

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIENCIA E
TECNOLOGIA AMBIENTAL**

DELUANA MARTINS NETO

**CARACTERIZAÇÃO ÓPTICA DE BLENDA BINÁRIAS DE
COMBUSTÍVEIS E BIOCUMBUSTÍVEIS: UMA ANÁLISE VIA
ABSORÇÃO UV-VIS, FLUORESCÊNCIA NO ESTADO
ESTACIONÁRIO E RESOLVIDA NO TEMPO**

Orientador: Prof. Dr. Anderson Rodrigues Lima Caires

**DOURADOS/MS
2016**

DELUANA MARTINS NETO

**CARACTERIZAÇÃO ÓPTICA DE BLENDA BINÁRIAS DE
COMBUSTÍVEIS E BIOCOMBUSTÍVEIS: UMA ANÁLISE VIA
ABSORÇÃO UV-VIS, FLUORESCÊNCIA NO ESTADO
ESTACIONÁRIO E RESOLVIDA NO TEMPO**

Orientador: Prof. Dr. Anderson Rodrigues Lima Caires

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia na área de concentração Ciência Ambiental.

**DOURADOS/MS
2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

M386c Martins Neto, Deluana

CARACTERIZAÇÃO ÓPTICA DE BLENDA BINÁRIAS DE COMBUSTÍVEIS E BIOCUMBUSTÍVEIS: UMA ANÁLISE VIA ABSORÇÃO UV-VIS, FLUORESCÊNCIA NO ESTADO ESTACIONÁRIO E RESOLVIDA NO TEMPO /

Deluana Martins Neto -- Dourados: UFGD, 2016.

67f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Anderson Rodrigues Lima Caires

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. Fluorimetria por Pulso. 2. Quantificação. 3. Biodiesel. 4. Diesel. 5. Gasolina. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



Termo de Aprovação

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: **“Caracterização óptica de blendas binárias de combustíveis e biocombustíveis: uma análise via absorção UV-VIS, fluorescência no estado estacionário e resolvida no tempo”**, de autoria de **Deluana Martins Neto**, apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.

Prof. Dr. Anderson Rodrigues Lima Caires
Presidente da banca examinadora (UFGD)

Prof. Dr. Gleison Antônio Casagrande
Membro Examinador (UFMS)

Prof. Dr. Valter Aragão do Nascimento
Membro Examinador (UFMS)

Dourados/MS, 28 de julho de 2016.

“Senhor, daí-me força para mudar o que pode ser mudado. Resignação para aceitar o que não pode ser mudado. E sabedoria para distinguir uma coisa da outra”.

(São Francisco de Assis).

Á Deus, aos meus pais Conceição e Donizete e à minha irmã Camila, por todo amor a mim depositado, dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus Trindade Santa pelos dons a mim conferidos, obrigada por ser minha Fortaleza e Refúgio nessa caminhada.

À minha família que por amor e paciência durante o tempo de dedicação a esse trabalho, me apoiaram e incentivaram com suas orações, companhia e paciência, por sempre estarem prontos a me ajudar.

Às minhas avós, que sempre me incentivaram a seguir estudando, por todas as comemorações e por todas as orações.

Ao professor Dr. Anderson Rodrigues Lima Caires, pela boa orientação, por toda ajuda e pela amizade

As minhas queridas amigas Débora e Elisandra que embarcaram nessa jornada de mestrado comigo dividindo o conhecimento, compreensão e companheirismo, aos amigos queridos Cristiano e Daiane a qual todos juntos passamos por muitos momentos de alegria e de dificuldade, obrigada pelos conselhos e orações.

Aos amigos Flávio Michels e José Nilson pelos ensinamentos compartilhados, muito obrigada.

Aos amigos que fiz durante todo período de mestrado, levarei comigo a amizade e apoio recebidos, os momentos de estudo, as horas de almoço ou café, os conselhos que recebi e toda parceria que tive durante esse tempo.

Aos integrantes do Grupo de Óptica Aplicada (GOA) e em especial aos orientados do professor Dr. Anderson R. L. Caires.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental.

Aos professores Dr. Além-Mar Bernardes Gonçalves, Dr. Gleison Antônio Casagrande, Dr. Valter Aragão do Nascimento e Dr. Samuel Leite de Oliveira por toda contribuição ao trabalho.

Por fim, a todos aqueles, que de uma maneira ou de outra, contribuíram para que eu concluísse essa caminhada.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANP- Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

B100 - Biodiesel 100%

B7 - Diesel com 7% de Biodiesel

BTEX - Benzeno, Tolueno, Etil-benzeno e Xilenos

CNPE - Conselho Nacional de Política Energética

DB - Diesel-Biodiesel

DG- Diesel-Gasolina

DO - Diesel-Óleo

EEM- Matriz de Excitação-Emissão

EFE- Espectroscopia de Fluorescência Estacionária

EFRT- Espectroscopia de Fluorescência Resolvida no Tempo

EFT- Espectro de Fluorescência Total

FT-IR: Infravermelho com Transformada de Fourier

GB- Gasolina-Biodiesel

GO- Gasolina-Óleo

HPAs - Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

KOH- Hidróxido de Potássio

MIR – Infravermelho Médio

NaCl - Cloreto de Sódio

NIR – Infravermelho Próximo

OB - Óleo - Biodiesel

PNPB- Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel

TAC – Time-to-amplitude converter

TCSPC – Timecorrelated Single-Photon Counting

UV-Vis: Ultravioleta- Visível

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades de óleo vegetal, biodiesel e diesel.....	17
Tabela 2. Tempos de vida médios para óleo e biodiesel de soja, diesel e gasolina para os comprimentos de onda de excitação de 280 e 635 nm.....	39
Tabela 3. Tempos de vida médios das blendas DB e D para os comprimentos de onda de excitação de 280 e 635 nm.....	45
Tabela 4. Tempos de vida médios da blenda GD para os comprimentos de onda de excitação de 280 nm e 635 nm.....	49
Tabela 5. Tempos de vida médios da blenda OB para os comprimentos de onda de excitação de 280 e 635 nm.....	52
Tabela 6. Tempos de vida médios da blenda BG para os comprimentos de onda de excitação de 280 e 635 nm.....	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reação de transesterificação.....	17
Figura 2. Diagrama dos vários tipos de excitação eletrônica que podem ocorrer em moléculas orgânicas.....	21
Figura 3. Diagrama de Perrin-Jablonski.....	24
Figura 4. Princípios de fluorimetria resolvida no tempo.....	26
Figura 5. Descrição esquemática de uma curva de decaimento de fluorescência utilizando o método por pulso.....	28
Figura 6. Diagrama esquemático de um fluorímetro de contagem de fóton único.....	30
Figura 7. Fluxograma do processo de produção do biodiesel.....	32
Figura 8. Separação das fases biodiesel e glicerina.....	33
Figura 9. Esquema da preparação das blendas.....	33
Figura 10. Espectrofotômetro Cary 50 – Varian®.....	34
Figura 11. Espectrofluorímetro Cary Eclipse – Varian.....	35
Figura 12. Espectrofluorímetro FluoTime100 -PicoQuant.....	35
Figura 13. Espectros de absorção de diesel, gasolina, óleo e biodiesel.....	36
Figura 14. Mapas de contorno excitação/emissão de óleo e biodiesel de soja, diesel e gasolina.....	37
Figura 15. Tempo de vida médio de fluorescência (ns) x Intensidade de fluorescência em comprimentos de onda de excitação de 280 nm e 635 nm para óleo e biodiesel de soja, diesel e gasolina.....	39
Figura 16. Espectro de absorção UV-Vis da blenda DB (A) e blenda DO (B).....	40
Figura 17. Absorbância por teor de biodiesel no diesel (A) e por teor de óleo no diesel (B), ambos em 260 nm.....	40
Figura 18. Mapas de contorno excitação/emissão das amostras da blenda DB.....	42
Figura 19. Mapas de contorno excitação/emissão 3D da blenda DO.....	42
Figura 20. Intensidade de emissão em 440 nm quando excitado em 405 nm em função do teor de biodiesel no diesel (A) e em função do teor de óleo no diesel (B).....	43
Figura 21. Emissão em 660 nm quando excitado em 405 nm por teor de óleo em diesel (A) por teor de óleo em diesel (B).....	44
Figura 22. Intensidade de fluorescência resolvida no tempo da blenda DB (A) e DO (B) quando excitado em 280 nm.....	44

Figura 23. Intensidade de fluorescência resolvida no tempo da blenda DB (A) e DO (B) quando excitado em 635 nm.....	45
Figura 24. Tempo de vida médio por teor de biodiesel em diesel (A) e por teor de óleo em diesel (B) quando excitados em 280 nm com emissão acima de 300 nm.....	46
Figura 25. Tempo de vida médio por teor de óleo em diesel (A) e por teor de biodiesel em diesel (B) quando excitado em 635 nm com emissão acima de 650 nm.....	46
Figura 26. Espectro de absorção UV-Vis da blenda GD (A) e Absorbância em 260 nm versus teor de gasolina no diesel (B).....	47
Figura 27. Mapas de contorno excitação-emissão 3D das amostras da blenda GD.....	47
Figura 28. Emissão em 426 nm, quando excitado em 380 nm (A) e Emissão em 440 nm, quando excitado em 405 nm (B), ambos em função do teor de diesel na gasolina.....	48
Figura 29. Fluorescência resolvida no tempo das blendas GD quando excitadas em 280 nm (A) e 635 nm (B).....	48
Figura 30. Tempo de vida médio por teor de diesel em gasolina quando excitado em 280 nm com emissão acima de 300 nm (A) e quando excitado em 635 nm com emissão acima de 650 nm (B).....	49
Figura 31. Espectro de absorção UV-Vis da blenda OB (A) e Absorbância em 232 nm em função do teor de óleo no biodiesel (B).....	50
Figura 32. Mapas de contorno excitação-emissão-intensidade das amostras da blenda BO.....	50
Figura 33. Emissão em 662 nm por teor de biodiesel em óleo quando excitado em 405 nm (A) e Emissão em 424 nm por teor de biodiesel em óleo quando excitado em 350 nm (B).....	51
Figura 34. Fluorescência resolvida no tempo das blendas OB quando excitadas em 280 nm (A) e 635 nm (B).....	51
Figura 35. Espectro de absorção UV-Vis da blenda GB (A) e da blenda GO (B).....	52
Figura 36. Absorbância em 266 nm das blendas GB (A) e GO (B) em função do teor de gasolina no biodiesel.....	53
Figura 37. Mapas de contorno excitação-emissão 3D para a blenda GB.....	53
Figura 38. Mapas de contorno excitação-emissão 3D das amostras da blenda GO.....	54
Figura 39. Emissão em 440 nm, quando excitado em 405 nm, em função teor de biodiesel na gasolina (A) e em função do teor de óleo na gasolina (B).....	54

Figura 40. Emissão em 660 nm, quando excitado em 405 nm, em função do teor de biodiesel na gasolina (A) e em função do teor de óleo na gasoline (B).....	55
Figura 41. Fluorescência resolvida no tempo das blendas GB (A) e GO (B) quando excitadas em 280 nm.....	55
Figura 42. Fluorescência resolvida no tempo das blendas GB (A) e GO (B) quando excitadas em 635 nm.....	56
Figura 43. Tempo de vida médio por teor de biodiesel em gasolina (A) por teor de óleo em gasolina (B) quando excitadas em 280 nm com emissão acima de 300 nm.....	57
Figura 44. Tempo de vida médio em função do teor de biodiesel em gasolina (A) e do teor de óleo em gasolina (B) quando excitado em 635 nm com emissão acima de 650 nm.....	57

RESUMO

O uso de blendas de combustíveis com biocombustíveis está bem difundido no cenário mundial para atenderem questões ambientais, econômicas e sociais. No Brasil, destaca-se a mistura diesel-biodiesel, na qual é regulamentada a adição de 7% de biodiesel na blenda diesel-biodiesel. Recentemente, técnicas ópticas vêm se apresentando como técnicas alternativas com grande potencial para monitorar vários processos de interesse na área de combustível, como por exemplo, identificação de adulterantes, quantificação de biodiesel na blenda diesel-biodiesel, determinação da conversão de óleo em biodiesel e monitoramento da degradação dos combustíveis. Todavia, existem várias questões em aberto, em termos de fundamentos e aplicações das técnicas, necessitando investigações adicionais para avaliar de forma mais robusta a real aplicabilidade das técnicas ópticas. Neste trabalho foi realizado uma caracterização óptica detalhada das possíveis blendas que podem ser geradas a partir das amostras de diesel, biodiesel, gasolina e óleo. Avaliou-se as blendas a partir das técnicas de espectroscopia de absorção UV-Vis, espectroscopia de fluorescência estacionária e espectroscopia de fluorescência resolvida no tempo. Os resultados sugerem que avanços nas aplicações podem ser obtidos e que cada blenda possui uma característica particular na qual uma técnica se mostra mais viável do que outra. O uso da espectroscopia de fluorescência estacionária se mostra mais eficaz para as blendas constituídas de gasolina e óleo ou biodiesel a partir da avaliação da emissão da clorofila em 660 nm quando excitada em 405 nm. Já a espectroscopia de fluorescência resolvida no tempo mostrou-se mais viável para estudos e aplicações envolvendo as blendas constituídas de diesel e óleo ou biodiesel.

Palavras - chave: Fluorimetria por Pulso. Quantificação. Biodiesel. Diesel. Gasolina

ABSTRACT

The use of biofuel and fuel blends is growing around the world to attend environmental, economical, and social issues. In Brazil, diesel-biodiesel blends stands out in which the addition of 7 % of biodiesel in the diesel-biodiesel blend is mandatory. Recently, optical methods have been presented as alternative techniques with great potential to monitor various interesting processes in the fuel area, for example, identification of adulterants, quantification of biodiesel content in diesel-biodiesel blend, determination of oil conversion to biodiesel, and monitoring of fuel degradation. However, despite the great potential there are several remaining issues, in terms of fundamentals and applications, needing further investigations to evaluate the real applicability of the optical techniques for fuel analysis. In this work, a close optical characterization, of the diesel, biodiesel, gasoline, and oil blends was performed. The blends were evaluated by means of UV-Vis absorption, steady-state fluorescence, and time-resolved fluorescence spectroscopy. The results suggest that advances in the implementation of fuel analysis can be obtained and each blend have a particular feature. Steady-state fluorescence spectroscopy is indicated for application involving blends of gasoline with oil or biodiesel by analyzing the chlorophyll emission at 660 nm when excited in 405 nm. In addition, time- resolved fluorescence spectroscopy shows to be more relevant for applications involving blends of diesel and oil or biodiesel.

Keywords: Pulse fluorimetry. Quantification. Biodiesel. Diesel. Gasoline

SUMARIO

CAPITULO 1- INTRODUÇÃO.....	12
CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS.....	14
2.1- Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
CAPITULO 3 -REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1- ÓLEO VEGETAL.....	15
3.2 – BIODIESEL.....	16
3.3 – GASOLINA.....	18
3.4-DIESEL	19
3.5- ESPECTROSCOPIA ÓPTICA.....	19
3.5.1- ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO UV- VIS.....	20
3.5.1.1- A LEI DE LAMBERT – BEER.....	21
3.5.2- ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA.....	22
3.5.3- ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA RESOLVIDA NO TEMPO.....	25
3.5.3.1-FLUORIMETRIA POR PULSO.....	27
3.5.3.2-FLUORÍMETRO DE CONTAGEM DE FÓTON ÚNICO.....	29
CAPÍTULO 4 -PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	32
4.1 - PRODUÇÃO DO BIODIESEL.....	32
4.2 - PREPARAÇÃO DAS MISTURAS.....	33
4.3 - ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO UV- VIS.....	34
4.4 -ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA ESTACIONÁRIA.....	34
4.5- ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA RESOLVIDA NO TEMPO.....	35
CAPÍTULO 5- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1- CARACTERIZAÇÃO ÓPTICA.....	36
5.1.1-BLENDA DIESEL –BIODIESEL E DIESEL – ÓLEO (DB E DO).....	40
5.1.2- BLENDA GASOLINA-DIESEL (GD).....	46
5.1.3- BLENDA BIODIESEL – ÓLEO (BO).....	50
5.1.4- BLENDA GASOLINA – BIODIESEL (GB) E GASOLINA – ÓLEO (GO).....	52
CAPÍTULO 6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
CAPÍTULO 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

CAPITULO 1

INTRODUÇÃO

O crescente desenvolvimento social e tecnológico, acompanhado pelo crescimento da população mundial, tem resultado em uma grande demanda de energia e aumento da poluição. Desse modo, a busca por fontes alternativas de energia, mais limpas e renováveis, tem avançado nos últimos anos. Dentro deste contexto, o biodiesel tem sido usado em adição ou substituição ao diesel nos setores de transportes e geração de energia em todo o mundo, a fim de minimizar os impactos ambientais (KNOTHE *et al.*, 2006).

Buscando implementar a cadeia de produção de biodiesel no Brasil, em dezembro de 2004, foi apresentado pelo Governo Federal o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB). Em janeiro de 2005 a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) passou a regulamentar e fiscalizar as atividades relacionadas a cadeia do biodiesel. Atualmente o biodiesel tem substituído o óleo diesel em motores automotivos à combustão, sendo utilizado puro (B100) ou na mistura biodiesel/diesel na proporção de 7% de biodiesel em diesel (B7). Diante disso, a regulamentação vigente determinada pela ANP torna obrigatória a adição do percentual de 7% de biodiesel ao óleo diesel vendido em todos os postos de combustível do Brasil (ANP, 2016).

Recentemente, têm sido propostos vários métodos para quantificar o teor de biodiesel nas misturas diesel e biodiesel. Método baseado no número de éster, cromatografia líquida e gasosa, espectroscopia no infravermelho próximo, índice de saponificação, espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier, espectroscopia de ressonância magnética nuclear, espectroscopia de absorção no ultravioleta - visível, análise de radiocarbono, espectroscopia de fluorescência, e a espectroscopia de raios-X (SOUZA *et al.*, 2013).

Por fluoróforos tais como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs) encontrados no diesel e gasolina e os tocoferóis, clorofila, riboflavina e vitaminas (A, K e D) presentes em óleos vegetais e biodieseis; a espectroscopia de fluorescência pode ser utilizada como técnica analítica para identificar a adulteração do óleo diesel com substâncias com características semelhantes, tais como os óleos vegetais (TOMAZZONI *et al.*, 2014).

No intuito de avaliar a aplicabilidade da fluorescência resolvida no tempo para o desenvolvimento de métodos de interesse na área de biocombustíveis, faz-se necessário

a caracterização das misturas binárias compostas de óleo, biodiesel, diesel e gasolina, para propor uma metodologia apurada para reconhecer possíveis contaminantes e obter uma análise precisa e prática quanto à composição dos combustíveis comercializados no mercado. O presente trabalho propõe o uso aliado das técnicas de Espectroscopia de Absorção Molecular UV-Vis, Espectroscopia de Fluorescência Estacionária (EFE) e Espectroscopia de Fluorescência Resolvida no Tempo (EFRT) na caracterização de misturas binárias de combustíveis e biocombustíveis, pois são métodos não destrutivos baratos e sensíveis para caracterização.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

2.1- OBJETIVO GERAL

- Determinar e avaliar o comportamento óptico dos combustíveis e biocombustíveis (óleo e biodiesel de soja, diesel e gasolina) e as blendas binárias formadas por essas amostras.

2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar o biodiesel a partir de óleo vegetal por utilização de rota metálica básica;
- Determinar os perfis de absorção molecular na região do UV–Vis das amostras e de suas blendas;
- Obter os mapas de contorno de excitação/emissão por meio de espectroscopia de fluorescência estacionária das amostras e de suas blendas;
- Aferir valores de tempo de vida médio da emissão de cada amostra e suas blendas por meio da espectroscopia de fluorescência resolvida no tempo;
- Identificar para cada blenda qual técnica óptica se mostra mais eficaz para identificação das misturas estudadas;

CAPÍTULO 3

REVISÃO DE LITERATURA

3.1- ÓLEO VEGETAL

Os óleos vegetais são formados por 90 a 98 % de triglicerídeos e por pequena quantidade de mono e di-glicerídeos, bem como ácidos graxos, fosfolipídios, (MAGALHÃES *et al.*, 2014; MA & HANNA, 1999) esteróis, água e outras impurezas (MA & HANNA, 1999) bem como os compostos químicos tocoferóis, clorofilas, carotenoides, ceras, pigmentos, ácidos triterpênicos, e compostos fenólicos também podem ser encontrados em óleos vegetais. Portanto, estes compostos também podem estar presentes na composição química do biodiesel produzido a partir destes óleos (MAGALHÃES *et al.*, 2014).

