animal fats [16].

### 3 Feedstock for biodiesel production

Biodiesel may be produced from any material that contains fatty acids, whether attached to other molecules or present as free fatty acids. Thus, various vegetable fats and oils, animal fats, waste fats, and wastes in processing of edible oil can be used as raw material for the production of biodiesel. Currently, more than 95 % of the world biodiesel has been mainly produced from edible oils obtained from vegetable such as rapeseed, soybean, sunflower, and palm [17]. Extensive use of edible oils for biodiesel production may cause starvation in developing countries. Besides competing with food, production of biodiesel from edible oils can cause serious ecological imbalances due to clearing of forests for planting. Therefore, the use of these raw materials could cause deforestation and damage to wildlife. As a result, nonedible oils or second-generation raw materials become more attractive for the production of biodiesel.

Nonedible oilseed crops have been extensively investigated as alternatives feedstock for production of biodiesel. Some of these nonedible oilseed crops include physic nut (*Jatropha curcas*), karanja (*Pongamia pinnata*) tobacco seed (*Nicotiana tabacum* L.), rice bran, mahua (*Madhuca indica*), neem (*Azadirachta indica*), rubber plant (*Hevea brasiliensis*), castor, linseed, and microalgae [17].

Due to the growing demand for biodiesel and low oil productivity from soybean, Brazil is searching for alternative feedstock for the production of biodiesel. Several sources have been investigated, such as bovine lard, cottonseed oil (*Gossypium hirsutum*), sewer grease, and oils (new or recycled) from other oil plants such as castor plant (*Ricinus communis*), palm (*Elaeis* spp.), sunflower (*Heliantus annuus*), babassu palm (*Orbignya phalerata*), macauba palm (*Acrocomia* spp.), peanut (*Arachis hypogaea*), Barbados nut or physic nut (*Jatropha curcas*), pequi or souari nut (*Caryocar*

*brasiliense*), inajá palm (*Maximiliana* spp.), and even from sugarcane (*Saccharum officinarum*) [13].

The choice of feedstock is based on variables such as the oil yield, local availability, cost, and government support. The oil yield from feedstock is, in general, the main factor in deciding its suitability for biodiesel production. Feedstocks with higher oil yields are more preferable in the biodiesel industry because they can reduce the production cost (Fig. 1).

Among the various oilseeds, coconut and babassu are the candidates, generally available in Brazil, with more oil yield respectively with 62 and 60 % of oil content. However, soybean has been more used despite having only 20 % of oil. Castor bean has been cited as the ideal one to promote social development in the Brazilian northeastern region due its advantages, such as low implementation and production cost and its resistance to hydric stress [13] (Fig. 1). However, the castor oil biodiesel has some difficulties to meet the ANP regulations, mainly due to its high viscosity. Besides the oil content, its yield per hectare is another factor that should be considered in the choice of raw material for the production of biodiesel. Among the various oilseeds, oil palm deserves to be highlighted as the most productive (Fig. 2).

#### 3.1 Edible oils

**Coconut (*Cocos nucifera*)** It is a perennial species of the Areaceae family widely distributed in tropic area. In Brazil, coconut is found mainly between the states of Rio Grande do Norte and Bahia [1]. The coconut tree takes approximately 7 years to start producing [1] and the harvesting cycle varies from 45- to 60- or 90-day periods [19]. The desiccated coconut endosperm has 58–65 % of oil content, and oil yield is between 1,481 kg/ha [1]. As coconut oil has high content of free fatty acid (12.8 %) for it to be used as a feedstock to produce biodiesel, a two-step process, in general, is needed. In the first step, the free fatty acid (FFA) level of the coconut oil is reduced to 0.6 % by acid-catalyzed esterification. In the second step, triglycerides in the product from the first step are

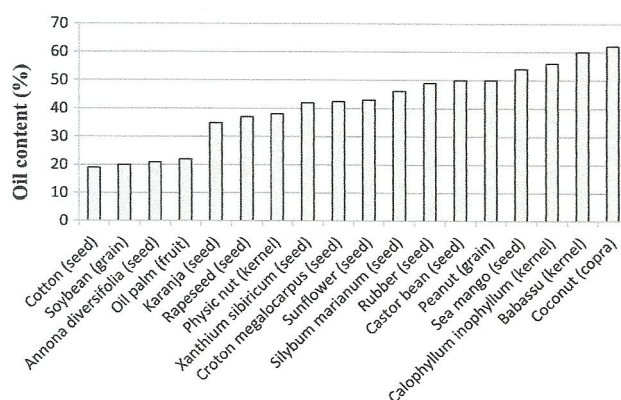
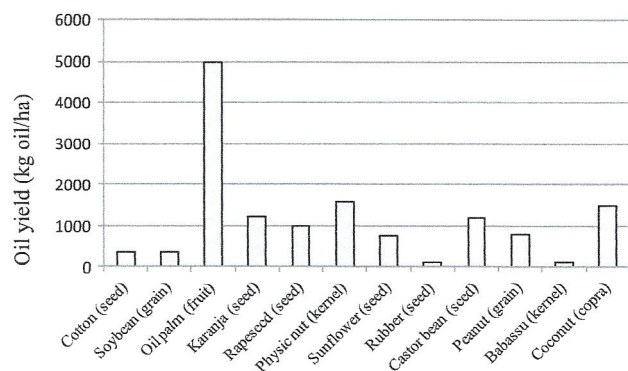


Fig. 1 Oil content of several feedstocks [1, 17, 18, 30–33]





**Fig. 2** Oil yield (kg oil/ha of several feedstocks) [1, 17, 18]

transesterified with methanol by using an alkaline catalyst to produce methyl esters and glycerol. The viscosity of biodiesel coconut (2.937 mm<sup>2</sup>/s) is very close to that of diesel (3.068 mm<sup>2</sup>/s) and lower than those of other biodiesels, such as soybean (4.08 mm<sup>2</sup>/s), rapeseed (4.5 mm<sup>2</sup>/s), and rubber seed (5.81 mm<sup>2</sup>/s) [20]. This difference is explained considering that coconut triglyceride consisted of 57.7 % short-chain fatty acids comprising mainly lauric (12 C) and myristic acids (14 C), whereas other kinds of triglycerides consisted mainly of long-chain fatty acids containing 18 carbon atoms [20].

**Babassu (*Attalea speciosa*)** It is a perennial specie of the Arecaceae family. The babassu palm takes about 12 years to start production and the first bunch takes 9 months to mature [21]. After this period, babassu can be harvested throughout the year. There are no commercial plantations of babassu palms in Brazil, and the actual production of babassu comes from spontaneous babassu palm trees in forests. The oil extraction is manual, and there is little knowledge about crop management. The fruit endocarp has about 60 % of oil, and the production of oil is approximately 120 kg of oil/ha [1].

**Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)** It is a perennial plant of the Arecaceae family that begins to produce fruits at 3 years of age. The peak productivity is of 25 t/ha with 8 years of age and remains producing until the 17th year, when production begins to decline slightly up to 25 years. Although palm oil has high productive level [22], it has low oil content (20 to 22 %) [1].

**Sunflower (*H. annuus* L.)** It is an annual crop of the Asteraceae family having a high oil yield at 774 kg/ha and 40–47 % of oil content. The major producers of sunflower oil are Ukraine, Russia, Argentina, and EU. The percentage of biodiesel produced from sunflower oil in Brazil is only 0.04 % [1].

**Rapeseed (*Brassica napus*)** Rapeseed is a weed of the Brassicaceae family (formerly Cruciferae). Rapeseed oil is known

as “Canola,” whose name was derived from “Canadian oil, low acid” in 1978; however, this name was a trademark of the Canola Council of Canada. Native rapeseed was inedible because it contains erucic acid, which is toxic to humans, and glucosinolates, which give the oil an unpleasant flavor. Canadian scientists, in the late 1970s, develop cultivars from *B. napus* and *B. rapa* (campestris) without the undesirable characteristics. Rapeseed seed contains 38 to 45 % oil [23]. In Europe, rapeseed is the primary oilseed crop, and its oil production is mainly directed to biodiesel production and other industrial purposes. Rapeseed oil production in Brazil is mainly for the food market. The use for biodiesel is practically inexistent [24].

**Soybean (*Glycine max*)** It is a perennial crop of the Leguminosae family. Soybean is an annual crop having 3 months of harvesting [25]. A disadvantage of soybeans as feedstock for biodiesel production is its low seed oil content (18–21 %) if compared to other oilseeds. Brazil is the second largest producer and second largest exporter of oil [22]. Approximately 80 % of the biodiesel produced in Brazil is made from soybean that is cultivated as a monoculture, in general, in large agribusiness operations. The substitution of native vegetations of the Amazon Jungle by soya plantations has caused great protests, inside and outside of the Brazil [25]. The leadership of soybeans as feedstock for biodiesel production despite of its low oil content is explained by the increasing demand for more protein meal, the raw material for animal feed for chicken, pig, and confined cattle. The current importance and future of soybean as feedstock for biodiesel production should remain high until the consolidation of new centers of production of other oilseeds [26].

**Cotton (*G. hirsutum latifolium* Hutch LR)** It is a herbaceous annual plant of the Malvaceae family that is harvested 3 months/year [Carioca, 2009]. Cotton seed contains approximately 15 % oil and yields 0.1–0.2 t/ha requiring large planted areas to obtain a small amount of oil [25]. Despite of its low oil content, cotton was chosen as a candidate for biodiesel production in Brazil because of its low price [1]. Cotton oil is the third feedstock for biodiesel production in Brazil, only behind soybean oil and beef tallow. Another problem is that the pie obtained after cotton oil extraction cannot be used as animal feed because of the presence of toxic gossypol [1].

**Peanut (*A. hypogaea*)** It is a perennial plant of the Leguminosae family. Worldwide, peanut occupies the fourth place in importance of all oilseed crops due to its high nutritional value, and it is an important food crop in Brazil. Peanut presents 40–60 % oil and yields 788 kg/ha. In 2010, the contribution of peanut oil to the production of biodiesel in Brazil was of only about 0.1 % [1].



