



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ALESSANDRA TANAJURA CAMPOS

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA PREDIÇÃO DO
TEOR DE ENXOFRE EM MISTURAS DE BIODIESEL EM DIESEL POR
ESPECTROFLUORIMETRIA E CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA COM
ROBUSTEZ EM DECAIMENTO OXIDATIVO DO COMBUSTÍVEL**

Salvador-BA
2019

ALESSANDRA TANAJURA CAMPOS

“DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA PREDIÇÃO DO
TEOR DE ENXOFRE EM MISTURAS DE BIODIESEL EM DIESEL POR
ESPECTROFLUORIMETRIA E CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA COM
ROBUSTEZ EM DECAIMENTO OXIDATIVO DO COMBUSTÍVEL”

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito básico para obtenção do título de doutora em Química.

Orientadora: Profa. Dra Cristina M. Quintella
Co-orientadora: Profa. Dra Marilena Meira

Salvador-BA
2019

ALESSANDRA TANAJURA CAMPOS

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA PREDIÇÃO DO
TEOR DE ENXOFRE EM MISTURAS DE BIODIESEL EM DIESEL POR
ESPECTROFLUORIMETRIA E CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA COM
ROBUSTEZ EM DECAIMENTO OXIDATIVO DO COMBUSTÍVEL

Tese de doutorado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação de Química como requisito básico
para obtenção do título de Doutora em Química,
Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia.

Aprovada em _____ de _____ de 2019

Banca Examinadora

Prof^a Dr^a Cristina M. Quintella, UFBA. Orientadora

Prof^aDr^a Marilena Meira, IFBA.
Co-orientadora

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe, que tem dedicado a vida à minha formação, que sempre me apoiou com amor e dedicação, sem a qual não seria possível nenhuma realização.

A meu filho Mateus, por me dar força e coragem para continuar nos momentos difíceis, pelo seu olhar e seu sorriso que me fizeram renascer como pessoa.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha vida e saúde, por me permitir realizar e alcançar meus objetivos.

À minha família que sempre acreditou que eu poderia chegar mais longe, em especial minhas irmãs Kátia e Fabrícia e minha sobrinha Ana Luíza.

Ao meu esposo Márcio, por me acompanhar nessa longa trajetória, pelo companheirismo e amor dedicados durante esses anos.

À professora Cristina Quintella pela orientação, ensinamentos e confiança depositada.

À professora Marilena Meira pelos ensinamentos, por todas as dúvidas sanadas, por todos os momentos de orientação, obrigada pela paciência e pela atenção que me direcionou.

À Saionara por todo o apoio, todo incentivo, toda a ajuda concentrada a mim, por me levantar quando eu imaginava que já não tinha mais forças para continuar.

As minhas amigas, patrimônio que vou levar para sempre da época da graduação: Juliana, Paula e Ivanice.

A todos os colegas do Lablaser: em especial a Pamela, pelas angústias divididas, pelas conversas e conselhos na finalização do trabalho.

Aos funcionários da secretária de pós-graduação, em especial Michel e Luciana.

À Capes pelo apoio financeiro.

CAMPOS, A. T. **Desenvolvimento e validação de método para predição do teor de enxofre em misturas de biodiesel em diesel por espectrofluorimetria e calibração multivariada com robustez em decaimento oxidativo do combustível**. 2019. 119f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Bahia, UFBA. Salvador, BA, 2019.

RESUMO

Na configuração mundial atual energética o uso dos combustíveis sustentáveis possui uma alta valorização. Porém, a presença de enxofre no diesel é um ponto que tem uma grande preocupação ambiental, pois altas concentrações do elemento, pode trazer diversos prejuízos. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método para predizer teor de enxofre em misturas de biodiesel em diesel por espectrofluorimetria e quadrados mínimos parciais. Antes de iniciar o trabalho foi realizado um estudo do estado da arte com intuito de identificar estudos relacionados com o tema bem como “gargalos tecnológicos”. A metodologia para determinação do teor de enxofre consistiu na preparação de misturas de biodiesel em diesel e biodiesel oxidado em diesel com diferentes teores de enxofre, os quais abrangem os limites fixados pela Agência Nacional de Petróleo e na caracterização das amostras por espectroscopia de infravermelho e espectrofluorimetria. Na sequência foram construídas as curvas de calibração multivariada tanto em função da concentração de enxofre quanto utilizando o seu padrão Sulfur in Di-n-Butyl Sulfide através dos dados obtidos nos equipamentos de fluorescência de raio-x e fluorescência induzida por diodo emissor de luz. As mesmas amostras foram utilizadas para fazer a correlação do método de referência (fluorescência de raio-x), de acordo com a norma ABNT NBR 14533, com o novo método proposto utilizando o equipamento Quimis espectrofluorímetro Q798FIL. Os modelos de calibração multivariada obtidos apresentam baixos desvios, em média 0,38845 e 1,5045 para B10 e B20, respectivamente, com adição de Sulfur in Di-n-Butyl Sulfide (padrão de enxofre) para o equipamento de referência e para o método proposto foram 0,9791 e 0,6046. No método com adição de enxofre elementar, foram obtidos desvios padrões médios de 0,3781 e 2,727 (fluorescência de raio-x) e 0,3644 e 0,9587 (fluorescência induzida por diodo emissor de luz) para B10 e B20 respectivamente. Os dados apresentaram uma correlação satisfatória para B10 (R^2 de 0,9633) e para B20 (R^2 de 0,9745) com adição de enxofre elementar e com adição de seu padrão foi obtido para B10 (R^2 de 0,9903) e para B20 (R^2 de 0,9590). Com os testes de hipótese (t e F) concluiu-se que o método proposto (fluorescência induzida por diodo emissor de luz) atende o objetivo, apresentando também vantagens adicionais como baixo custo, rapidez da análise e simplicidade.

Palavras-chave: Biodiesel. Diesel. Fluorescência. Espectrofluorimetria. Partial Least Squares. Enxofre. Raio-X.

CAMPOS, A. T. **Desenvolvimento e validação de método para predição do teor de enxofre em misturas de biodiesel em diesel por espectrofluorimetria e calibração multivariada com robustez em decaimento oxidativo do combustível**. 2019. 119f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Bahia, UFBA. Salvador, BA, 2019.

ABSTRACT

The use of sustainable fuels has a high value in the current global energy configuration. However, the presence of sulfur in diesel is a point that has a great environmental concern, because high concentrations of the element, can cause several damages. The present work had the objective of developing and validating a method to predict sulfur content in biodiesel-diesel blends, using spectrofluorimetry and partial minimum squares methods. Before starting the work, a review of prior, significant literature was carried out in order to identify studies related to the topic, facilitate theory development as well as "technological bottlenecks". The methodology for determining the sulfur content consisted of the preparation of biodiesel blends in diesel and biodiesel oxidized in diesel with different sulfur contents, which cover the limits set by the National Petroleum Agency and in the characterization of the samples by infrared spectroscopy and. Subsequently, the multivariate calibration curves were constructed as a function of the sulfur concentration and using its Sulfur in Di-n-Butyl Sulfide standard through the data obtained in the x-ray fluorescence and fluorescence induced by light emitting diode. The same samples were used to perform the correlation of the reference method (X-ray fluorescence), consistent with the standard ABNT NBR 14533, and the new method proposed using the equipment Quimisspectrofluorimeter Q798FIL. The multivariate calibration models obtained low deviations, being around 0.33845 and 1.5045 for B10 and B20, in this order, with addition of sulfur standard obtained in the reference equipment, and for the proposed method was 0.9791 for B10 and 0.6046 for B20. On the other hand, with addition of elemental sulfur, mean standard deviation of 0.3771 and 2.727 (X-ray fluorescence) and 0.3644 and 0.9587 (light emitting diode induced fluorescence) were obtained for B10 and B20, respectively. The addition of elemental sulfur provided a suitable correlation for B10 (R^2 of 0.9633) and for B20 (R^2 of 0.9745) as well as the addition of its standard for B10 (R^2 of 0.9903) and for B20 (R^2 of 0.9590). According to the t and F hypothesis tests it was concluded that the proposed method (fluorescence induced by light-emitting diode) meets the proposed objective, presenting also further advantages such as cost, speed of analysis and simplicity.

Keywords: Biodiesel. Diesel. Fluorescence Spectrofluorimetry. Partial Least Squares. Sulfur. X-Ray.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de Jablonski.....	23
Figura 2. Esquema do funcionamento do espectrofluorimetro UV-Vis modelo Q798FIL	27
Figura 3. Funcionamento do Espectrofluorimetro Perkin Elmer LS-55.....	28
Figura 4. Esquema do equipamento que opera com o método Rancimat.....	29
Figura 5. Ilustração do período de indução	29
Figura 6. Mecanismo geral da oxidação de um ácido graxo	31
Figura 7. Espectro de fluorescência (<i>ua</i>) em misturas de biodiesel em diesel (B10) com adição de enxofre nas concentrações de 5 a 100 mg kg ⁻¹ em função dos comprimentos de onda de emissão e de excitação.....	51
Figura 8. Espectro de fluorescência (<i>ua</i>) em misturas de biodiesel em diesel (B20) com adição de enxofre nas concentrações de 5 a 100 mg kg ⁻¹ em função dos comprimentos de onda de emissão e de excitação.....	53
Figura 9. Modelo PLS de amostras B10 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados Perkin Elmer LS-55).....	54
Figura 10. Variância explicada do modelo PLS de amostras B10 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados Perkin Elmer LS-55)	55
Figura 11. Modelo PLS de amostras B20 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados Perkin Elmer LS-55).....	56
Figura 12. Variância explicada do modelo PLS de amostras B20 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados Perkin Elmer LS-55)	56
Figura 13. Modelo PLS das amostras B10 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados UV Vis Q798FIL).....	57
Figura 14. Variância explicada do modelo PLS de amostras B10 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados UV Vis Q798FIL)	58
Figura 15. Modelo PLS de amostras B20 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados UV Vis Q798FIL).....	59
Figura 16. Variância explicada do modelo PLS de amostras B20 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados UV Vis Q798FIL)	59
Figura 17. Valor predito do teor de enxofre e desvio para quatro amostras de B10 com concentração desconhecida de enxofre elementar (Dados UV Vis Q798FIL)...	60

Figura 18. Valor predito do teor de enxofre e desvio para quatro amostras de B20 com concentração desconhecida de enxofre elementar (Dados UV Vis Q798FIL)...	61
Figura 19. Espectro de FTIR das amostras de combustíveis (Biodiesel em diesel) com adição de enxofre elementar (B10SXX)	63
Figura 20. Espectro de FTIR das amostras de combustíveis (Biodiesel em diesel) com adição de enxofre elementar (B20SXX)	64
Figura 21. Espectro de FTIR das amostras oxidadas de combustíveis (Biodiesel em diesel) com adição de enxofre elementar (B10SXX) em A) 0h, B) 1 h, C) 2h, D) 3h, E) 4h e F) 5h	65
Figura 22. Modelo PLS de amostras B10 com adição de enxofre elementar de 0 a 45 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	67
Figura 23. Variância explicada do modelo PLS de amostras B10 de enxofre elementar de 0 a 45 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	67
Figura 24. Modelo PLS de amostras B20 com adição de enxofre elementar de 0 a 45 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	68
Figura 25. Variância explicada do modelo PLS de amostras B20 de enxofre elementar de 0 a 45 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	68
Figura 26. Valor predito do teor de enxofre e desvio para quatro amostras de B10 com concentração desconhecida de enxofre elementar (Dados EDXRF)	69
Figura 27. Valor predito do teor de enxofre e desvio para amostras no escuro de B20 com adição de enxofre elementar (Dados EDXRF)	70
Figura 28. Modelo PLS de amostras B10 com adição de padrão SDB de 0 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	72
Figura 29. Variância explicada do modelo PLS de amostras B10 e padrão SDB de 0 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	73
Figura 30. Valor predito do teor de enxofre e desvio para amostras no escuro de B10 com adição do padrão de enxofre (SDB) (Dados EDXRF)	73
Figura 31. Modelo PLS de amostras B20 com adição de padrão SDB de 0 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	74
Figura 32. Variância explicada do modelo PLS de amostras B20 e seu padrão (SDB) de 0 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	75
Figura 33. Valor predito do teor de enxofre e desvio para amostras no escuro de B20 com adição do padrão de enxofre (SDB) (Dados EDXRF)	75

Figura 34. Modelo PLS de amostras B10 com adição de padrão SDB de 0 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	77
Figura 35. Variância explicada do modelo PLS de amostras B10 e seu padrão (SDB) de 0 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	78
Figura 36. Valor predito do teor de enxofre e desvio para amostras no escuro de B10 com adição do padrão de enxofre (SDB) (Dados EDXRF)	78
Figura 37. Modelo PLS de amostras B20 com adição de padrão SDB de 0 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	79
Figura 38. Variância explicada do modelo PLS de amostras B20 e seu padrão (SDB) de 0 a 100 mg kg ⁻¹ (Dados EDXRF).....	80
Figura 39. Valor predito do teor de enxofre e desvio para amostras no escuro de B20 com adição do padrão de enxofre (SDB) (Dados EDXRF)	80
Figura 40. Correlação dos dados obtidos no FIL versus EDXRF para amostras de biodiesel em diesel com adição de enxofre elementar (0 a 45 mg kg ⁻¹).....	82
Figura 41. Correlação dos dados obtidos no FIL versus EDXRF para amostras de biodiesel em diesel com adição do padrão de enxofre SDB (0 a 100 mg kg ⁻¹)	84
Figura 42. Modelo PLS de amostras B20 com adição de padrão SDB de 5 a 22 mg kg ⁻¹	117

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Procedência das amostras	40
Tabela 2. Certificado do biodiesel (B100) enviado pela PETRÓBRAS	40
Tabela 3. Certificado do diesel B00 enviado pela RLAM	41
Tabela 4. Quantidade de diesel e biodiesel nas amostras	42
Tabela 5. Concentração de enxofre nas misturas	42
Tabela 6. Amostras utilizando sulfeto de di-n-butila (SDB)	43
Tabela 7. Amostra de biodiesel de soja oxidada	44
Tabela 8. Excitação x Emissão cujas intensidades foram zeradas	45
Tabela 9. Possíveis fluoróforos encontrados no biodiesel	50
Tabela 10. Principais HPAs encontrados no diesel.....	50
Tabela 11. Valores preditos do teor de enxofre com desvio para quatro amostras de B10 com concentração desconhecida de enxofre elementar	60
Tabela 12. Valor predito do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B20 com adição de enxofre elementar	61
Tabela 13. Comparação entre as figuras de mérito dos modelos de B10 e B20 com adição de enxofre elementar	62
Tabela 14. Valor predito do teor de enxofre elementar com desvio para amostras no escuro de B10	69
Tabela 15. Valor previsto do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B20 com adição de enxofre elementar	70
Tabela 16. Comparação entre as figuras de mérito dos modelos de B10 e B20 com adição de enxofre elementar	71
Tabela 17. Valor predito do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B10 com adição de seu padrão (SDB)	74
Tabela 18. Valor previsto do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B20 com adição de seu padrão (SDB)	76
Tabela 19. Comparação entre as figuras de mérito dos modelos de B10 e B20 com adição do padrão de enxofre (SDB)	76
Tabela 20. Valor previsto do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B10 com adição de seu padrão (SDB)	79
Tabela 21. Valor previsto do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B20 com adição de seu padrão (SDB)	81