Óleo vegetal bruto é obtido por extração com um solvente e / ou prensa. Dependendo a utilização a que estão sendo colocados, os óleos são submetidos a diferentes etapas do processo de refinação, que envolve a remoção do solvente, degomagem, branqueamento, desodorização e desacidificação (TOMAZZONI *et al.*, 2014).

As moléculas de triglicerídeos de gorduras animais e de óleos vegetais constituem de três ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, ligados á uma única molécula de glicerol. Estes ácidos graxos diferem pelo comprimento das cadeias de carbono, bem como o número, a orientação e a posição das ligações duplas nas cadeias (TEIXEIRA *et al.*, 2010). Os ácidos graxos formadores do triglicerídeo normalmente contêm número par de átomos de carbono, dispostos linearmente e podem apresentar ou não insaturações (VIANNI& FILHO, 1996).

A elevada massa molar dos óleos vegetais confere aos mesmos propriedades físico-químicas como alta viscosidade cinemática (30 a 40 cSt a 38 °C) e ponto de fulgor muito alto (aproximadamente 200 °C) (TAKSANDE & HARIHARAN, 2006). Uma mistura ineficiente ar/combustível promove a combustão incompleta e o alto ponto de fulgor está relacionado à baixa volatilidade. Assim, pode ocorrer formação de depósitos, carbonização nos injetores, degradação e diluição do óleo lubrificante assim como atraso de ignição (SRIVASTAVA & PRASAD, 2000; MA & HANNA, 1999; CORGOZINHO, 2009).

Portanto, o uso de óleos vegetais em motores diesel é possível, mas não recomendado. Os principais problemas relacionados ao uso do óleo vegetal em

substituição ao óleo diesel estão relacionados à alta viscosidade, baixa volatilidade e caráter poliinsaturado. Alguns processos como a pirólise, a microemulsificação, a diluição e a transesterificação podem ser utilizados para transformar os triglicerídeos do óleo vegetal em derivados com propriedades semelhantes às do óleo diesel (CORGOZINHO, 2009).

3.2 - BIODIESEL

A Lei nº 11.097, publicada em 13 de janeiro de 2005, introduziu o biodiesel na matriz energética brasileira e ampliou a competência administrativa da ANP (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis) que assumiu as atribuições de especificar e fiscalizar a qualidade dos biocombustíveis e garantir o abastecimento do mercado em defesa do interesse dos consumidores, executar as diretrizes do Conselho Nacional de Política Energética para os biocombustíveis. Dezenas de espécies vegetais presentes no Brasil podem ser usadas na produção do biodiesel, entre elas soja, dendê, girassol, babaçu, amendoim, mamona e pinhão-manso. Entretanto, o óleo vegetal *in natura* é bem diferente do biodiesel, que deve atender à especificação estabelecida pela Resolução ANP nº 7/2008 (ANP, 2016).

Biocombustíveis são derivados de biomassa renovável que podem substituir, parcial ou totalmente, combustíveis derivados de petróleo e gás natural em motores à combustão ou em outro tipo de geração de energia. Os dois principais biocombustíveis líquidos usados no Brasil são o etanol e o biodiesel, que é produzido a partir de óleos vegetais ou de gorduras animais e adicionado ao diesel de petróleo em proporções variáveis (ANP, 2016).

O biodiesel é formado por alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais, gorduras animais (TEIXEIRA *et al.*, 2010; TOMAZZONI *et al.*, 2014; ANP, 2016; MEIRA *et al.*, 2011) ou de óleos de cozinha reciclados (MEIRA *et al.*, 2011). É um combustível renovável, biodegradável destinado a ser utilizado em motores de compressão e é produzida pela transesterificação de triglicéridos, em geral, por catálise ácida ou básica, levando à formação de alquil-ésteres e glicerina para se tornar compatível com os motores a diesel, como mostra a Figura 1 (TOMAZZONI *et al.*, 2014; ANP, 2016; CORGOZINHO, 2009).

a indústria de biodiesel nos Estados Unidos) demonstraram que a queima de biodiesel pode emitir em média 48% menos monóxido de carbono; 47% menos material particulado (que penetra nos pulmões) e 67% menos hidrocarbonetos. Como esses percentuais variam de acordo com a quantidade de B100 adicionado ao diesel de petróleo, no B3 essas reduções ocorrem de modo proporcional. Desde 1º de novembro de 2014, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 7% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pelo Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), que aumentou de 5% para 7% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel. Os resultados demonstraram, até o momento, não haver a necessidade de qualquer ajuste ou alteração nos motores e veículos que utilizem essa mistura (ANP, 2016).

3.3 - GASOLINA

A gasolina é uma mistura complexa de hidrocarbonetos voláteis, no intervalo de C₅ a C₁₂ destilada entre 30 e 225 °C (POULSEN *et al.*, 1992; CETESB, 2000; AIRES *et al.*, 1999). Os componentes maiores são cadeias ramificadas de parafinas, cicloparafinas e compostos aromáticos, incluindo constituintes como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (denominados grupo BTEX), os quais representam os compostos mais solúveis e mais móveis encontrados na gasolina (POULSEN *et al.*, 1992; CETESB, 2000).

Não existe uma fórmula química específica que a defina. Sua composição pode ser extremamente variável, dependendo da origem e do tipo de petróleo que a gerou, dos processos utilizados no refino ou método de produção (ex. destilação ou fracionamento, quebra catalítica ou térmica, reformação e isomerização) e da existência ou não de aditivos (ex. corantes, agentes anti-ruídos, anti-oxidantes, desativadores de metais, inibidores de corrosão e volatilidade/aumento de octanos) que são adicionados para melhorar a octanagem da mistura. A composição da gasolina varia em diversos países do mundo e em diferentes estações do ano (CLINE *et al.*, 1991; CORSEUIL & MARINS, 1997). Esses compostos oxigenados, utilizados como aditivos, são éteres ou álcoois que não têm origem no petróleo. Esta adição de aditivos só aumenta a toxicidade dos agentes poluentes. A adição do álcool à gasolina se dá no momento em que esta é colocada no caminhão tanque para ser levada aos postos revendedores. O percentual de álcool anidro adicionado à gasolina é controlado pelo governo federal enquanto que os aditivos dependem de cada revendedor, variando o número de poluentes que dependem da fonte distribuidora do combustível (CORSEUIL & MARINS, 1997).

Derivados de petróleo, como diesel, gasolina etc. contem número de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, porfirinas e outros compostos de origem natural, que são fortemente fluorescentes (KUMAR & MISHRA, 2012).

3.4-DIESEL

O óleo diesel é uma mistura complexa, consiste basicamente por hidrocarbonetos saturados (parafínicos), insaturados (olefínicos) e aromáticos e, em menores quantidades, moléculas que contêm enxofre, nitrogênio, metais, oxigênio, etc. (TOMAZZONI *et al.*, 2014; GARCIA, 2002; SANTOS, 2000). As cadeias carbônicas são formadas principalmente por 10 a 19 átomos de carbono, sendo, portanto, um combustível mais “pesado” que a gasolina. A faixa de temperatura de ebulição do óleo diesel varia de 180 a 370 °C, aproximadamente (GARCIA, 2002; SANTOS, 2000).

Diesel é produzido durante a refinação do petróleo e formulado através da mistura de várias frações, tais como, gasóleos, nafta pesada, diesel leve e diesel pesado de diferentes estágios no processamento de petróleo bruto. As proporções destes componentes são ajustadas de forma a enquadrar o produto dentro das especificações e garantir um bom desempenho do motor (TOMAZZONI *et al.*, 2014; CORGOZINHO, 2009).

No sudeste da Ásia a adulteração de produtos de petróleo, principalmente diesel, tem sido um sério problema. Na Índia, grupos de pesquisadores vêm estudando técnicas analíticas para a detecção de adulteração de óleo diesel. Os principais produtos utilizados para adulterar são querosene e cicloexano, dentre outros. No Brasil, a adulteração de gasolina tem sido mais divulgada pela mídia. Entre outras formas de adulteração, a prática mais comum é a adição de álcool etílico, anidro ou não, em teores acima do especificado. Prática semelhante pode ocorrer com o diesel, no caso da mistura com o biodiesel. Num mercado com precedentes, a adição fraudulenta de óleo não esterificado pode vir a acontecer, inclusive, e principalmente, a adição de óleos residuais, como o óleo usado para fritura (CORGOZINHO, 2009).

3.5- ESPECTROSCOPIA ÓPTICA

Algumas técnicas, como a cromatografia gasosa, cromatografia líquida e espectroscopia FT-IR, são muitas vezes utilizados para investigar produtos petrolíferos

(WŁODARSKI *et al.*, 2013; FAN *et al.*, 2015). No entanto, estas técnicas precisam de preparação da amostra e são de custo e tempo elevados, de modo que não pode ser aplicado para a detecção de combustíveis *in situ* (FAN *et al.*, 2015).

Infravermelho (NIR, MIR), Fluorescência e Espectroscopia de Massa estão tendo aplicação na indústria do petróleo com sucesso. O fato da maioria destas técnicas não precisar de uma instalação de custo elevado e de exigir uma mínima preparação das amostras às tornam muito atraentes para a indústria (PANTOJA, 2010).

O rápido avanço da optoeletrônica contribuiu para o desenvolvimento da tecnologia de detecção em vários campos científicos. Sensores ópticos baseados em técnicas de fluorescência ou FT-IR estão se tornando cada vez mais importantes na medicina, na indústria e nas análises químicas devido à sua confiabilidade, sensibilidade e simplicidade. A indústria do petróleo tem uma grande demanda por métodos de análises químicas confiáveis e rápidas (WŁODARSKI *et al.*, 2013).

3.5.1- ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO UV- VIS

A técnica de absorção UV-Vis vem sendo bastante utilizada para avaliação de possíveis alterações de óleos e biodieséis (DANTAS, 2011; SOUZA, 2011). A radiação ultravioleta (200-400 nm) e visível (400-800 nm) provoca transições eletrônicas promovendo os elétrons ligantes (σ e π) e os não-ligantes (n) do estado fundamental para os estados excitados σ^* e π^* , denominados antiligantes, como ilustrado na Figura 2. A espectroscopia de absorção UV-Vis permite observar estas transições na forma de picos, cujas intensidades são proporcionais à probabilidade de ocorrência da transição e a concentração da molécula na amostra de estudo. Estes picos deveriam ser bem definidos, indicando uma única transição eletrônica, mas devido às associações dos estados vibracionais e rotacionais eles aparecem alargados formando bandas de absorção UV-Vis (SILVERSTEIN *et al.*, 1994).

As principais características de uma banda de absorção são a sua posição e sua intensidade. A posição de absorção corresponde ao comprimento de onda da radiação cuja energia é igual à necessária para que ocorra a transição eletrônica. Enquanto que, a intensidade de absorção depende de dois fatores: probabilidade de interação entre a energia radiante e o sistema eletrônico, e a diferença entre os estados fundamental e excitado (SILVERSTEIN *et al.*, 1994).

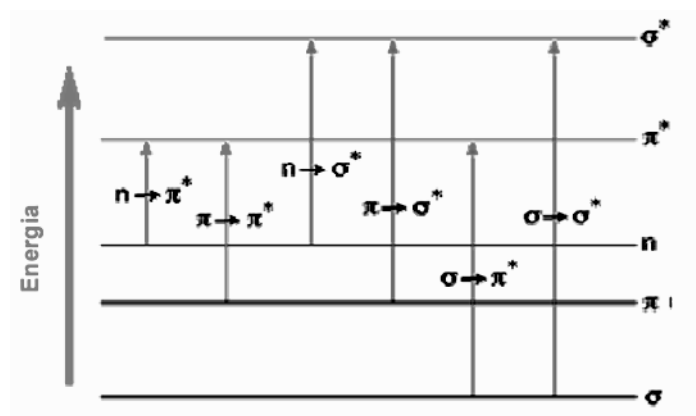


Figura 2. Diagrama dos vários tipos de excitação eletrônica que podem ocorrer em moléculas orgânicas.

3.5.1.1- A LEI DE LAMBERT - BEER

Experimentalmente, a eficiência de absorção de luz a um comprimento de onda λ por um meio absorvente é caracterizada pela $A(\lambda)$ absorvância ou transmitância a $T(\lambda)$, como definido:

$$A(\lambda) = \log \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} = -\log T(\lambda) \quad (1)$$

$$T(\lambda) = \frac{I_{\lambda}}{I_{\lambda}^0} \quad (2)$$

Onde I_{λ}^0 e I_{λ} são as intensidades de luz dos feixes que entram e saem do meio absorvente, respectivamente. Em muitos casos, a absorvância de uma amostra segue a lei de Lambert-Beer:

$$A(\lambda) = \log \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} = \varepsilon(\lambda)lc \quad (3)$$

Onde $\varepsilon(\lambda)$ é o coeficiente molar de absorção (geralmente expresso em $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$), c é a concentração de espécies absorventes (em mol L^{-1}) e l é o comprimento do percurso de absorção (espessura do meio de absorção) (em cm).

A não obediência à dependência linear da absorvância na concentração, de acordo com a Lei de Beer-Lambert, pode ser devido à formação de agregados em concentrações elevadas ou à presença de outras espécies de absorção (VALEUR, 2001).

3.5.2- ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA

Técnicas de análise com base na detecção de fluorescência são muito populares por causa de sua alta sensibilidade e seletividade, juntamente com as vantagens da resolução espacial e temporal, e da possibilidade de sensoriamento remoto usando fibras ópticas. Quando uma substância é fluorescente, detecção fluorimétrica direta é possível por meio de um espectrofluorômetro operando a comprimentos de onda de excitação e de observação adequadas. Este é o caso para os hidrocarbonetos aromáticos (por exemplo, em óleos brutos), proteínas (por exemplo, em soro de sangue, no leite de vaca), algumas drogas (por exemplo, morfina), clorofilas, etc. Numerosos campos de aplicação têm sido relatados: análise de poluentes do ar e da água, óleos, alimentos, medicamentos; monitoramento de processos industriais; monitoramento de espécies de relevância clínica; criminologia; etc (VALEUR, 2001). Os métodos baseados em espectroscopia de fluorescência são fáceis de usar e fornecer resultados rápidos e precisos (FAN *et al.*, 2015).

A análise de fluorescência é uma técnica muito sensível devido à capacidade de se detectar o sinal proveniente de moléculas quando excitadas por um comprimento de onda específico. É também uma técnica bastante seletiva, uma vez que ambos os comprimentos de onda, de excitação e emissão, dependem do mesmo composto de interesse, fazendo com o que o sinal de fluorescência coletado seja característico para cada molécula em estudo. Variações neste sinal representam mudanças no caminho percorrido durante o decaimento do estado excitado e podem indicar as transformações eventuais sofridas pela molécula (GARBIN, 2004).

Técnicas espectrofluorimétricas são amplamente utilizadas para caracterização e detecção de adulteração de derivados de petróleo; identificação e classificação de óleo cru, detecção de HPAs em água e para a classificação e caracterização de óleos comestíveis (CORGOZINHO, 2009).

Espectrofluorimetria também foi recentemente usada para prever a estabilidade à oxidação de óleos e biodiesel que, apoiado com análise multivariada de dados, mostrou forte correlação com métodos de referência comumente usados. As vantagens de espectroscopia de fluorescência, tais como a simplicidade, rapidez e baixo custo, e facilidade para a implementação de sistemas de monitorização on-line, sugerem que este método pode ser um método analítico poderoso para a avaliação da estabilidade à oxidação de óleos e biodiesel (WŁODARSKI *et al.*, 2013).

A espectroscopia de fluorescência esta sendo amplamente usada na indústria do petróleo para análises e classificação de diferentes amostras. Parâmetros de fluorescência típica (intensidade, comprimento de onda de emissão, tempo de vida) têm sido relacionados com as características físicas do petróleo, tais como composição química, densidade e viscosidade (PANTOJA, 2010).

Espectroscopia de fluorescência desempenha um papel muito importante em muitos campos. A grande vantagem deste método é a elevada sensibilidade que permite a detecção dos oligoelementos das substâncias (WŁODARSKI, M. *et al.*, 2013).

A fluorescência é a propriedade de uma substância (fluoróforo) de emitir luz quando é exposta a radiação. O processo de fluorescência consiste na absorção de energia por um elétron, passando do estado fundamental (S_0) para o estado excitado (S_1); este elétron ao retornar ao estado fundamental é acompanhado pela liberação de energia em excesso através da emissão de radiação (PANTOJA, 2010).

Uma vez que uma molécula é excitada pela absorção de um fóton, ele pode retornar ao estado fundamental com a emissão de fluorescência, mas muitos outros caminhos para desexcitação também são possíveis: conversão interna (ou seja, retorno direto para o estado fundamental, sem emissão de fluorescência), cruzamento intersistemas (possivelmente seguido por emissão de fosforescência), transferência de carga intramolecular e mudança conformacional. Interações no estado excitado com outras moléculas também podem competir com desexcitação: transferência de elétrons, transferência de prótons, transferência de energia e formação excimer ou exciplex (VALEUR, 2001).

O processo total envolvido é muito curto (10^{-8} seg.) e este tempo é a principal diferença da fosforescência. O fenômeno é mostrado através do diagrama de Jablonski (Figura 3), que explica o processo entre a luz de absorção e emissão. O diagrama ilustra os estados energéticos de uma molécula e as transições entre eles. Os estados são arranjados verticalmente por energia e agrupados horizontalmente por multiplicidade de spin. Os estados fundamentais vibracionais de cada estado eletrônico são indicados por linhas grossas e os estados vibracionais mais altos por linhas mais finas. A molécula em estado fundamental (S_0) é a que absorve a radiação eletromagnética e é promovida a um estado excitado (S_1). A estabilidade do estado excitado depende do entorno em que a molécula esteja (PANTOJA, 2010).

O diagrama Perrin-Jablonski é conveniente para visualizar de forma simples os possíveis processos: de absorção de fótons, de conversão interna (IC), fluorescência,

cruzamento intersistemas (ISC), fosforescência, fluorescência e transições tripleto-tripletto (VALEUR, 2001).

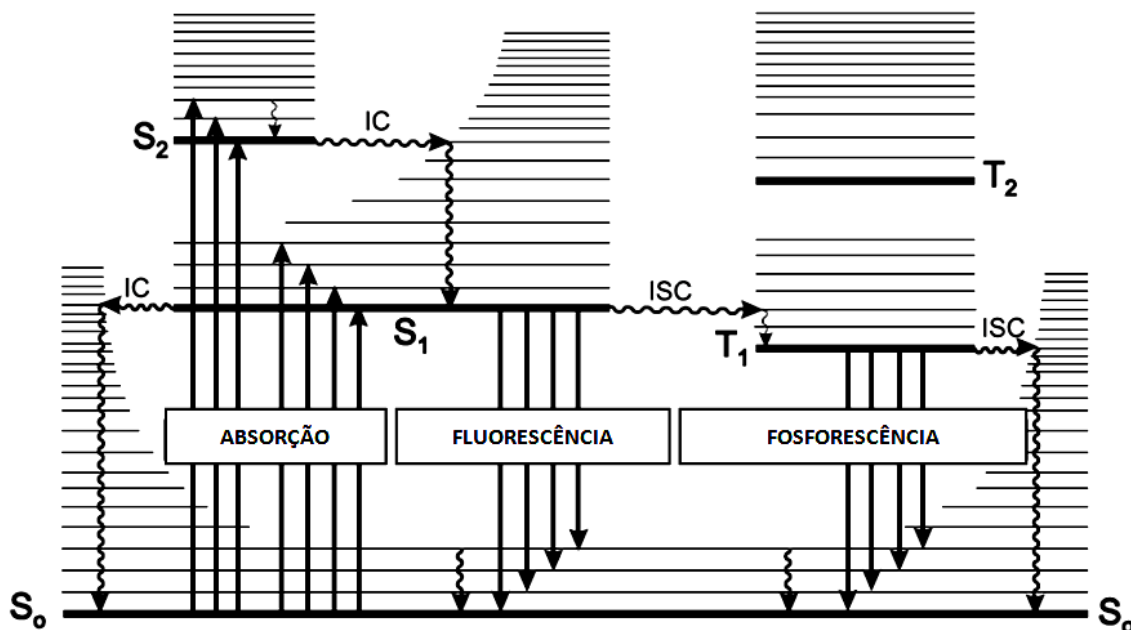


Figura 3. Diagrama de Perrin-Jablonski. Fonte: Valeur, 2001.