### 3.2 Nonedible oils

Nonedible oils or second-generation raw materials are more attractive for the production of biodiesel and guaranteed as sustainable feedstock for biodiesel. In general, nonedible oil plants can be cultivated in nonarable lands, and the oils are relatively cheap, available, and offers similar fuel yields and quality [27].

*Physic nut (J. curcas)* It is a specie of the Euphorbiaceae family. It is considered one of the most promising feedstocks to produce biodiesel in Asia, Europe, and Africa due to its advantages, such as its adaptation to wide agroclimatic conditions, like severe heat, low rainfall, high rainfall, and frost, and its growth in marginal and waste lands [1]. Other advantages of *J. curcas* are easy propagation, drought endurance, rapid growth [17], high seed kernel oil content of approximately 38 %, and an oil yield of 1,200 to 1,500 kg/ha [1].

*Castor bean (R. communis L.)* It is an annual crop of the Euphorbiaceae family native to Africa that is harvested during 3 months/year. It is produced in the northeast of Brazil, mainly in the state of Bahia by family farmers. Castor bean is a plant well adapted to semiarid regions or places with long dry periods. The castor bean seed has approximately 39.6–59.5 % of oil, but the yield is only 470 of oil/ha. Castor oil has disadvantage of its high viscosity, because it is composed mainly (90 %) of ricinoleic fatty acid that has a hydroxyl (OH) group. The viscosity of castor bean biodiesel becomes one problem because the high viscosity results in an incomplete burning of biodiesel. However, biodiesel-diesel blends of up to 40 % are within specifications [28].

*Sea mango (Cerbera odollam)* It is a tree of the Apocynaceae family that is known as “suicide tree” because of its toxic content in the seed containing active glycosides cerberin, cerberoside, and odollin. *C. odollam* seeds contain about 54 % oil, indicating that it can be a promising feedstock for biodiesel production [29].

*Karanja (P. pinnata)* It is a tree of 12–15 m high, native to a number of countries including India, Malaysia, Indonesia, Taiwan, Bangladesh, Sri Lanka, and Myanmar. *P. pinnata* can grow in humid as well as subtropical environments with annual rainfall ranging between 500 and 2,500 mm, with ability to grow on marginal land. Seeds of *P. pinnata* can yield 35 % oil by weight [17].

*Calophyllum inophyllum* It is a tree of the *Clusiaceae* mangosteen family. Its oil has been used as a medicine, lamp oil, hair grease, cosmetic, and in the fabrication of soap. Recently, *C. inophyllum* has been proposed as a alternative source of biodiesel. The yield of *C. inophyllum* oil is higher

than 4 t/ha. The oil content of seed kernel is in the range of 40–73 %. However, the acid values of crude oil is high, in the range of 40 mg KOH/g oil, so it is not possible to perform the direct transesterification reaction. Therefore, to produce biodiesel, the free fatty acid must be converted to esters using acid catalytic esterification before attempting alkaline catalytic esterification [30].

*Silybum marianum* It is a wild annual plant of the Compositae family. It is widely cultivated in China and mild climatic regions of Asia. The oil content of its seed is of 46 %, and it had low FFA (0.68 %) [31].

*Croton megalocarpus* It is a tree of the Euphorbiaceae family native to East Africa. The oil content of its seed is of 40–45 % and yields 5–10 t of seeds/ha/year [32].

*Annona diversifolia* It is a tree of the Annonaceae family. It is native plant of southeastern Mexico, Guatemala, and Salvador. The seeds contain about 21 % oil with acid value of 0.66 mg KOH/g, which is suitable for alkali-catalyzed transesterification [33].

*Xanthium sibiricum Patr* It is an annual herb, native to the Americas and East Asia. Its seeds contain approximately 42 % (w/w) of oil with very low acid value (1.38 mg KOH/g) which is suitable for direct alkali-catalyzed transesterification without pretreatment [34]. *M. indica* is a tree found abundantly in most parts of the world. Its seed contains 50 % oil with about 20 % FFAs, so it is not possible to perform the direct transesterification reaction [17].

*Algae technology* Microalgae have several advantages that make them a potential feedstock for biodiesel production [35–37].

- They exhibit much faster growth rates than terrestrial crops.
- They have high yield, about 20,000 to 80,000 l of oil/acre/year—this is 7–31 times greater than that of palm oil, the best crop.
- They have high oil content. Oil content in microalgae can reach 80 % by weight of dry biomass, greatly exceeding the oil productivity of the best producing oil crops.
- They do not require farmland or freshwater. They can be grown on land that is unsuitable for food crops since there is enough sunshine.
- They contribute to reduce greenhouse.

Microalgae oils are rich in polyunsaturated fatty acids with four or more double bonds differing from most vegetable oils [38]. Microalgae have much more oil than macroalgae besides faster growth [39]. The processes of obtaining biodiesel from



algae are similar to the processes of biodiesel production from terrestrial crops with minor modifications in the extraction process. The major challenge for biodiesel production from microalgae is the high cost of the extraction process to recovering the oil prior to converting it into biodiesel. Solvent extraction, supercritical fluid extraction (SFE), ultrasonic extraction, and mechanical pressing are the major methods used for recovering the oil of algae. Most of the extraction methods require long extraction time and large volumes of solvent except SFE. However, SFE has high energy consumption [40].

**Waste oils and animal fats** Biodiesel may also be produced from inedible tallow, pork lard, and yellow grease [41] and from restaurant waste grease and trap grease [42]. They are attracting attention as possible feedstock due to the low cost. The disadvantage is its relatively low pour point and the large amount of FFAs. While refined vegetable oils contain less than 0.05 %, restaurant waste grease, animal fat, and trap grease are in the ranges of 2–7, 5–30, and 40–100 %, respectively [42], so in order to produce biodiesel, the FFAs must be converted to esters using acid catalytic esterification before attempting alkaline catalytic esterification. Furthermore, addition of additives to lowering freezing point or mixture with petroleum diesel fuel can be required in cold weather conditions [41].

#### 4 Cost of biodiesel

The price of biodiesel can vary considerably, depending on the process used for its production and of the type of the raw material used in this process [43]. Biodiesel costs about 1.5 times more than diesel depending on the source of raw material oils [44]. Krawczyk reported that 70–95 % of the total biodiesel production cost arises from the cost of raw materials [45]. For this reason, many biodiesel industries do not produce throughout the year, due to the shortage of raw materials cheaper for economic production of biodiesel. The high cost of biodiesel when compared to petroleum-based diesel is a main barrier to its large-scale commercialization.

Also, the fiscal incentive politics that some countries of the world have adopted, which can be very representative in the final cost of the biodiesel, make viable the commercialization of biodiesel.

The cost of feedstock varies depending on the geographic area, variability in crop production according to season, and other factors. The difference in the plantation cost is due to the different cost of fertilizer, herbicides, and insecticides [46] (Table 1). In general, edible oil crops require a higher concentration of nutrient in the soil and good irrigation system during the cultivation, leading to higher plantation cost. However, palm oil is very economically competitive despite of its high

**Table 1** Plantation cost of several oil crops [46]

Oil crops	Plantation cost	
	(USD/ha)	(USD/kg oil)
Soybean	615	1.64
Palm	950	0.19
Rapeseed	336	0.34
Jatropha	620	0.39
Castor	140–160	0.12–0.14
Karanja	310	0.25
Sea mango	360–690	N/A

cost of plantation per hectare due to its high oil yield. On the other hand, the low plantation cost for castor is because it requires very minimum fertilizer and irrigation. Nonedible oils like jatropha, castor, *P. pinnata*, rubber seed, and sea mango are not suitable for human consumption due to the presence to toxic compounds in the oil [46].

Table 2 presents a comparison of the biodiesel cost depending on the process used for its production and of the type of the raw material. For example, biodiesel production costs vary at \$0.51/l and \$0.98/l via homogeneous and supercritical processes, respectively, for a biodiesel plant based on waste cooking oil. The highest cost for supercritical production processes is associated to the greater process energy inputs. Biodiesel production using enzymes and biological catalysts, in general, are more costly than alkali and acid catalysts due to the higher cost of the enzyme catalysts [43].

The purification of biodiesel represents the last step of obtaining biodiesel and is one of the most environmentally costly due the generation of effluents containing catalyst, glycerin, fatty acids, excess of alcohol, and emulsified water among other compounds. Such effluents must be treated before being eliminated in the environment. The process of washing and purification of biodiesel should be efficient and generate the least possible waste to the environment [58]. A possible solution is dry purification as suggested by Paula et al. [58], given the benefit to the environment because it does not use water in the process, besides being an economical process. Paula et al. described the results of the purification of methyl biodiesel using different methods, such as distillation, washing with water, and adsorption with bauxite, bentonite, and attapulgit. The best result of purification was observed with the use of bentonite and bauxite in the removal of soap and free glycerin, respectively. The main product is the bentonite which has an average price per ton of US\$150. There is the possibility of reactivation by means of calcination of this material.