Tabela 22. Comparação entre as figuras de mérito dos modelos de B10 e B20 com adição do padrão de enxofre (SDB)	81
Tabela 23. Parâmetros de validação para determinação de B10Sxx e B20Sxx.....	83
Tabela 24. Teste de significância para as amostras de B10 e B20 com adição de enxofre elementar	84
Tabela 25. Parâmetros de validação para determinação de B10SDBxx e B20SDBxx	85
Tabela 25. Teste de significância para as amostras de B10 e B20 com adição do padrão de enxofre (SDB)	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Sigla	Significado	Do Inglês
AAS	Espectroscopia de Absorção atômica	Atomic Absorption Spectroscopy
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas	Brazilian Association of Technical Standards
ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis	Brazilian National Petroleum Agency
ASTM	Sociedade Americana de Testes e Materiais	American Society for Testing and Materials
ATR	Reflectância Total Atenuada	Attenuated Total Reflectance
B10	10% de Biodiesel	10% Biodiesel
B20	20% de Biodiesel	20% Biodiesel
B100	100% de Biodiesel	100% Biodiesel
CNPE	Conselho Nacional de Política Energética	National energy policy Council
DOF	Graus de Liberdade	Degrees of Freedom
EDXRF	Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva	X-Ray Fluorescence by Dispersive Energy
EPO	Instituto Europeu de Patentes	European Patent Office
FIL	Fluorescência Induzida por Diodo Emissor de Luz	Fluorescence Induced by Light Emitting Diode
FTIR	Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
HATR	Reflexão Total Horizontal Atenuada	Horizontal Attenuated Total Reflectance
HCA	Hierárquica de Agrupamentos	Hierarchical Groupings
HPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos	Aromatic Polycyclic Hydrocarbons
HR-CS	Fonte de alta resolução contínua	High-Resolution Continuum Source
IR	Espectroscopia no Infravermelho	Infrared Spectroscopy
IPC	Classificação Internacional de Patentes	International Patent Classification

Sigla	Significado	Do Inglês
ICP - MS	Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
ICP – OES	Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente	Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry
iPLS	Intervalos dos Mínimos Quadrados Parciais	Interval Partial Least Squares
ISO	Organização Internacional para Padronização	International Organization for Standardization
KNN	Vizinhos mais Próximos	Nearest Neighbors
LDA	Análise por Discriminante Linear	Linear Discriminant Analysis
LED	Diodo Emissor de Luz	Light Emitting Diode
LD e LOD	Limite de Detecção	Detection limit
LQ e LOQ	Limite de Quantificação	Quantification Limit
MCTI	Ministério de Ciência e Tecnologia e inovação	Ministry of Science and Technology and innovation
MS	Espectrometria de massa	Mass Spectroscopy
NBB	Conselho Nacional de Biodiesel	National Biodiesel Board
NBR	Norma Brasileira	Brazilian Standard
OGR	Óleo e Gordura Residual	Oil and Fat Residual
OMC	Organização Mundial de Comércio	World Trade Organization
PARAFAC	Análise Paralela de Fatores	Parallel Analysis of Factors
PC	Componente Principal	Principal component
PCs	Componentes Principais	principal components
PCA	Análise de Componente Principal	Principal Components Analysis
PCR	Regressão Por Componentes Principais	Principal Component Regression
PI	Período de Indução	Induction Period
PLS	Mínimos Quadrados Parciais	Partial Least Squares Regression
PNPB	Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel	National Program for the Production and Use of Biodiesel
RMN	Ressonância Magnética Nuclear	Magnetic Resonance Spectroscopy Nuclear

Sigla	Significado	Do Inglês
RMSEC	Raiz do Erro Quadrático Médio da Calibração	Root-Mean-Square Error of Cross validation
RMSECV	Raiz do Erro Quadrático Médio da Validação Cruzada	Root-Mean-Square Error of Cross Validation
RMSEP	Raiz do Erro Quadrático Médio da Predição	Root-Mean-Square Error of Independent Prediction
RSD	Desvio Padrão Relativo	Relative Standard Deviation
RSS	Soma Residual dos Quadrados	Residual Sum of Squares
SDB	Sulfeto de di-n-butila	Sulfur in Di-n-Butyl Sulfide
SiPLS	Quadrados Mínimos Parciais de Sinergia	Synergy Partial Least Squares
SO _x	Óxido de enxofre	Sulfur Oxide
ua	unidades arbitrárias	arbitrary units
UFBA	Universidade Federal da Bahia	Federal University of Bahia
USP	Universidade de São Paulo	University of Sao Paulo
UV-Vis	Visível-Ultravioleta	Ultraviolet-Visible
XRF	Fluorescência de Raios-X	X-ray fluorescence

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	19
2.	OBJETIVOS	22
2.1.	OBJETIVOS GERAIS	22
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	23
3.1.	ESPECTROFLUORIMETRIA	23
3.2.	FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X.....	25
3.3.	ESPECTROSCOPIA INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	26
3.4.	FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR DIODO EMISSOR DE LUZ.....	26
3.5.	ESPECTROFLUORÍMETRO	27
3.6.	MÉTODO RANCIMAT	28
3.6.1.	Oxidação e auto-oxidação	30
3.7.	MÉTODOS DE ANÁLISE MULTIVARIADAS	31
3.7.1.	Quimiometria	31
3.7.2.	Calibração	32
3.7.3.	Modelo de regressão PLS	33
3.8.	VALIDAÇÃO E FIGURAS DE MÉRITO	34
3.8.1.	Validação	34
3.8.2.	Figuras de mérito	35
3.8.2.1.	<i>Exatidão e precisão</i>	35
3.8.2.2.	<i>Sensibilidade e sensibilidade analítica</i>	37
3.8.2.3.	<i>Seletividade e especificidade</i>	37
3.8.2.4.	<i>Razão sinal/ruído</i>	38
3.8.2.5.	<i>Limite de detecção e quantificação</i>	38
3.8.2.6.	<i>Intervalos de confiança</i>	38
3.8.2.7.	<i>Raiz do Erro Quadrático Médio da Calibração (RMSEC)</i>	39
3.8.2.8.	<i>BIAS</i>	39
4.	PARTE EXPERIMENTAL	40
4.1.	REAGENTE E SOLUÇÕES	40
4.3.	INSTRUMENTAÇÃO	43
4.3.1.	Pré-tratamento das amostras	43

4.3.2.	Preparo das amostras em banho ultrassom	43
4.3.3.	Preparo das amostras em aquecimento de fluxo contínuo	44
4.3.4.	Determinação do analito	44
4.4.	ENSAIOS.....	45
4.4.1.	Ensaio Espectrofluorímetro (Perkin Elmer – LS55).....	45
4.4.2.	Fluorescência Induzida por Diodo Emissor de Luz (Espectrofluorímetro UV Vis – Q798FIL).....	46
4.4.3.	Ensaio FTIR.....	46
4.4.4.	Ensaio de estabilidade oxidativa usando o método Rancimat.....	47
4.4.5.	Ensaio no EDXRF	47
4.5.	CONSTRUÇÃO DO MODELO PLS.....	48
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1.	MÉTODO EMPREGANDO ESPECTROFLUORÍMETRO PERKIN ELMER LS-55	49
5.2.	MÉTODO EMPREGANDO ESPECTROFLUORÍMETRO UV Vis Q798FIL..	57
5.2.1.	Calibração e validação externa do modelo PLS de amostras B10 e B20 com adição de enxofre elementar.....	60
5.3.	MÉTODO EMPREGANDO FTIR	63
5.3.1.	Espectros das amostras oxidadas.....	64
5.4.	MÉTODO EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X DE ENERGIA DISPERSIVA (EDXRF).....	66
5.5.	VALIDAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO (FIL) PELO MÉTODO DE REFERÊNCIA (EDXRF).....	71
5.5.1.	Curva de calibração por adição de padrão	71
5.5.2.	Correlação dos dados do método proposto (FIL) e do método de referência (EDXRF).....	82
6.	CONCLUSÃO	86
7.	PERSPECTIVAS FUTURAS	88
	REFERÊNCIAS	89
	APÊNDICE A – Gráficos gerados a partir dos resultados obtidos no Q798FIL	98
	APÊNDICE B – Gráficos gerados a partir dos resultados obtidos no FTIR.....	103
	APÊNDICE C – Resultados obtidos no Rancimat	113

APÊNDICE D – Gráficos gerados a partir dos resultados obtidos no espectrofluorímetro Perkin Elmer LS55	114
APÊNDICE E – Gráficos gerados a partir dos resultados obtidos no EDXRF	117
ANEXO I – Trabalhos publicados	119

1. INTRODUÇÃO

O combustível diesel é constituído majoritariamente de alcanos que possuem cadeias de 10 a 20 carbonos, portanto, constituído principalmente de hidrocarbonetos saturados de cadeia longa. Eles também possuem compostos aromáticos, cicloalcanos alquilados e até compostos que apresentam heteroátomos, a saber, enxofre, nitrogênio e oxigênio. Dentre os compostos sulfurados encontrados no óleo diesel se encontram as classes de benzotiofenos e dibenzotiofenos (SPEIGHT, 1996).

Até recentemente, um dos principais problemas em relação à emissão de material particulado era o elevado teor de enxofre no óleo diesel que era comercializado pela indústria automobilística brasileira (BRAUN; APPEL e SCHMAL, 2004). Os óxidos de enxofre (SO_x) são classificados como compostos de emissão que representam um risco para a saúde humana; no entanto, estão sujeitos a regulamentações (NEEFT; MAKKEE e MOULIJN, 1996).

No Brasil, para reduzir a poluição atmosférica causada pelo enxofre presente no diesel, este combustível foi produzido com um menor teor de enxofre, passando gradualmente de S1800 (1800 mg kg⁻¹ de enxofre) a S500 (500 mg kg⁻¹ de enxofre), seguido de S50 (50 mg kg⁻¹ de enxofre) a S10 (10 mg kg⁻¹ de enxofre). A comercialização de combustíveis adulterados ou dos óleos diesel A ou B que não se enquadrem nas especificações estabelecidas nas normas vigentes da Agência Nacional de Petróleo (ANP) acarreta na interdição do posto revendedor entre outros prejuízos sendo vedada a sua comercialização (ANP nº 65, 2011). Para efeitos da Resolução ANP nº 50, de 23 de dezembro de 2013 - DOU 24 de dezembro de 2013, os óleos diesel de uso rodoviário classificam-se em:

- I - Óleo diesel A: combustível produzido nas refinarias, nas centrais de matérias-primas petroquímicas e nos formuladores, ou autorizado nos termos do § 1º do art. 1º, destinado a veículos dotados de motores do ciclo Diesel, de uso rodoviário, sem adição de biodiesel;
- II - Óleo diesel B: óleo diesel A adicionado de biodiesel no teor estabelecido pela legislação vigente (ANP nº 50, 2013).

O programa de controle de emissões veiculares (Proconve) criado pelo CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) surgiu com o objetivo de reduzir e controlar a contaminação atmosférica e a emissão de ruídos por fontes móveis

(automóveis, caminhões, ônibus e máquinas rodoviárias e agrícolas) fixando prazos, limites máximos de emissão e estabelecendo exigências tecnológicas para veículos automotores, nacionais e importados, a exemplos desses limites máximos para veículos leves de passageiros são: 1,30 monóxido de carbono (CO em g km⁻¹) e 0,025 material particulado (MP em g km⁻¹) este último aplicável somente a veículos movidos a óleo diesel, sendo esses prazos estando em vigor desde 01 de Janeiro de 2014 (IBAMA, 2017).

Em março de 2018 o diesel vendido nacionalmente passou a ter um percentual de 10% de biodiesel adicionado ao diesel, sendo a tendência ocorrer aumentos nos próximos anos, estima-se um aumento para 15% de biodiesel no diesel no ano de 2019 podendo ainda ter alterações nesses valores definidos pelo Conselho Nacional de Política Energética (CNPE). Vale ressaltar que a evolução do biodiesel no Brasil iniciou com um percentual de 2% (B2) em 2005 de forma autorizativa e a partir de 2008 tornou-se obrigatório (BIODIESELBR, 2006).

O processo de oxidação do biodiesel, pelo método Rancimat - determina a estabilidade oxidativa, envolve reações químicas que, de acordo com a cinética da reação, têm velocidades diferentes. De modo geral, a partir da quinta hora de oxidação, a reação de oxidação ocorre via mecanismo radicalar, de forma que é possível afirmar que a estabilidade oxidativa do biodiesel, dependendo do óleo que ele foi produzido, seu período de indução pode variar de quatro a cinco horas. Isto porque, mecanismos radicalares envolvem reações muito rápidas e, assim, a partir da quinta hora, pode-se dizer que o biodiesel encontra-se completamente oxidado (MEIRA et al., 2015c).

A determinação do teor de enxofre em combustíveis utiliza diferentes métodos analíticos, por exemplo: Fluorescência na Região do Ultravioleta, Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDXRF), Espectrometria de Emissão Atômica (ICP-AES) (SANTELLI et al., 2008; MELLO; BARIN e FLORES, 2015; CRUZ et al., 2015; AMAIS; DONATI e NÓBREGA, 2014; AHMADI et al., 2017), Espectroscopia de Massa com Plasma indutivamente Acoplado (ICP-MS), Espectroscopia de Absorção atômica (AAS) ou por Espectrometria de Fluorescência de Raios-X (XRFS) (MISKOLCZI, 2006), Espectrometria de Absorção Molecular (HUBER et al., 2015; CAMERA et al., 2017), entre outros.

Normas reguladoras utilizando essas técnicas contribuem na investigação e controle desse poluente, pois estabelecem limites de teor de enxofre cada vez mais

baixos nos combustíveis e principalmente nos compostos derivados de hidrocarbonetos conseguindo assim minimizar os danos ao meio ambiente.

Insta saber que as normas ISO 2088 de 2004 e ISO 20846 de 2011 são usadas para determinar o teor de enxofre de combustíveis automotivos usando espectrometria de fluorescência de raios-X por dispersão de comprimento de onda e o método de fluorescência ultravioleta (ABNT, 2000; ABNT, 2011).