Os estados eletrônicos singletos são denotados S₀ (estado eletrônico fundamental), S₁, S₂ e os estados tripletos, T₁; T₂. Níveis de vibração estão associados a cada estado eletrônico. É importante notar que a absorção é muito rápida ($\approx 10^{-15}$ s) no que diz respeito a todos os outros processos.

As setas verticais correspondentes ao início de absorção a partir do nível mais baixo de energia vibracional S₀, porque a maioria das moléculas está neste nível, à temperatura ambiente. A absorção de um fóton pode levar uma molécula a um dos níveis de vibração S₁, S₂, etc. (VALEUR, 2001).

O estado fundamental de uma molécula caracteriza-se pela configuração de menor energia que seus elétrons podem ocupar, ou seja, é o estado mais estável em que a molécula pode permanecer. Com energias acima do estado fundamental existem diversos outros níveis, denominados estados excitados, os quais podem ser acessados quando a molécula recebe um valor de energia equivalente à diferença de energia entre estes estados e o estado fundamental. Em cada um destes estados existem diversos níveis de energia vibracional.

Cerca de 10^{-12} s depois ocorre a relaxação vibracional, um processo de decaimento não radiativo, que leva o elétron de menor energia vibracional do estado eletrônico em que ele se encontra. O tempo de vida deste estado excitado é da ordem de

10^{-9} s e durante este período podem ocorrer reações químicas com a molécula (BARROW, 1962).

A molécula pode continuar perdendo energia por processos não radiativos até que o elétron excitado retorne ao estado fundamental ou o elétron pode emitir a diferença de energia na forma de radiação. Esta emissão é chamada fluorescência e terá sempre uma energia menor que a energia de excitação da molécula devido à relaxação vibracional e a outros processos radiativos que possam ocorrer (GARBIN, 2004).

O espectro típico de fluorescência (espectro de emissão, EM) se obtém mantendo fixo o comprimento de onda de excitação (λ_{exc}) enquanto o comprimento de onda de emissão (λ_{em}) é verificado ao longo de um determinado intervalo. Se este processo é repetido para várias longitudes de onda de excitação se obtém o mapa em três dimensões, denominado espectro de fluorescência total (EFT) (PANTOJA, 2010). A Fluorescência em Matriz de Excitação-Emissão (EEM) produz o espectro de fluorescência de uma amostra em vários comprimentos de onda de excitação e fornece uma "impressão digital" que consiste de um diagrama tridimensional da emissão, de excitação e de intensidade de fluorescência (KUMAR & MISHRA, 2012) os quais possibilitam atribuir uma identidade para cada óleo, por exemplo. Desta forma pode-se pressupor qual a origem de um determinado óleo, ou seja, sua fonte vegetal, uma vez que cada óleo possui composição química própria (SIKORSKA, 2005).

Esta técnica analítica pode ser útil não só na caracterização de misturas, mas também na detecção de agentes indesejáveis. Dos espectros de emissão molecular são extraídas informações qualitativas e quantitativas, sendo que a intensidade da radiação emitida pela amostra é proporcional à concentração de uma determinada espécie (CORGOZINHO, 2009).

3.5.3- ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA RESOLVIDA NO TEMPO

O conhecimento da dinâmica dos estados excitados é da maior importância na compreensão dos processos fotofísicos, fotoquímicos e fotobiológicos, podendo fornecer informações sobre reações moleculares, formação de dímeros, excímeros, transferência de energia, distâncias moleculares, difusão rotacional e também revelando detalhes sobre o microambiente do fluoróforo (VALEUR, 2001).

Duas técnicas resolvidas no tempo, fluorimetria por pulso e fluorimetria por modulação em fase, são comumente usadas para descobrir os tempos de vida; ou de

uma forma mais geral, os parâmetros característicos da resposta por pulso δ de uma amostra fluorescente (a resposta de um pulso de luz infinitamente curto expresso como uma função δ de Dirac) (VALEUR, 2001). Fluorimetria de pulso, que se refere a medições realizadas no domínio do tempo e fluorimetria por modulação em fase, relativa ao domínio da frequência (LAKOWICZ, 2002; VALEUR, 2001).

Muito tem sido escrito sobre os méritos relativos do uso de métodos no domínio do tempo e no domínio da frequência para determinar tempos de vida de fluorescência. Deve ser reconhecidas que ambas as abordagens são naturalmente complementares, uma vez que contêm um conteúdo de informação comum, isto é, características de decaimento da fluorescência da amostra. Além disso, a resposta de fluorescência no domínio da frequência pode ser obtida a partir da transformada de Fourier da resposta de impulso no domínio do tempo, e vice-versa (LAKOWICZ, 2002).

Fluorimetria por pulso usa um pulso de luz de excitação curto e apresenta a resposta de pulso δ da amostra após convolução do instrumento. Fluorimetria por modulação em fase usa luz modulada a frequências variáveis e apresenta a resposta harmônica da amostra, que é a transformada de Fourier da resposta de pulso δ . Fluorimetria por pulso e fluorimetria por modulação em fase são teoricamente equivalentes, mas os princípios dos instrumentos são diferentes (Figura 4) (VALEUR, 2001).

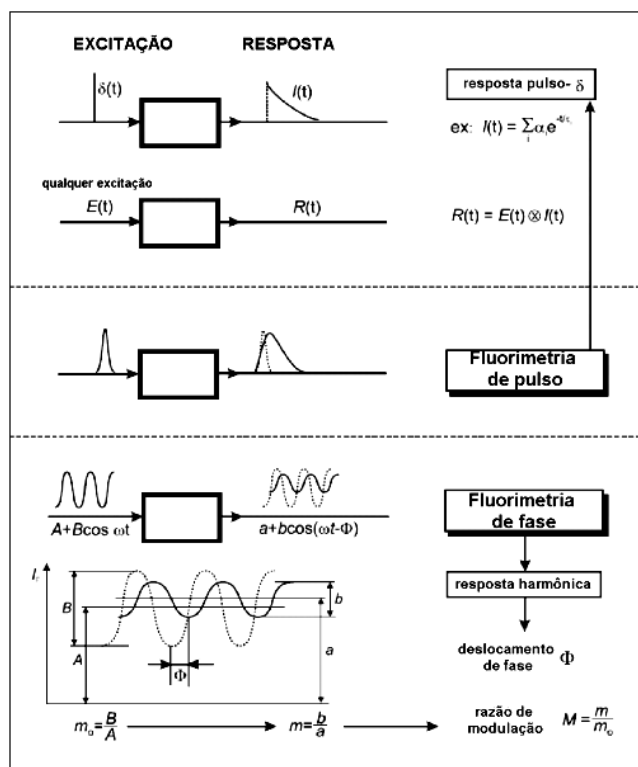


Figura 4. Princípios de fluorimetria resolvida no tempo (modificado de VALEUR, 2001).

3.5.3.1-FLUORIMETRIA POR PULSO

A amostra é excitada por um pulso de luz curto e a resposta da fluorescência é apresentada como uma função do tempo. Se a duração do pulso é longa em relação às constantes de tempo do decaimento da fluorescência, a resposta da fluorescência será dada por um produto de convolução, dado por:

$$R(t) = E(t) \otimes I(t) = \int_{-\infty}^t E(t')I(t-t')dt' \quad (4)$$

A intensidade da fluorescência aumenta, passa por um máximo e torna-se idêntica a verdadeira resposta de pulso $\delta, i(t)$, tão rápido que a intensidade do pulso de luz é desprezada. Neste caso, a análise dos dados para a determinação dos parâmetros característicos da resposta de pulso δ requer a deconvolução da resposta de fluorescência. Suponhamos que uma amostra contendo um fluoróforo é excitada com um pulso de luz infinitamente curto resultando em uma população inicial N_0 de fluoróforos no primeiro estado excitado singleto. A população no estado excitado decai a uma taxa $k_r + k_{nr}$ de acordo a equação (VALEUR, 2001).

$$\frac{dN(t)}{dt} = -(k_r + k_{nr}) \cdot N(t) \quad (5)$$

sendo $N(t)$ o número de moléculas excitadas no tempo t , k_r a taxa radiativa (fluorescência ou fosforescência), e k_{nr} a taxa de decaimento não radiativa. A emissão é um evento aleatório, e cada fluoróforo tem a mesma probabilidade de emitir em um dado período de tempo. Integrando a equação 5, obtemos um decaimento exponencial da população excitada, da seguinte forma (VALEUR, 2001).

$$N = N_0 \cdot \exp(-t/\tau) \quad (6)$$

Como a intensidade radiativa (I) é proporcional a $N(t)$ podemos expressá-la como

$$I = \alpha \cdot \exp(-t/\tau) \quad (7)$$

Sendo $\tau = (K_r + k_{nr})^{-1}$ o tempo de vida e α a intensidade no tempo zero. O tempo de vida de fluorescência é geralmente igualado ao tempo requerido para a intensidade decair 63.21% (1/e) de seu valor inicial. Comumente, o tempo de vida é determinado a partir

do coeficiente angular do gráfico $\log I(t)$ versus t (Figura 5). Para um decaimento multi-exponencial com n componentes, a resposta de pulso δ é (VALEUR, 2001; FAN *et al.*, 2015):

$$I(t) = \sum_{i=1}^n \alpha_i \cdot \exp(-t/\tau_i) \quad (8)$$

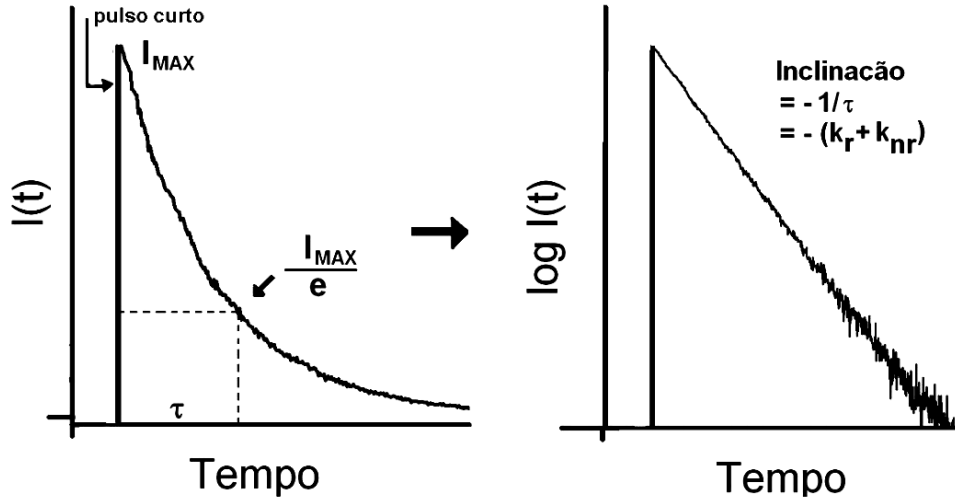


Figura 5. Descrição esquemática de uma curva de decaimento de fluorescência utilizando o método por pulso (modificado de LAKOWICZ, 2006).

Observe que a intensidade fracionária da componente i , isto é, a contribuição fracionária da componente i para a intensidade estacionária, é

$$f_i = \frac{\int_0^{\infty} I_i(t) \cdot dt}{\int_0^{\infty} I(t) \cdot dt} = \frac{\alpha_i \cdot \tau_i}{\sum_{i=1}^n \alpha_i \cdot \tau_i} \quad \sum_{i=1}^n f_i = 1 \quad (9)$$

Quando o decaimento da fluorescência de um fluoróforo é multiexponencial, o caminho natural de definição de um tempo médio de decaimento (ou tempo de vida) é

$$\langle \tau \rangle = \frac{\int_0^{\infty} t \cdot I(t) \cdot dt}{\int_0^{\infty} I(t) \cdot dt} \quad (10)$$

$$\langle \tau \rangle = \frac{\sum_{i=1}^n \alpha_i \cdot \tau_i^2}{\sum_{i=1}^n \alpha_i \cdot \tau_i} = \sum_{i=1}^n f_i \cdot \tau_i \quad (11)$$

Nesta definição, cada tempo de decaimento é ponderado pela intensidade fracionária correspondente. Esta média é chamada de tempo de decaimento com média nas intensidades (ou tempo de vida). Outra possibilidade é usar as amplitudes (fatores pré-exponenciais) como pesos (VALEUR, 2001):

$$\langle \tau \rangle = \frac{\sum_{i=1}^n \alpha_i \cdot \tau_i}{\sum_{i=1}^n \alpha_i} = \sum_{i=1}^n a_i \cdot \tau_i \quad (12)$$

Onde α_i representa as amplitudes fracionárias

$$a_i = \frac{\alpha_i}{\sum_{i=1}^n \alpha_i} \quad \text{Com } \sum_{i=1}^n a_i = 1 \quad (13)$$

Esta média é chamada tempo de decaimento com média nas amplitudes (ou tempo de vida). A definição usada depende do fenômeno em estudo. Por exemplo, o tempo de vida com média nas intensidades deve ser usado para o cálculo de uma constante de supressão média colisional; enquanto que em experimentos de transferência de energia ressonante, o tempo de decaimento com média nas amplitudes ou tempo de vida deve ser usado para o cálculo da eficiência da transferência de energia (VALEUR, 2001).

3.5.3.2-FLUORÍMETRO DE CONTAGEM DE FÓTON ÚNICO

A fluorimetria de pulso é a técnica mais popular para a determinação de tempos de vida (ou parâmetros de decaimento). Muitos instrumentos são baseados no método de contagem de fóton único correlacionado no tempo (TCSPC – timecorrelated single-photon counting), ou simplesmente contagem de fótons. O princípio básico se fundamenta no fato de que a probabilidade de detecção do primeiro fóton no tempo t

depois de um pulso de excitação é proporcional à intensidade de fluorescência naquele tempo. Após a contagem e gravação dos primeiros fótons detectados depois de um grande número de pulsos de excitação, a curva de decaimento da intensidade de fluorescência é reconstruída. A Figura 6 mostra um instrumento convencional de contagem de fóton único. A fonte de excitação pode ser uma lâmpada de flash ou um laser. Um pulso elétrico associado com o pulso ótico é gerado e dirigido – através de um discriminador – para a entrada do sinal de início do conversor de tempo em amplitude (TAC – time-to-amplitude converter). Nesse tempo, a amostra é excitada pelo pulso ótico e emite fluorescência. O sistema ótico é ajustado de modo que o fotomultiplicador não detecte mais que um fóton por cada pulso de excitação. O correspondente pulso elétrico é dirigido – através de um discriminador – para a entrada do sinal de parada do TAC. Este último gera um pulso de saída cuja amplitude é diretamente proporcional ao intervalo de tempo entre os pulsos de início e parada. O intervalo de tempo é convertido em um valor digital por meio de um conversor analógico-digital (VALEUR, 2001).

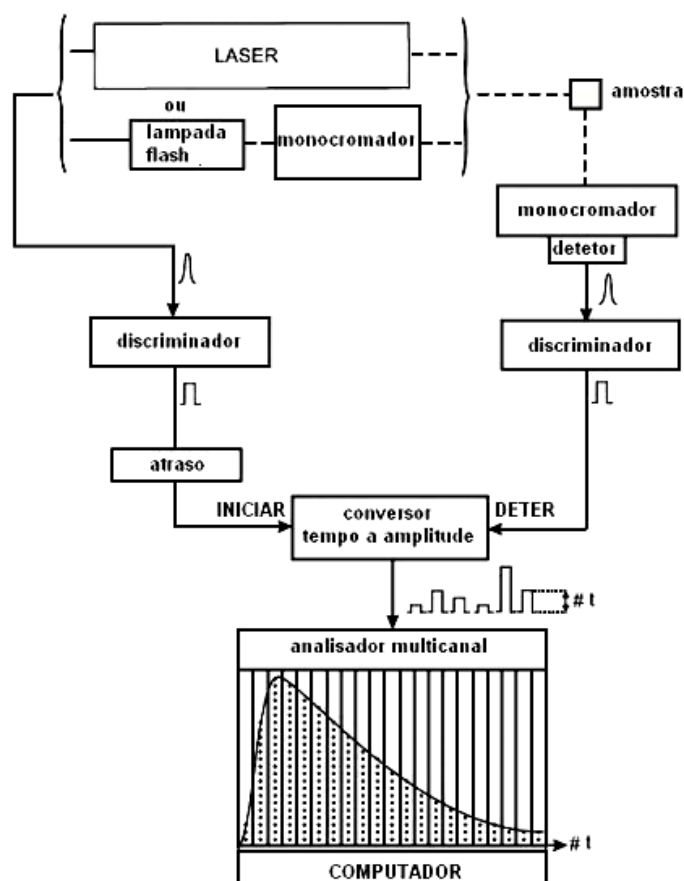


Figura 6. Diagrama esquemático de um fluorímetro de contagem de fóton único (modificado de VALEUR, 2001).

O analisador multicanal aumenta de uma unidade o conteúdo da memória do canal correspondente ao valor digital do pulso detectado. Depois de um grande número de eventos de excitação e detecção, é montado um histograma das alturas dos pulsos detectados que representa a curva de decaimento da fluorescência. Obviamente, quanto maior o número de eventos, mais precisa será a curva de decaimento da fluorescência. A precisão depende da complexidade da resposta de pulso δ do sistema, por exemplo, uma alta precisão é necessária para recobrir uma distribuição de tempos de decaimento. As fontes luminosas disponíveis fornecem pulsos de diferentes intervalos de duração. Como consequência, o decaimento de fluorescência observado deve ser corrigido pela largura do pulso da lâmpada. Este procedimento é denominado deconvolução espectral. Quando a deconvolução é requerida, o perfil temporal do pulso de excitação da lâmpada é medido pela substituição da amostra por outra, nas mesmas condições, contendo uma solução espalhadora (Ludox, sílica coloidal, ou glicogênio). Esta dificuldade causada pela largura do pulso pode ser minimizada pelo uso de lasers com pulsos de curta duração (picosegundos) (VALEUR, 2001).

CAPÍTULO 4

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 - PRODUÇÃO DO BIODIESEL

O biodiesel foi produzido por transesterificação do óleo de soja comercial Liza[®] pela rota metílica. Processo ilustrado no fluxograma da Figura 7. Sendo a proporção de óleo/álcool 1:6 e catalisador (hidróxido de potássio) 2% em relação ao óleo. O metóxido de potássio foi preparado à temperatura ambiente adicionando hidróxido de potássio ao metanol sob agitação. O óleo em agitação mecânica foi aquecido a 50 °C, momento em que o metóxido de potássio foi adicionado. A mistura foi agitada por 2 h para garantir a completa transesterificação do óleo. O resultante foi transferido para um funil de decantação e mantido por 24h. A mistura reacional formou duas fases, a superior biodiesel e a inferior glicerina, como na Figura 8.

A fase superior, contendo o éster, foi lavada com uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio (NaCl) por duas vezes para melhorar a separação de água residual e éster. A amostra foi rotaevaporada a 70 °C sob vácuo moderado a fim de eliminar traços de álcool que não reagiu e que não foi removido na etapa anterior (FROEHNER & LEITHOLD, 2007). O líquido foi filtrado em filtro de papel qualitativo com sulfato de magnésio anidro para retirar água remanescente. O biodiesel resultante foi armazenado em frascos ao abrigo da luz, mantidos em refrigeração.