Haas et al. [51] calculated a final biodiesel production cost of US\$0.53/l and related that raw material costs constitute the greatest component of overall production costs, and of these, the cost of the soy oil feedstock is the biggest contributing

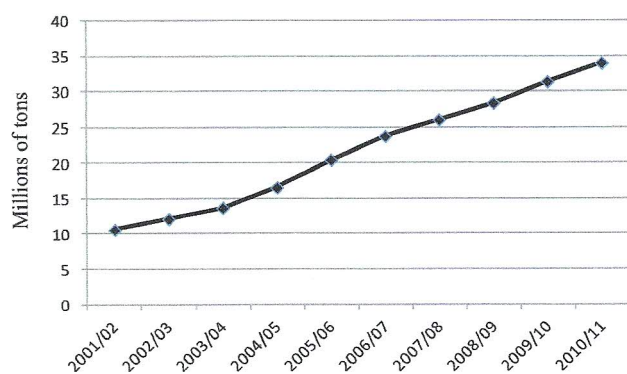
**Table 2** Cost of biodiesel production comparing feedstock and process [43]

Feedstock	Cost (\$/ton)	Biodiesel cost (\$/l)	Process	References
Waste cooking oil	445	0.51	Homogeneous alkaline catalyst with acid pre-esterification	[47]
Waste	905	0.98	Supercritical process	[48]
Waste	525	0.95	Alkali catalyst	[49]
Waste	248	0.58	Batch, KOH catalyst	[50]
Soybean	486	0.53	Sodium methoxide catalyst	[51]
Soybean	779	0.78	Alkali catalyst	[52]
Rapeseed	1,158	1.15	–	[53]
Rapeseed	3,042	2.04	Enzyme catalyst	[54]
Castor oil	1,156	1.56	Alkali catalyst	[55]
Palm oil	358	0.37	Alkali catalyst	[56]
Palm oil	588	2.30	Batch, biological catalyst	[57]

factor, constituting 88 % of the overall production cost itself. These values are consistent with the results of other analyses of the costs of biodiesel production [45]. The large contribution of feedstock cost to the cost of biodiesel highlights the potential value of low-cost alternatives to virgin vegetable oils in improving the economic viability of biodiesel. Considering this, it is more economically viable to produce biodiesel from crops selected for their high productivity and with low input requirements, or from low-cost feedstock, such as waste cooking oil (WCO) [49, 59] which is considered as the most promising biodiesel feedstock despite of its disadvantages like its high FFA and water contents [60]. This study further reinforces previous reports showing that the price of biodiesel is only compatible with fossil diesel, when the politics of subsidies and tax exemption are implemented.

## 5 Food versus fuel

Currently, more than 95 % of the world biodiesel has been mainly produced from edible oils [4]. Worldwide, the amount of vegetable oil destined for biodiesel increased from 10.6



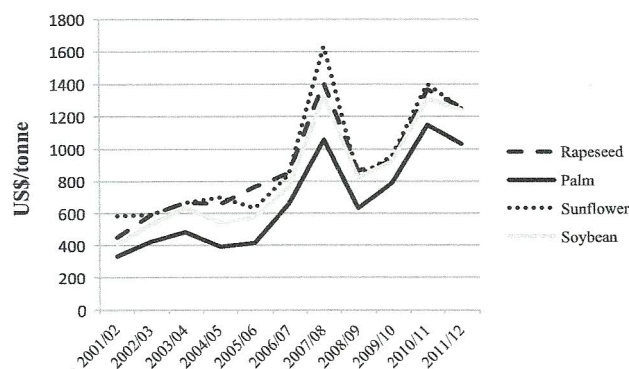
**Fig. 3** Consumption of vegetable oils (cottonseed, peanut, canola, coconut, sunflower, soybean, olive, palm, and palm kernel) by industries worldwide [61]

million tons in 2001/2002 to 34 million tons in 2010/2011 (Fig. 3). With the increase in biodiesel production simultaneously, an increase in the price of vegetable oils can be seen (Fig. 4), due to the inevitable competition on the purpose for food. In this context, nonedible sources can be alternatives for biodiesel production, because besides not competing with food, these feedstocks represent a very convenient way to lowering the production costs of biodiesel.

## 6 Conclusion

More than 95 % of feedstock used for biodiesel production come from edible oils whose large-scale consumption is leading to price rise in food. Competition with food makes edible oil not an ideal feedstock for biodiesel production due to the inevitable shortage of food supplies. The major advantage of edible oils is that, in general, the biodiesel produced has properties suitable to be used as a substitute for diesel fuel, but they may not be sustainable sources.

As a result, nonedible oils or second-generation raw materials become more attractive for the production of biodiesel and guaranteed as sustainable feedstock for biodiesel.



**Fig. 4** Annual average vegetable oil prices (US\$/tonne) between 2001/2002 and 2011/2012 [62]



Nonedible oil plants can be cultivated in nonarable lands, and the oils are, in general, relatively cheap, available, and offer similar fuel yields and quality.

This review concluded that nonedible oil resources have good potential to replace edible oil-based biodiesels in the near future. Microalgae have several advantages that make them a potential feedstock for biodiesel production, such as fast growth rates, high yield, high oil content, not requiring farmland or freshwater, and contributing to the reduction of greenhouse gases. However, a major challenge for the industrial applicability of algae biodiesel is the high cost of the extraction process to recovering the oil prior to converting it into biodiesel.

Due to the growing demand for biodiesel and low oil productivity from soybean, Brazil is searching for alternative feedstock for the production of biodiesel. Several nonedible sources have been investigated as possible feedstock due to the low cost, such as bovine lard, sewer grease, castor plant (*R. communis*) and physic nut (*J. curcas*). In general, animal fat has relatively low pour point and large amount of FFAs.

**Acknowledgments** The authors thank FAPESB and CNPq.

## References

- Bergmann JC, Tupinambá DD, Costa OYA, Almeida JRM, Barreto CC, Quirino BF (2013) Biodiesel production in Brazil and alternative biomass feedstocks. *Renew Sust Energ Rev* 21:411–420
- Meira M, Quintella CM, Tanajura AS, Silva HRG, Fernando JES, Costa Neto PR, Pepe IM, Santos MA, Nascimento LL (2011) Determination of the oxidation stability of biodiesel and by spectrofluorimetry and multivariate calibration. *Talanta* 85:430–434
- Yusuf NNAN, Kamarudin SK, Yaakub Z (2011) Overview on the current trends in biodiesel production. *Energy Convers Manag* 52: 2741–2751
- Borugadda VB, Vaibhav VG (2012) Biodiesel production from renewable feedstocks: status and opportunities. *Renew Sust Energ Rev* 16:4763–4784
- Ma F, Clements LD, Hana MA (1998) The effects of catalyst, free fatty acids and water on transesterification of beef tallow. *Trans ASAE* 41:1261–1264
- Rashid U, Anwar F (2008) Production of biodiesel through optimized alkaline catalysed transesterification of rapeseed oil. *Fuel* 87:265–273
- Freedman B, Butterfield RO, Pryde EH (1986) Transesterification kinetics of soybean oil. *J Am Oil Chem Soc* 63:1375–1380
- Freedman B, Pryde EH, Mounts TL (1984) Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. *J Am Oil Chem Soc* 61:1638–1643
- Iso M, Chen B, Eguchi M, Kudo T, Shrestha S (2001) Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase. *J Mol Catal B Enzym* 16:53–58
- Demirbas A (2003) Biodiesel fuels from vegetable oils via catalytic and non-catalytic supercritical alcohol transesterifications and other methods: a survey. *Energy Convers Manag* 44:2093–2109
- Canakci M, Gerpen JV (1999) Biodiesel production via acid catalysis. *Trans ASAE* 5:1203–1210
- Enamul Hoque M, Singh A, Chuan YL (2011) Biodiesel from low cost feedstocks: the effects of process parameters on the biodiesel yield. *Biomass Bioenergy* 35:1582–1587
- César AS, Batalha MO (2010) Biodiesel production from castor oil in Brazil: a difficult reality. *Energy Policy* 38:4031–4039
- Abbaszadeh A, Ghobadian B, Omidkhan MR, Najafi G (2012) Current biodiesel production technologies: a comparative review. *Energy Convers Manag* 63:138–148
- Lee JS, Saka S (2010) Biodiesel production by heterogeneous catalysts and supercritical technologies. *Bioresour Technol* 101:7191–7200
- BIOX Process. [www.bioxcorp.com](http://www.bioxcorp.com). (Accessed Dec 2008)
- Balat M (2011) Potential alternatives to edible oils for biodiesel production—a review of current work. *Energy Convers Manag* 52: 1479–1492
- Morshed M, Ferdous K, Khan MR, Mazumder MSI, Islam MA, Uddin MT (2011) Rubber seed oil as a potential source for biodiesel production in Bangladesh. *Fuel* 90:2981–2986
- Punchihewa PG, Arancon RN (1999) Coconut: post-harvest operations. *Asian and Pacific Coconut Community*
- Nakpong P, Wootthikanokkhan S (2010) High free fatty acid coconut oil as a potential feedstock for biodiesel production in Thailand. *Renew Energy* 35:1682–1687
- Biondi A, Monteiro M, Glass VO. *Brasil dos Agrocombustíveis: Palmeiras, Algodão, Milho e Pinhão-manso: Repórter Brasil*; 2008.
- Padula AD, Santos MS, Ferreira L, Borenstein D (2012) The emergence of the biodiesel industry in Brazil: current figures and future prospects. *Energy Policy* 44:395–405
- USDA (2010). Briefing room, soybean and oilcrops. In: United States Department of Agriculture (USDA) ERS, editor. United States Department of Agriculture (USDA), USA 2010. <http://www.ers.usda.gov/topics/crops/soybeans-oil-crops/canola.aspx>. Accessed 30 Mar 2013
- Tomm GO (2006) Canola: alternativa de renda e benefícios para os cultivos seguintes. *Rev Plant Dir* 15:4–8
- Carioca JO, Hiluy Filho JJ, Leal MR, Macambira FS (2009) The hard choice for alternative biofuels to diesel in Brazil. *Biotechnol Adv* 27: 1043–1050
- Ubrabio, FGV. *O Biodiesel e sua Contribuição ao Desenvolvimento Brasileiro: Fundação Getúlio Vargas and União Brasileira do Biodiesel*; 2010. <http://www.ubrablo.com.br/sites/1700/1729/00000201.pdf>. Accessed 30 Mar 2013
- Ashrafu AM, Masjuki HH, Kalam MA, Rizwanul Fattah IM, Imtenan S, Shahir SA, Mobarak HM (2014) Production and comparison of fuel properties, engine performance, and emission characteristics of biodiesel from various non-edible vegetable oils: a review. *Energy Convers Manag* 80:202–228
- de Beltrão NEM, de Oliveira MIP (2008) *Oleaginosas e seus óleos: vantagens e desvantagens para produção de biodiesel*. Embrapa Algodão, Campina Grande
- Kansedo J, Lee KT, Bhatia S (2009) *Cerbera odollam* (sea mango) oil as a promising non-edible feedstock for biodiesel production. *Fuel* 88:1148–1150
- Atabani AE, César AS (2014) *Calophyllum inophyllum* L.—a prospective non-edible biodiesel feedstock. Study of biodiesel production, properties, fatty acid composition, blending and engine performance. *Renew Sust Energ Rev* 37:644–655
- Takase M, Feng W, Wang W, Gu X, Zhu Y, Li T, Yang L, Wu X (2014) *Silybum marianum* oil as a new potential non-edible feedstock for biodiesel: a comparison of its production using conventional and ultrasonic assisted method. *Fuel Process Technol* 23:19–26
- Atabani AE, Silitonga AS, Ong HC, Mahlia TMI, Masjuki HH, Badruddin IA, Fayaz H (2013) Non-edible vegetable oils: a critical evaluation of oil extraction, fatty acid compositions, biodiesel production, characteristics, engine performance and emissions production. *Renew Sust Energ Rev* 18:211–245