Ainda sobre esses métodos, embora precisos, são geralmente caros, e a obtenção dos resultados analíticos consomem tempo quando comparados a técnica de espectrofluorimetria. Portanto, é necessário criar um método que seja rápido, preciso e econômico o qual possibilite a informação no que tange conformidade ou não com o teor de enxofre estipulado pela legislação vigente no momento de distribuição de combustível. Ademais, métodos utilizando espectrofluorimetria associada à calibração multivariada foram estudados e se mostraram eficazes como métodos analíticos (MEIRA et al., 2011a; MEIRA et al., 2011b; MEIRA et al., 2012).

O tratamento de dados e interpretação de resultados, obtidos a partir dos ensaios realizados utilizando os métodos de fluorescência citados, são facilitados por meio de modelos matemáticos como mínimos quadrados parciais (PLS), (iPLS) e (siPLS) para a determinação simultânea de parâmetros de qualidade em misturas de biodiesel em diesel. Teor de biodiesel, massa específica, teor de enxofre e ponto de fulgor foram avaliados utilizando dados espectroscópicos na região do infravermelho médio obtidos com uma reflectância atenuada horizontal total (HATR) como acessório (FERRÃO, 2011) são de extrema relevância.

O estudo visa propor uma alternativa para os métodos de determinação de enxofre já existentes, buscando uma opção que seja possível a utilização *in loco*, de baixo custo e não destrutiva, de modo que se obtenha em tempo real resposta sobre a conformidade da amostra de diesel em termos dos padrões de enxofre especificados na norma vigente.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GERAIS

Desenvolver e validar um método para predição de teor de enxofre em misturas de biodiesel em diesel utilizando a calibração multivariada (PLS) e fluorescência.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a influência das concentrações de enxofre sobre a intensidade de fluorescência nas amostras no Espectrofluorímetro Perkin Elmer LS-55.
- Identificar as mudanças da composição química das amostras oxidadas através do FTIR.
- Realizar a curva de calibração com o padrão de enxofre (SDB), de acordo com a norma da ABNT baseada da ASTM D4294:2008a.
- Analisar as amostras por Espectrofluorímetro UV Vis – Q798FIL e validar com o método de referência fluorescência de raios-x de acordo com a norma da ABNT baseada da ASTM D4294:2008a.
- Construir os modelos de calibração multivariada por Regressão por quadrados mínimos parciais (PLS) com amostras aleatórias, relacionando os espectros de fluorescência com os resultados encontrados pelo método de referência.
- Fazer a predição analítica do teor de enxofre com amostras no escuro.
- Correlacionar os dados do método proposto com o método de referência utilizando figuras de méritos e testes de hipóteses.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

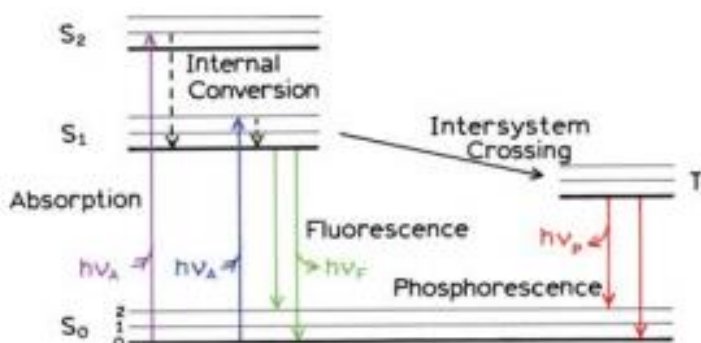
3.1. ESPECTROFLUORIMETRIA

A espectrofluorimetria ou espectrometria de fluorescência é uma técnica analítica bastante utilizada atualmente em função de suas diversas vantagens, tais como, rapidez, simplicidade, sensibilidade e seletividade. Além disso, na análise de fluidos naturalmente fluorescentes (fluorescência intrínseca) pode ser dispensada a sequência de preparação da amostra através de aditivos fluorescentes.

A luminescência está subdividida em diversas categorias como: quimioluminescência, bioluminescência, termoluminescência, eletroluminescência e fotoluminescência. A fluorescência é uma categoria da fotoluminescência, que é dividida em fluorescência e fosforescência dependendo da natureza do estado de excitação. A luminescência é definida como emissão de radiação eletromagnética, por moléculas, de comprimento de onda que vão do ultravioleta ao infravermelho no espectro eletromagnético (SOUZA; SANTOS; COSTA, 1993).

O diagrama de Jablonski (Figura 1), apresenta o processo de absorção e emissão de luz. Esses diagramas são usados para ilustrar vários processos moleculares que podem ocorrer em estados excitados (LAKOWICZ, 2006).

Figura 1. Diagrama de Jablonski



Fonte: LAKOWICZ, 2006.

As técnicas mais empregadas em trabalhos são a espectroscopia de fluorescência sincronizada e a espectrofluorimetria total ou fluorescência de matriz excitação-emissão. Na primeira, simultaneamente ocorre escaneamento tanto na

emissão quanto na excitação mantendo uma diferença de comprimento de onda fixo entre estas duas medidas. Na segunda, ocorre escaneamento da emissão enquanto a amostra sofre excitação em comprimento de onda fixo (MONYEM; VAN GERPEN, 2001a), para diversos comprimentos de excitação.

Uma característica muito importante da técnica de fluorescência é que ela não é destrutiva. Sendo assim, pode-se utilizar a mesma amostra em outras análises ou utilizar para outro fim.

A restrição desta técnica na análise de misturas complexas é devido à sobreposição dos sinais que atualmente é superada pelo uso da quimiometria com técnicas de espectrofluorimetria multidimensionais (MEIRA et al., 2011a).

Estudos encontrados na literatura relatam sobre diferentes técnicas para determinação de enxofre em amostras de combustíveis, principalmente no diesel. Segundo Cruz et al. (2015) e Amais, Donati e Nóbrea (2014) desenvolveram um procedimento para a determinação do enxofre total em petróleo e derivados utilizando ICP OES.

Segundo Santelli et al. (2008) a determinação do teor total de enxofre em amostras preparadas como emulsões utilizando a técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, obteve como resultados para limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) de 0,72 e 2,4 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente, mostrando que os valores estão de acordo com o estabelecido na regulamentação vigente.

Miskolczi et al. (2006) determinou o teor de enxofre em amostras de diesel usando dois métodos analíticos: fluorescência de raios-X por dispersão de energia (EDXRF) e espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Os resultados indicaram uma correlação adequada entre os resultados experimentais medidos pelos dois métodos.

O trabalho desenvolvido por Al-Zarani, Basheer e Htun (2014) utilizou um método de microextração em fase líquida para a determinação de compostos de enxofre em petróleo bruto e diesel. As análises foram realizadas por cromatografia gasosa equipada com detector de quimiluminescência de enxofre. Sob condições ótimas, a linearidade foi obtida para a extração de compostos de enxofre entre 0,10 e 250 g mL^{-1} , com correlação variando de 0,98 a 0,9.

Já no estudo de Nakadi, Soares e Veiga (2014) aplicou-se o forno de grafite de alta resolução com fonte contínua de espectrometria de absorção molecular (HR-

CS GF MAS) para determinar o enxofre no diesel usando nanopartículas de paládio como um modificador químico. As seguintes figuras de mérito foram obtidas: 120 e 400 mg kg⁻¹, LOD e LOQ, respectivamente, R² 0,9972 e desvio padrão de 1-5%. A precisão do método foi avaliada com duas amostras de referência.

No estudo de Barker, Kelly e Guthrie (2008) foi utilizada a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite para determinação de enxofre em massa característica de 17 ± 3 ng e LOD e LOQ de 1,4 e 4,7 mg kg⁻¹, respectivamente.

Outro exemplo é um método analítico para a separação, identificação e quantificação de compostos contendo enxofre presente no diesel (170-400 °C), utilizando cromatografia a gás abrangente bidimensional acoplada a um detector de quimioluminescência de enxofre. Outra aplicação realizada pelo mesmo autor, é a análise quantitativa em compostos principais e totais de enxofre realizados com base na resposta linear do detector e no método dos padrões internos. Os resultados da determinação total do enxofre nas amostras foram comparadas com aquelas do método padrão (ASTM D4294, 1998) com desvio padrão relativo (RSD) <6,02% (HUA et al., 2003).

3.2. FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X

A Fluorescência de Raios-X é classificada como uma técnica espectroscópica de caráter multielementar e simultâneo, onde a amostra não é destruída após a análise e a mesma pode ser tanto sólida quanto líquida, e quase sempre sem necessidade de uma preparação mais complexa. A análise pode ser qualitativa ou quantitativa e está baseada nas medidas de intensidades dos raios-x emitidos pelos elementos que constituem a amostra, a intensidade dos raios são característicos de cada elemento e são emitidos quando a amostra é excitada por partículas como elétrons, prótons ou íons que são produzidos mais comumente em tubos de raios-x também podendo ser produzido em aceleradores de partículas ou ondas eletromagnéticas (MELO JÚNIOR, 2007).

Uma característica que difere o EDXRF de outras técnicas espectroscópicas é a ausência de interferências químicas, devido ao envolvimento de elétrons das camadas mais internas, e por isso, insensíveis à forma química em que o elemento se encontra. Em contra partida, esta técnica está sujeita à interferência física de matriz, quando se possui amostras pouco homogêneas e ocorre interferência

espectral, sendo esse aspecto controlado pela escolha de linhas espectrais alternativas e correções de efeitos de matriz pelo uso de padrões certificados (TEIXEIRA et al., 2012).

A norma brasileira NBR 14533 de 2000 preconiza a determinação de enxofre em derivados de petróleo por espectrometria de fluorescência de raios X. Na norma é destacado a determinação de enxofre no diesel usando sulfeto de di-n-butila como amostra padrão e a faixa de concentração de enxofre aplicável é de 0,0150 a 5,00% em massa.

3.3. ESPECTROSCOPIA INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho pode ser operada em diferentes equipamentos com regiões diferentes e utilizando diferentes tipos de detectores e acessórios, um dos principais equipamentos utilizados é a espectrômetro de infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) a técnica analítica é bastante utilizada devido à sua qualidade de rastreamento, rapidez e baixo custo de análise. Ainda quando acoplada com o acessório ATR permite análises em diversas amostras sólidas e líquidas (SOARES; REZENDE; FORTES, 2010).

O FTIR é considerado um método rápido e possui como principais vantagens a alta sensibilidade e necessita de um investimento financeiro relativamente baixo para as análises (SILVA; QUINTELLA e MEIRA, 2017).

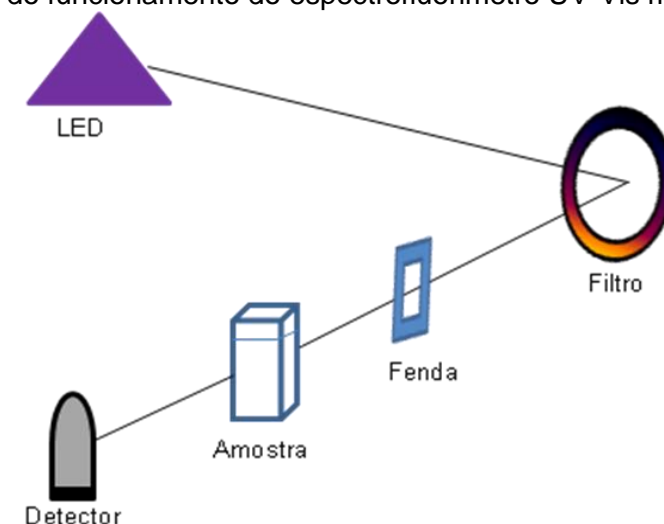
3.4. FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR DIODO EMISSOR DE LUZ

O espectrofluorímetro UV-Vis modelo Q798FIL foi desenvolvido pela empresa Quimis em parceria com grupos de pesquisa nas áreas de química e física localizados na Universidade Federal da Bahia, o equipamento é constituído de um feixe único, compacto, com sistema de aquisição e processamento de dados embarcados, leve, fácil de manusear e robusto (MEIRA et al., 2015) como observado na Figura 2.

Sua principal vantagem é o baixo custo de aquisição quando comparado com outros espectrômetros. Por exemplo, o custo do Q798FIL é cerca de três vezes menor do que um espectrômetro FTIR e quase quatro vezes menor que um

espectrômetro de fluorescência com uma lâmpada de xenônio pulsado de excitação-emissão com varreduras 3D. Outra vantagem é o tempo de análise, pois o tempo de integração do sinal é entre 1 ms e 65 s (MEIRA et al., 2015a).

Figura 2. Esquema do funcionamento do espectrofluorímetro UV-Vis modelo Q798FIL



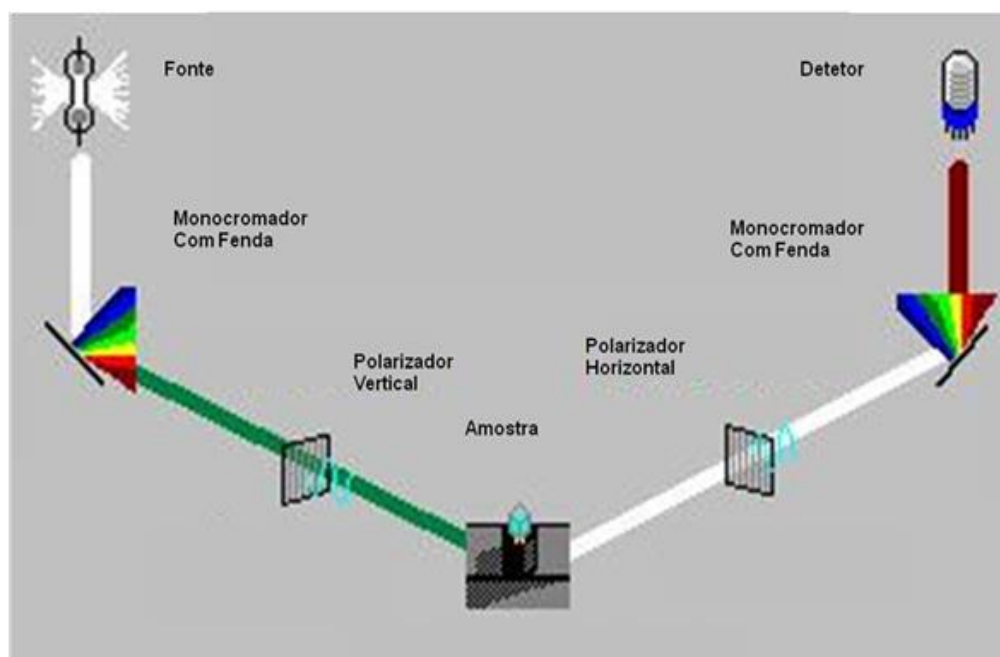
Fonte: Autoria própria, 2017.