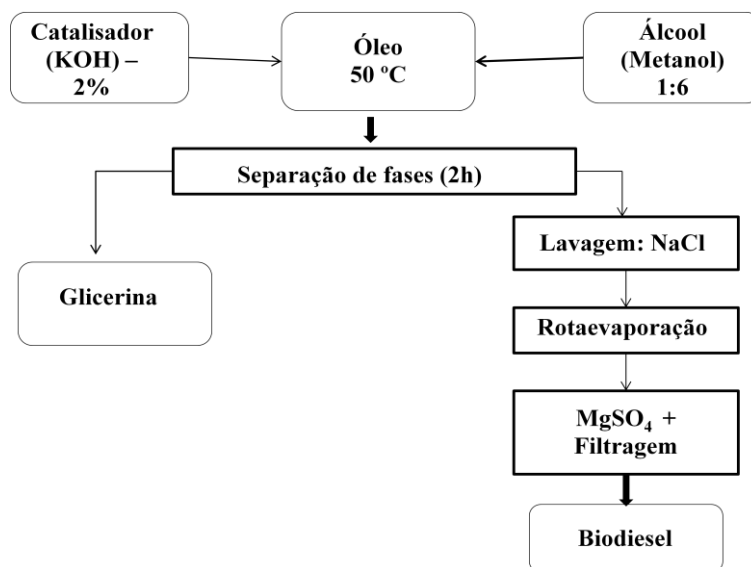


Figura 7. Fluxograma do processo de produção do biodiesel. Fonte: modificado de PARENTE, 2003.

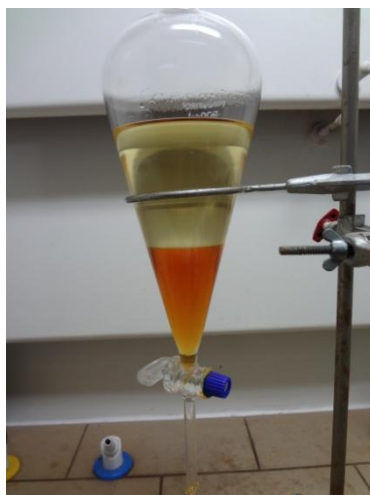


Figura 8. Separação das fases biodiesel e glicerina. Fonte: Acervo pessoal.

4.2 - PREPARAÇÃO DAS MISTURAS

Para a preparação das blendas, foi utilizado diesel e gasolina obtidos junto a Taurus Petróleo Ltda., óleo de soja comercial (Liza[®]) e biodiesel produzido do mesmo. As amostras binárias foram preparadas com massa de 15 g, aumentando a porcentagem em 10% (m/m) de uma para outra totalizando 11 amostras (de 0 a 100% para cada blenda), como mostra a Figura 9, abaixo. Onde D significa diesel, G: gasolina B: biodiesel, O: óleo. Da mesma forma que DGx: Blenda diesel-gasolina; DBx: blenda diesel-biodiesel; DOx: blenda diesel-óleo; GBx: blenda gasolina-biodiesel; GOx: blenda gasolina-óleo e OBx: blenda óleo-biodiesel. Todas as amostras foram mantidas em frascos âmbar ao abrigo da luz.

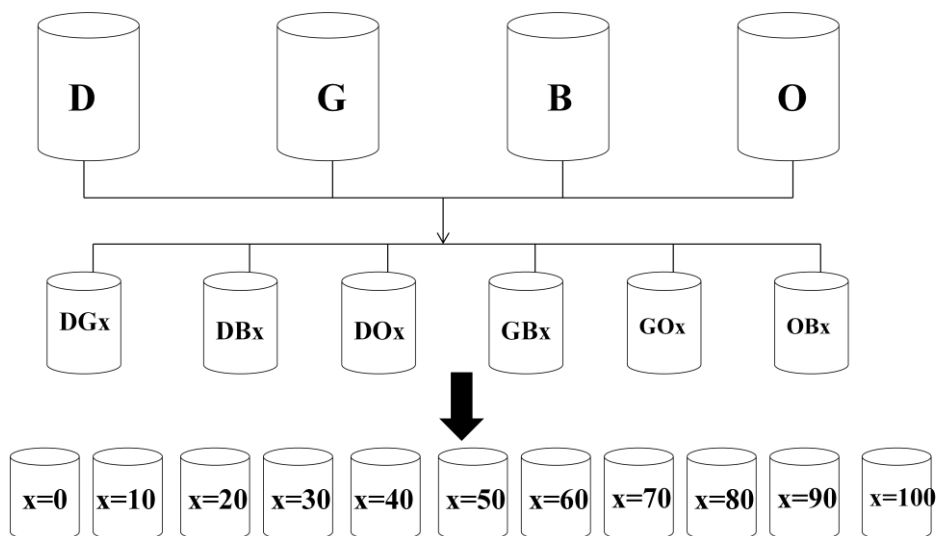


Figura 9. Esquema da preparação das blendas.

4.3 - ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO UV- VIS

As medições de absorção molecular foram feitas por um espectrofotômetro (Cary 50 – Varian[®]), apresentado na Figura 10, do Laboratório de Espectrometria e Cromatografia Aplicada (LECA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). O espectrofotômetro de absorção molecular tem como fonte de excitação uma lâmpada pulsada de Xenônio, um monocromador Czerny-Turner 0,25 m e um detector de diodo de Si. As amostras foram diluídas em hexano (HPLC) em concentração de 0,059% (m/m) e depositadas em uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm com quatro faces polidas. Os espectros foram obtidos no intervalo de 200 a 500 nm.



Figura 10. Espectrofotômetro Cary 50 – Varian[®] Fonte: acervo pessoal.

4.4 -ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA ESTACIONÁRIA

Os mapas de contorno foram obtidos em espectrofluorímetro (Cary Eclipse – Varian), apresentado na Figura 11, do Grupo de Óptica Aplicada (GOA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). O espectrofluorímetro possui como fonte de excitação uma lâmpada pulsada de Xenônio (80 Hz), com a largura a meia altura do pulso de aproximadamente 2 μ s e potência de pico equivalente a 75 KW; dois monocromadores, um para a seleção do comprimento de onda de excitação e outro para a seleção do comprimento de onda emitido pela amostra. A detecção da fluorescência é feita por um tubo fotomultiplicador (R928). Excitando as amostras entre 300 e 500 nm e coletando a emissão entre 350 nm e 750 nm. Utilizou-se cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm e quatro faces polidas. Os espectros foram obtidos com a configuração da geometria do ângulo de 90° entre o feixe de excitação e emissão á temperatura ambiente.

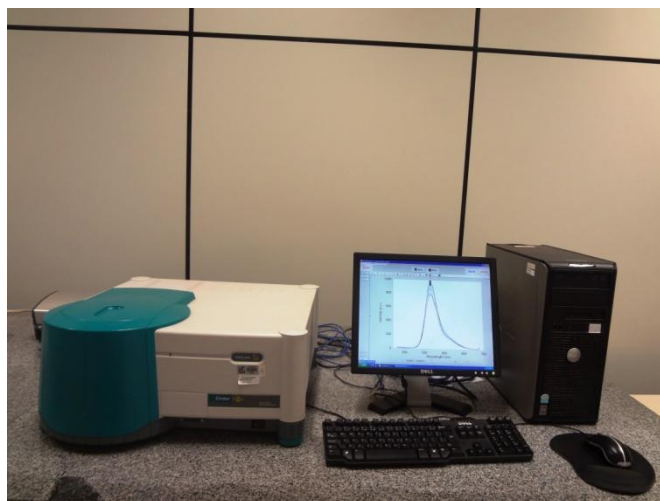


Figura 11. Espectrofluorímetro Cary Eclipse – Varian. Fonte: Acervo pessoal.

4.5- ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA RESOLVIDA NO TEMPO

Os dados de tempo de vida foram coletados por um espectrofluorímetro FluoTime100 (PicoQuant, Berlim, Alemanha), como o apresentado na Figura 12, do Grupo de Óptica Aplicada (GOA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Foram usados 4 mL de cada mistura e as mesmas foram submetidas a pulsos de excitação nos comprimentos de onda de 280 e 635 nm com frequência de excitação de 10 MHz.

Para o comprimento de onda de excitação de 280 nm utilizou-se LED com largura espectral menor que 20 nm e largura de pulso de 900 ps. Já para a excitação em 635 nm foi utilizado um laser de diodo com largura espectral de 8 nm e largura de pulso de 90 ps. Os tempos de vida médios foram calculados pela deconvolução dos dados de decaimento usando o programa FluoFit (PicoQuant).



Figura 12. Espectrofluorímetro FluoTime100 -PicoQuant. Fonte: Site PicoQuant - FluoTime100.

CAPÍTULO 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- CARACTERIZAÇÃO ÓPTICA

Os espectros de absorção dos compostos estudados podem ser observados na Figura 13. Sendo características bandas de 220 a 250 nm e 255 a 320 nm para óleo e biodiesel de soja, observando apenas uma diminuição na banda de absorção do biodiesel em relação à banda do óleo; e banda de 240 a 320 nm para gasolina e 245 a 350 nm para diesel.

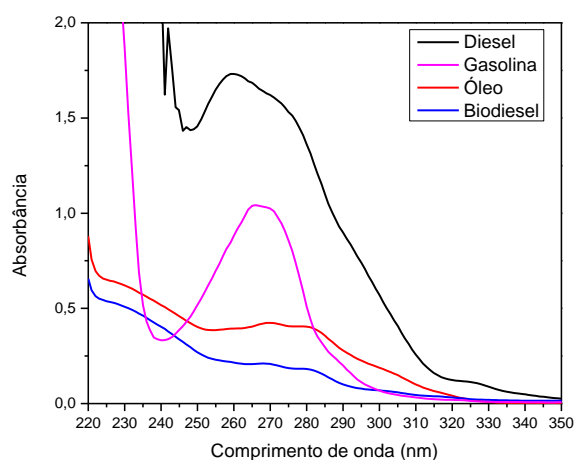


Figura 13. Espectros de absorção de diesel, gasolina, óleo e biodiesel.

Segundo SCHERER (2011), amostras de óleo e biodiesel de soja e diesel apresentam absorção na mesma região espectral. Entretanto, a absorção do diesel é aproximadamente 10 vezes mais intensa que as observadas para o óleo e o biodiesel. Além dessa diferença em relação à intensidade, os grupos moleculares responsáveis pela absorção da luz são distintos. No caso do óleo de soja e do biodiesel, a presença de uma banda entre 250 a 320 nm é atribuída aos cromóforos (dienos, aldeídos cetônicos) característicos do óleo vegetal. As bandas que aparecem tanto para o óleo vegetal quanto para o biodiesel são devido às duplas ligações isoladas carbono-carbono presentes nos ácidos graxos, revelando transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ correspondentes a componentes ou grupos cromóforos.

MAGALHÃES e colaboradores (2014) investigaram as moléculas responsáveis pela absorção de vários biodieseis, sobre os dados obtidos pelo padrão de linolenato de metila presente no biodiesel e óleo de soja concluem que a absorção intensa abaixo de 200 nm é devido à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ na ligação dupla carbono-carbono. A banda de

absorção em torno de 215 nm é relacionada com a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da ligação carbono-carbono não conjugada, enquanto que a absorção cerca de 235 nm pode ser atribuído a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ em dieno conjugado. Trienos conjugados mostram absorção abrangendo 250-300 nm. Por sua vez, a presença de tetraeno conjugado no linoleato de metila padrão é claramente sugerida pelas bandas de absorção em cerca de 300 e 315 nm.

Já para diesel e gasolina, a absorção na região do ultravioleta (entre 240 e 320 nm) é devida principalmente aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), que apresenta uma banda de absorção bem definida em torno de 260 nm, as bandas de absorção destas moléculas também estão associadas ao sistema de elétrons π . Os espectros de absorção no ultravioleta revelaram transições $\pi \rightarrow \pi^*$ decorrente da conjugação de anéis benzênicos (SCHERER, 2011).

Para observar as regiões de emissão de fluorescência obtivemos mapas de contorno de excitação/emissão, apresentados na Figura 14. Para amostras de óleo e biodiesel de soja, quando excitados em intervalo de 230 – 260 nm e 375 – 400 nm há emissão de fluorescência de 400 – 550 nm e 650 – 700 nm, respectivamente. Para a amostra de diesel com excitação entre 375 -500 nm e emissão entre 400-550 nm e gasolina com excitação entre 325- 450 nm e emissão entre 350-450 nm.

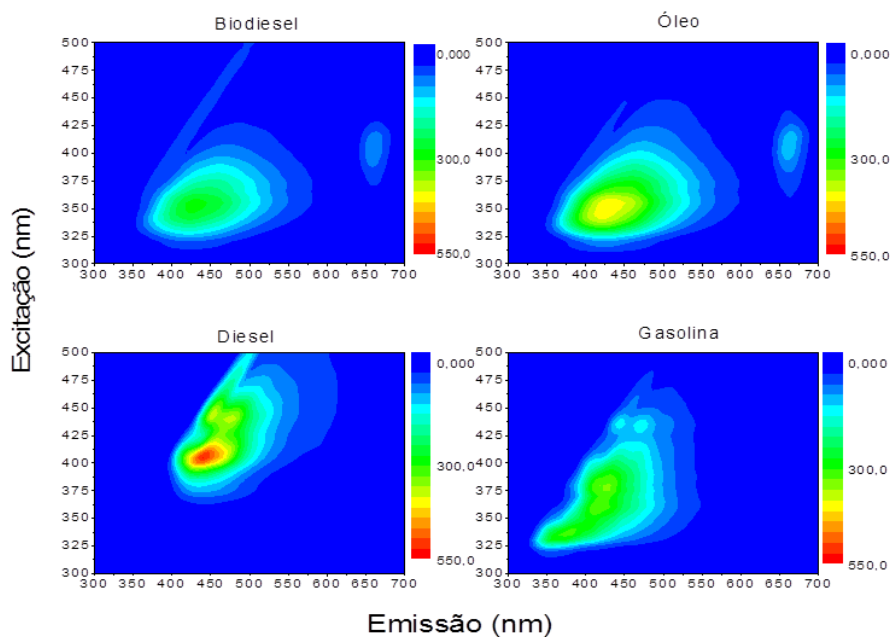


Figura 14. Mapas de contorno excitação/emissão de óleo e biodiesel de soja, diesel e gasolina

MAGALHÃES e colaboradores (2014) analisaram os fluoróforos presentes em biodieseis, dentre eles o de soja, a presente investigação não detectou a fluorescência do biodiesel sob excitação UV, como resultado da presença de clorofilas, tocoferóis, carotenóides ou ácidos graxos livres. Por sua vez, as moléculas de tetraenos conjugados, que podem ser formadas a partir da degradação de moléculas não saturadas tais como linolenato de metila, de modo que, a fluorescência visível das amostras de biodiesel na gama de 350- 500 nm foi atribuída a tais impurezas. Já a banda entre 640 a 700 nm (menos intensa) é característica da fluorescência de pigmentos de clorofila, que inclui clorofilas a e b (SIKORSKA, 2003).

Todavia, é esperada uma emissão menos intensa do biodiesel quando comparado com o óleo de origem, pode-se atribuir a redução de intensidade de fluorescência do óleo para o biodiesel à diminuição da viscosidade do meio (CHIMENEZ, 2012).

Esse efeito pode estar relacionado à viscosidade do meio, pois o biodiesel é menos viscoso em relação ao óleo o que possibilita um maior número de colisões entre as moléculas do meio diminuindo o rendimento quântico da fluorescência (LIMA, 2014).

A viscosidade é um parâmetro que afeta o rendimento quântico de fluorescência de compostos fluoróforos. Em ambiente viscoso a molécula não apresenta distorções necessárias para produzir um decaimento não radiativo, na forma, por exemplo, de vibrações, logo o decaimento eletrônico se processa de forma radiativa. Em ambiente menos viscoso a molécula possui maior liberdade de forma que rotações e vibrações se tornam mais efetivas, o que resulta na diminuição da intensidade de fluorescência. Portanto pode se atribuir a redução de intensidade de fluorescência do óleo para o biodiesel à diminuição da viscosidade do meio. Podemos notar que os espectros de absorção do óleo e do biodiesel ocorrem na mesma região espectral, portanto pode-se inferir que os grupos fluoróforos do biodiesel e do óleo são os mesmos (CHIMENEZ, 2011).

Nas regiões de emissão de 350 – 450 nm, característico da gasolina, diz SIMONATO (2010) que o espectro de fluorescência da gasolina indica a presença dos hidrocarbonetos. Para o diesel, com emissão em 400 - 450 nm segundo CAIRES e colaboradores (2012) as bandas de emissão observadas são, principalmente, devido aos compostos aromáticos no combustível.

Foram utilizados os comprimentos de excitação de 280, 400 e 635 nm nas medidas de Fluorescência Resolvida no Tempo, mas obtivemos bons resultados apenas

com os pulsos em 280 e 635 nm, como mostra a Figura 15. O tempo de vida médio (τ_m) de cada uma das amostras é expresso na Tabela 2.

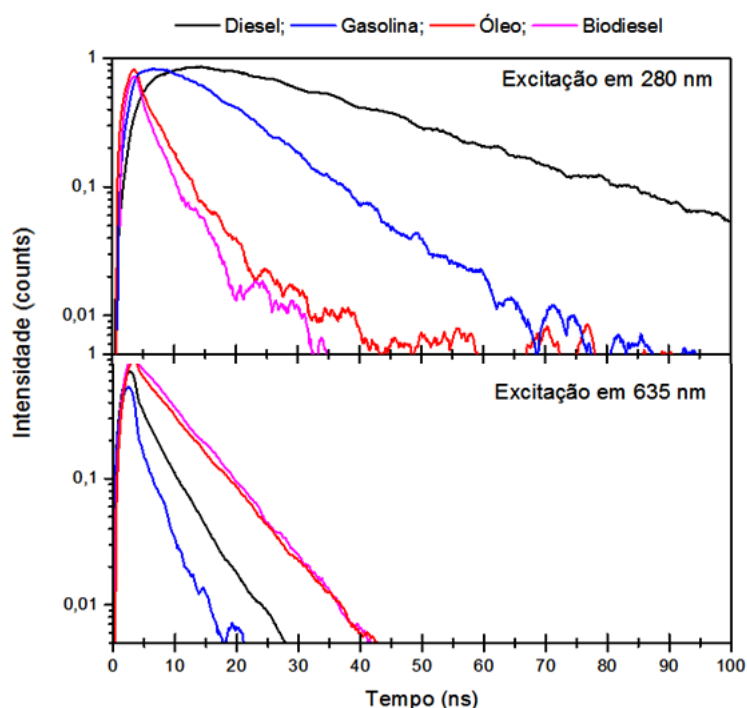


Figura 15. Tempo de vida médio de fluorescência (ns) x Intensidade de fluorescência em comprimentos de onda de excitação de 280 nm e 635 nm para óleo e biodiesel de soja, diesel e gasolina.

É possível ver a semelhança no decaimento de fluorescência nas amostras de óleo e biodiesel, nos dois comprimentos de onda de excitação. As amostras apresentam tempo de decaimento mais longo em pulso de 280 nm. Com pulso em 635 nm podemos separar as amostras em 40 ns, o que em 280 ns levaria mais que o dobro de tempo.

Tabela 2. Tempos de vida médios para óleo e biodiesel de soja, diesel e gasolina para os comprimentos de onda de excitação de 280 e 635 nm.

	280 nm	635 nm
	τ_m (ns)	τ_m (ns)
Diesel	29,24	4,73
Gasolina	12,63	2,90
Óleo	2,51	7,49
Biodiesel	3,25	7,11

5.1.1-BLENDA DIESEL –BIODIESEL E DIESEL – ÓLEO (DB E DO)

Na blenda diesel-biodiesel (DBX) X representa a porcentagem em massa de biodiesel em diesel, na blenda diesel-óleo (DOX) X representa a porcentagem de óleo em diesel. Analisada por Espectroscopia de Absorção UV-Vis, DB e DO apresentam uma banda características entre 255 a 330 nm, como mostrado na Figura 16a e Figura 16b, respectivamente. Com o acréscimo de biodiesel ou óleo ao diesel há uma diminuição linear da intensidade de absorção em torno de 260 nm.