33. Reyes-Trejo B, Guerra-Ramírez D, Zuleta-Prada H, Cuevas-Sánchez JA, Reyes L, Reyes-Chumacero A, Rodríguez-Salazar JA (2014) *Ammonia diversifolia* seed oil as a promising non-edible feedstock for biodiesel production. *Ind Crop Prod* 52:400–404
34. Chang F, Hanna MA, Zhang D-J, Li H, Zhou Q, Song B-A, Yang S (2013) Production of biodiesel from non-edible herbaceous vegetable oil: *Xanthium sibiricum* Patr. *Bioresour Technol* 140:435–438
35. Demirbas A, Demirbas MF (2011) Importance of algae oil as a source of biodiesel. *Energy Convers Manag* 52:163–170
36. Demirbas AH (2009) Inexpensive oil and fats feedstocks for production of biodiesel. *Energy Educ Sci Technol Part A* 23:1–13
37. Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A (2006) Commercial applications of microalgae. *J Biosci Bioenergy* 101:87–96
38. Belarbi EH, Grima EM, Chisti Y (2000) A process for high yield and scalable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil. *Enzym Microb Technol* 26:516–529
39. Shay EG (1993) Diesel fuel from vegetable oils: status and opportunities. *Biomass Bioenergy* 4:227–242
40. Wahidin S, Idris A, Raehanah S, Shalch M (2014) Rapid biodiesel production using wet microalgae via microwave irradiation. *Energy Convers Manag* 84:227–233
41. Öner C, Altun Ş (2009) Biodiesel production from inedible animal tallow and an experimental investigation of its use as alternative fuel in a direct injection diesel engine. *Appl Energy* 86:2114–2120
42. Karmakar A, Karmakar S, Mukherjee S (2010) Properties of various plants and animals feedstocks for biodiesel production. *Bioresour Technol* 101:7201–7210
43. Ong HC, Mahlia TMI, Masjuki HH, Honnery D (2012) Life cycle cost and sensitivity analysis of palm biodiesel production. *Fuel* 98: 131–139
44. Prokop T. Imperial western products. Communication P. 2002; 14970. Chandler: St., Coachella
45. Krawczyk T (1996) Biodiesel—alternative fuel makes inroads but hurdles remain. *Infonn* 7:801–829
46. Gui MM, Lee KT, Bhatia S (2008) Feasibility of edible oil vs. non-edible oil vs. waste edible oil as biodiesel feedstock. *Energy* 33: 1646–1653
47. Marchetti JM, Miguel VU, Errazu AF (2008) Techno-economic study of diferente alternatives for biodiesel production. *Fuel Process Technol* 89:740–748
48. Marchetti JM, Errazu AF (2008) Technoeconomic study of supercritical biodiesel production plant. *Energy Convers Manag* 49:2160–2164
49. Zhang Y, Dube MA, McLean DD, Kates M (2003) Biodiesel production from waste cooking oil: 2. Economic assessment and sensitivity analysis. *Bioresour Technol* 90:229–240
50. Sakai T, Kawashima A, Koshikawa T (2009) Economic assessment of batch biodiesel production processes using homogeneous and heterogeneous alkali catalysts. *Bioresour Technol* 100:3268–3276
51. Haas MJ, McAloon AJ, Yee WC, Foglia TA (2006) A process model to estimate biodiesel production costs. *Bioresour Technol* 97:671–678
52. You YD, Shie JL, Chang CY, Huang SH, Pai CY, Yu YH et al (2008) Economic cost analysis of biodiesel production: case in soybean oil. *Energy Fuel* 22:182–189
53. Apostolakou AA, Kookos IK, Marazioti C, Angelopoulos KC (2009) Techno-economic analysis of a biodiesel production process from vegetable oils. *Fuel Process Technol* 90:1023–1031
54. Sotoft LF, Rong BG, Christensen KV, Norddahl B (2010) Process simulation and economical evaluation of enzymatic biodiesel production plant. *Bioresour Technol* 101:5266–5274
55. Santana GCS, Martins PF, da Silva ND, Batistella CB, Made R, Maciel MRW (2010) Simulation and cost estimate for biodiesel production using castor oil. *Chem Eng Res Des* 88:626–632
56. Lozada I, Islas J, Grande G (2010) Environmental and economic feasibility of palm oil biodiesel in the Mexican transportation sector. *Renew Sustain Energy Rev* 14:486–492
57. Jegannathan KR, Eng-Seng C, Ravindra P (2011) Economic assessment of biodiesel production: comparison of alkali and biocatalyst processes. *Renew Sustain Energy Rev* 15:745–751
58. Paula AJA, Krügel M, Miranda JP, Rossi LFS, Costa Neto PR (2011) Utilização de argilas para purificação de biodiesel. *Quim Nova* 34:91–95
59. Canakci M, Sanli H (2008) Biodiesel production from various feedstocks and their effects on the fuel properties. *J Ind Microbiol Biotechnol* 35:431–441
60. Yaakoba Z, Mohammada M, Alherbawic M, Alamec Z, Sopian K (2013) Overview of the production of biodiesel from waste cooking oil. *Renew Sust Energy Rev* 18:184–193
61. Óleos Vegetais para Alimentos ou para Biodiesel? <http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=12153>. Accessed 30 Mar 2013
62. Oils and fats in the market place. Prices of commodity oils. <http://lipidlibrary.aocs.org/market/prices.htm>. Accessed 30 Mar 2013



Contents lists available at ScienceDirect

## Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/saa](http://www.elsevier.com/locate/saa)

## Short Communication

## Validation of LED spectrofluorimeter for determination of both biodiesel and nontransesterified residual cooking oil in diesel samples



Marilena Meira<sup>a,\*</sup>, Cristina M. Quintella<sup>b</sup>, Pedro Ramos Costa Neto<sup>c</sup>, Iuri M. Pepe<sup>d</sup>, Erika M. de O. Ribeiro<sup>b</sup>, Weidson Leal Silva<sup>b</sup>, Alexandre Lopes Del Cid<sup>b</sup>, Alexandre Kamei Guimarães<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Campus de Simões Filho, BA CEP 43.700-000, Brazil

<sup>b</sup>Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Campus de Ondina, Salvador, BA CEP: 40.170-290, Brazil

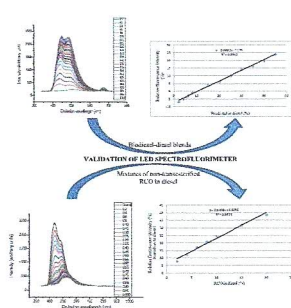
<sup>c</sup>Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba, Av. Sete de Setembro, 3165, Rebouças, Curitiba, PR CEP 80230-910, Brazil

<sup>d</sup>Instituto de Física, Universidade Federal da Bahia, Campus de Ondina, Salvador, BA CEP: 40.170-115, Brazil

## HIGHLIGHTS

- This paper presents the validation of a LED spectrofluorimeter.
- LED spectrofluorimeter was adequate for quantification of biodiesel and RCO in diesel.
- Validation parameters were determined from the regression lines.
- For the analysis of RCO in diesel, the linear range was from 2 to 20% with detection limit of 2%.
- For the analysis of biodiesel in diesel, the range was from 2 to 45% with detection limit of 3%.

## GRAPHICAL ABSTRACT



## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 3 June 2014

Received in revised form 17 September 2014

Accepted 19 September 2014

Available online 30 September 2014

## Keywords:

LED spectrofluorimeter

Validation

Biodiesel–diesel blends

Non-transesterified residual cooking oil (RCO)

Adulteration

## ABSTRACT

This paper presents the results of the validation of a LED spectrofluorimeter patented for the analysis of biodiesel in diesel and non-transesterified residual cooking oil (RCO) in diesel. Detection limit, quantification limit and sensitivity were determined from the regression lines. The spectrofluorimeter validated in this study was adequate for quantifying the amount of biodiesel in diesel in the range from 2% to 45% (B02–B45) with an *R*-squared value of 0.9962 and a detection limit of 3%. For the analysis of non-transesterified RCO in diesel, the linear range was from 2% to 20% with an *R*-squared value of 0.9872 and a detection limit of 2%. The accuracy of the equipment for the analysis of biodiesel in diesel and non-transesterified RCO in diesel was evaluated using Student's *t*-test for paired data. With 95% confidence level there was no significant difference between the actual values and those determined by the equipment.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

## Introduction

The analytical method development or adaptation of a known method to a new instrument typically requires a sequence of processes called validation. Validation should demonstrate that the new method or the new equipment meets the requirements of the intended analytical applications and ensures the reliability of the results [1–9].

\* Corresponding author at: Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Campus de Simões Filho, Av Universitária s/n Pitanguinha, 43.700-000 Simões Filho, BA, Brazil. Tel.: +55 71 88158885; fax: +55 3283 6842.

E-mail address: [marilenameira@gmail.com](mailto:marilenameira@gmail.com) (M. Meira).



The main parameters that are usually part of a validation program are: Linearity, linear range, sensitivity, precision (repeatability), accuracy, detection limit and quantification limit [1].