3.5. ESPECTROFLUORÍMETRO

A espectrofluorimetria é uma técnica analítica que vem ganhando importância por sua simplicidade, velocidade analítica, sensibilidade e seletividade. A utilização desta técnica na análise de fluidos naturalmente fluorescentes (fluorescência intrínseca) tem como vantagem adicional dispensar a preparação da amostra com adição de aditivos fluorescentes. Entretanto, a análise de misturas complexas é bastante limitada quando as medidas são feitas em um único comprimento de onda de emissão/excitação devido à sobreposição dos sinais (MEIRA et al., 2015b).

Para superar essa limitação, a análise de misturas complexas sem etapas prévias de separação dos seus constituintes, pode ser feita por associação da quimiometria com técnicas multidimensionais, tais como, espectroscopia de fluorescência sincronizada em que se varre simultaneamente a excitação e a emissão mantendo uma diferença de comprimento de onda fixa entre eles e a espectroscopia de fluorescência total também denominada de espectrofluorimetria total ou fluorescência de matriz excitação e emissão que consiste em varrer a emissão enquanto a amostra sofre excitação em comprimentos de onda fixos (DIVY; MISHRA, 2007) conforme apresenta as Figura 3.

Figura 3. Funcionamento do Espectrofluorímetro Perkin Elmer LS-55



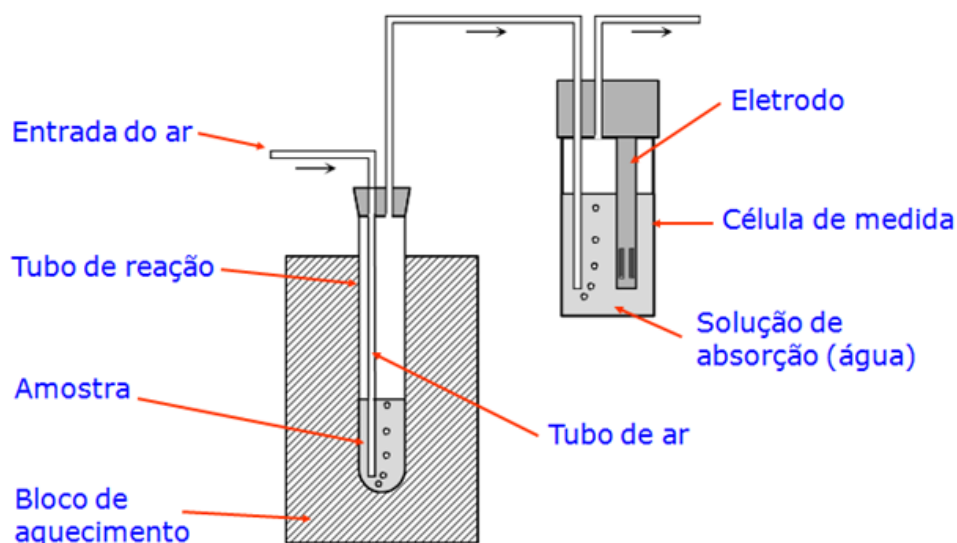
Fonte: Perkin Elmer LS55, Firmware: F1, Serial Number: 73809

3.6. MÉTODO RANCIMAT

O equipamento Rancimat, produzido pela empresa Metrom consiste em analisar o tempo de indução de determinada amostra. A estrutura do equipamento é formada por dois blocos de aquecimento constituído de 4 canais cada um. Em cada bloco são inseridos os tubos de ensaio e os recipientes de medição. O equipamento pode trabalhar com 2 temperaturas diferentes, sendo capaz de analisar duas amostras iguais com temperaturas diferentes, a temperatura suportada pelo equipamento é de 50°C até 220°C. A operação do aparelho se dá exclusivamente pelo computador, sendo possível conectar até 4 equipamentos em um único computador. Permitindo analisar um máximo de 32 amostras simultaneamente. O instrumento é composto por recipientes de medição, tubos de ensaio, peças para vedação e eletrodos com sensores responsáveis pela transmissão do resultado (METROHM PENSALAB, 2018).

A Figura 4 apresenta o funcionamento do equipamento Rancimat constituído de um eletrodo, célula de medida, solução de absorção, tubo de ar, bloco de aquecimento, tubo de reação e entrada do ar.

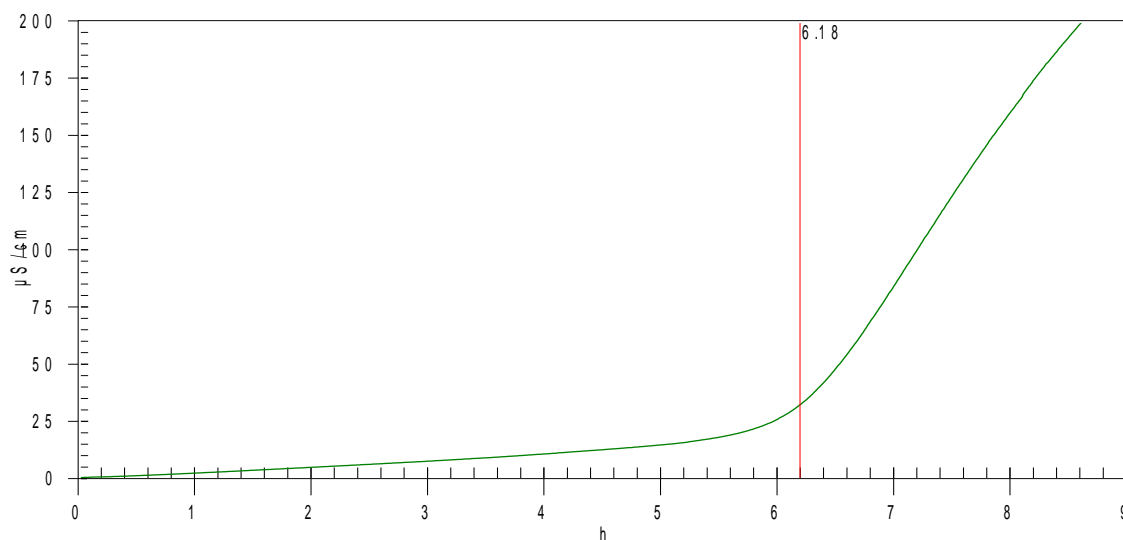
Figura 4. Esquema do equipamento que opera com o método Rancimat



Fonte: MetrohmPensalab.

Logo após a auto-oxidação ocorre a formação de ácidos orgânicos de baixa massa molecular que sendo voláteis, deixam então a amostra e são borbulhados em solução aquosa. O método mede a condutividade dessa solução, tendo assim a medida do período de indução. Um exemplo do período de indução pode ser observado na Figura 5.

Figura 5. Ilustração do período de indução



Fonte: Metrohm Pensalab.

Vale ressaltar que antes do ponto 6,18 h na Figura 5, a reação é lenta, há formação de peróxidos e não há a formação de ácidos carboxílicos voláteis. Após o

ponto 6,18h há uma aceleração da reação com formação de ácidos carboxílicos voláteis.

3.6.1. Oxidação e auto-oxidação

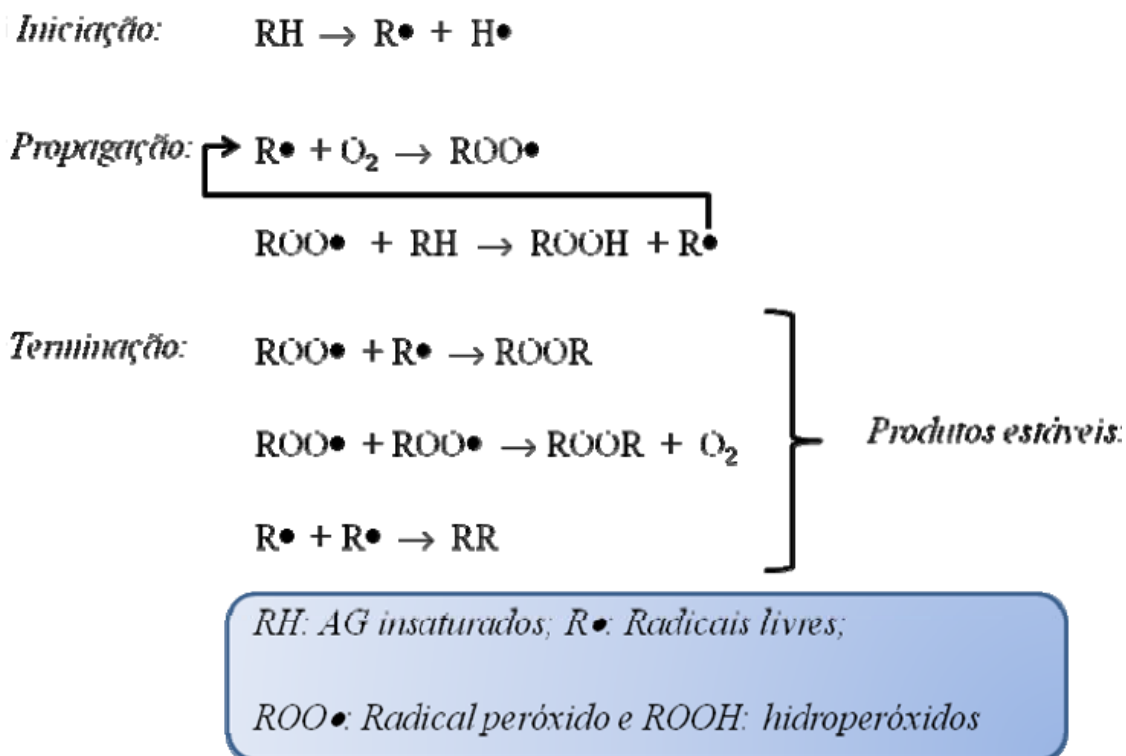
A oxidação do biodiesel e do óleo vegetal é uma reação por radical livre acelerada pelo calor. A presença de íons metálicos no combustível é outro fator que pode acelerar a oxidação do óleo. A estabilidade à oxidação é um parâmetro de qualidade da matéria-prima para a produção de biodiesel (QUINTELLA et al., 2009; MEIRA et al., 2015c). Geralmente ocorre aumento da acidez devido à formação de ácidos de cadeia curta e aumento da viscosidade devido à formação de gomas insolúveis. Estas podem obstruir os filtros de combustíveis tornando-os inadequados para uso em motores.

A estabilidade oxidativa de um óleo ou biodiesel pode ser avaliada pela análise da acidez, índice de peróxido, viscosidade cinemática e período de indução (PI) por meio do método Rancimat. Estes métodos são, em geral, demorados. Por esse motivo foi desenvolvido um método que utiliza a espectrofluorimetria predizendo de maneira direta e rápida tais propriedades, sem pré-tratamento da amostra. Quando empregada em análise quantitativa é necessário construir uma curva de calibração multivariada para correlacionar os espectros com os valores correspondentes da propriedade de interesse, previamente determinada por um método de referência (MEIRA et al., 2011)

A oxidação de amostras oleosas envolve reações radicalares, o que torna o método complexo e demorado. A sequência da reação é dividida em iniciação, propagação e terminação. Na primeira etapa, ocorre o consumo do oxigênio e dos lipídios insaturados, que são os substratos de oxidação; na segunda etapa são gerados os peróxidos e hidroperóxidos, produtos primários de oxidação e na terceira etapa, há cisão e rearranjo dos peróxidos originando os produtos secundários de oxidação que são os epóxidos, compostos voláteis e não voláteis (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

A Figura 6 apresenta o esquema que exemplifica como ocorre a auto-oxidação da amostra.

Figura 6. Mecanismo geral da oxidação de um ácido graxo



Fonte: NOGUEIRA, 2011.

3.7. MÉTODOS DE ANÁLISE MULTIVARIADAS

3.7.1. Quimiometria

Com o avanço da tecnologia dos equipamentos na área de Química e o número de variáveis que podem ser medidas em uma amostra se torna necessário um aprofundamento no estudo de tratamento de dados e, com esse objetivo, surgiu uma matéria da Química chamada Quimiometria, que se destina a estudar dados químicos de natureza multivariada.

As ferramentas quimiométricas são veículos que podem auxiliar os químicos a caminharem mais eficientemente na direção do maior conhecimento (KOWALSKI e SEASHOLTZ, 1993).

De acordo com a Patente Brasileira PI09059768 de 2009, a análise covariante ou quimiometria ou análise multivariada consiste em tratamentos matemáticos de dados químicos e suas matrizes com algoritmos adequados, visando um ou mais dos seguintes objetivos: análise exploratória, classificação dos dados, calibração multivariada, planejamento e otimização de experimento.

As principais técnicas quimiométricas são: análise das componentes principais (pca), hierárquica de agrupamentos (HCA), regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), regressão das componentes principais (PCR), vizinhos mais próximos (KNN), análise por discriminante linear (LDA) e análise paralela de fatores (PARAFAC).

3.7.2. Calibração

O processo de relacionar respostas instrumentais múltiplas com um analito ou mistura de analitos é conhecido como calibração multivariada. Segundo Skoog et al. (2005) os instrumentos que produzem respostas multidimensionais possuem características de:

[...] absorvâncias de várias amostras em múltiplos comprimentos de onda, espectros de massa de componentes separados cromatograficamente, e assim por diante e são bastante poderosos e podem ser utilizados para determinar simultaneamente múltiplos componentes presentes em misturas e fornecer redundância em medidas para melhorar a precisão (SKOOG et al., 2005).

A calibração multivariada baseia-se em relacionar dados, X e Y, no qual o X contém as variáveis independentes (n, m) representado em suas linhas pelas amostras do conjunto e nas colunas as variáveis medidas, já no Y tem-se as variáveis dependentes (PARREIRA, 2003).

Os trabalhos na área de química analítica referentes a espectroscopia, vem aumentando expressivamente suas publicações desde a década de noventa, e isso ocorreu, certamente, por ser uma técnica versátil e pelo fato de permitir análises não destrutivas (SENA et al., 2000).

Existem vários métodos de análise multivariada com diversas finalidades, os mais utilizados são análise de componentes principais (PCA), análise por agrupamento hierárquico (HCA) e partial least square (PLS). Tanto PCA quanto HCA são métodos que relacionam a semelhança das amostras segundo as variáveis que estão sendo trabalhadas (MEIRA et al., 2014).

O tratamento de dados pode ser feito tanto por análise univariada quanto por multivariada, no primeiro caso as linhas espectrais correspondem as concentrações dos elementos que se pretende estudar, já no segundo caso, quando se deseja

relacionar mais de uma linha espectral ao mesmo tempo, se faz necessário métodos matemáticos mais sofisticados (NAGATA; BUENO; PERALTA-ZAMORA, 2001).