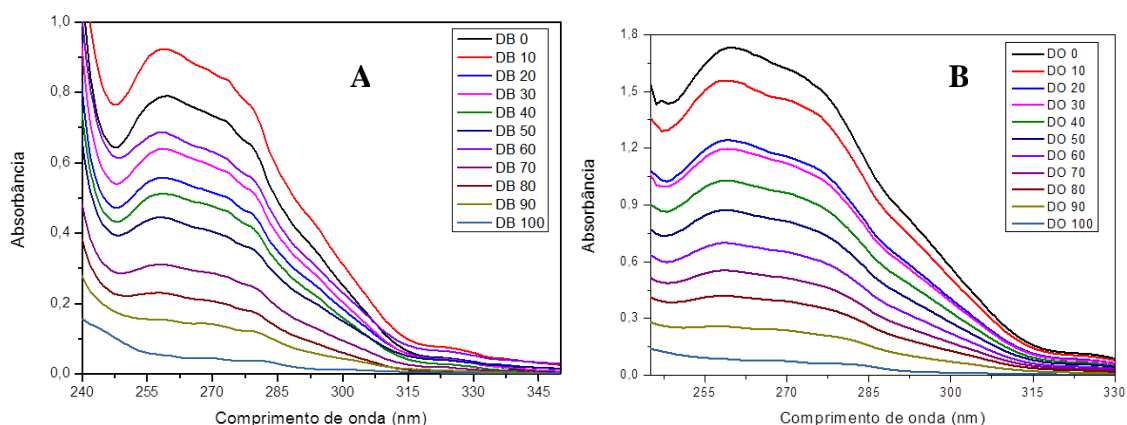


Figura 16. Espectro de absorção UV-Vis da blenda DB (A) e blenda DO (B)

A Figura 17A mostra o monitoramento da absorção em 260 nm para a blenda DB onde há coeficiente de correlação (R^2) de 0,80. O mesmo foi realizado com a blenda DO, como apresentado na Figura 17B, com R^2 de 0,99.

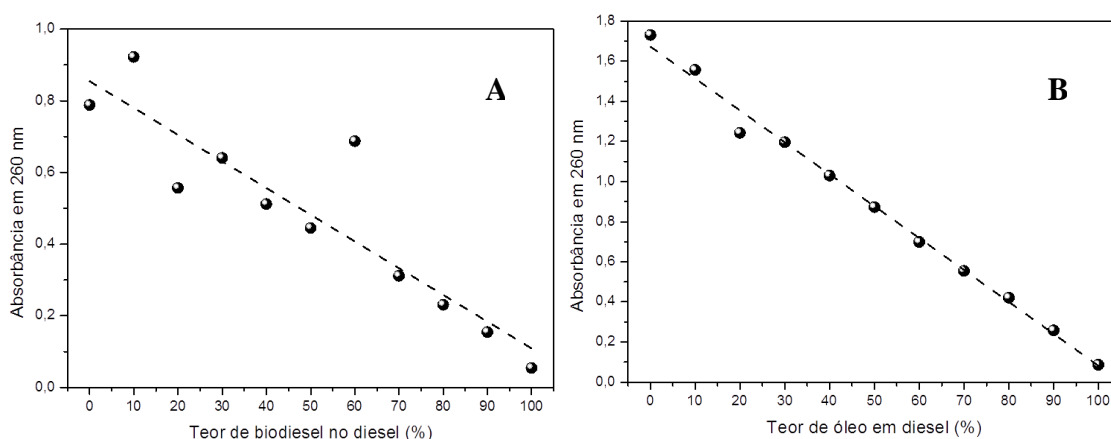


Figura 17. Absorbância por teor de biodiesel no diesel (A) e por teor de óleo no diesel (B), ambos em 260 nm.

A estrutura química do óleo de soja é diferente do óleo diesel, a viscosidade do óleo de soja é maior que a do diesel, já que ele é mais polar devido à presença de oxigênio em sua estrutura, e como consequência a viscosidade da mistura aumenta à medida que aumenta o teor de óleo de soja (ALEXANDRE *et al.*, 2009). O mesmo ocorre com o biodiesel de soja quando adicionado ao diesel, pois ambos são mais viscosos que o diesel.

Nos mapas de contorno de excitação/emissão é possível observar a mudança da emissão de fluorescência à medida que se aumenta os teores de biodiesel e óleo nas blendas, como apresentado na Figura 18 e Figura 19, respectivamente. As emissões apresentam-se nos mesmos comprimentos de onda, mas com intensidade menor nas blendas com óleo em comparação com o biodiesel. Foram observadas no biodiesel bandas de emissão na mesma região espectral daquelas observadas no óleo de soja. Este efeito pode estar associado aos diferentes valores de viscosidade que após a formação do biodiesel torna-se menor que o seu óleo precursor (LIMA, 2014; SCHERER *et al.*, 2011; CAIRES *et al.*, 2012).

Um aumento na viscosidade da mistura (aumento da presença de biodiesel ou óleo) diminui, por exemplo, a frequência de colisão entre os fluoróforos, diminuindo a probabilidade das moléculas retornarem ao estado excitado para o estado fundamental através de vias não radiativas (SCHERER *et al.*, 2011) emitindo assim menos luz.

Inicialmente os dados de ambas as blendas apresentam aumento de intensidade de fluorescência, porém, após principalmente as blendas 60 – 80 % há um decaimento dessa intensidade. Pode-se atribuir essa fluorescência aos tetraenos conjugados e uma pequena região à clorofila presente no óleo e biodiesel, que tem como característica as regiões de emissão em 400-500 nm e 650 -700 nm, respectivamente; e aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos presentes no diesel na região de emissão de 400 – 450 nm.

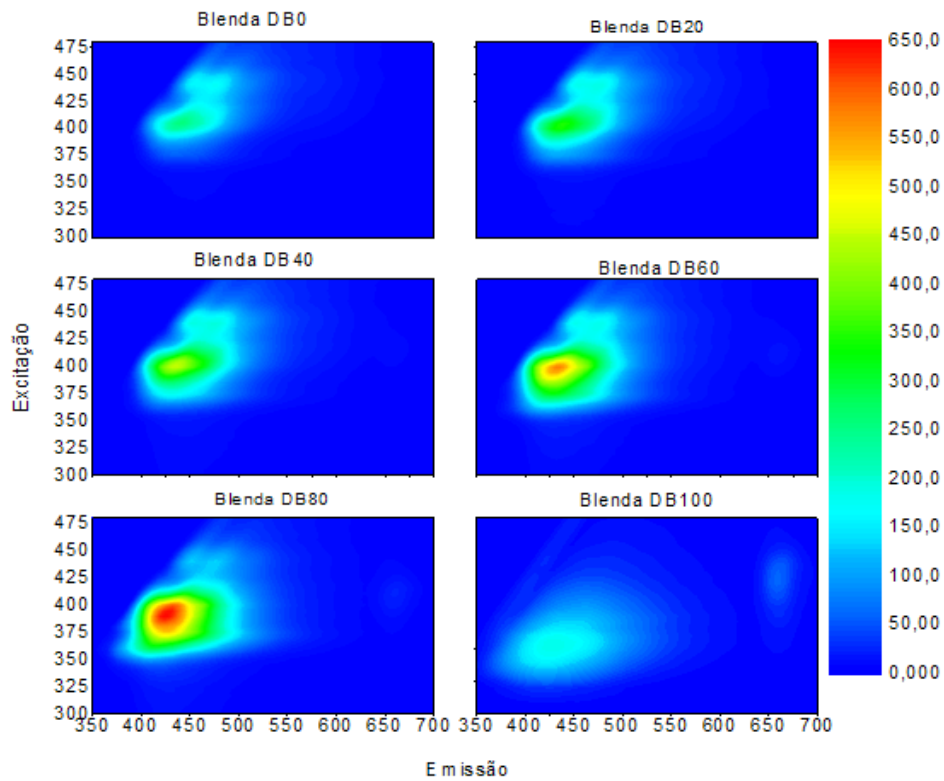


Figura 18. Mapas de contorno excitação/emissão das amostras da blenda DB.

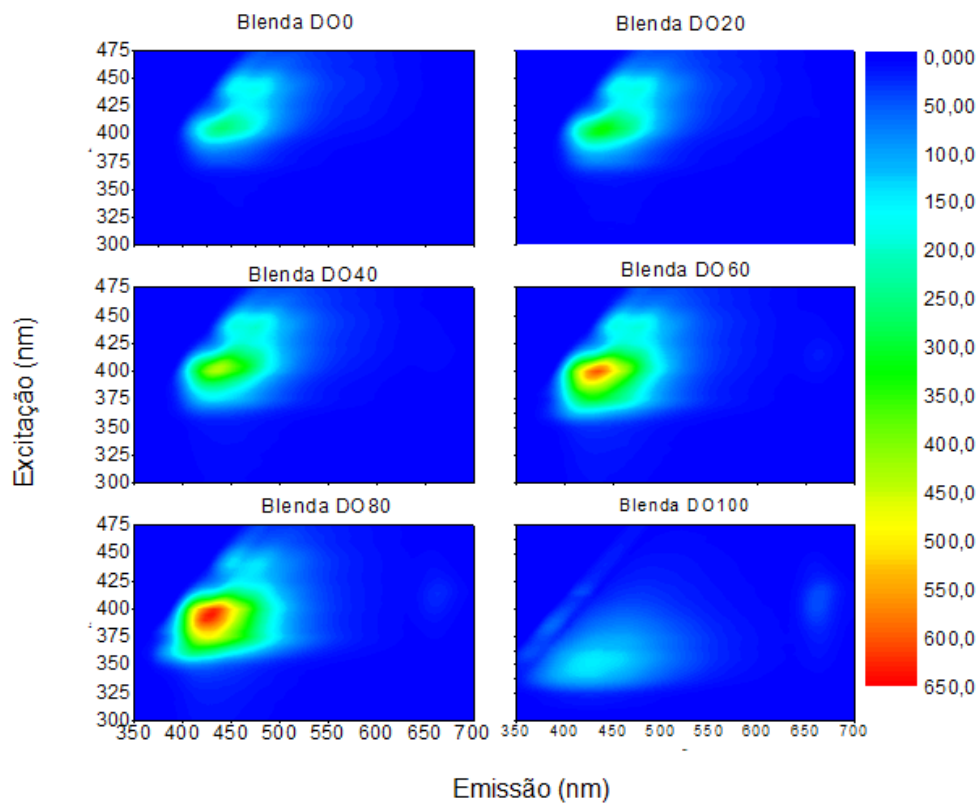


Figura 19. Mapas de contorno excitação/emissão 3D da blenda DO.

Acompanhando a intensidade de fluorescência na mistura DB selecionando o comprimento de excitação 405 nm com emissão em 440 nm, como mostra a Figura pode se obter uma excelente linearidade ($R^2=0,98$) de 0 a 60 % de biodiesel. CAIRES e colaboradores (2012) através de uma análise da viscosidade das misturas em função da concentração de biodiesel determinaram uma relação linear, mostrando que com o aumento da viscosidade o rendimento quântico da fluorescência também aumenta.

O mesmo acompanhamento foi realizado na blenda DO (excitação de 405 nm emissão em 440 nm). Os dados que apresentaram linearidade estão expressos abaixo. A Figura 20B mostra que para a região entre 0 e 60 % foi obtido uma ótima linearidade ($R^2= 0,99$).

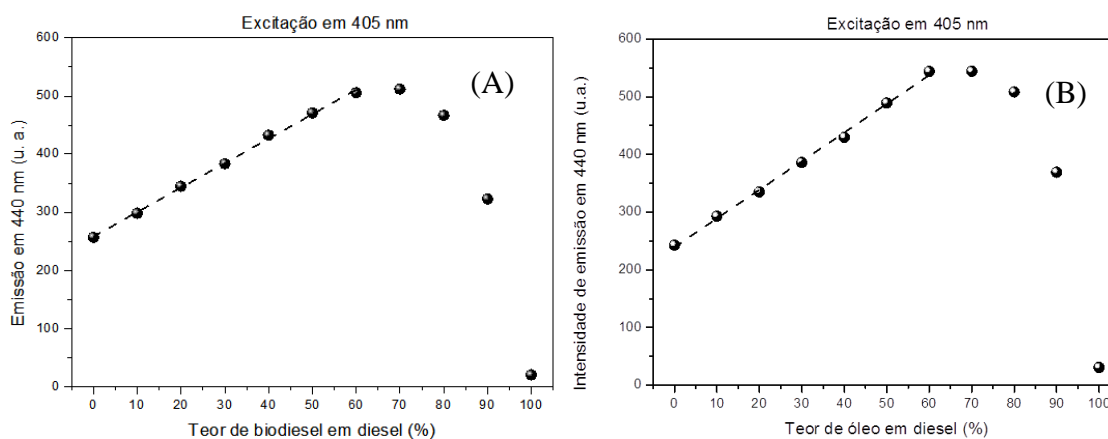


Figura 20. Intensidade de emissão em 440 nm quando excitado em 405 nm em função do teor de biodiesel no diesel (A) e em função do teor de óleo no diesel (B)

Adicionalmente, ao observar a emissão característica da clorofila em 660 nm, para a blenda DB obtém-se um aumento da emissão em função do teor de biodiesel, na qual duas regiões de linearidade foram determinadas: 0-50% e 60-100% com valores de R^2 igual 0,96 e 0,95, respectivamente, como mostra a Figura 21A. Quando monitorada a emissão em 660 nm, região de emissão da clorofila, para a blenda DO, Figura 21B, há três regiões de linearidade: de 0 a 40 % com R^2 de 0,97; entre 40 e 80 % com R^2 de valor 0,97 e no intervalo de 70 e 100 % com R^2 de 0,96.

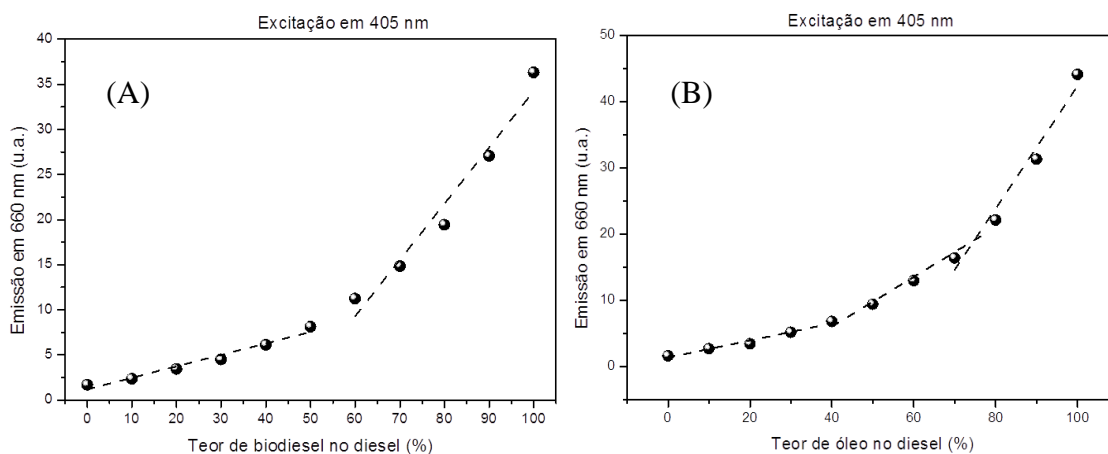


Figura 21. Emissão em 660 nm quando excitado em 405 nm por teor de óleo em diesel (A) por teor de óleo em diesel (B)

Os tempos de vida das blendas DB e DO são apresentados na figura 22 quando excitados em 280 nm.

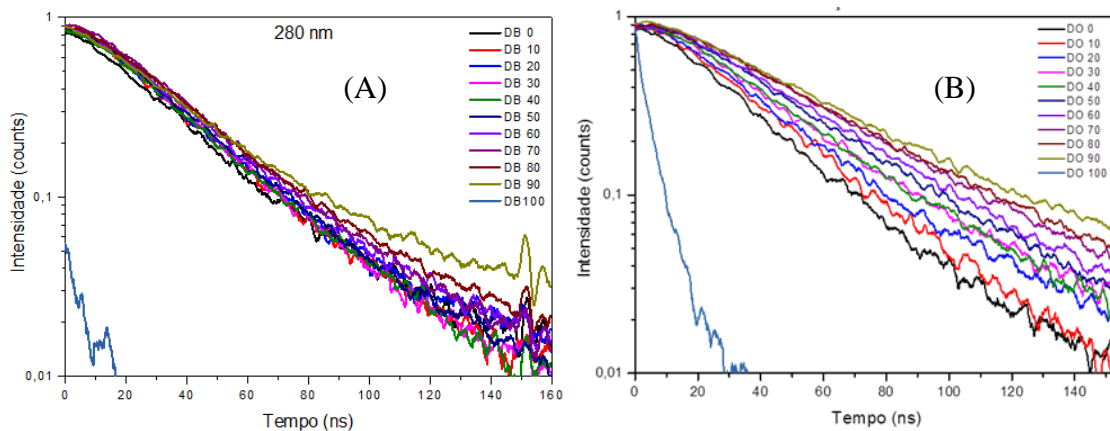


Figura 22. Intensidade de fluorescência resolvida no tempo da blenda DB (A) e DO (B) quando excitado em 280 nm.

Quando as blendas são excitadas em 635 nm, o resultante para a fluorescência resolvida no tempo é apresentado na figura 23, a seguir.

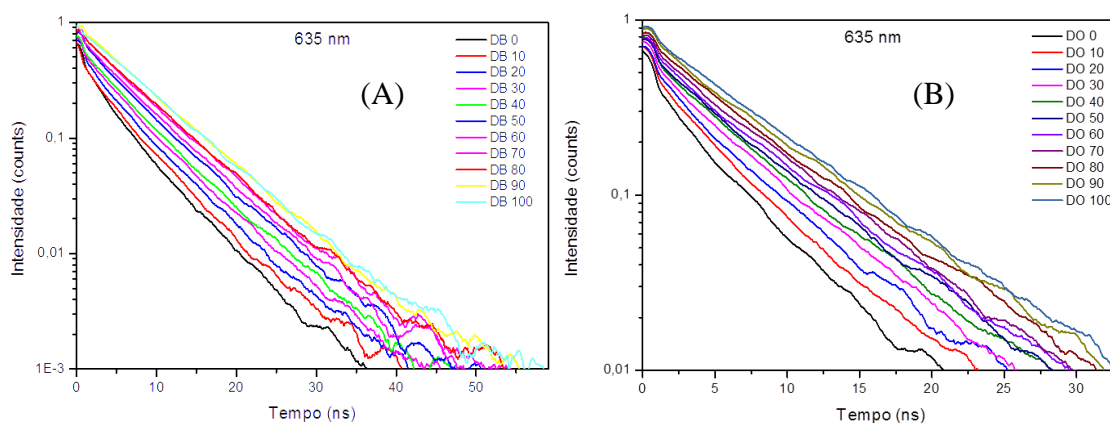


Figura 23. Intensidade de fluorescência resolvida no tempo da blenda DB (A) e DO (B) quando excitado em 635 nm

Os dados de tempo de vida médio das amostras em cada comprimento de onda de excitação estão na Tabela 3, abaixo.

Tabela 3. Tempos de vida médios das blendas DB e DO para os comprimentos de onda de excitação de 280 e 635 nm.

Teor (%)	Ex. 280 nm		Ex. 635 nm	
	τ_m (ns) DB	τ_m (ns) DO	τ_m (ns) DB	τ_m (ns) DO
0	29,58	29,24	4,77	4,85
10	30,35	32,22	5,23	5,04
20	30,18	32,80	5,53	5,58
30	30,87	35,10	5,69	5,99
40	31,2	37,00	5,87	5,92
50	31,52	41,47	6,25	6,19
60	32,03	43,51	6,42	6,61
70	33,03	47,58	6,62	6,74
80	33,35	49,19	6,9	6,55
90	33,24	49,93	7,04	7,09
100	3,27	2,514	7,25	7,15

Quando usamos o comprimento de onda de excitação de 280 nm, obtivemos os valores de tempo de vida médio expressos na Figura 24A, onde o valor de R^2 é 0,96 para a blenda DB. Para o mesmo comprimento de onda de excitação, para a blenda DO o que mostra a Figura 24B uma região de linearidade de 0 a 90 %, o valor de R^2 foi 0,98; resultado em consonância com as medidas de fluorescência no estado estacionário a qual podemos relacionar com a diferença de viscosidade do meio.