Linearity is the ability of the method to obtain results directly proportional to the concentration of analyte in the sample within a range specified by the analytical curve [2]. Estimation of the coefficients of the straight line can be made by linear regression. In addition to the regression coefficients angular ( $a$ ) and linear ( $b$ ), it is also possible to calculate the correlation coefficient ( $R$ ) which estimates the quality of the curve obtained. The closer to 1 or  $-1$ , the lower the dispersion of the set of experimental points and lower the uncertainty in the estimated regression coefficients. The minimum acceptable correlation coefficient ( $R$ ) is 0.99. A correlation coefficient of greater than 0.999 is considered as evidence of an optimal adjustment data for the regression line. The squared correlation coefficient is called  $R$ -Square or Determination Coefficient defines the percentage of variance of the variables which can be explained from the value of another.  $R$ -square of greater than 0.999 means a perfect fit and higher the efficiency of determining the variables  $y$  from the  $x$ . The coefficient of determination  $R$ -square ranges from 0 to 1. The sensitivity can be expressed by the slope of the calibration curve. The sensitivity can be defined as the response varies with the variation in concentration of the analyte.

The range of linearity of the method is the range between the limits of upper and lower quantification [2]. The linearity range is established by confirming that the method provides accuracy, precision and linearity appropriate when applied to samples containing amounts of analyte within the specified range. For any quantitative method, there is a range of concentrations of the analyte in which the method can be applied. However, some analytical procedures do not show linearity. In these cases the analytical response can be described by a different function that models the analyte concentration in the sample.

The accuracy of an analytical method is the closeness of the results obtained in relation to the true value. The main methods for the study of accuracy are based on the use of certified reference material or to compare the proposed method with a reference method.

The precision can be evaluated by the repetitiveness that represents the degree of concordance between the results of successive measurements of the same method, performed under the same measurement conditions, that is, same procedure, same analyst, same instrument used under the same conditions, even local reps in a short time interval. In general, the accuracy is established with a minimum of nine determinations involving a minimum of three different concentration levels. For example, in triplicate assays for three concentration levels.

The Detection Limit (DL) is the lowest amount of analyte which can be detected though not necessarily quantified, under the experimental conditions established. It is usually established through analysis of solutions of known concentrations of analyte and decreasing to the lowest detectable level. In the case of instrumental methods the limit of detection may be estimate based on the ratio of 3 times the baseline noise. DL can be determined by the equation:  $DL = 3s_b/a$  where  $s_b$  = standard deviation of the background and  $a$  = slope of the calibration curve [2]. It can also be determined from the parameters of the regression line. In the latter case the term  $s_b$  is the standard error of the term  $b$  of the regression line ( $y = ax + b$ ).

The Limit of Quantification (LOQ) is the smallest amount of analyte that can be determined with acceptable precision and accuracy under the experimental conditions established. It is determined through analysis of solutions containing decreasing concentrations of the analyte to the smallest determinable level with acceptable precision and accuracy. Can be determined by the equation:  $QL = 10s_b/a$  where  $s_b$  = standard deviation of the background and  $a$  = slope of the calibration curve [2]. In an

analytical curve is usually the lowest point and should not be determined by extrapolation.

The objective of this study was to validate an LED spectrofluorimeter, which was developed and patented by our team [10,11], the technology for which was transferred to the company Quimis S. A. This was then marketed as the Model Q-798FIL for the analysis of biodiesel–diesel blends and was used to determine the adulteration of diesel by non-transesterified residual cooking oil (RCO) instead of biodiesel.

## Methodology

The equipment used in this validation study was a prototype of a spectrofluorimeter which uses a quartz cuvette of 1 cm and one violet LED centered at 400 nm as the source for excitation. The emission range was 335–1018.92 nm at intervals of 0.38. Blends of biodiesel and diesel and blends of non-transesterified RCO in diesel were made in triplicate and each batch was analyzed in a Quimis spectrofluorimeter Model Q-798FIL.

Standards of biodiesel in diesel and non-transesterified RCO in diesel were prepared in concentrations (%) of: 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 and 100. The sample of biodiesel was provided by Petrobras and was primarily composed of soy biodiesel. The sample of non-transesterified RCO consisted of residual frying oil of restaurants, which included animal fats, vegetable oils, food, refuse and other organic material. Samples of non-transesterified RCO were filtered to extract the solid residues before being blended with diesel.

Measurements were performed without the cuvette being removed. The cuvette was then washed with the sample itself before the reading was taken. The measurements were taken with the violet LED centered at 400 nm. The measurements of standard samples were taken in triplicate from lower concentrations to higher concentrations.

The measurements of the intensity of the spectra of mixtures of biodiesel and diesel and RCO in diesel were determined at 482 nm and the relative fluorescence intensity values were calculated. The detector used was a monochromator based on CCD (Charge Coupled Device) and a diffraction grating.

Relative fluorescence intensity is the percentage variation of the fluorescence intensity of each spectrum with respect to the fluorescence intensity of the diesel spectrum. This relative change ( $\delta$ ) in percentage was calculated as:  $\delta(\%) = (I_0 - I_i)/100I_0$ , where  $I_0$  and  $I_i$  are respectively the fluorescence intensity of diesel and blends at 482 nm.

Two curves were constructed using the concentrations and relative fluorescence intensity values, with one being for mixtures of biodiesel in diesel and the other for mixtures of RCO in diesel.

Using Excel software, the linear regression equations were found using the concentrations of mixtures of biodiesel in diesel in the range of 2–45% (B02–B45) and concentrations of mixtures of RCO in diesel in the range of 2–20%.

The validation parameters determined were: detection limit, quantification limit, sensitivity and repeatability.

The accuracy was assessed by comparing the actual values of the concentrations of biodiesel (or non-transesterified RCO) in diesel with the predicted values obtained from the respective regression equations. The actual values were added theoretically based in concentration of the mixtures prepared.

## Results and discussion

Fig. 1 shows the spectra of biodiesel–diesel blends in the range of 0–100% (B00–B100) obtained with the LED spectrofluorimeter with no correction, that is, without subtracting the intensity of



the excitation source (LED) or to correct the baseline. The emission occurred in a range between 400 and 750 nm. In these spectra, three bands are observed, with the first being centered at around 450 nm, the second centered at 500 nm and the third at 671 nm; the first two bands are more intense than the third band. The bands centered at 450 nm and 500 nm are mainly due to the diesel fluorophores, i.e. its fraction of aromatic and polycyclic aromatic compounds [12]. These first and second bands decreased in intensity when the concentration of biodiesel in diesel increased due to the reduction of the concentration of fluorophores of diesel. This is because increasing the concentration of biodiesel consequently decreased the content of diesel. The third band (centered at 671 nm) is typical of chlorophylls and Pheophytin, which are substances of biodiesel when it is derived from vegetable oils. Chlorophylls and Pheophytin when excited by a wavelength in the range of 350–420 nm emit in the region between 640 and 800 nm [12].

The measurements of intensities were made in 482 nm, that is due to fluorophores of diesel. The addition of non-transesterified RCO or biodiesel to diesel promotes a significant decrease in the intensity of the peaks of diesel since biodiesel or non-transesterified RCO effectively dilute the diesel.

A linear range was observed up to 45% of biodiesel in diesel. The  $R$ -square of 0.9962 shows a good fit up to 45% of biodiesel in diesel (Fig. 2).

Fig. 3 shows spectra obtained using the LED spectrofluorimeter with mixtures of non-transesterified RCO in diesel at concentrations of 0 to 100%. The emission occurred in a range between 400 and 750 nm with two bands, the first centered at 440 nm and the second initially at 482 nm. The first band was more intense than the second and the two bands decreased when the concentration of non-transesterified RCO in diesel increases. The second band initially centered at 482 nm shifted to longer wavelengths when the concentration of non-transesterified RCO in diesel increased.

The decrease in the band centered at 440 nm when the concentration of non-transesterified RCO in diesel increased can be attributed to the decrease in the concentration of fluorophores of diesel. The second band is assigned to both diesel and non-transesterified RCO fluorophores, since this band is present in pure diesel at 482 nm and in 100% of non-transesterified RCO at 521 nm; hence, the band moved to higher wavelengths with increasing concentrations of non-transesterified RCO. The fluorophores of non-transesterified RCO are due to structural changes that occur in vegetable oils due to high temperatures. For example, during frying, vegetable oils suffer oxidation of unsaturated fatty acids and vitamin E, *cis/trans* isomerization, breaking of the chain and peroxidation, cyclization and the polymerization of oxidized products [13].

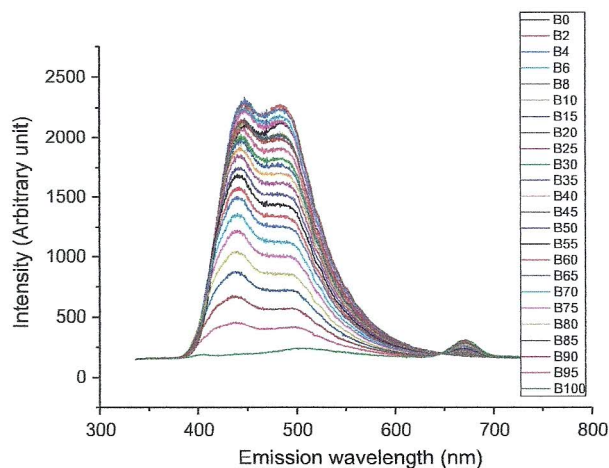


Fig. 1. Spectra without correction of biodiesel–diesel blends in the range of 0–100%.

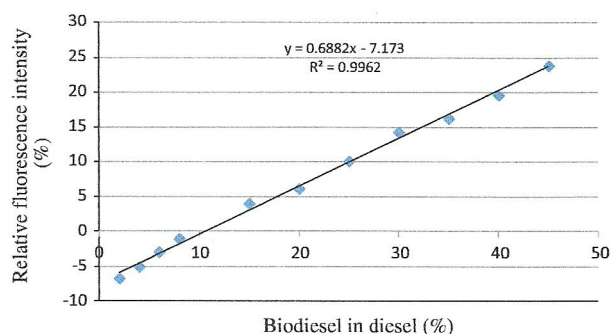


Fig. 2. Graph of relative fluorescence intensities of the peaks centered at 482 nm of emission versus concentration of biodiesel in diesel in the range of 0–45%.