3.7.3. Modelo de regressão PLS

O modelo de calibração multivariada mais utilizado é a regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS, no inglês *partial least square*). Este foi proposto inicialmente pelo economista Herman Wold no ano de 1966. Basicamente, baseia-se em encontrar combinações lineares relevantes a partir dos valores dos espectros originais e então usar na equação de regressão (dados de primeira ordem). Este método não requer um conhecimento exato de todos os componentes presentes nas amostras podendo realizar a previsão de amostras mesmo na presença de interferentes, desde que estes também estejam presentes por ocasião da construção do modelo (vantagem de primeira ordem) (WOLD et al., 2004; ABDI, 2018).

Para construção do modelo PLS de forma interativa e a otimização da projeção das amostras sobre *loadings* e *scores*, como relata a autora Valderrama (2005, p. 46):

O modelo PLS é obtido através de um processo iterativo, no qual se otimiza ao mesmo tempo a projeção das amostras sobre os *loadings* para a determinação dos *scores* e o ajuste por uma função linear dos *scores* da matriz X aos *scores* da matriz Y de modo a minimizar os desvios. Essa otimização simultânea ocasiona pequenas distorções nas direções dos *loadings*, de modo que, rigorosamente eles perdem a ortogonalidade, levando à pequenas redundâncias de informação. No entanto, são essas pequenas redundâncias que otimizam a relação linear entre os *scores* e estas distorções da ortogonalidade entre os PCs no PLS fazem com que os mesmos não sejam mais componentes principais (que são ortogonais) e sim variáveis latentes.

O PLS é uma ferramenta muito conveniente para a construção de modelos de predição. Em geral, é usado para prever as respostas e não compreender a relação subjacente entre as variáveis. O PLS converte um conjunto de variáveis altamente correlacionadas para um conjunto de variáveis independentes. E, em geral, é realizado em duas etapas. A primeira etapa envolve o modelo de regressão PLS para um conjunto de dados de amostra. A segunda etapa envolve a validação deste modelo com um conjunto de dados diferentes (MEIRA et al. 2011).

Meira et al. (2011), em seu trabalho envolvendo PLS, realizou para determinação da estabilidade oxidativa de biodiesel e óleos usando espectrofluorimetria e calibração multivariada. Em outro estudo, foi feita a predição de propriedades das misturas de biodiesel em diesel usando espectrofluorimetria e calibração multivariada, além de realizar a construção do PLS (MEIRA et al., 2012).

O método de calibração por mínimos quadrados parciais (PLS) foi empregado como ferramenta para espectros de fluorescência em misturas de biodiesel em diesel. A análise PLS consiste em encontrar uma função que descreva a variância entre as matrizes X e Y maximizando a correlação entre elas, ou seja, utilizando PLS é possível encontrar uma relação matemática entre uma das variáveis (a variável dependente), e a variável independente (os espectros de fluorescência). Uma vez encontrada a relação matemática, pode-se fazer predição de valores para as variáveis dependentes quando se têm as variáveis independentes (TABAJURA, 2013).

Quadrados Mínimos Parciais (PLS) combinam características de análise de componentes principais e regressão múltipla. Primeiro, extrai um conjunto de fatores latentes que explicam o máximo possível da covariância entre as variáveis independentes e dependentes. Em seguida, uma etapa de regressão prevê valores das variáveis dependentes usando a decomposição das variáveis independentes.

3.8. VALIDAÇÃO E FIGURAS DE MÉRITO

3.8.1. Validação

A validação é um processo de adequação de uma análise com o intuito de avaliar se este fornece a informação desejada de acordo com as condições nas quais será aplicada. Todas as vezes que um procedimento analítico for proposto ou desenvolvido deve ser realizada a validação, feita pelo analista, como também por um supervisor (SKOOG et al., 2005; VALDERRAMA, 2005). A validação dos métodos, geralmente é normalizada pela American Society for Testing and Materials (ASTM) no âmbito internacional e no nacional pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

Frequentemente, a validação de amostras é empregada:

- para aceitar amostras quando se realiza uma amostragem de uma população ou para permitir uma nova amostragem, se necessário;
- para selecionar amostras para medidas dentro de um estudo;
- para identificar se as amostras são autênticas (SKOOG et al., 2005).

O processo de validação pode ser certificado por meio das figuras de mérito, que, dependendo do método a ser utilizado, do seu objetivo e ou da sua regulamentação, o número de figuras de mérito ou a faixa de valores que deve ser atingido em cada uma delas, pode variar (VALDERRAMA, 2005).

As principais figuras de mérito são: exatidão, precisão, sensibilidade, seletividade; linearidade, razão sinal/ruído, limite de detecção, limite de quantificação, robustez e intervalos de confiança.

A determinação dessas figuras de mérito deve ser estabelecida pelos órgãos de fiscalização e encontra-se descrita em normas específicas (DeRos, 2007), guias de validação (EURACHEM/CITAC – WORK GROUP, 2002; EURACHEM/CITAC – WORK GROUP, 2000; ISSO 17025, 1995), a IUPAC dispôs no ano de 2006 a última proposta para validação de métodos univariados e trabalhos científicos (BRAGA; POPPI, 2004a; BRAGA; POPPI, 2004b).

3.8.2. Figuras de mérito

As figuras de mérito descritas a seguir estão de acordo com normas específicas e trabalhos científicos.

3.8.2.1. Exatidão e precisão

Para assegurar a exatidão em procedimentos analíticos é necessário minimizar ou corrigir erros na etapa de medida, mas além dessa etapa, outras podem afetar a precisão e a exatidão de uma análise como: amostragem, preparo da amostra e calibração.

A exatidão expressa o grau de concordância entre o valor estimado pelo modelo multivariado e o valor tido como verdadeiro ou de referência. Em calibração multivariada, normalmente, é expressa por meio do Erro Quadrático Médio de Predição (RMSEP – do inglês, Root Mean Squares Error of Prediction) calculado pela Equação 1. Sendo definido como uma medida da dispersão das amostras de

validação ao redor da linha de regressão quando a validação do Conjunto de Teste é usada (UNSCRAMBLER, 2018; BRAGA e POPPI, 2004).

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{l_v} (y_i - \hat{y}_i)^2}{l_v}}$$

Equação 1.

onde, l_v é o número de amostras do conjunto de validação, y_i e \hat{y}_i correspondem aos valores de referência e aos previstos pelo modelo, respectivamente.

Enquanto que do conceito de exatidão e precisão pode ser usada para comparações, avaliações mais amplas e sem chegar a um valor definitivo. O caso da precisão é o oposto. Utilizando a condição e com a mesma técnica de mensuração, a abordagem se concentra na proximidade entre as medidas. Ou seja, a precisão é um desvio das medidas que demonstra o quanto uma ferramenta pode apresentar o mesmo valor, sendo ele certo ou errado. Tudo isso partindo de uma mesma amostra e respeitando qualquer aleatoriedade que a ferramenta apresentar.

O exemplo da balança pode ser usado para representar este caso. Quando um material avaliado apresenta as medidas 80 g, 90g e 95g, pode-se dizer que esses valores não são precisos porque a balança não consegue reproduzir o mesmo valor a cada pesagem. A questão está direcionada a comprovação das vezes em que o instrumento de medição consegue propor o mesmo resultado (LIMA JUNIOR, et al., 2012).

Assim, o conceito de precisão pode ser descrito:

- A precisão pode ter resultados dispersos, mas em menor frequência. Possíveis erros são vistos, mas eles são menores em virtude da distância de uma medição para outra;
- A precisão pode ter resultados dispersos, mas com menor incidência de erros durante a avaliação. Por conta disso, os erros serão feitos com menor frequência, contudo, os valores analisados não serão exatos, mas garantem a precisão.

O INMETRO é o órgão que estipula e ajuda a compreender o conceito de exatidão e precisão. Responsável em estabelecer metrologias e técnicas de avaliação, o INMETRO determina como a exatidão e também a precisão durante a realização de uma análise química, física, ambulatorial, entre outros tipos, de forma que os valores não causem nenhuma contrariedade para comprovação.

3.8.2.2. *Sensibilidade e sensibilidade analítica*

A sensibilidade de um método pode ser avaliada através da inclinação da curva de calibração. Como exemplo, se um método apresentar uma maior inclinação na sua curva de calibração apresentará maior sensibilidade se comprado a outro com a mesma precisão. Outro fator limitante da sensibilidade pode estar associado a reprodutibilidade ou precisão do dispositivo de medida (SKOOG et al., 2005; VALDERRAMA, 2005). O mesmo significado tem sido utilizado para o termo especificidade, o qual deve ser evitado empregando-se apenas o termo seletividade conforme a IUPAC (IUPAC, 2002).

A razão entre a inclinação da curva de calibração e o desvio padrão do sinal analítico a uma dada concentração do analito é chamada sensibilidade analítica e, a mesma é fortemente dependente da concentração (SKOOG et al., 2005).

3.8.2.3. *Seletividade e especificidade*

A especificidade e a seletividade estão relacionadas ao evento da detecção e muitas vezes são utilizados como sinônimos, mas possuem definições diversas. Um método que produz resposta para apenas um analito é chamado específico, se é possível distinguir a resposta de um analito de outros mesmo tendo respostas para vários analitos, é chamado seletivo (livre de interferência), ou seja, especificidade define a capacidade do método em detectar o analito de interesse na presença de outros componentes da matriz (BRESSOLLE; BROMET-PETIT e AUDRAN, 1996; ICH, 1995). Já a seletividade refere-se à capacidade de um método em quantificar o analito com precisão na presença de interferentes (IUPAC, 2002).

Dependendo do objetivo do trabalho o processo para obter a especificidade pode ser alterado, podendo ser utilizado comparação com padrão externo, adição de padrão analítico ou ainda acoplar técnicas de análise com técnicas comprobatórias, como é o caso da espectrometria de massas acoplada a cromatografia (BRESSOLLE; BROMET-PETIT e AUDRAN, 1996; ICH, 1995).

3.8.2.4. Razão sinal/ruído

A determinação da razão sinal/ruído é realizada por meio da comparação dos sinais medidos da amostra com baixas concentrações conhecidas do analito com as do branco, estabelecendo-se a concentração mínima na qual o analito pode ser detectado. A razão sinal/ruído com valor 3 é geralmente considerada aceitável para estimar o limite de detecção (BRITO, 2001; IC, 1996; HUBER, 1998).

O método relação sinal-ruído pode ser aplicado somente para processos analíticos que exibem linha de base (RIBANI et al., 2004).

3.8.2.5. Limite de detecção e quantificação

Segundo Skoog (2005), limite de detecção é definido como a quantidade mínima de analito que um método ou sistema é capaz de medir.

O limite de detecção pode ser determinado mediante o método sinal-ruído, o desvio-padrão da resposta e do coeficiente angular e por processos estatísticos.

Para métodos que utilizam curva de calibração o limite de detecção é determinado de acordo com Equação 2 utilizando a concentração analítica que gera uma resposta com um fator de confiança k superior ao desvio padrão do branco, s_b .

$$LD = \frac{k_{sb}}{m}$$

Equação 2.

em que m é sensibilidade da calibração (SKOOG, 2005).

Existem também os limites de detecção vindos de fábricas de instrumentos que são úteis na comparação de métodos ou instrumentos, pois são valores geralmente obtidos a partir do uso de padrões ideais em instrumentos otimizados e muitas vezes não são aplicáveis a amostras reais.

3.8.2.6. Intervalos de confiança

Segundo Skoog et al. (2005), Intervalo de confiança define os limites ao redor da média experimental entre os quais o valor verdadeiro – para uma certa probabilidade – deve estar localizado, enquanto limites de confiança valores que

definem o intervalo de confiança. O valor estimado de y de uma amostra " i " pode ser definido como o intervalo no qual se pode afirmar com certo grau de confiança, ou probabilidade, que inclui o valor verdadeiro da propriedade de interesse.

Braga e Poppi (2004) relata que o cálculo depende de uma estimativa razoável da variância dos erros de previsão para amostras desconhecidas. Os modelos de calibração multivariada, na maioria das vezes, necessitam de uma equação que fornece uma estimativa de variância específica para cada nova amostra que está sendo prevista (VALDERRAMA; BRAGA e POPPI, 2009).

3.8.2.7. Raiz do Erro Quadrático Médio da Calibração (RMSEC)

O RMSEC (sigla do inglês Root Mean Square Error) é definido como a medida da dispersão das amostras de calibração sobre a linha de regressão (UNSCRAMBLER, 2018). Este erro pode ser calculada através da Equação 3.

$$RMSEC = \frac{\sum_{i=1}^n (O_i - P_i)^2}{2} \quad \text{Equação 3.}$$

O RMSE, ao contrário dos indicadores apresentados até aqui, possui uma unidade (dimensão), igual à dimensão dos valores observados e preditos. Seu valor é interpretado como uma medida do desvio médio entre observado (O_i) e predito (P_i), porém observe que as diferenças entre O_i e P_i são elevadas ao quadrado.

3.8.2.8. BIAS

A IUPAC (2002), define *Bias* como a diferença entre a média populacional e o seu valor verdadeiro. O Unscrambler (2018) se refere a esse erro como o valor médio de todos os pontos que estão sistematicamente acima (ou abaixo) da linha de regressão. Um valor próximo de zero indica uma distribuição aleatória de pontos sobre a linha de regressão (UNSCRAMBLER, 2018).

Erros sistemáticos são todas as componentes de erros que não são randômicas, logo, eles correspondem à parcela fixa do *Bias* em uma medida química. A existência desse tipo de erro afeta a precisão, a exatidão e a determinação dos intervalos de confiança (IUPAC, 2002).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. REAGENTE E SOLUÇÕES

As soluções de trabalho foram preparadas a partir de soluções estoque contendo 150 mg kg^{-1} de Sulfur in Di-n-Butyl Sulfide (Sigma-Aldrich) no solvente preparado com misturas de diesel e biodiesel (B10 e B20). Na solução de trabalho as concentrações do Sulfur in Di-n-Butyl Sulfide (padrão de enxofre) e enxofre elementar foram de 0 a 100 mg kg^{-1} .

4.2. AMOSTRAS E MATERIAIS DE REFERÊNCIA CERTIFICADOS

As procedências das amostras utilizadas no trabalho estão especificadas na Tabela 1. A caracterização da amostra de biodiesel (B100) está disposta no certificado da amostra (Tabela 2), assim como as características do diesel se encontram na Tabela 3.