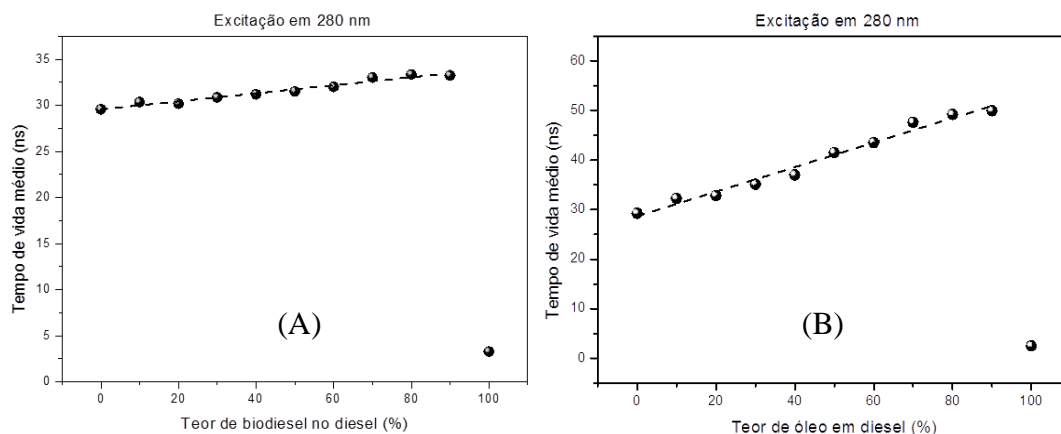


Figura 24. Tempo de vida médio por teor de biodiesel em diesel (A) e por teor de óleo em diesel (B) quando excitados em 280 nm com emissão acima de 300 nm

Excitando as amostras em 635 nm, obteve-se distribuição dos pontos de medida de tempo de vida médio que estão expressos na figura 13, com R^2 de 0,99 para a blenda DB e $R^2=0,94$, para a blenda DO como apresenta a Figura 25.

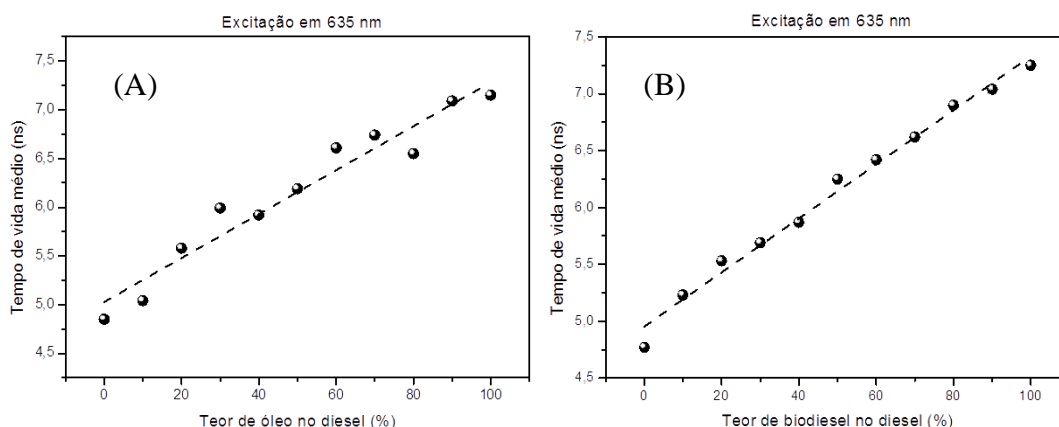


Figura 25. Tempo de vida médio por teor de óleo em diesel (A) e por teor de biodiesel em diesel (B) quando excitado em 635 nm com emissão acima de 650 nm.

5.1.2- BLENDA GASOLINA-DIESEL (GD)

Na blenda Gasolina-diesel (GDX) X representa a porcentagem de diesel em gasolina. A Figura 26A mostra o perfil da blenda analisada por espectroscopia de absorção UV-Vis. Os resultados mostram que à medida que se aumenta a proporção de diesel à mistura binária há aumento de intensidade de absorbância na região entre 250 e 350 nm. Ao se avaliar a absorbância em 260 nm, como expresso na Figura 26B, determina-se uma variação linear em função do teor de gasolina na mistura. Um coeficiente de linearidade de 0,98 foi determinado pelo ajuste dos pontos experimentais.

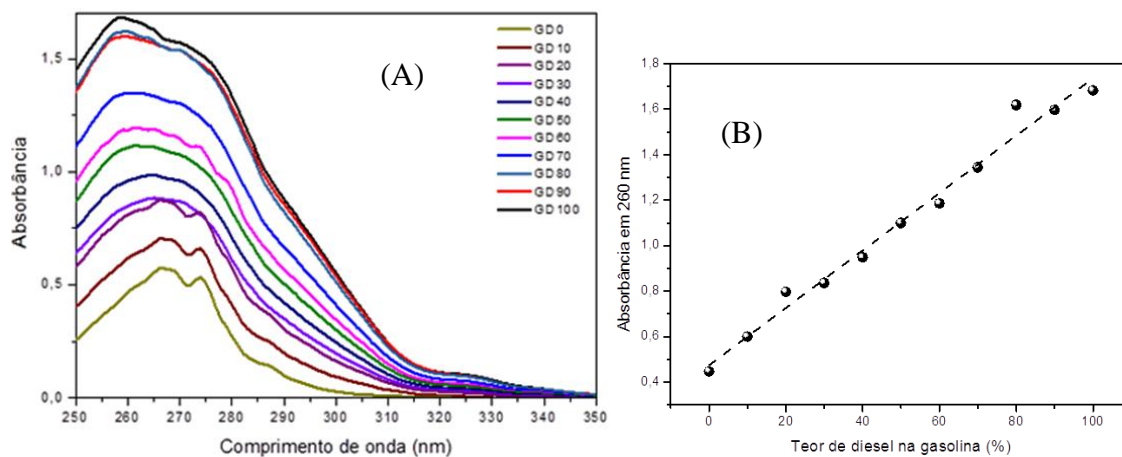


Figura 26. Espectro de absorção UV-Vis da blenda GD (A) e Absorbância em 260 nm versus teor de gasolina no diesel (B)

Pelo mapa de contorno de excitação-emissão em 3D observa-se uma variação da intensidade de fluorescência decorrente da mudança de proporção desses componentes, como mostrado na Figura 27.

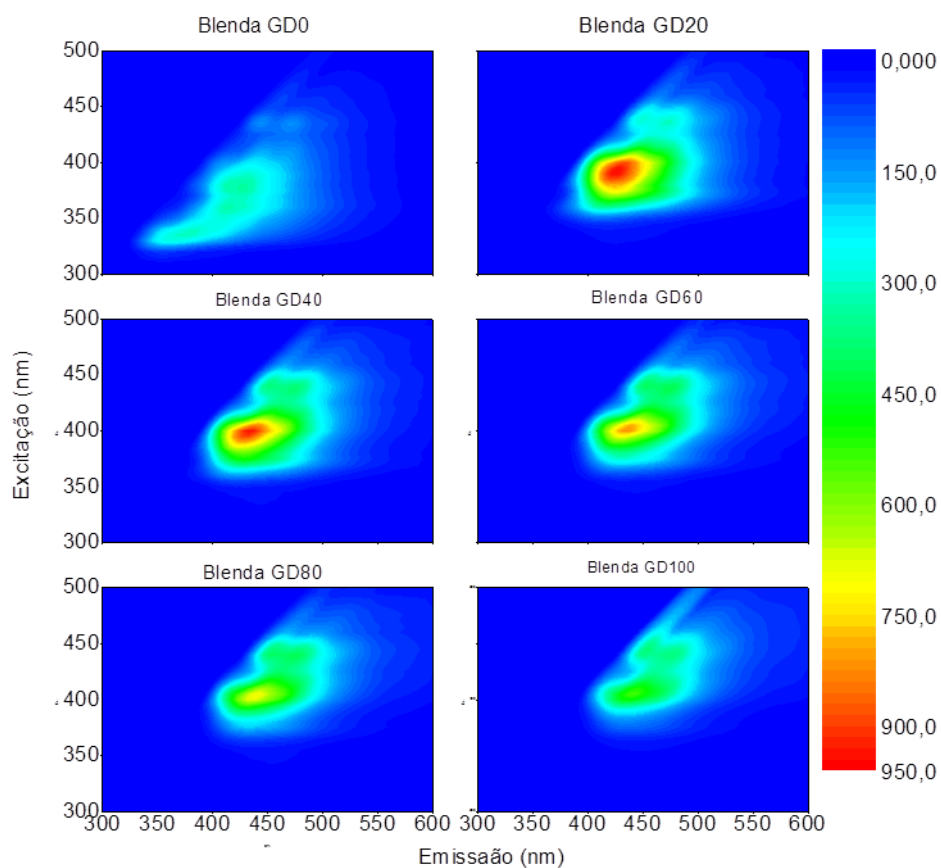


Figura 27. Mapas de contorno excitação-emissão 3D das amostras da blenda GD.

Foram monitorados dois pontos de excitação/emissão; primeiro em 380 nm com emissão em 425 nm como ponto de fluorescência característica da gasolina, onde os resultados são expressos na Figura 28A e segundo em 405 nm com emissão em 440 nm proveniente da fluorescência do diesel apresentado na Figura 28B. Monitorando o primeiro ponto de excitação/emissão, obtivemos uma de linearidade com R^2 de 0,97 entre 0 e 80% de diesel na gasolina. Já para a emissão em 440nm, quando as amostras foram excitadas em 405 nm, observa-se uma linearidade (R^2 de 0,97) apenas para o intervalo entre 0 e 50%.

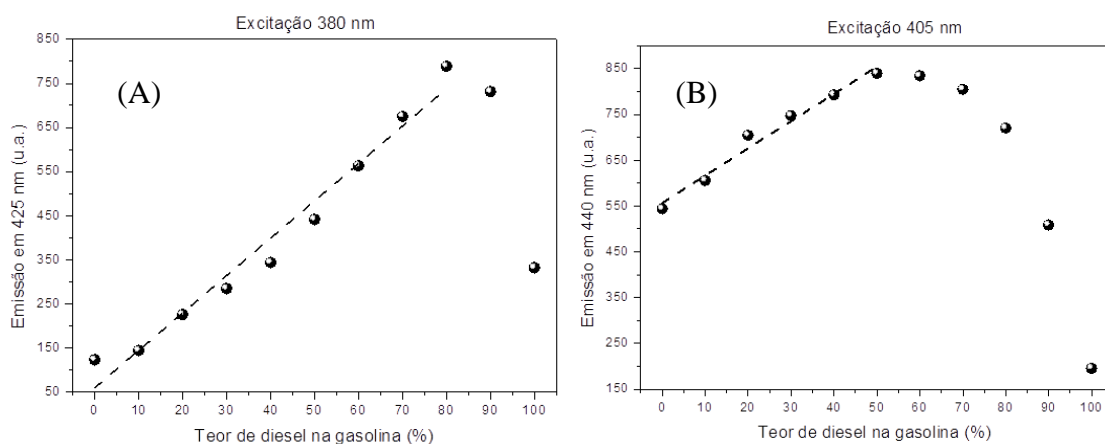


Figura 28. Emissão em 425 nm, quando excitado em 380 nm (A) e Emissão em 440 nm, quando excitado em 405 nm (B), ambos em função do teor de diesel na gasolina

Os perfis de decaimento de tempo de vida, obtidos pela espectroscopia de fluorescência resolvida no tempo, para os comprimentos de onda de excitação de 280 nm e 635 nm estão apresentados na figura 29.

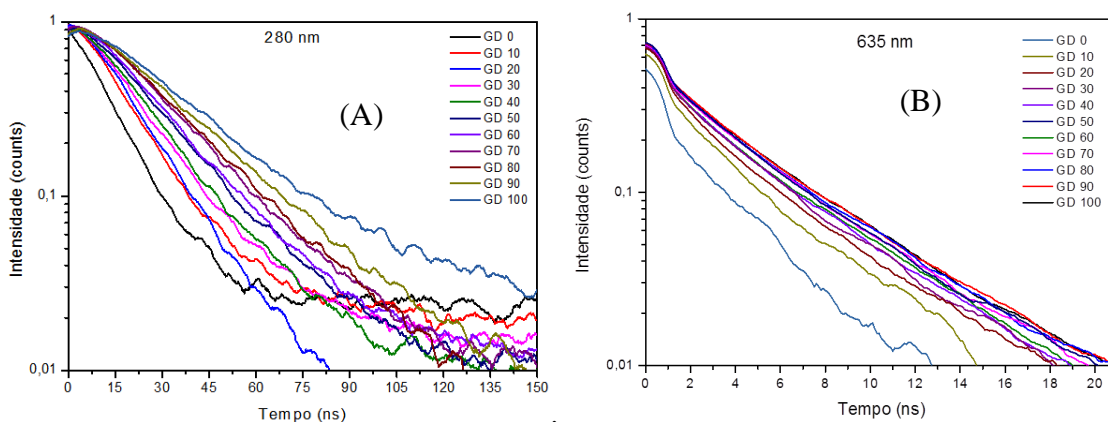


Figura 29. Fluorescência resolvida no tempo das blendas GD quando excitadas em 280 nm (A) e 635 nm (B)

Os valores dos tempos de vida médios obtidos pelos pulsos de excitação dos comprimentos de onda de 280 e 635 nm estão expressos na tabela 4 abaixo.

Tabela 4. Tempos de vida médios da blenda GD para os comprimentos de onda de excitação de 280 nm e 635 nm.

Blenda	Ex. 280 nm	Ex. 635 nm
	τ_m (ns)	τ_m (ns)
GD 0	11,56	2,90
GD 10	14,66	4,05
GD 20	16,12	4,30
GD 30	17,65	4,31
GD 40	20,05	4,43
GD 50	22,71	4,36
GD 60	23,42	4,59
GD 70	26,37	4,51
GD 80	29,09	4,60
GD 90	31,53	4,60
GD 100	36,94	4,73

Quando usamos comprimento de excitação de 280 nm, obtivemos a melhor distribuição dos pontos dos tempos de vida médios o que mostra a Figura 30A, a linearidade nos pontos distribuídos tem coeficiente de determinação de 0,98.

Para o comprimento de onda de 635 nm, na Figura 30B, obtivemos linearidade nos pontos de 10 a 100% de diesel na gasolina, com R^2 de 0,86.

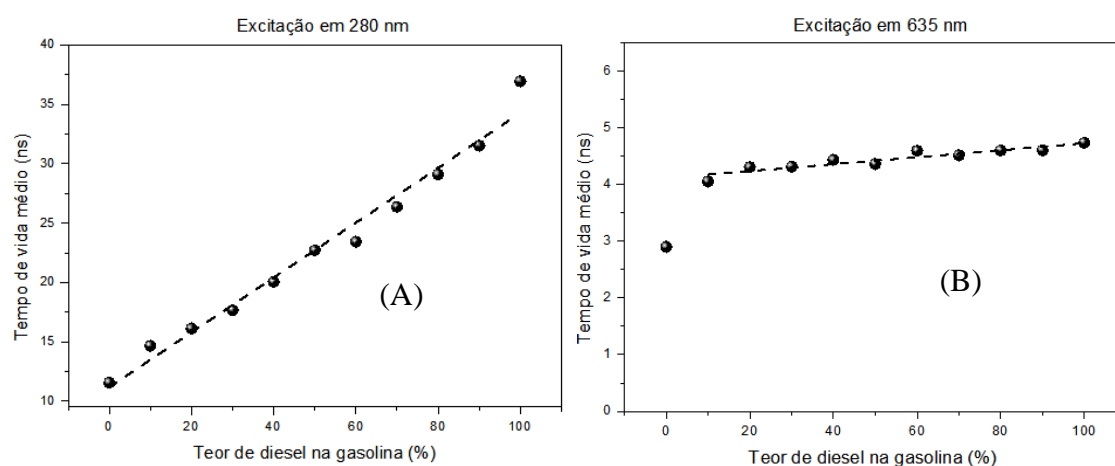


Figura 30. Tempo de vida médio por teor de diesel em gasolina quando excitado em 280 nm com emissão acima de 300 nm (A) e quando excitado em 635 nm com emissão acima de 650 nm (B)

5.1.3- BLENDA BIODIESEL – ÓLEO (BO)

Na blenda biodiesel- óleo (BOX) X representa a porcentagem de óleo em biodiesel. No espectro de absorção da blenda há uma banda de absorção em torno de 230 nm, como mostra a Figura 31A. A intensidade de absorção em 232 nm apresenta uma diminuição linear em função da concentração de óleo no biodiesel ($R^2=0,94$), até a proporção de 80%, como mostra a figura 31B.

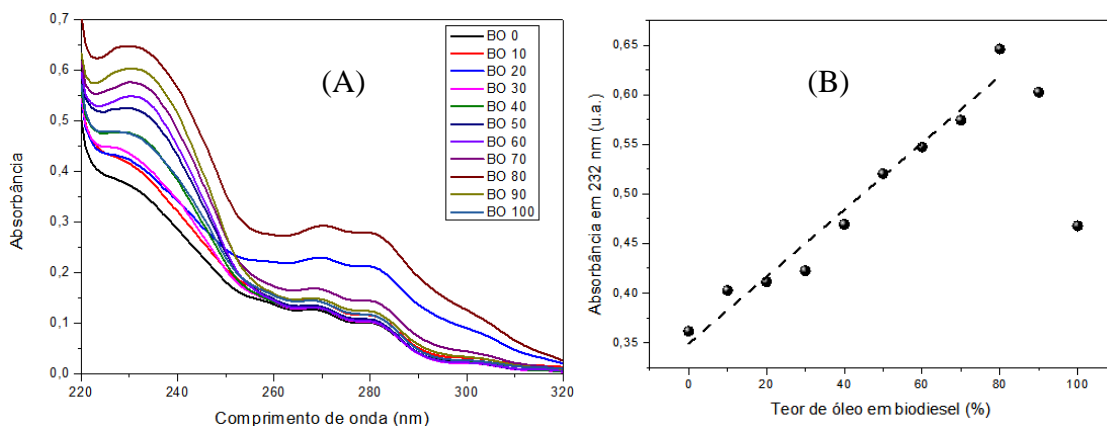


Figura 31. Espectro de absorção UV-Vis da blenda BO (A) e Absorbância em 232 nm em função do teor de óleo no biodiesel (B)

Nos mapas de fluorescência 3D apresentados na Figura 32, há aumento de intensidade de fluorescência à medida que se adiciona óleo ao biodiesel, as amostras apresentam os mesmos fluoróforos, mas menos intensos no biodiesel.

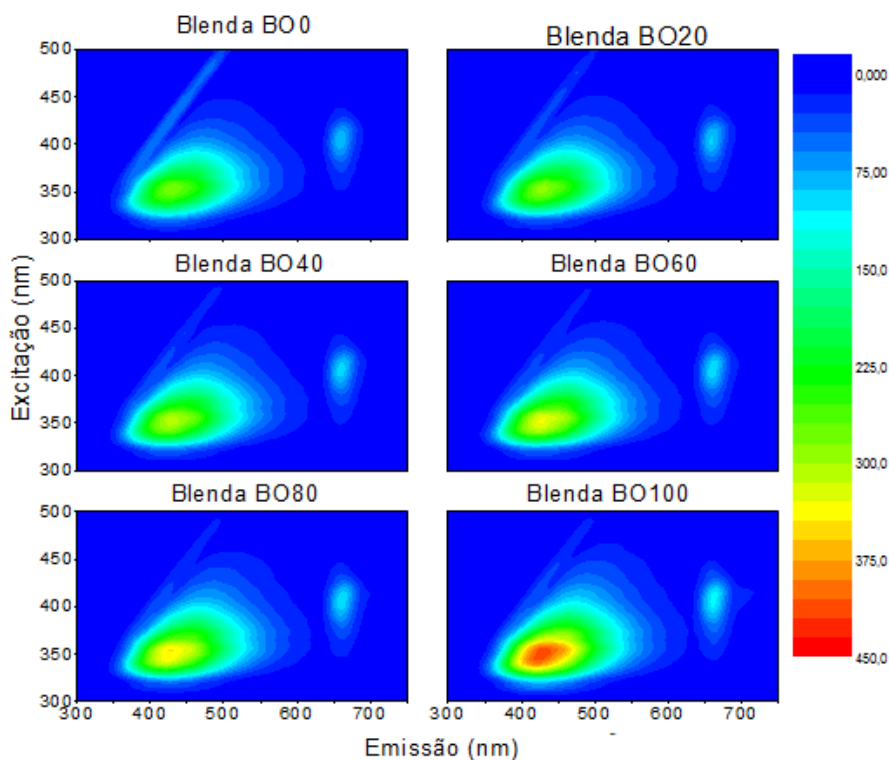


Figura 32. Mapa de contorno excitação-emissão-intensidade das amostras da blenda BO

Ao analisarmos as emissões de fluorescência, com excitação em 405 nm, observa-se um aumento da intensidade para a emissão em 662 nm ($R^2 = 0,97$), mostrado na figura 33A. O mesmo efeito também é observado para emissão em 428 nm ($R^2 = 0,90$), quando excitado em 350 nm, como apresentado na figura 33B.