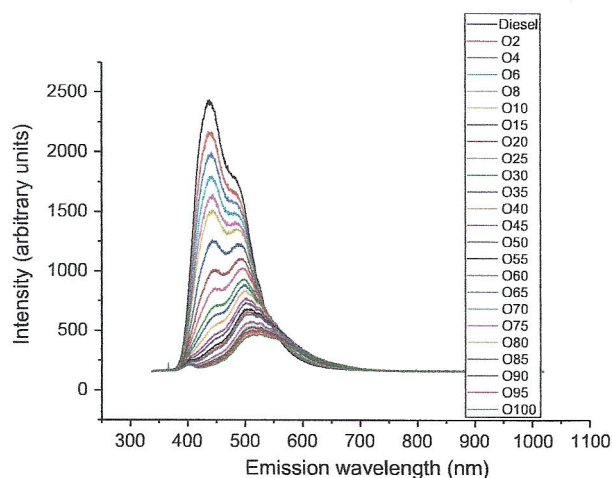


Fig. 3. Spectra without correction of the mixtures of non-transesterified RCO in diesel.

The calibration curve for non-transesterified RCO in diesel shows a linear range from 2% to 20% with an  $R$ -squared value of 0.9872 (Fig. 4).

Table 1 shows the validation parameters for the determination of biodiesel in diesel and non transesterified RCO in diesel determined from the parameters of the regression lines shown in Figs. 2 and 4, respectively.

The validation showed that the equipment is suitable for quantification of the concentration of mixtures of biodiesel in the diesel considering that the concentrations of samples are generally above of the limit of detection of 3% and limit of quantification of 9.9%.

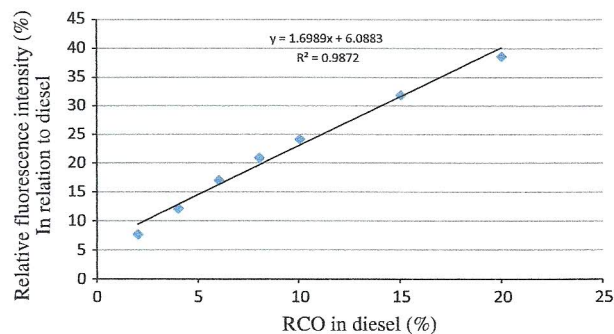


Fig. 4. Graph of relative fluorescence intensities of the peaks centered at 482 nm of emission versus concentration of non-transesterified RCO in diesel in the range of 0–20%.



**Table 1**  
Validation parameters for determination of biodiesel in diesel and RCO in diesel.

Validation parameters	Biodiesel in diesel	RCO in diesel
Number of points	11	7
Equation	$y = 0.6882x - 7.173$	$y = 1.6989x + 6.0883$
Degrees of Freedom (DOF)	9	5
Residual Sum of Squares (RSS)	4.21872	9.05794
Residual standard deviation (RSD)	0.6846	1.3459
Limit of Detection (LOD)	3.0%	2%
Limit of Quantification (LOQ)	9.9%	7.9%
Sensitivity (Slope)	0.6882	1.69892
R-square	0.9962	0.9872
Repeatability	0.4	0.2

RSD =  $\sqrt{\text{RSS}/\text{DOF}}$ ; LOD =  $3\text{RSD}/\text{Slope}$ ; LOQ =  $10\text{RSD}/\text{Slope}$ .

**Table 2**  
Actual and predict values for samples of biodiesel in diesel.

Actual% of biodiesel in diesel	Predicted% of biodiesel in diesel	Difference (actual predicted)
2	1	1
4	3	1
6	6	0
8	9	-1
15	16	-1
20	19	1
25	25	0
30	31	-1
35	34	1
40	39	1
45	45	-0

$d_m = 0.181818$ ;  $s = 0.873863$ ;  $s_m = 0.263482$ ;  $t_{\text{cal}} = 0.69006$ ;  $t_{\text{tab}} = 2.228$ .

Where:  $d$  = difference between each pair,  $d_m$  = mean of differences,  $s$  = standard deviation of the differences,

$s_m$  = standard error of the differences,  $t_{\text{cal}} = d_m/s_m$ .

Based on the upper limit of linearity, the equipment becomes appropriate to determine the concentration up to B45, which is a broad range.

Considering the detection limit of about 2% and limit of quantification of 7.9% for the determination of non transesterified RCO in diesel, the equipment is suitable for identifying adulterations of non-transesterified RCO in diesel above this value. Based on the upper limit of linearity, the equipment becomes appropriate to determine adulteration of non-transesterified RCO in diesel up to 20%, which is a relatively broad range, considering that this illicit practice does not reach levels greater than 20%.

The accuracy of the LED spectrofluorimeter was evaluated by comparing the actual concentrations of the mixtures of biodiesel in diesel (and of non-transesterified RCO in diesel) with the predicted concentrations found by the linear equations and the application of the Student's  $t$  test. The results are shown in Table 2 for biodiesel in diesel and in Table 3 for the non-transesterified RCO in diesel.

By applying Student's  $t$  test for paired data of biodiesel in diesel, a  $t$ -calculated equal to 0.003719 was found for a  $t$ -tabulated of 2.228 at 95% confidence. With these data, we conclude that there is no significant difference between the results found by the equipment under test and the actual values of the B03–B45.

Similarly, when applying Student's  $t$  test for the paired data of non-transesterified RCO in diesel, a  $t$ -calculated equal to -0.00055 was found for a  $t$ -tabulated of -2.447 at 95% confidence. Thus, we conclude that there is no significant difference between the results found by the equipment under test and the actual concentrations of non-transesterified RCO in diesel in the range of 2–20%.

**Table 3**  
Actual and predict values for samples of RCO in diesel.

Actual% of biodiesel in diesel	Predicted% of biodiesel in diesel	Difference (actual predicted)
2	1	1
4	4	0
6	6	0
8	9	-1
10	11	-1
15	15	0
20	19	1

$d_m = 0$ ;  $s = 0.816497$ ;  $s_m = 0.308613$ ;  $t_{\text{cal}} = 0.0$ ;  $t_{\text{tab}} = 2.447$ .

Where:  $d$  = difference between each pair,  $d_m$  = mean of differences,  $s$  = standard deviation of the differences.

$s_m$  = standard error of the differences,  $t_{\text{cal}} = d_m/s_m$ .

The repeatability was evaluated in triplicate for three concentrations of biodiesel in diesel (B10, B15 and B45), with standard deviations being found of 0.5, 0.4 and 0.2, respectively. Similarly, for mixtures of RCO in diesel, the three concentrations evaluated were 6%, 10% and 20%, with standard deviations being found of 0.2, 0.3 and 0.05, respectively.

## Conclusion

The spectrofluorimeter validated in this study was adequate for quantification of the amount of biodiesel in diesel. Calibration curve shows a broad linearity range, of B03–B45, with an  $R$ -square of 0.9962. The equipment was adequate for determining the concentrations of biodiesel in diesel because the concentrations of samples are generally above the detection limit of the LED spectrofluorimeter, which was approximately 3% of biodiesel in diesel.

For the analysis of non-transesterified RCO in diesel, the linear range was from 2% to 20% with an  $R$ -square value of 0.9872. This range is adequate for determining the adulteration of diesel by non-transesterified RCO instead of biodiesel because this illegal practice rarely reaches concentrations above 20% of non-transesterified RCO in diesel.

The application of Student's  $t$  test showed no significant difference, at 95% confidence, between the actual concentrations of biodiesel in diesel or non-transesterified RCO in diesel and those concentrations that were determined with the equipment.

## Acknowledgements

CAPES, CNPq and Fapesb e Quimis.

## References

- [1] M. Ribani, C.B.G. Bottoli, C.H. Collins, I.C.S.F. Jardim, L.F.C. Melo, Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos, *Quim. Nova* 27 (5) (2004) 771–780.
- [2] R. Wood, How to validate analytical methods, *Trends Anal. Chem.* 18 (9–10) (1999) 624–632.
- [3] United States Food and Drug Administration (US-FDA); Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation, 2001.
- [4] United States Food and Drug Administration (US-FDA); Guidance for Industry, Analytical Procedures and Methods Validation, 2000.
- [5] M.T. Pimentel, B. Barros Neto, Calibração: Uma Revisão para Químicos Analíticos, *Quim. Nova* 19 (3) (1996) 268–277.
- [6] M. Thompson, R. Wood, The international harmonized protocol for the proficiency testing of (chemical) analytical laboratories, *Pure Appl. Chem.* 65 (9) (1993) 2123–2144.
- [7] Eurachem Working Group; The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 1998.
- [8] M. Thompson, S.L.R. Ellison, R. Wood, Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.* 74 (5) (2002) 835–855.
- [9] Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008, 2003.

- [10] C.M. Quintella, M. Meira, A.S. Tanajura, H.R.G. Silva, P.R. Costa Neto, I.M. Pepe, Método para prever propriedades químicas e físico-químicas de óleos através de análise multivariada associada com espectrofluorimetria PI 011100001114, 2010.
- [11] C.M. Quintella, M. Meira, H.R.G. Silva, A.K. Guimarães, T.M. Ferrer, M.A. Santos, S. Luna, A.L.D. Cid, L.C. Simões Jr., A.S. Tanajura, V.L. Filardi, C.E.T. Silva, I.M. Pepe, PATENTE BR PI 011110000662. Protótipo de fluorímetro de LED associado a um software estatístico embarcado para classificação de amostras e predição de propriedades químicas e físico-químicas, 2011.
- [12] M. Meira, C.M. Quintella, T.M. Ferrer, H.R.G. Silva, A.K. Guimarães, M.A. Santos, P.R. Costa Neto, I.M. Pepe, Identification of adulteration of biofuel by addition of residual oil instead of biodiesel to the diesel by total spectrofluorimetry and principal component analysis, *Quim. Nova* 34 (4) (2011) 621–624.
- [13] R. Cheikhousman, M. Zude, D.J. Bouveresse, C.L. Léger, D.N. Rutledge, I. Birlouez-Aragon, Espectroscopia de fluorescência para monitorar a deterioração do azeite de oliva extra virgem durante o aquecimento, *Anal. Bioanal. Chem.* 382 (6) (2005) 1438–1443.