Tabela 1. Procedência das amostras

Amostra	Procedência	Local	Data de coleta ou compra
Biodiesel de soja	Petrobrás	Candeias, Bahia, Brasil	01/12/2014
Diesel	RLAM	Candeias, Bahia, Brasil	16/01/2015
Enxofre elementar (S₂)	Vetec	Rio de Janeiro-RJ, Brasil	07/06/2013
Sulfur in Di-n-Butyl Sulfide	Sigma-Aldrich	Standard Reference Material ® 2720	06/06/2016

Fonte: Autoria própria, 2018.

Tabela 2. Certificado do biodiesel (B100) enviado pela PETRÓBRAS

Características	Métodos	Especificações	Resultado
Massa específica a 20 °C (Kg/m ³)	ASTM D 4052	850 a 900	879,6
Viscosidade cinemática a 40 °C (mm ² /s)	ASTM D 445	3,0 a 6,0	4,260
Teor de água (mg/kg)	ASTM D 6304	200 máx	192
Ponto de fulgor (°C)	ASTM D93	100,0 min	133,0
Teor de éster (%m/m)	EM 14103	96,5 min	97,6
Enxofre total (mg/kg)	ASTM D 5453	10 máx	3,8
Teor de sódio + potássio (mg/kg)	NBR 15556	5 máx	1,2

Características	Métodos	Especificações	Resultado
Teor de cálcio + magnésio (mg/kg)	NBR 15553	5 máx	1,6
Teor de fósforo (mg/kg)	ASTM D 15553	10 máx	1,5
Índice de acidez total (mgKOH/g)	ASTM D 664	0,5 máx	0,42
Glicerina livre (%massa)	ASTM D 6584	0,02 máx	0,011
Glicerina total (%massa)	ASTM D 6584	0,25 máx	0,185
Teor de monoglicerídeos (%massa)	ASTM D 6584	0,7 máx	0,615
Teor de diglicerídeos (%massa)	ASTM D 6584	0,20 máx	0,100
Teor de triglicerídeos (%massa)	ASTM D 6584	0,720 máx	<0,050
Índice de iodo (g iodo/100g)	EN 14111	-	93
Estabilidade oxidativa a 110 °C (h)	EM 14112	8 min	11,2
Material Graxo			
40% soja	30% algodão	30% sebo	

Fonte: Petrobras, 2014.

Tabela 3. Certificado do diesel B00 enviado pela RLAM

Características	Métodos	Resultados
Condutividade elétrica (pS/m)	D 2624	237
Ponto inicial de ebulição (°C)	D 86	152,5
Ponto de fulgor (°C)	D 93	56,0
Aspecto (N/A)	VIS 000	PASS
Cor ASTM (N/A)	D 6045	L05
5% recuperado (°C)	D 86	179,3
Temperatura observada (°C)	D 2624	20,5
Enxofre total (mg/Kg)	D 4294	5
10% recuperados (°C)	D 86	191,1
30% recuperados (°C)	D 86	226,9
Massa específica a 20 GC (Kg/m ³)	D 4052	824,6
50% recuperados (°C)	D 86	257,6
70% recuperados (°C)	D 86	287,6
85% recuperados (°C)	D 86	314,4
90% recuperados (°C)	D 86	327,0
95% recuperados (°C)	D 86	345,3
Ponto final de ebulição (°C)	D 86	357,6

Fonte: Petrobras, 2014.

A Tabela 4 apresenta os valores do peso em grama das amostras de biodiesel e diesel utilizados no preparo das amostras de 10 e 20% de biodiesel em diesel.

Tabela 4. Quantidade de diesel e biodiesel nas amostras

Amostras	Quantidade de diesel (g)	Quantidade de biodiesel (g)
B10	22,50	2,50
B20	20,00	5,00

Fonte: Aatoria própria, 2018.

Tabela 5. Concentração de enxofre nas misturas

Amostras	Quantidade de enxofre (mg)
BXXS05	0,1218
BXXS10	0,2437
BXXS15	0,3655
BXXS20	0,4873
BXXS25	0,6092
BXXS30	0,7310
BXXS35	0,8528
BXXS40	0,9747
BXXS45	1,0965
BXXS50	1,2184
BXXS60	1,3402
BXXS70	1,4620
BXXS80	1,5839
BXXS90	1,7057
BXXS100	1,8275

Fonte: Aatoria própria, 2018.

Para este trabalho, as figuras de mérito foram estimadas seguindo a norma NISTIR 7458, com o intuito de validar os modelos PLS construídos a partir de espectros obtidos na região do NIR, para determinações de parâmetros de controle de qualidade de combustíveis.

Na construção da curva de calibração foram preparadas amostras com adição do padrão de enxofre utilizando as massas listadas na Tabela 6.

As amostras foram preparadas por adição de padrão, ou seja, a partir de uma solução estoque de concentração conhecida. A partir desta solução foram preparadas as soluções de trabalho com concentrações de 0 a 100 mg kg⁻¹ de padrão de enxofre. A solução estoque (150 ppm) preparada por meio da pesagem do enxofre e dissolvido em diesel e mistura de biodiesel em diesel. Em seguida, uma porção dessa solução foi transferida para um recipiente e diluída até a concentração desejada.

Tabela 6. Amostras utilizando sulfeto de di-n-butila (SDB)

Amostras	m_{SDB} (g)
B20SDB00	0
B20SDB10	0,1429
B20SDB20	0,3077
B20SDB30	0,5000
B20SDB40	0,7273
B20SDB50	1,0000
B20SDB60	1,3333
B20SDB70	1,7500
B20SDB80	2,2857
B20SDB90	3,0000
B20SDB100	4,0000

Fonte: Autoria própria, 2018.

4.3. INSTRUMENTAÇÃO

4.3.1. Pré-tratamento das amostras

As amostras não sofreram nenhum tipo de pré-tratamento. As análises foram feitas diretamente nas amostras, para que o resultado final representasse o teor de enxofre existente.

4.3.2. Preparo das amostras em banho ultrassom

Após a adição do enxofre elementar nas amostras, concentração descritas na Tabela 5, para promover a dissolução as amostras foram colocadas em banho de ultra-som (Quimis, Diadema, São Paulo, Brasil) por um período de 15 a 20 minutos dependendo da concentração de enxofre adicionada.

As amostras B10 e B20 foram escolhidas por mais se assemelharem às amostras de diesel comercializadas nos postos de combustíveis.

O conjunto de dados foi composto por amostras de biodiesel e óleo diesel nas concentrações listadas na Tabela 4, com concentração de enxofre elementar de 5 a 100 ppm (Tabela 5).

4.3.3. Preparo das amostras em aquecimento de fluxo contínuo

As amostras de biodiesel foram expostas a um fluxo contínuo por borbulhamento constante de ar com auxílio de uma bomba de ar (cerca de 10 L h^{-1}) com a finalidade de promover o processo de oxidação. Após atingir $110 \text{ }^\circ\text{C}$, as primeiras alíquotas das amostras foram coletadas em frasco lavado e seco (cerca de 30 mL), seguido das próximas alíquotas obedecendo um intervalo de 1h (uma hora) até o tempo de 5 horas, totalizando 6 amostras como mostra a Tabela 7. Após a oxidação do biodiesel, foram adicionadas às amostras o diesel e o enxofre nas mesmas proporções apresentadas na Tabela 4 e 5, respectivamente.

Tabela 7. Amostra de biodiesel de soja oxidada

Amostras	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Tempo de oxidação (h)
1	110	0
2	110	1
3	110	2
4	110	3
5	110	4
6	110	5

Fonte: Autoria própria, 2018.

4.3.4. Determinação do analito

Para a determinação de enxofre foi empregado o espectrômetro de fluorescência de raios-X de energia dispersiva (Shimadzu EDX900) este equipado com tubo de raios - X de Rh. As condições operacionais selecionadas foram colimador - 10 mm, atmosfera - ar, tensão do tubo - 50 kV, corrente no tubo - 1000 μA , tempo de irradiação - 100 s, modo de aquisição - Quantitative/FP, linha analítica - $\text{K}\alpha$. Os espectros foram selecionados considerando-se o canal de Na a U o qual engloba o analito em estudo, o desvio padrão das medidas, a sensibilidade

adequada para a determinação dos elementos presentes em altas e baixas concentrações na matriz.

4.4. ENSAIOS

4.4.1. Ensaios Espectrofluorímetro (Perkin Elmer – LS55)

As medidas de fluorescência foram realizadas em um espectrofluorímetro Perkin Elmer-LS55 equipado com lâmpada de Xenônio 150 W e cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm e com o software FL WinLab. A excitação foi iniciada em 200 nm, com incremento de 25 nm e fenda de 2,5 nm. A emissão foi obtida na faixa de 230-800 nm em intervalos de 0,5 nm, também com fenda de 2,5 nm. Utilizou-se velocidade de varreduras de 1200 nm / min. Assim foram registrados 24 comprimentos de onda de excitação e 1142 comprimentos de onda de emissão. Foram construídas matrizes onde as linhas correspondem às amostras e as colunas aos comprimentos de onda.

As matrizes foram geradas com auxílio do *Origin 8.0*® e *Matlab2015*®, onde as linhas foram os valores de fluorescência para os comprimentos de onda de emissão variando de 230 nm a 800 nm variando com um $\Delta\lambda$ de 0,5nm, originando uma matriz $A_{24 \times 1142}$. Os espectros também foram corrigidos considerando um $\Delta\lambda$ de 30 nm entre emissão e excitação, sendo substituídas por zero as intensidades obtidas neste intervalo, de acordo com a Tabela 8.

Tabela 8. Excitação x Emissão cujas intensidades foram zeradas

Excitação (nm)	Emissão (nm)
200	200 a 230
225	225 a 255
250	250 a 280
275	275 a 305
300	300 a 330
325	325 a 355
350	350 a 380
375	375 a 405
400	400 a 430
425	400 a 455

Excitação (nm)	Emissão (nm)
450	400 a 480
475	400 a 505
500	400 a 530
525	400 a 555
550	400 a 580
575	400 a 605
600	400 a 630
625	625 a 655
650	650 a 680
675	675 a 705
700	700 a 730
725	725 a 755
750	750 a 780
775	775 a 805

Fonte: Autoria própria, 2018.

4.4.2. Fluorescência Induzida por Diodo Emissor de Luz (Espectrofluorímetro UV Vis – Q798FIL)

Foi utilizado espectrômetro de Fluorescência Induzido por Diodo Emissor de Luz (Quimis®, modelo Q798FIL) equipado com LED violeta (405 nm) como fonte de excitação e a emissão foi detectada de 335-1000 nm a intervalos de 0,38 nm para analisar amostras de B10 e B20 com adição de enxofre e seu padrão (SDB) (Tabela 5 e 6). Estas amostras, que não foram submetidas a qualquer tratamento prévio, foram analisadas utilizando a fluorescência natural dos fluidos em cubetas de quartzo de 1 cm, foram geradas matrizes, os dados foram pré-processados, centrados na média, e rodado PCA (Apêndice D) e através da matriz geral foram construídos modelos PLS para as amostras de B10 e B20.

4.4.3. Ensaios FTIR

Os espectros foram obtidos empregando espectrômetro de infravermelho, modelo FTIR Spectrometer Frontier, marca: Perkin Elmer® acessório: reflectância total (ATR) atenuada com um cristal de seleneto de zinco (ZnSe) resolução: 4 cm⁻¹ transmissão: 4000 a 650 cm⁻¹ varredura: 16 scans. Os espectros foram obtidos à

temperatura ambiente. Durante a análise das amostras obteve-se dados de absorvância e transmitância em relação à comprimentos de onda.

4.4.4. Ensaios de estabilidade oxidativa usando o método Rancimat

A estabilidade oxidativa foi medida pelo período de indução (PI) usando um equipamento Metrohm 873 Biodiesel Rancimat® a temperatura de 110 °C e fluxo de ar de 10 L h⁻¹.

Para realização do ensaio foram pesados 3 g de cada amostra em tubo de Rancimat. A oxidação foi induzida pela passagem do fluxo de ar através da amostra, mantida sob temperatura constante. Os produtos voláteis da reação foram coletados em água cuja condutividade elétrica foi medida.

4.4.5. Ensaios no EDXRF

4.4.5.1. Preparo das amostras

Às amostras de B10 e B20 foi adicionado o padrão SDB de 0 a 100 mg kg⁻¹ (Tabela 6) seguindo como referência a ABNT NBR14533 a fim de determinar a quantidade de enxofre presente em cada amostra e construir a curva de calibração.

Para o preparo da curva de calibração no EDXRF foi utilizado o Standard Reference Material ® 2720 Sulfur in Di-n-Butyl Sulfide (SDB) com valor certificado de enxofre de 21,91% ± 0,15% m/m nas concentrações listadas na Tabela 6.

4.4.5.2. Especificações do método utilizado

A determinação do analito foi feita empregando Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva (Shimadzu EDX900) equipado com tubo de raios - X de Rh. As condições operacionais selecionadas foram colimador - 10 mm, atmosfera - ar, tensão do tubo - 50 kV, corrente no tubo - 1000 µA, tempo de irradiação - 100 s, modo de aquisição - Quantitative/FP, linha analítica – Kα.

4.5. CONSTRUÇÃO DO MODELO PLS

Os modelos de calibração PLS foram construídos usando o software Unscrambler® 10.0.1 correlacionando os espectros de fluorescência com os valores correspondentes e concentração do anólito. O número de variáveis latentes para o PLS foi determinado baseado no erro de validação usando o *default* do software.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. MÉTODO EMPREGANDO ESPECTROFLUORIMETRO PERKIN ELMER LS-55

Com os dados obtidos empregando o espectrofluorímetro Perkin Elmer LS-55, das amostras de B10 e B20 com adição de enxofre com concentração de 5 a 100 mg kg⁻¹ (Tabela 4 e 5) foram gerados gráficos de curvas de níveis de fluorescência na região de comprimento de onda de emissão de 400 a 580 nm em função do comprimento de onda de excitação de 325 a 525 nm obtidos no equipamento.

As regiões mais escuras nos gráficos indicam maior fluorescência da amostra que pode ser explicada pela presença dos fluoróforos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) responsáveis pela fluorescência intrínseca. Nas Tabelas 9 e 10 são apresentados possíveis fluoróforos e principais HPAs presentes no diesel e biodiesel.

O diesel possui em sua composição química alcanos lineares e ramificados e derivados de ciclo-alcanos, aromáticos e policíclicos aromáticos. Sua fluorescência se deve a fração de aromáticos, na sua maioria com até 3 anéis. Geralmente a fluorescência dos HPAs desloca-se para comprimentos de onda maiores com o aumento do número de anéis, como pode ser observado na Tabela 10.