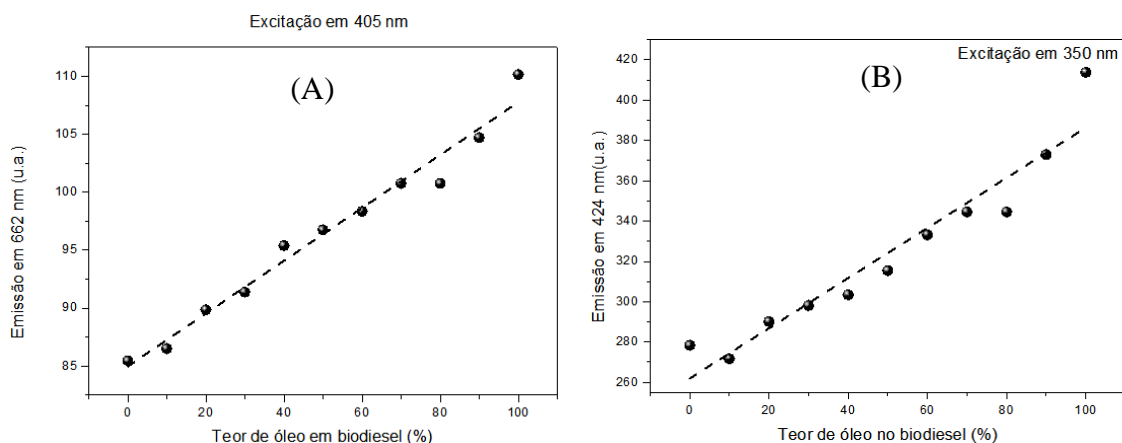


Figura 33. Emissão em 662 nm por teor de óleo em biodiesel quando excitado em 405 nm (A) e Emissão em 424 nm por teor de óleo em biodiesel quando excitado em 350 nm (B)

As curvas de tempo de vida quando excitados em 280 e 635 nm, são apresentadas na figura 34A e figura 34B, respectivamente. Já os valores de tempo de vida médio das blendas para cada comprimento de onda de excitação estão mostrados na tabela 5.

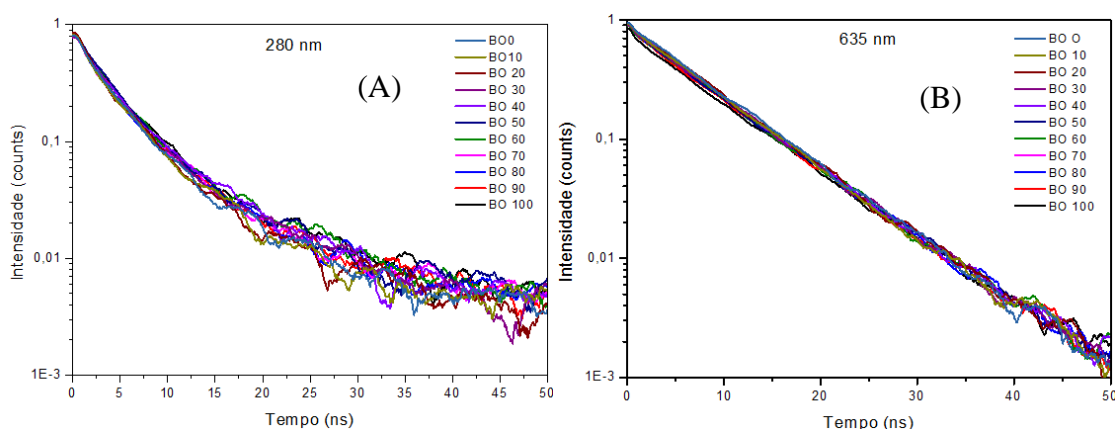


Figura 34. Fluorescência resolvida no tempo das blendas BO quando excitadas em 280 nm (A) e 635 nm (B)

Tabela 5. Tempos de vida médios da blenda OB para os comprimentos de onda de excitação de 280 e 635 nm.

Blenda	Ex. 280 nm	Ex. 635 nm
	τ_m (ns)	τ_m (ns)
BO 0	4,08	7,11
BO 10	4,01	7,39
BO 20	3,52	7,45
BO 30	3,86	7,47
BO 40	3,56	7,25
BO 50	3,98	7,15
BO 60	3,53	7,28
BO 70	3,80	7,15
BO 80	3,24	7,42
BO 90	3,78	7,24
BO 100	3,71	7,49

5.1.4- BLENDA GASOLINA – BIODIESEL (GB) E GASOLINA – ÓLEO (GO)

Na blenda gasolina-biodiesel (GBX) X representa a porcentagem de biodiesel em gasolina, igual em gasolina-óleo (GOX) X representa a porcentagem de óleo em gasolina. Pela espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, obtiveram-se os espectros de absorção das blends, os mesmos apresentam uma banda característica de na região de 240–320 nm, como mostra a figura 35A para blenda GB e a figura 35B para GO.

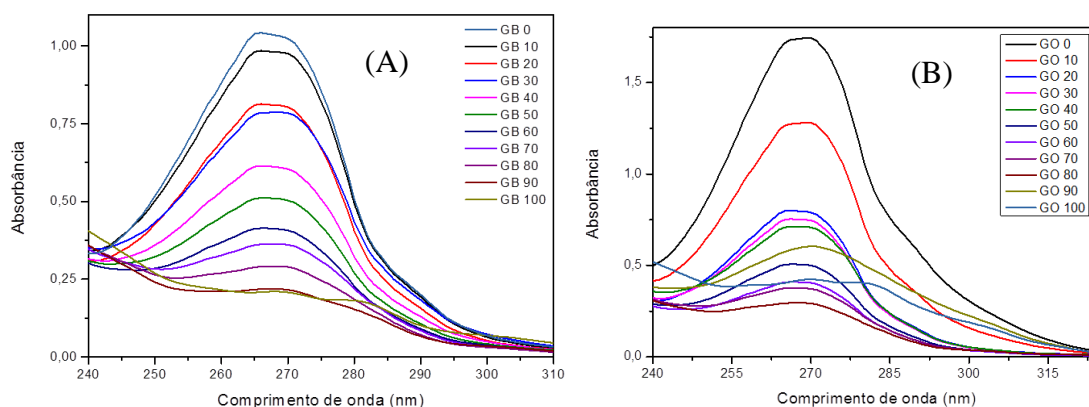


Figura 35. Espectro de absorção UV-Vis da blenda GB (A) e da blenda GO (B).

Nota-se que o máximo de absorção, em torno de 266 nm, a absorbância aumenta linearmente à medida que há um acréscimo da concentração de biodiesel ou óleo na mistura, como representa a Figuras 36. Apresentando $R^2= 0,97$ para blenda GB e $R^2=0,65$ para blenda GO

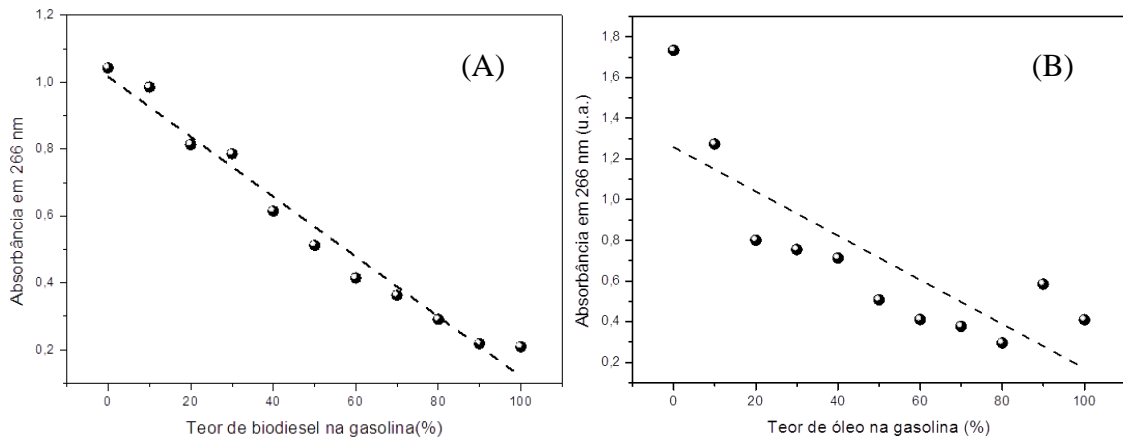


Figura 36. Absorbância em 266 nm das blendas GB (A) e GO (B) em função do teor de gasolina no biodiesel.

Nos mapas de contorno excitação/emissão em 3D das blendas GO e GB, identificamos regiões que foram alteradas ao decorrer da variação da porcentagem de óleo e biodiesel nas misturas. A diferença é perceptível na região de excitação entre 325 – 400 nm com emissão em 350 – 470 nm e na região de excitação de 375 – 425 nm com emissão de 650-700 nm, onde se observa o aparecimento de fluorescência decorrente do aumento do teor de clorofila, como mostram a figura 37 para GB e figura 38 para GO.

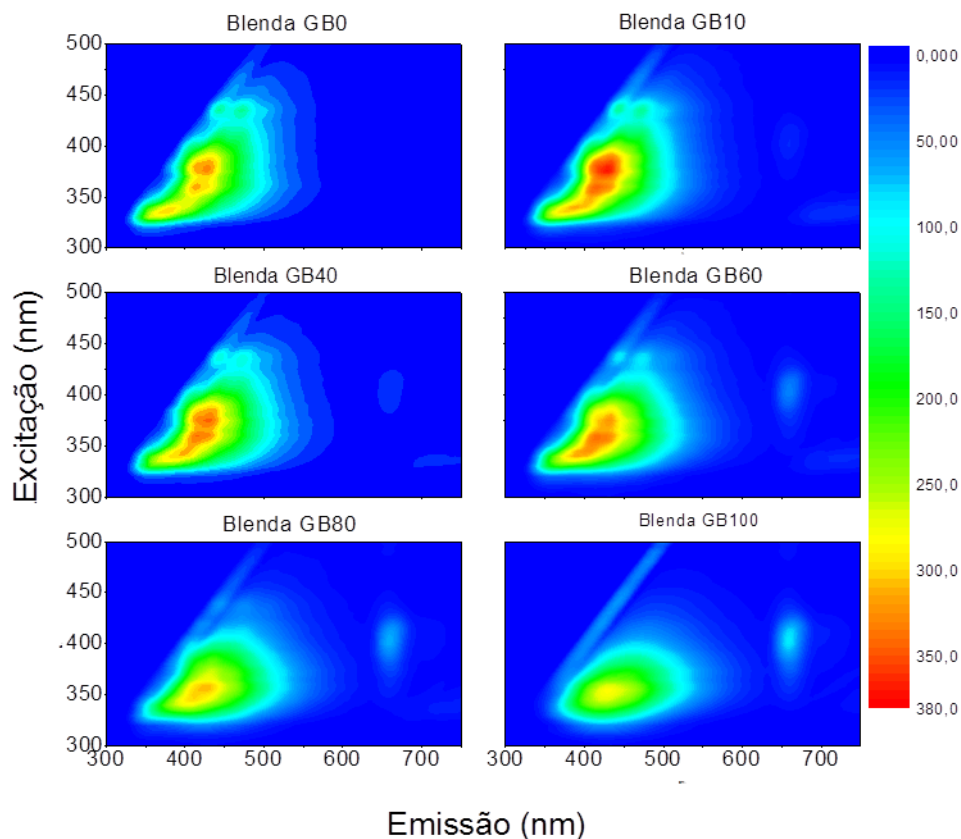


Figura 37. Mapas de contorno excitação\emissão 3D para a blenda GB.

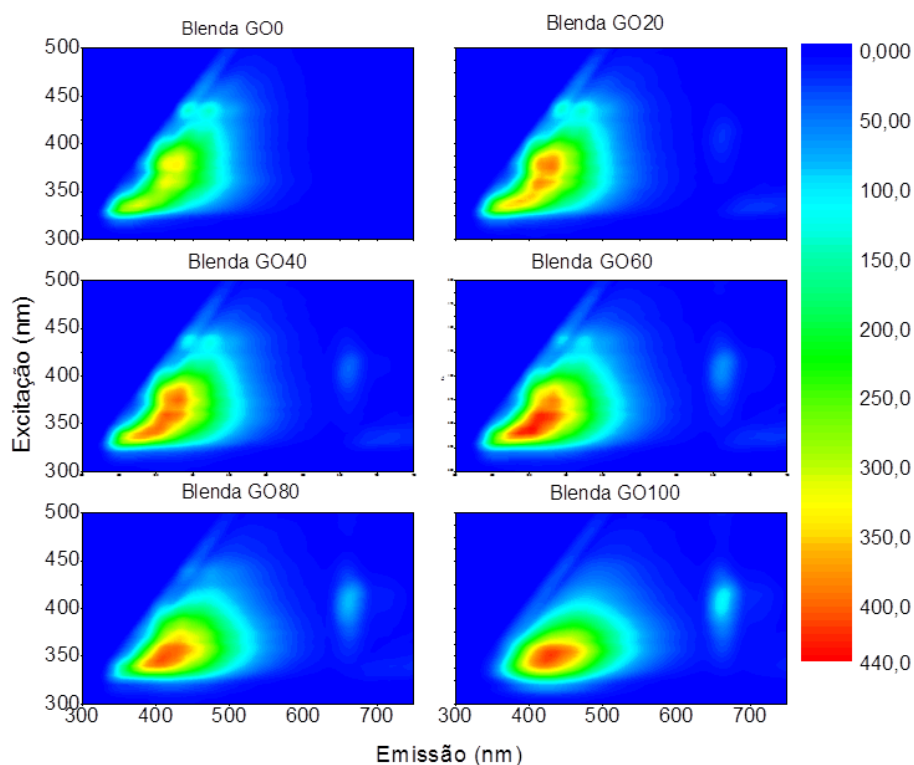


Figura 38. Mapas de contorno excitação\emissão 3D das amostras da blenda GO.

Para determinar o comportamento da intensidade de fluorescência em 440 nm quando excitado em 405 nm plotou-se os dados apresentados na figura 39A, onde foi observada uma diminuição linear da intensidade de fluorescência ($R^2=0,99$), entre 50 e 100% do teor de biodiesel na blenda GB. Para a blenda GO figura 39B com os mesmos comprimentos de onda de excitação e emissão o R^2 é 0,98 no intervalo de porcentagem de 50 a 100 % de óleo.

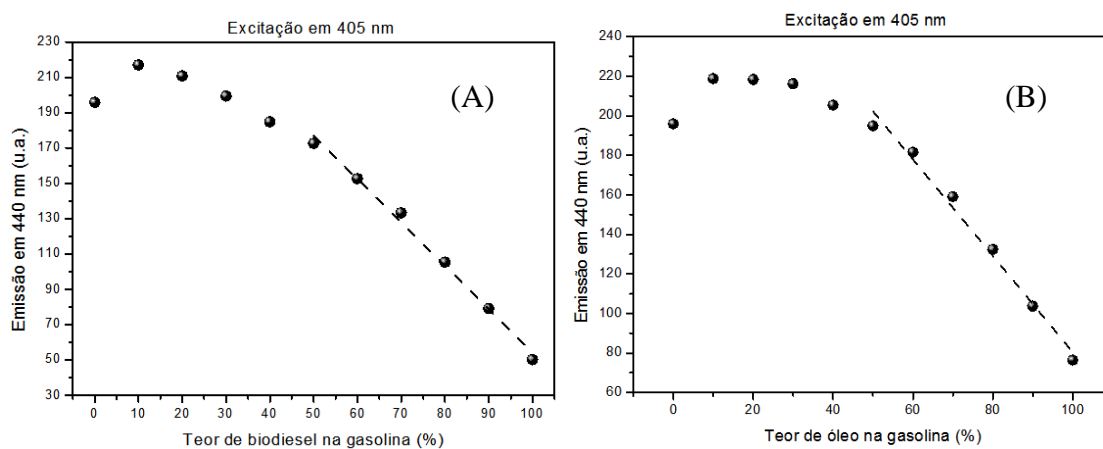


Figura 39. Emissão em 440 nm, quando excitado em 405 nm, em função teor de biodiesel na gasolina (A) e em função do teor de óleo na gasolina (B)

Já para a emissão em 660 nm observou-se um aumento linear ($R^2=0,99$) da intensidade de fluorescência entre 0 e 100%, decorrente do aumento do teor de clorofila presente no biodiesel, como mostra a figura 40A para blenda GB e com valor de R^2 de 0,997 para GO, como mostra a figura 40B.

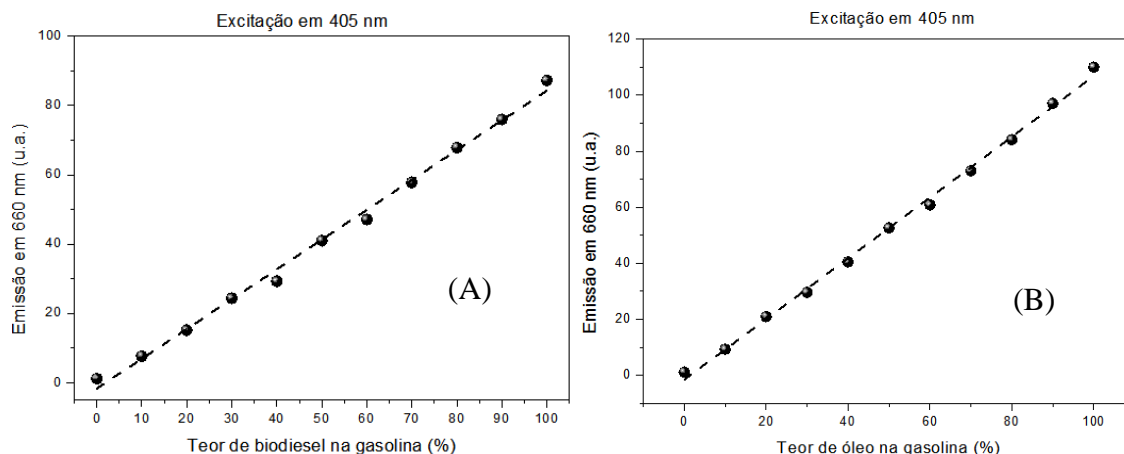


Figura 40. Emissão em 660 nm, quando excitado em 405 nm, em função do teor de biodiesel na gasolina (A) e em função do teor de óleo na gasolina (B)

As curvas de tempo de vida, quando excitados em 280 nm são apresentadas na figura 41 e quando excitados em 635 nm na figura 42, abaixo.

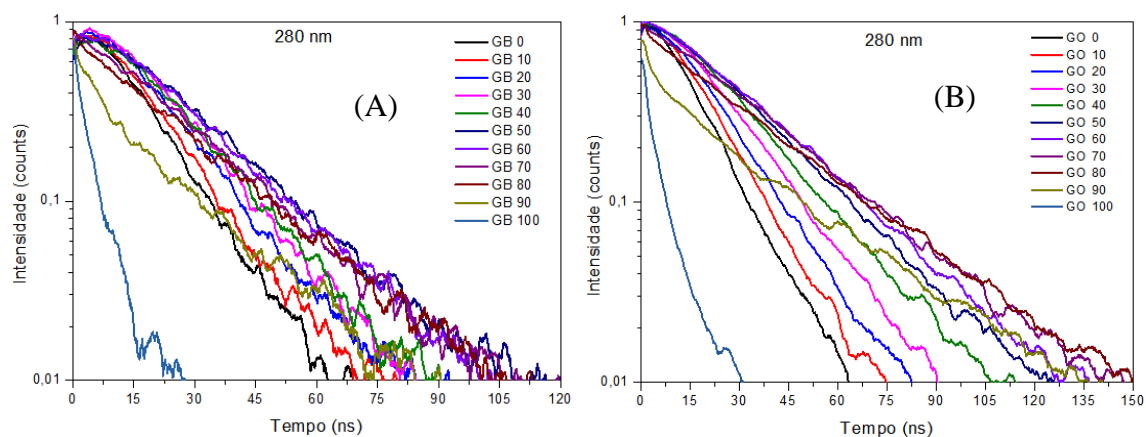


Figura 41. Fluorescência resolvida no tempo das blends GB (A) e GO (B) quando excitadas em 280 nm.