# Monitoring of Soybean Oil Transesterification by Spectrofluorimetry and Multivariate Calibration

Erika Maria de Oliveira Ribeiro<sup>1\*</sup>, Cristina Maria Quintella<sup>1</sup>, Marilena Meira<sup>2</sup>, Saionara Luna<sup>1</sup>, Alexandre Kamei Guimarães<sup>1</sup>, Weidson Leal Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Campus de Ondina, Salvador, Brasil

<sup>2</sup>Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Campus de Simões Filho, Brasil

Email: \*[erikaribeiro08@gmail.com](mailto:erikaribeiro08@gmail.com)

Received 9 April 2014; revised 16 May 2014; accepted 22 June 2014

Copyright © 2014 by authors and OALib.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



## Abstract

An analytical procedure was developed to monitor the transesterification of soybean oil using spectrofluorimetry and Partial Least Squares (PLS) regression. Excitation-Emission Matrix (EEM) fluorescence spectroscopy derived from 12 standard mixtures of triolein and ethyl oleate were used in the construction of a PLS model using the fluorescent spectra as independent variables and the values of the methyl oleate % (w/w) as dependent variables. The model presented a high correlation (0.99178) between values determined by the reference method (ATR-FTIR) and values predicted by the proposed method. The coefficient of determination ( $R^2$ ) for the curve was close to a value of 1 (0.9836), which indicated the strength in the association between the observed data for the two variables and the efficiency of the model to perform the analysis. Therefore, the association between spectrofluorimetry and PLS was shown to be a fast and accurate method for monitoring soybean oil transesterification.

## Keywords

Soybean Oil, Transesterification, Spectrofluorimetry, PLS

**Subject Areas:** Analytical Chemistry, Petrochemistry

## 1. Introduction

The production of biodiesel from renewable lipid sources was the result of a global environmental preoccupation.

\*Corresponding author.

**How to cite this paper:** de Oliveira Ribeiro, E.M., Quintella, C.M., Meira, M., Luna, S., Guimarães, A.K. and Silva, W.L. (2014) Monitoring of Soybean Oil Transesterification by Spectrofluorimetry and Multivariate Calibration. *Open Access Library Journal*, 1: e598. <http://dx.doi.org/10.4236/oalib.1100598>

This tendency led the Brazilian Government to establish the national pro-biodiesel program, and to evaluate the technical and environmental advantages of biodiesel in relation to diesel oil [1]. The studies have shown that biodiesel is an option as a substitute for fuels derived from petroleum because it has technical properties similar to diesel, as well as economic, environmental and social impacts.

The most frequently used process for the production of biodiesel is transesterification, which turns the oils into esters. Transesterification consists of the reaction of triglycerides, the main components of fats and oils, with short chain alcohols, such as methanol and ethanol [2]. In other words, transesterification proceeds via the ethylic route (ethanolysis) or via the methyl route (methanolysis), both resulting in many benefits relating to the respective vegetable oil: reduction of density and viscosity; fitting within the specification of diesel oil; decrease in the point of loom and cloud point; reduction in the residue of carbon values less than diesel; giving rise to products with a lower molecular weight [3].

Although transesterification is currently the best alternative, it still needs to be optimized, because some factors influence this reaction, such as catalyst type, alcohol type, molar alcohol/oil ratio, temperature, purity of the reagents, presence of water and amount of free fatty acids [4]. Several methods have been used to evaluate the quality of the process for biodiesel production, such as gas chromatography (GC) [5], high-performance liquid chromatography (HPLC) [6] and nuclear magnetic resonance (NMR) [7]. Furthermore, a Viscometer [8], Near Infrared Spectroscopy (NIR) and a multivariate approach [9], Fourier-Transformed Infrared (FTIR) Spectroscopy [1], Size Exclusion Chromatography (SEC) [10], Ultrasonic Measurement [11] and Fiber-Optic Near Infrared Spectroscopy with Correlation to <sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy NMR [12] are some of the many analytical procedures developed to determine the composition of reaction mixtures during transesterification.

The spectrofluorimetry is an analytical technique with attractive advantages because of its simplicity, rapidity, sensitivity, and selectivity. This technique, together with multivariate analysis (PCA), was used to identify the addition of nontransesterified residual vegetable oil, instead of biodiesel, to diesel oil.

Also, spectrofluorimetry associated with Partial Least Square (PLS) has been used to determine the oxidation stability, concentration, viscosity and specific gravity of biodiesel-diesel blends [13]. A method and a device sensor were developed to monitor the quality in process for the production of fuels using spectrofluorimetry total 3D and PCA [14]. In this work, an analytical procedure was developed to monitor the transesterification of soybean oil using spectrofluorimetry and Partial Least Squares (PLS) regression for the optimization of biodiesel production.

## 2. Experimental Section

### 2.1. Sample

Samples of soybean oil (mark: Bompreço<sup>®</sup>; date of production: 19/04/2013 and validity: 13/01/2014) were transesterified at different times of reaction.

Standard mixtures of triolein (mark: Sigma Aldrich) and ethyl oleate (mark: Sigma Aldrich) in different concentrations were prepared (Table 1).

### 2.2. Procedure for Transesterification

The transesterification reaction was carried out using 450 ml of soybean oil. The reaction was catalyzed using potassium hydroxide (2.25 g) in methanol (360 mL). The reaction mixture was maintained under agitation (90 rpm) at 40°C (in a water bath for temperature control). Aliquots of 40 mL after 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 and 60 minutes were collected and immediately treated with 20 ml of an aqueous solution of ammonium chloride (20% w/v). These were centrifuged and the upper phase was washed with 125 mL of deionized water to achieve a pH of 7.0. For drying the residue in water samples, 5 g of anhydrous sodium sulfate was used.

### 2.3. Spectrofluorimetry

In this work, a Perkin Elmer-LS55 spectrofluorometer equipped with a 150 W Xenon lamp and quartz cells with 1 cm of optical path was used. The excitation was initiated at 200 nm with increments of 25 nm and the emission in the range of 230 - 800 nm with increments of 0.5 nm. Excitation and emission slits were of 2.5 nm, and the scan speed was 1200 nm·min<sup>-1</sup>. For each sample 24 emission spectra were obtained. The spectrofluorimetric



**Table 1.** Standard mixtures used in the PLS models.

Methyl oleate (%) (m/m)	Triolein (%)
0	100
9.662475182	90.33752482
19.39769708	80.60230292
29.20649033	70.79350967
39.0896921	60.9103079
49.0481523	50.9518477
59.08273381	40.91726619
69.1943128	30.8056872
79.38377889	20.61622111
89.65203548	10.34796452
100	0

maps were generated with the aid of Origin 8.0<sup>®</sup>. This procedure was according to Meira *et al.* [15].

#### 2.4. Fourier-Transformed Infrared Spectroscopy (FTIR/ATR)

Infrared spectra of the samples and standards were acquired using a Perkin Elmer spectrophotometer, Frontier model, with ZnSe crystal. The wave number used was in the region of 4000 - 650  $\text{cm}^{-1}$ . Each spectrum MIR was recorded on an average spectrum resulting from 16 scans, employing a resolution of 4  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 2.5. Multivariate Analysis

Fluorescence spectra of the transesterified samples and the ATR/FTIR spectra of mixtures of 12 standards of triolein (representing triglycerides found in vegetable oils) and ethyl oleate (representing ethyl esters produced as a result of transesterification) at different concentrations (Table 1) were organized into arrays of  $13 \times 10^3$  and  $12 \times 10^2$  respectively. These spectra were pre-processed using the method of centering in the medium and then subjected to Partial Least Squares Regression (PLS) analysis in Unscrambler. For this PLS model, regions of the spectra of 1700 - 1800  $\text{cm}^{-1}$  were selected, for representing the C=O stretching vibration of ester groups.

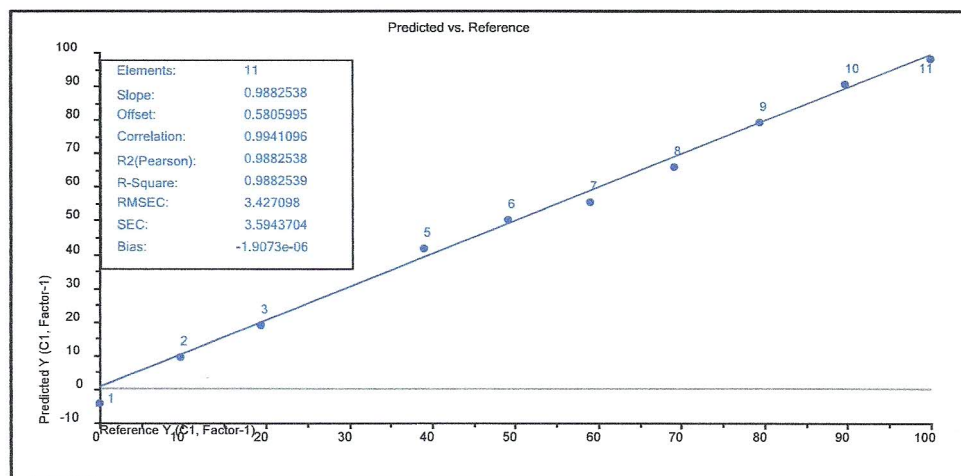
### 3. Results and Discussion

Total fluorescence spectra and FTIR/ATR were reported for transesterification of soybean oil at different reaction times and for standard mixtures of triolein and methyl oleate. Knowing that during a transesterification reaction, the amounts of mono-, di- and triglycerides differ according to the reaction time, a PLS model was developed to monitor the reaction and evaluate the yield of methyl oleate, which is an ester derived from oleic acid. Table 1 shows the standard mixtures used in the PLS model proposed.