Nas amostras analisadas (Figuras 7 e 8) foi possível verificar a presença dos fluoróforos que estão presentes no diesel, em 450 nm de excitação e 485 nm de emissão e em 425 nm de excitação e 457 nm de emissão, o que pode ser atribuído a HPAs com cinco anéis aromáticos, tal como o fluoranteno (Tabela 10)

A região onde se encontra a maior intensidade de fluorescência tem comprimento de onda de emissão de 400 a 575 nm e comprimento de onda de excitação de 375 a 520 nm. A fluorescência deste combustível é possivelmente devido à presença de vitaminas A, D e K, flavina, adenina, dinucleotídeo, riboflavina que são os principais fluoróforos presentes nos óleos vegetais (DUPUY, et al., 2005; SIKORSKA, et al., 2005; MAGALHÃES, et al., 2014).

Nas Figuras 7 e 8, observa-se que, com a adição do enxofre elementar a fluorescência diminui, fato este que pode está relacionado pela falta de fluorescência intrínseca ao enxofre inorgânico. Pode-se observar também que nas amostras B10S05 a B10S40 (Figura 7) existe a fluorescência de alguns fluoróforos específicos

que estão presentes no biodiesel observados na região do comprimento de onda de excitação de 360 a 380 nm e emissão na faixa de comprimento de onda de 400 a 485 nm e, esses fluoróforos possivelmente são as vitaminas A, K, D, as quais estão presentes nos óleos vegetais (DUPUY, et al., 2005; SIKORSKA, et al., 2005; MAGALHÃES, et al., 2014) (Tabela 9).

Tabela 9. Possíveis fluoróforos encontrados no biodiesel

Fluoróforo	Excitação (nm)	Emissão (nm)
Tocoferóis ^a	270-310	300-350
Clorofila e feofitinas ^b	350-420	640-800
Ácido oléico ^c	325	405
Ácido butírico ^c	193	273
Ácido linoléico ^c	245	325
Vitaminas A, K, D ^b	330-390	480-510
NADH e NADPH ^b	290-350	440-464
Flavina adenina ^b dinucleotídeo ^b	250-480	520-535
Riboflavina ^b	400-480	524

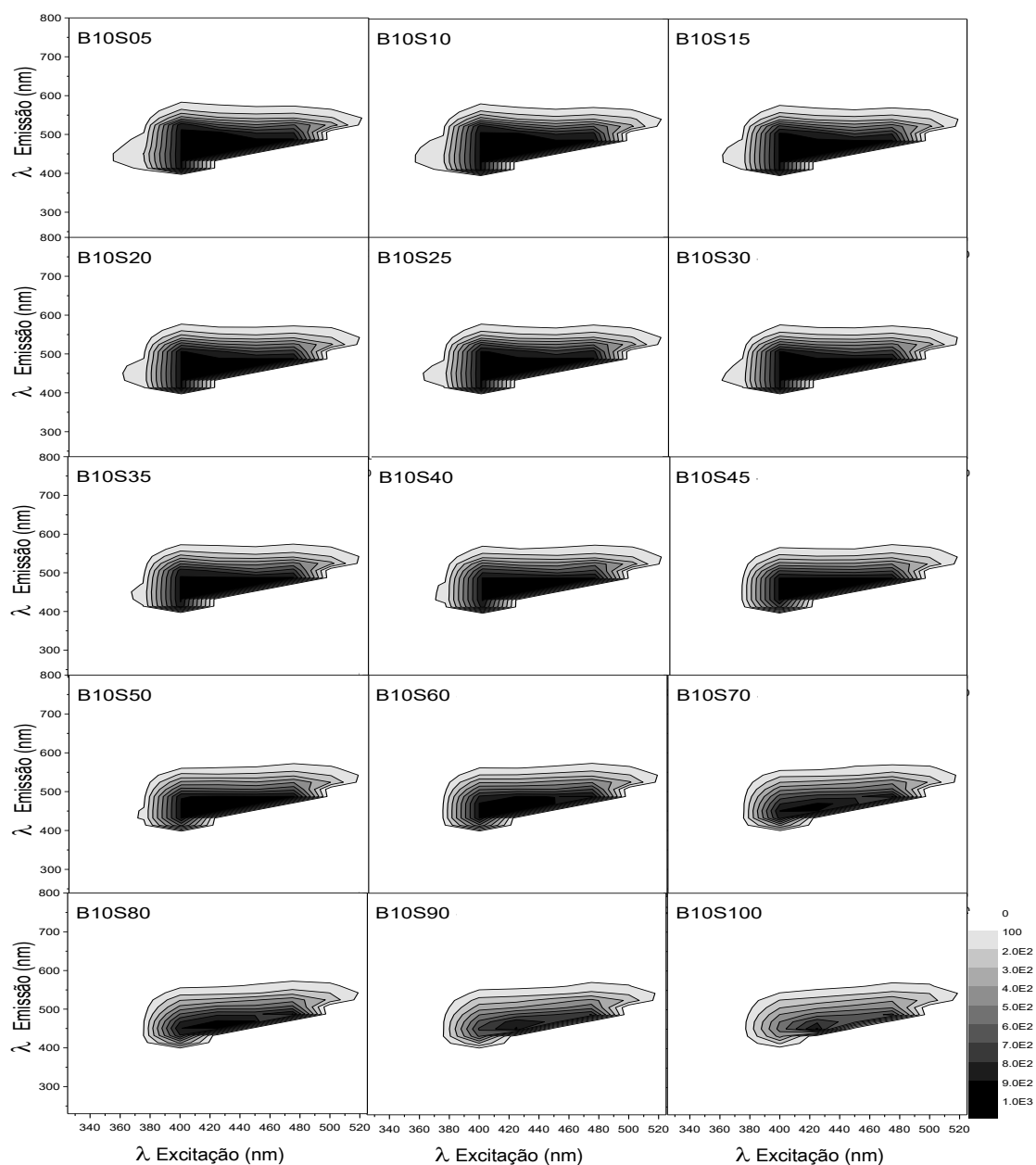
Fonte: ^aSIKORSKA et al., 2005; ^bZANDOMENEGHI et al., 2005; ^cPOULLI et al., 2005

Tabela 10. Principais HPAs encontrados no diesel

HPAs	Absorção (nm)	Emissão (nm)
Naftaleno	319; 302	322
Acenaftileno	456; 324	541
Acenafteno	320; 300	347
Fluoreno	300	310
Fenantreno	346; 330	364
Antraceno	374; 356	399
Fluoranteno	359	462
Pireno	373; 336	383
Benzo(a)antraceno	385; 300	385
Criseno	362; 321	381
Benzo(k)fluoranteno	402; 308	402

Fonte: Adaptado de KUMKE, LÖHMANNSRÖBEN e ROCH, 1995.

Figura 7. Espectro de fluorescência (ua) em misturas de biodiesel em diesel (B10) com adição de enxofre nas concentrações de 5 a 100 mg kg⁻¹ em função dos comprimentos de onda de emissão e de excitação



Fonte: Autoria própria, 2018.

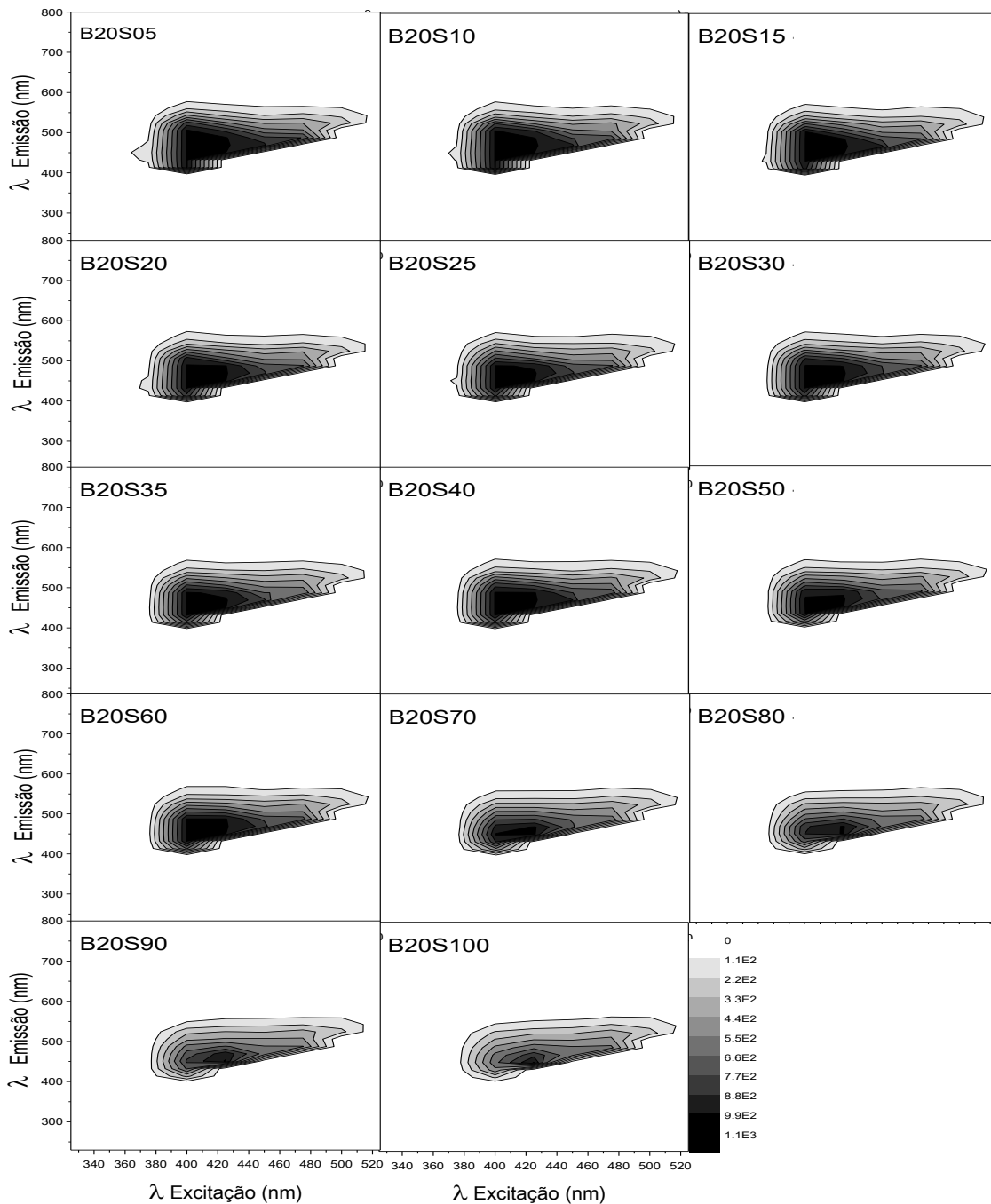
Para as amostras de B20 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹ de concentração (Tabela 5) os gráficos de curvas de níveis de fluorescência apresentaram comprimento de onda de excitação na faixa de 380 a 535 nm em função do comprimento de onda de emissão de 565 a 525 nm.

Na Figura 8, mais especificamente nas amostras de B20S30 a B20S100 existe a fluorescência de alguns fluoróforos que estão presentes no biodiesel e que

podem ser observados na região do comprimento de onda de excitação de 380 a 500 nm e emissão na faixa de comprimento de onda de 385 a 445 nm.

Ainda na Figura 8, observa-se que na região onde se encontra a maior intensidade de fluorescência tem comprimento de onda de emissão de 390 a 540 nm e comprimento de onda de excitação de 350 a 525 nm. A fluorescência encontrada nas amostras é possivelmente devido à presença de clorofila, feofitinas, vitaminas A, K, D, riboflavina que são os possíveis fluoróforos presentes no diesel (ZANDOMENEGHI, CARBONARO e CAFFARATA, 2005) apresentando uma região de comprimento de onda mais deslocada para a esquerda quando comparado com a Figura 7. As análises foram repetidas em anos diferentes para as mesmas amostras, de modo que, pode-se observar se houve alguma interferência no fator tempo, devido a oxidação da amostra, dados que podem ser verificados no Apêndice E.

Figura 8. Espectro de fluorescência (ua) em misturas de biodiesel em diesel (B20) com adição de enxofre nas concentrações de 5 a 100 mg kg⁻¹ em função dos comprimentos de onda de emissão e de excitação



Fonte: Autoria própria, 2018.

Para a realização do estudo de calibração multivariada foram desenvolvidos dois modelos matemáticos. Para cada modelo foi construído um PLS utilizando os dados de fluorescência como variáveis independentes e para variáveis dependentes valores correspondentes ao teor de enxofre.

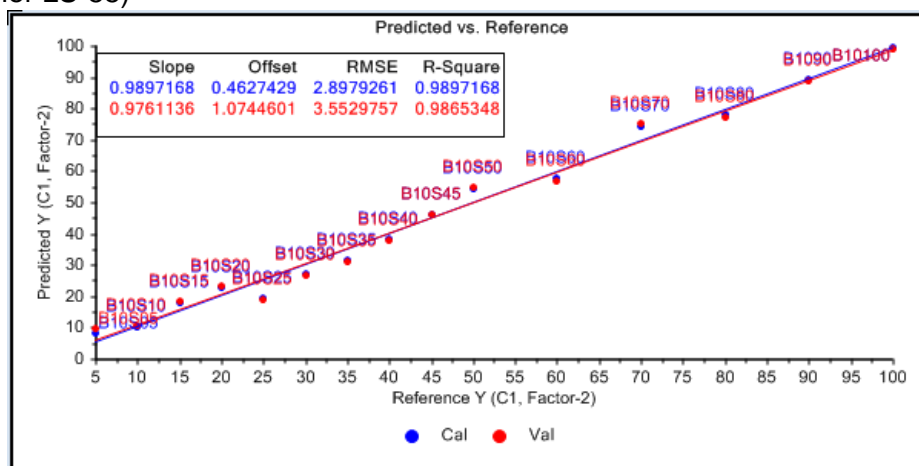
Os modelos de calibração foram construídos usando o software Unscrambler 10.0.1®. O número de variáveis latentes para o PLS foi baseado no erro de validação usando o padrão.

Com os resultados obtidos empregando espectrofluorímetro Perkin Elmer LS-55 das amostras B10 com adição de enxofre com concentração de 5 a 100 mg kg⁻¹ (Tabela 5), foram construído o modelo matemático de regressão PLS, sendo geradas as matrizes gerais com dimensão 15 × 2048.

O R² (R-quadrado) é definido como a proporção de variância (%) na variável dependente que pode ser explicada pela variável independente. Em outras palavras, os valores de R² indicam a precisão do modelo para prever respostas a novas observações. Valores mais próximos de +1 ou de -1 sugerem maior correlação entre dados.

A Figura 9 apresenta o PLS construído a partir dos dados de fluorescência. O modelo apresentou alta correlação entre as variáveis, com um coeficiente de correlação próximo de +1. Além disso, o modelo PLS apresentou valores de R² de 0,9897168 e 0,9865348 de calibração e validação, respectivamente (Figura 9). No modelo PLS os pontos estão distribuídos em torno da linha da bissetriz, mostrando que não há erro sistemático nas previsões das concentrações.