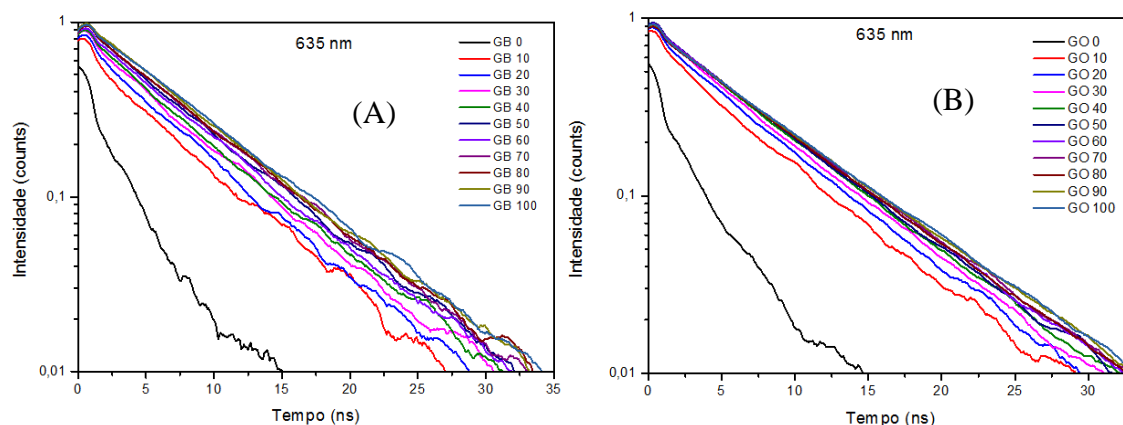


Figura 42. Fluorescência resolvida no tempo das blendas GB (A) e GO (B) quando excitadas em 635 nm.

Na tabela 6, estão expressos os tempos de vida médios das amostras.

Tabela 6. Tempos de vida médios da blenda BG para os comprimentos de onda de excitação de 280 e 635 nm.

Teor (%)	Ex. 280 nm		Ex. 635 nm	
	τ_m (ns) GB	τ_m (ns) GO	τ_m (ns) GB	τ_m (ns) GO
0	12,63	12,49	4,15	2,59
10	13,88	14,67	6,30	6,13
20	16,47	17,08	6,28	6,42
30	18,48	20,33	6,40	6,43
40	21,24	24,09	6,22	6,67
50	26,49	28,37	6,70	6,73
60	24,43	30,18	6,71	6,98
70	24,71	33,15	7,09	7,05
80	25,70	31,41	7,08	7,02
90	19,56	24,21	6,81	7,16
100	3,25	3,79	7,29	7,30

Diante da resposta dos decaimentos, selecionamos os comprimentos de onda que mais deram resposta para caracterizar as blendas e plotarmos os gráficos de pontos a seguir. Os resultados para as medidas de fluorescência resolvida no tempo, para excitação em 280 nm presentes na figura 43 indicam a linearidade entre 0 e 70% de porcentagem de biodiesel com R^2 de 0,88 para blenda GB. Para as blendas GO em excitação de 280 nm obtivemos uma região de linearidade ($R^2 = 0,99$) entre 0 e 70% do teor de óleo na gasolina.

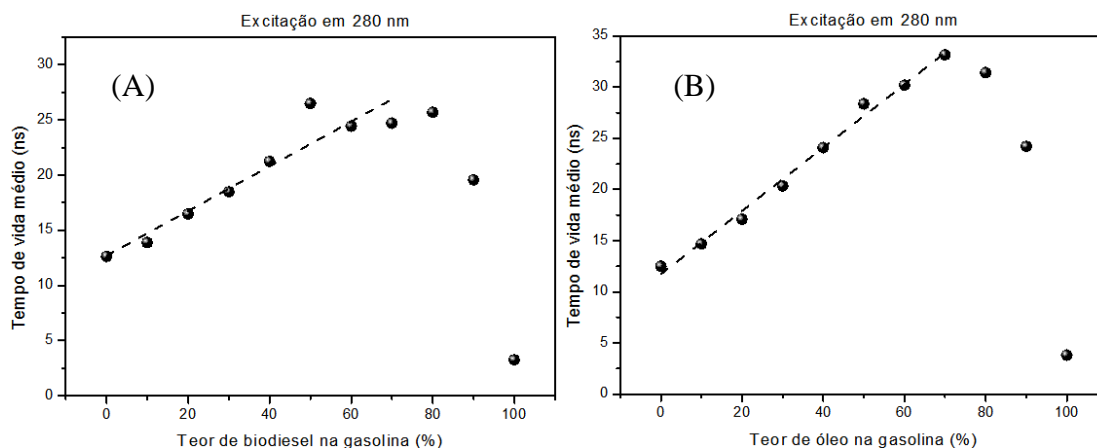


Figura 43. Tempo de vida médio por teor de biodiesel em gasolina (A) por teor de óleo em gasolina (B) quando excitadas em 280 nm com emissão acima de 300 nm.

Quando a excitação é em 635 nm, tem-se região de linearidade com $R^2=0,77$ acima de 10% do teor de biodiesel na blenda GB, como mostra a figura 44. Para o comprimento de onda de excitação de 635 nm obtivemos linearidade de 10-100% ($R^2=0,95$), como mostra a figura 44 para a blenda GO.

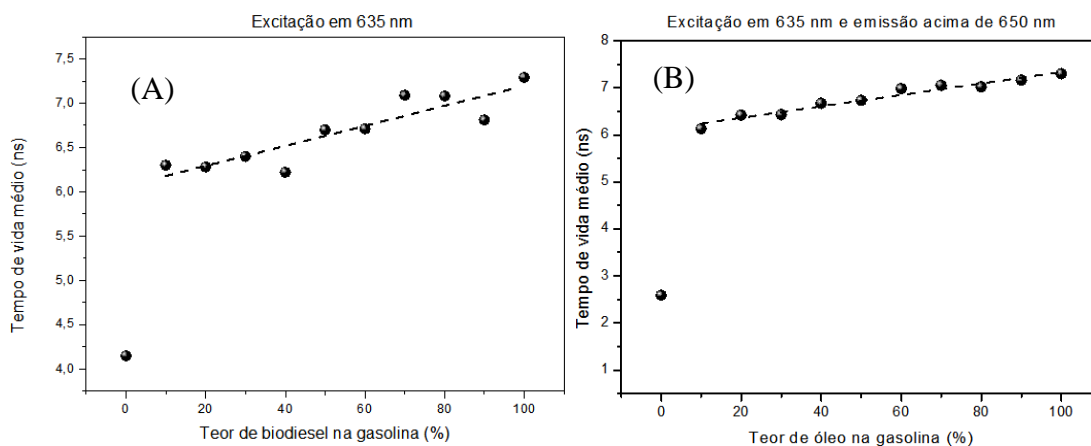


Figura 44. Tempo de vida médio em função do teor de biodiesel em gasolina (A) e do teor de óleo em gasolina (B) quando excitado em 635 nm com emissão acima de 650 nm.

CAPÍTULO 6

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A escolha da rota de síntese do biodiesel foi satisfatória para realização do trabalho, apresentando bom rendimento em massa produzida de biodiesel a partir do óleo vegetal. As técnicas escolhidas, espectroscopia de absorção UV-Vis, espectroscopia de fluorescência e espectroscopia de fluorescência resolvida no tempo são adequadas para avaliar e quantificar a presença dos constituintes nas blendas.

Os resultados obtidos para as blendas DB e DO pela Espectroscopia de Fluorescência Estacionária (EFE) nas condições de excitação 405 nm emissão 660 nm, têm boa linearidade em dois pontos para DB e em três pontos para DO onde os R^2 são próximos de 0,95. Na Espectroscopia de Fluorescência Resolvida no Tempo (EFRT), a excitação em 635 nm gerou resultados de linearidade com R^2 de 0,99 para DB e R^2 de 0,94 para DO. Logo, sugerimos o uso da EFRT para quantificação de biodiesel ou óleo em diesel, técnica ainda não usada para esse tipo de mistura, mas que se mostra eficaz.

Na análise da blenda GD por EFE a melhor emissão foi em 426 nm quando excitamos as amostras em 380 nm, entre zero e 80% com R^2 de 0,97. Na EFRT, para excitação em 280 nm obtivemos melhores resultados com coeficiente de determinação de 0,98. Recomendamos o uso do EFRT para análise desta blenda.

Na blenda biodiesel-óleo, trabalhando com EFE nas condições de excitação 405 nm emissão 660 nm há linearidade com $R^2=0,97$. Os valores de tempo de vida pouco se diferenciam nos tempos médios de decaimento, pois os constituintes apresentam o mesmo fluoróforo. Para tal, o uso de EFE, traz informações de diferença da intensidade de clorofila no meio, sendo o diferencial para caracterizar a blenda.

A EFE aplicada à blenda GO, quando usado excitação em 405 nm com emissão em 660 nm mostra excelente linearidade com valor de R^2 de 0,997 e para GB com $R^2=0,99$. Pela EFRT, com 635 nm obtivemos linearidade de 10-100% com $R^2=0,95$ para GO e linearidade acima de 10% com $R^2=0,77$ para GB. Então o uso de EFE traz maiores respostas na quantificação da presença de óleo ou biodiesel em gasolina.

Para as blendas constituídas de gasolina e óleo ou biodiesel, é sugerido usar a técnica de fluorescência estacionária que consegue quantificar a porcentagem dessas amostras na gasolina pela variação da emissão de clorofila, fluoróforo presente no O e B com região de emissão diferente da gasolina. Para as blendas constituídas por diesel e óleo ou biodiesel, consideramos usar a fluorescência resolvida no tempo.

CAPÍTULO 7

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES, J.R.; KERNICK, G.; OLIVEIRA, A.C.P., **Some Environmental Produced by Gasoline Spills in Underground Tanks**, 3rd International Symposium on Environmental Geochemistry in Tropical Country, 25 - 29, 1999.

ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Biodiesel**. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/> Acesso em: 29/01/2016. Hora: 16:22.

ARBIN, J. R. **Estudos espectroscópicos da fotólise de pesticidas em água na presença de substâncias húmicas**. 2004. 90f. Tese (Doutorado em ciência e engenharia de materiais). Interunidade(EESC\IFSC\IQSC)- Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2004.

BARROW, G. M. **Introduction to molecular spectroscopy**. New York: McGraw Hill, 1962. 318p.

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

CANDEIA, R. A ; ROSENHAIM, R ; ALBUQUERQUE, G. A ; SILVA, M. C. D. , BICUDO, T. C. ; SANTOS, I. M. G. ; SOUZA, A. G. **Determinação da Concentração de Biodiesel em Misturas Binárias (Biodiesel/Diesel) por Espectrofotometria de Absorção Molecular no Ultravioleta/Visível**. Paraíba, Brasil.

CETESB. **Proposta para limite de intervenção de qualidade do solo no Estado de São Paulo**. 2000.

CHIMENEZ, T. A. **Espectroscopia de fluorescência como ferramenta para caracterização de biodiesel e monitoramento de processos de degradação**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciência e tecnologia ambiental. Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados-MS. 2011. 63 p.

CLINE, P. V.; DELFINO, J. J.; RAO, P. S. C. **Partitioning of Aromatic Constituents into Water from Gasoline and Other Complex Solvent Mixture.** Environ. Sci. Technol. 1991, Vol. 25, pp. 914 - 920.

CORGOZINHO, C. N. C. **Utilização de técnicas espectrofluorimétricas e quimiométricas na análise de biodiesel e de suas misturas com óleo diesel.** Tese de doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química. Belo Horizonte - MG. 2009. 164 p.

CORSEUIL, H. X.; MARTINS, M. D. M. Contaminação de Águas Subterrâneas por Derramamento de Gasolina: O Problema é Grave?. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 2, n. 2, p.50-54, 1997.

DANTAS, M. B.; ALBUQUERQUE, A. R.; BARROS, A. K. et al.; Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. *Fuel*, v. 90, p. 773–778, 2011.

DECOSTER, B.; CHRISTENSEN, R.L.; GEBHARD, R.; LUGTENBURG, J.; FARHOOSH, R.; FRANK, H.A **Low-lying electronic states of carotenoids.** *Biochimica et biophysica Acta*, 1102 (1992) 107-114.

FALCO, W. F.; BOTERO, E. R.; FALCÃO, E. A.; SANTIAGO, E. F.; BAGNATO, V. S.; CAIRES, A. R. L. **In vivo observation of chlorophyll fluorescence quenching induced by gold Nanoparticles.** *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 225 (2011) 65– 71.

FAN, Z.; SCHRÖDER, O.; KRAHL, J. Analysis of diesel fuels/biodiesel blends and identification of biodiesel using time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy (TRLFS). *Landbauforsch · Appl Agric Forestry Res · 1* 2015 (65)1-14.

FIFIELD, F. W. & KEALEY, D. **Principles and Practice of Analytical Chemistry**, 5th edition, Blackwell Science Ltd, 2000.

GARBIN, J. R. **Estudos espectroscópicos da fotólise de pesticidas em água na presença de substâncias húmicas.** 2004. 90f. Tese de Doutorado. Ciência e Engenharia de Materiais. Interunidades- Universidade de São Paulo- São Carlos. SP.

GIMENO, E.; CALERO, E.; CASTELLOTE, A. I.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M.; DE LA TORRE, M. C.; LOPEZ-SABATER, M. C. **Simultaneous determination of tocopherol and b-carotene in olive oil by reversed-phase high-performance liquid chromatography.** Journal of Chromatography A, 881 (2000) 255–259.

KUMAR, K. & MISHRA, A. K. **Quantification of Ethanol in Ethanol-Petrol and Biodiesel in Biodiesel-Diesel Blends Using Fluorescence Spectroscopy and Multivariate Methods.** J Fluoresc (2012) 22: 339–347.

LAKOWICZ, J. R. **Topics in fluorescence spectroscopy.** Kluwer Academic . New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow . 2002

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

MAGALHÃES, K. F. **Investigação dos fluoróforos presentes no biodiesel produzido a partir de diferentes óleos vegetais.** Dissertação de mestrado Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. UFGD. Dourados-MS. 2012. 53 f.

MAGALHÃES, K.F.; CAIRES, A.R.L.; SILVA, M.S; ALCANTARA, G.B.; OLIVEIRA, S.L. **Endogenous fluorescence of biodiesel and products thereof: Investigation of the molecules responsible for this effect.** Fuel 119 (2014) 120–128.

MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; TANAJURA, A. S.; SILVA, H. R. G.; FERNANDO, J. 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 85 (2011) 430–434.

MOTA, C. J. A.; SILVA C. X. A.; GONÇALVES, V. L. C. **Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel.** *Química Nova*, Vol. 32, No. 3, 639-648, 2009.

NAVARRO-GARCIA, G.; BRINGAS-ALVARADO, L.; PACHECO-AGUILARA, R.; ORTEGA-GARCIA, J. **Oxidative resistance, carotenes, tocopherols and lipid profile of liver oil of the ray *Rhinoptera steindechneri*.** *Journal of Food Composition and Analysis*. 17 (2004) 699–706.

OLIVEIRA, I. P. **Estudo da degradação térmica de misturas dos óleos da macaúba (*Acrocomia aculeata*) por espectroscopia molecular.** Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia. Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados- MS. 2013. 76 p.

PANTOJA, P. A. **Caracterização do petróleo por técnicas por técnicas espectroscópicas e sua utilização na avaliação e desenvolvimento de métodos de inferência em processo de refino.** Tese de doutorado. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Doutorado em Engenharia Química. São Paulo. 162 f. 2010.

PARENTE, E. J. S. **Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado.** Unigráfica Tecbio. Fortaleza. 2003. 68 p.

PAVIA, D. Lb; *et al.* **Introduction to spectroscopy.** Third edition, Brooks/Cole – Thomson Learning, US, 2001.

POULSEN, M.; LEMON, L.; BARKER, J. F., 1992. **Dissolution of Monoaromatic Hydrocarbons into Groundwater from Gasoline – Oxygenate mixtures.** *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 26, pp. 2483-2489.

QUEIROZ, A. M. **Interação nanopartícula-clorofila: uma análise via espectroscopia óptica.** Universidade Federal da Grande Dourados. Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia. Programa de Pós - Graduação em Química. Dissertação de mestrado. Dourados – MS. 2014. 104 f.

ROHMAN, A., MAN, Y. B. CHE. **Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy for Analysis of Extra Virgin Olive Oil Adulterated With Palm Oil.** Analytical Methods, Vol. 43, 886–892, 2010.

ROMERO, N.; ROBERT, P.; MASSON, L.; ORTIZ, J.; GONZÁLEZ, K.; TAPIA, K.; & DOBAGANES, C. **Effect of α -tocopherol, α -tocotrienol and Rosa mosqueta shell extract on the performance of antioxidant-stripped canola oil (*Brassica sp.*) at high temperature.** Food Chemistry, 104(1), (2007) 383-389.

SCHERER, M. D. **Caracterização óptica do diesel, biodiesel, óleo e suas misturas: Desenvolvimento de uma metodologia alternativa para a quantificação do teor de biodiesel na mistura diesel/biodiesel.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados. Programa de Pós - graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. Dourados –MS. 2011. 98p.

SCHERER, M. D.; OLIVEIRA, S. L.; ANDRADE, L. H. C.; LIMA, S. M.; CAIRES, A. R. L. **Determination of the biodiesel content in diesel/biodiesel blends: a method based on fluorescence spectroscopy.** J Fluoresc 2011; 21: 1027-31.

SENESI, N. **Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interaction with metal ions and organic chemicals, Part II.** The fluorescence spectroscopy approach. Analytica Chimica Acta, v. 232, p.77 -106, 1990.

SIKORSKA E., ROMANIUK A., KHMELINSKII I.V., HERANCE R., BOURDELANDE J.L., SIKORSKI M., KOZIOL J., **Characterization of edible oils using total luminescence spectroscopy.** J. Fluorescence, 2003.

SIKORSKA, E.; GÓRECKI, T.; KHMELINSKII, I.V.; SIKORSKI, M.; KOZIOL, J. **Classification of edible oils using synchronous scanning fluorescence spectroscopy.** Food Chemistry. 89, 2005, 217-225.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G.; MORRIL, T. C. Identificação espectroscópica de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 387 p, (1994).

SIMONATO, J. D. **Efeitos da exposição á fração solúvel da gasolina em parâmetros bioquímicos e fisiológicos de *Prochllodus lineatus***. Tese de Doutorado. Programa de pós graduação em Ecologia e Recursos Naturais. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos- SP. 2010. 80 p.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Análise instrumental**. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 836 p, (2002).

SOUZA, F. H. N.; ALMEIDA, L. R.; RIOS, M. A.; **UV-Visible Spectroscopy Study of Oxidative Degradation of Sunflower Biodiesel**. Energy Science and Technology, v. 2, n. 2, p. 56-61, 2011.

SOUZA, J.; SCHERER, M. D.; CÁCERES, J. A. S.; CAIRES, A.R.L.; M'PEKO J.-C. **A close dielectric spectroscopic analysis of diesel/biodiesel blends and potential dielectric approaches for biodiesel content assessment**. Fuel 105 (2013) 705–710.

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

TAKSANDE, A.; HARIHARAN, C. **Synchronous fluorescence method to check adulteration of petrol and diesel by kerosene**. Spectroscopy Letters, vol 39, p. 345-356, 2006.

TEIXEIRA, L. S. G.; COUTO, M. B.; SOUZA, G. S.; FILHO, M. A.; ASSIS, J. C. R.; GUIMARÃES, P. R. B; PONTES, L. A. M.; ALMEIDA, S. Q.; TEIXEIRA, J. S. R. **Characterization of beef tallow biodiesel and their mixtures with soybean biodiesel and mineral diesel fuel**. b i o m a s s and b i o energy 3 4 (2010) 438 – 441.

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 (2014) 91:215–227.

VALEUR, B. **Molecular Fluorescence: Principles and Applications**. 1.ed. Wiley-VCH Verlag GmbH. 2001.

VIANNI, R.; FILHO, R. B. **Ácidos Graxos Naturais: Importância e Ocorrência em Alimentos**. Química Nova, 19 (4), p. 400-407, 1996.

WŁODARSKI, M.; BOMBALSKA, A.; MULARCZYK-OLIWA, M.; KALISZEWSKI, M.; KOPCZYŃSKI, K. **Fluorimetric techniques in analysis and classification of fuels**. SPIE Proceedings Vol. 8703: 2013.