Figure 1 presents the graph of the predicted values relating to the reference values for the PLS model, which was built using the ATR/FTIR spectra in the region of 1700 - 1800  $\text{cm}^{-1}$  as independent variables and the % values of methyl oleate (v/v) as dependent variables. The region of 1700 - 1800  $\text{cm}^{-1}$  was chosen as independent variables to be a spectral region belonging to the group of ester carbonyls thus serving as a key parameter for the differentiation of standard mixtures, which contained different amounts of triolein and methyl oleate (Table 1).

As can be seen in the PLS model, the points are distributed around the line of bisection, showing that there is no systematic error in the predictions. In other words, there was a good correlation of this model determined by FTIR/PLS, showing a correlation of 0.9941 and a coefficient of determination ( $R^2$ ) of 0.9883. This regression coefficient of the curve near to 1 indicates the efficiency of the model for making predictions. Thus, this PLS model served as reference model to determine the % of methyl oleate in the samples collected from the transesterification reaction at different reaction times (Table 2). This FTIR/PLS model has also been chosen in this





**Figure 1.** PLS model using the ATR-FTIR spectra in the region of 1700 - 1800  $\text{cm}^{-1}$  as independent variables and the values of % of methyl oleate (w/w) as dependent variables.

**Table 2.** Predictive capability based on the PLS regression of the FTIR data.

Methyl oleate (%) (m/m)	Triolein (%)
0	0
5	0.8
10	23.9
15	40.3
20	51.2
25	56
30	63.5
35	68.2
40	70.4
45	74.3
50	75.5
55	77

work as a reference method, for being a method for predicting the yield of reaction of biodiesel production already used in literature by Zagonel *et al.* [1].

From the concentrations of methyl oleate found by the reference method (ATR-TIR) in transesterificadas samples was built the new model PLS now relating the fluorescence spectra with concentrations (Figure 2, Table 2), where the fluorescence spectra appear as independent variables and the values of the % of methyl oleate (v/v) as the dependent variables. This model was significant, and also showed a good correlation of the same determined by fluorimetry/PLS, presenting an  $R^2$  close to 1, with a value of 0.9836.

In general, the proposed method (association between spectrofluorimetry and PLS) was efficient for monitoring the transesterification of soybean oil, which is quite reliable for predicting the yield of esters in the course of transesterification reactions.

#### 4. Conclusion

The association between spectrofluorimetry and PLS proved to be a rapid, nondestructive, inexpensive, efficient,

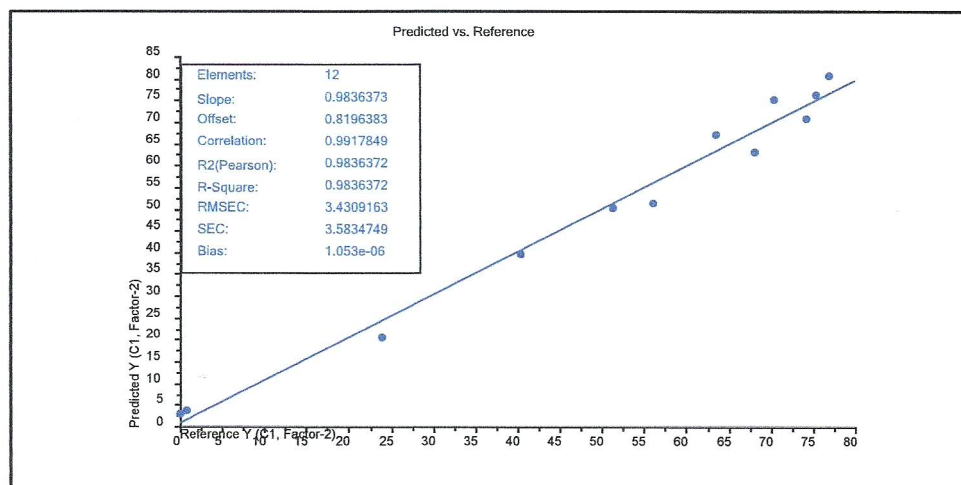


Figure 2. PLS model using the fluorescence spectra as independent variables and the values of the % of methyl oleate (w/w) as dependent variables.

and accurate method for monitoring the transesterification of soybean oil, and contributed much to the analysis and interpretation of analytical data.

## Acknowledgements

Capes, CNPq, Fapesb.

## References

- [1] Zagonel, G.F., Peralta-Zamora, P. and Ramos, L.P. (2004) Multivariate Monitoring of Soybean Oil Ethanolysis by FTIR. *Talanta*, **63**, 1021-1025. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2004.01.008>
- [2] Quintella, C.M., Teixeira, L.S.G., Korn, M.G.A., Costa Neto, P.R., Torres, E.A., Castro, M.P. and Jesus, C.A.C. (2009) Cadeia do biodiesel da bancada à indústria: Uma visão geral com prospecção de tarefas e oportunidades para P&D&I. *Quimica Nova*, **32**, 793-808. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000300022>
- [3] Board, N.B. (1998) Anais do Congresso Internacional de Biocombustíveis Líquidos. Secretária de Estado da Ciência: Curitiba.
- [4] Schuchardt, U., Sercheli, R. and Vargas, R.M. (1998) Transesterification of Vegetable Oils: A Review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **9**, 199-210. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50531998000300002>
- [5] Mittelbach, M., Roth, G. and Bergmann, A. (1996) Simultaneous Gas Chromatographic Determination of Methanol and Free Glycerol in Biodiesel. *Chromatographia*, **42**, 431-434. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02272135>
- [6] Trathnigg, B. and Mittelbach, M. (1990) Analysis of Triglyceride Methanolysis Mixtures Using Isocratic HPLC with Density Detection. *Journal of Liquid Chromatography*, **13**, 95-105. <http://dx.doi.org/10.1080/01483919008051790>
- [7] Gelbard, G., Brès, O., Vargas, R.M., Vielfaure, F. and Schuchardt, U.F. (1995) <sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance Determination of the Yield of the Transesterification of Rapeseed Oil with Methanol. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **72**, 1239-1241.
- [8] Ellis, N., Guan, F., Chen, T. and Poon, C. (2008) Monitoring Biodiesel Production (Transesterification) Using *in Situ* Viscometer. *Chemical Engineering Journal*, **138**, 200-206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2007.06.034>
- [9] Sikora, Z. and Salacki, W. (1996) Use of Near-Infrared (NIR) Spectroscopy to Predict Several Physical and Operating Properties of Oil Fractions and Diesel Fuel. *Petroleum and Coal*, **38**, 65-68.
- [10] Arzamendi, G., Arguñarena, E., Campo, I. and Gandía, L.M. (2006) Monitoring of Biodiesel Production: Simultaneous Analysis of the Transesterification Products Using Size-Exclusion Chromatography. *Chemical Engineering Journal*, **122**, 31-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2006.05.009>
- [11] Bulent Koc, A. (2009) Ultrasonic Monitoring of Glycerol Settling during Transesterification of Soybean Oil. *Biore-source Technology*, **100**, 19-24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.037>
- [12] Gerhard, K. (2000) Monitoring a Progressing Transesterification Reaction by Fiber-Optic near Infrared Spectroscopy with Correlation to <sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **77**,

- 489-493.
- [13] Meira, M., Quintella, C.M., Tanajura, A.S., da Silva, H.R.G., D'Erasmus Santos Fernando, J., Netoc, P.R.C., Pepe, I.M., Santos, M.A. and Nascimento, L.L. (2011) Determination of the Oxidation Stability of Biodiesel and Oils by Spectrofluorimetry and Multivariate Calibration. *Talanta*, **85**, 430-434. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2011.04.002>
- [14] Guimarães, A.K., Quintella, C.M. and Musse, A.P. (2006) Prêmio Petrobras de tecnologia. <http://sites.petrobras.com.br/minisite/premiotecnologia/index.asp>
- [15] Meira, M., Quintella, C.M., Ferrer, T.M., Silva, H.R.G., Guimarães, A.K. and Santos, M.A. (2011) Identificação de adulteração de biocombustível por adição de óleo residual ao diesel por espectrofluorimetria total 3D e análise das componentes principais. *Química Nova*, **34**, 621-624. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422011000400013>
- [16] Lima, A.L., Lima, A.P., Portela, F.M., Santos, D.Q., Neto, W.B., Hernández-Terrones, M.G. and Fabris, J.D. (2010) Parâmetros da reação de transesterificação etílica com óleo de milho para produção de biodiesel. *Eclética Química*, **35**, 101-106. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-46702010000400013>



## APÊNDICE G

## PATENTES RELACIONADAS COM A PESQUISA

MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; FERRER, T. M.; COSTA NETO, P. R.; SILVA, H.R.G; GUIMARÃES, ALEXANDRE K.; SANTOS, M. A.; PEPE, I. M.. **Método de identificação de amostras de óleos através de análise espectral e quimiometria.** 2011, Brasil. PI221106730261, 16/12/2011, INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

MEIRA, M.; PEPE, I. M.; QUINTELLA, C. M.; COSTA NETO, P. R.; SILVA, H.R.G; GUIMARÃES, A.K; FERRER, T. M.; SANTOS, M. A.; SANTOS, A. O.; LUNA, S.; DEL CID, A. L.; SOARES JUNIOR, L. C. S.; TANAJURA, A. S.; FILARDI, V. L.; SILVA, C. E. T.; SILVA. W. L.. **Protótipo de Fluorímetro de LED associado a um software embarcado para classificação de amostras e predição de propriedades químicas e físico-químicas.** 2011, Brasil. BR011110000662, 04/10/2011, INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. CNPq, Capes, Fapesb.

QUINTELLA, C. M.; GUIMARÃES, A. K; MUSSE, A. P. S. **Quality control method and device for fuel production processes.** 2010, Brasil. WO2010081212, 22/07/2010, WIPO - World Intellectual Property Organization. UFBA.