Figura 9. Modelo PLS de amostras B10 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹ (Dados Perkin Elmer LS-55)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A variância explicada ilustra o quanto da variação total em X ou Y é descrita por modelos, incluindo diferentes números de componentes.

A variância total explicada é então calculada através da Equação 4.

$$\text{variância total} = \frac{100 * (\text{variância inicial} - \text{variância residual})}{(\text{variância inicial})} \quad \text{Equação 4.}$$

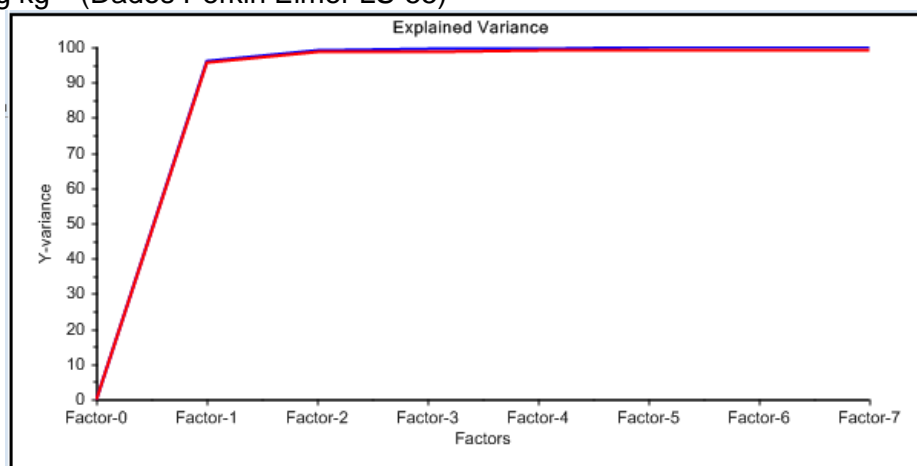
Essa é a porcentagem da variância original nos dados que é contabilizada pelo modelo.

Os modelos com variância residual total pequena (próximo de 0) ou grande (próximo de 100%) explicam a variância total pela maior parte da variação em Y. O ideal são modelos simples, nos quais a variância seja explicada com menor número de componentes possível.

A variância de calibração é baseada na adaptação dos dados de calibração ao modelo. Já para a variância de validação, é calculada testando o modelo em dados que não foram usados para construir o modelo.

A Figura 10 mostra que duas variáveis latentes predizem 100% da variância total (quase 100% para a primeira variável latente). Portanto, o modelo mostrou-se útil para prever mudanças na concentração de enxofre, quando adicionado à mistura de 10% de biodiesel em diesel, com base na variância espectral de fluorescência.

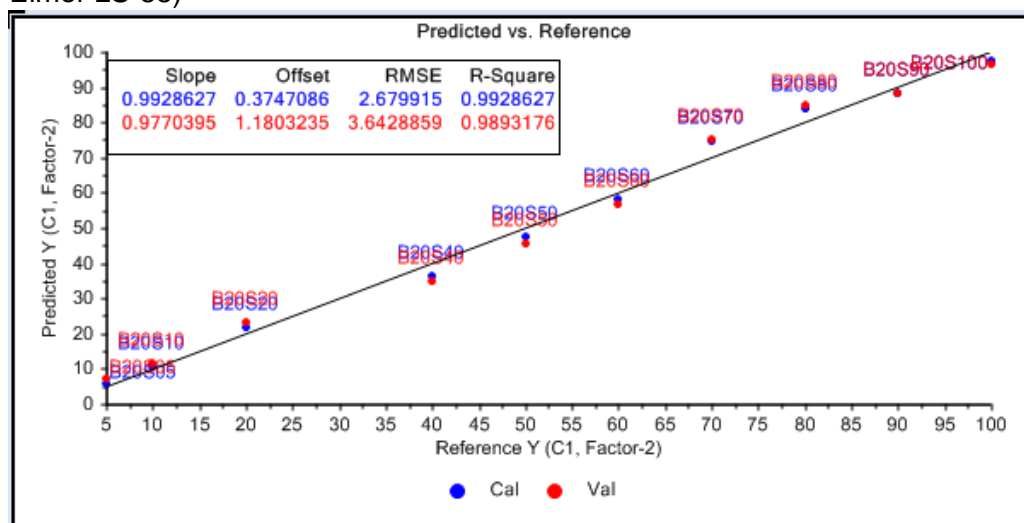
Figura 10. Variância explicada do modelo PLS de amostras B10 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹ (Dados Perkin Elmer LS-55)



Fonte: Autoria própria, 2018.

Para as amostras de B20 com adição de enxofre com concentração de 5 a 100 mg kg⁻¹ (Tabela 5), foi construído o modelo PLS e observou-se também uma alta correlação entre as variáveis e seus valores de R² foram de 0,9928627 e 0,9893176 de calibração e validação, respectivamente (Figura 11).

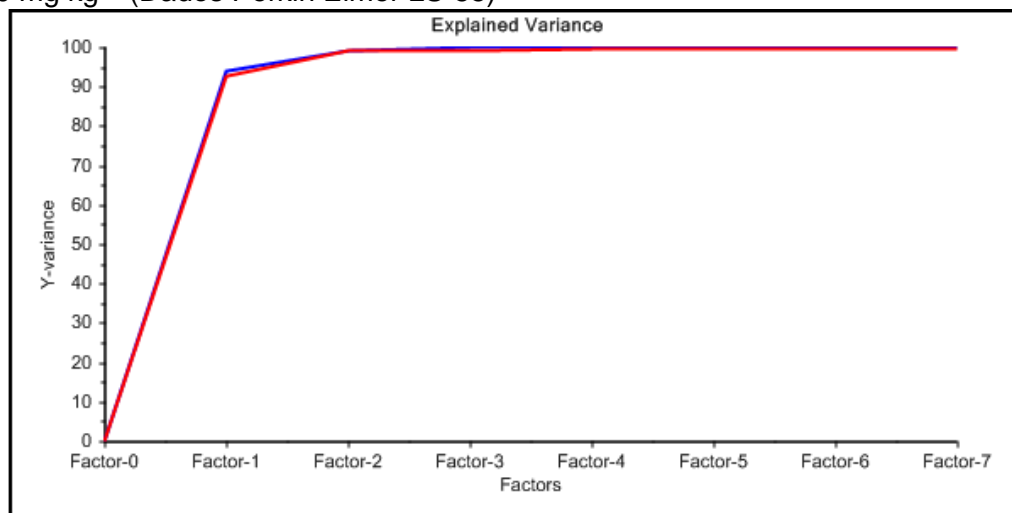
Figura 11. Modelo PLS de amostras B20 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹ (Dados Perkin Elmer LS-55)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Figura 12 mostra que duas variáveis latentes predizem 100% da variância total (quase 100% para a primeira variável latente). Portanto, o modelo mostrou-se útil para prever mudanças na concentração de enxofre, quando adicionado à mistura de 20% de biodiesel em diesel, com base na variância espectral de fluorescência.

Figura 12. Variância explicada do modelo PLS de amostras B20 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹ (Dados Perkin Elmer LS-55)



Fonte: Autoria própria, 2018.

Na comparação dos resultados encontrados para os modelos PLS construídos para B10 e B20 pode se observar que a diferença do RMSE de calibração varia em 22% significa dizer que a medida que a concentração de biodiesel aumenta o erro médio quadrático aumenta. O RMSE de validação varia em

9% mostrando que os modelos matemáticos para B10 e B20 encontram-se em torno da bissetriz. Para a variância explicada, observou-se o mesmo comportamento para os dois modelos, com 95% no Fator 1 e a partir do Fator 2 100% das variáveis latentes são previstas, conforme Figuras 10 e 12.

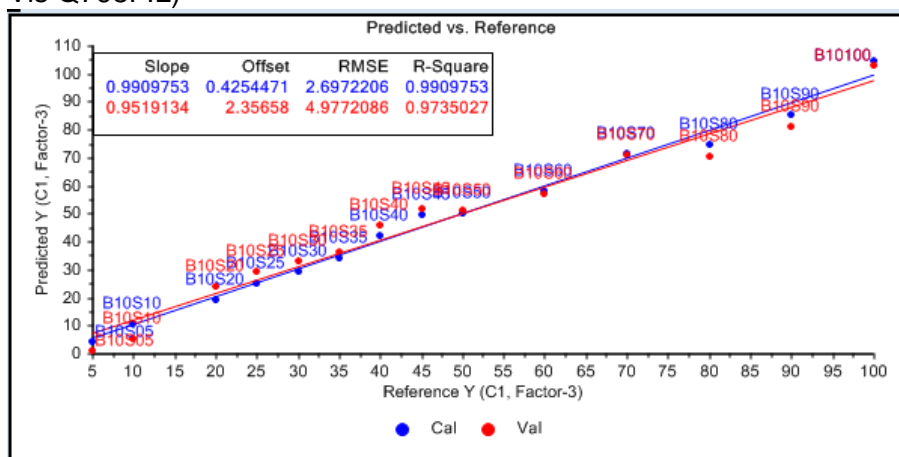
5.2. MÉTODO EMPREGANDO ESPECTROFLUORÍMETRO UV Vis Q798FIL

O modelo PLS foi construído usando os dados excitação de fluorescência como a variável independente e o teor de enxofre nas amostras B10 e B20 como variável dependente. A Tabela 5 mostra as concentrações de enxofre adicionadas à mistura de biodiesel em diesel para o B10 perfazendo um total de 15 amostras, assim como também para B20.

Este modelo PLS apresentou boa capacidade preditiva e pode ser usado para prever as concentrações de enxofre em misturas de B10. Essa validação é a validação interna, onde o modelo de adaptação do *software* de origem (ORIGIN, 2017) é por validação cruzada, que é o método *leave-one-out*. Nesse caso, o conjunto de calibragem original também serve como um conjunto de validação.

A Figura 13 apresenta o modelo PLS com alta correlação entre as variáveis, com um coeficiente de correlação próximo de +1. Além disso, o modelo PLS apresentou valores de R^2 de 0,9909753 e 0,9735027, de forma satisfatória, para calibração e validação. Com base nesses parâmetros, esse modelo pode ser usado para prever as concentrações de enxofre em B10.

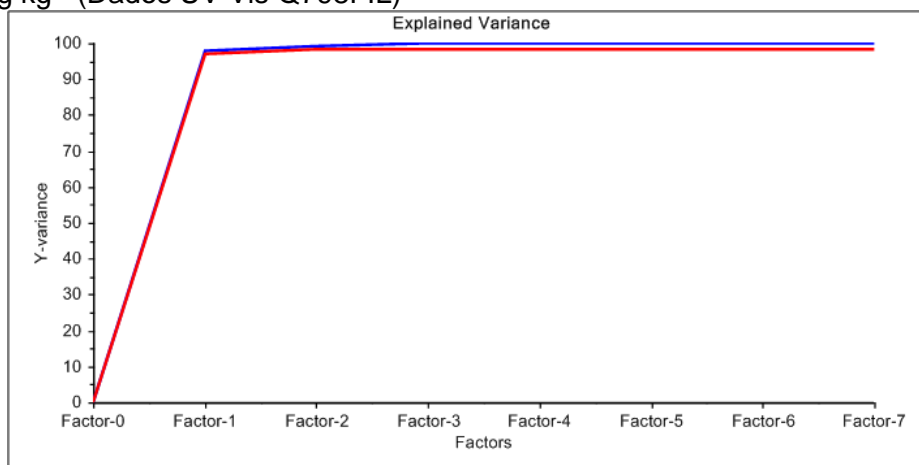
Figura 13. Modelo PLS das amostras B10 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹ (Dados UV Vis Q798FIL)



Fonte: Autoria própria, 2018.

Na Figura 14 a variância residual total apresentou o valor máximo (próximo de 100%) tendo somente uma variável explicando a variância total pela maior parte da variação em Y, portanto mostrou-se um modelo simples e ideal para calibração e validação dos dados (UNSCRAMBLER, 2018).

Figura 14. Variância explicada do modelo PLS de amostras B10 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹ (Dados UV Vis Q798FIL)

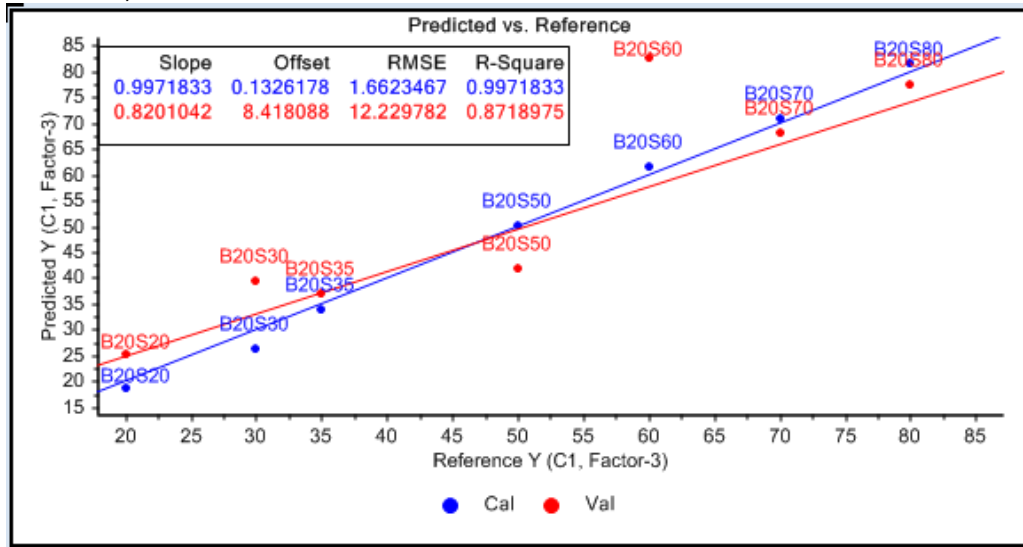


Fonte: Autoria própria, 2018.

O modelo PLS na Figura 15 foi construído usando os espectros de fluorescência como variáveis independentes e o teor de enxofre nas amostras B20 como variável dependente. As concentrações de enxofre adicionadas a essa mistura estão dispostas na Tabela 5 perfazendo um total de 15 amostras.

Mais uma vez, para esse conjunto de amostras analisadas, o modelo PLS trouxe uma alta correlação entre variáveis, apresentado também uma alta correlação entre os valores reais e preditos de acordo com os valores de R^2 (0,9971833 e 0,8718975, respectivamente, para calibração e validação). Com base nesses parâmetros, esse modelo pode ser usado para prever as concentrações de enxofre em B20.

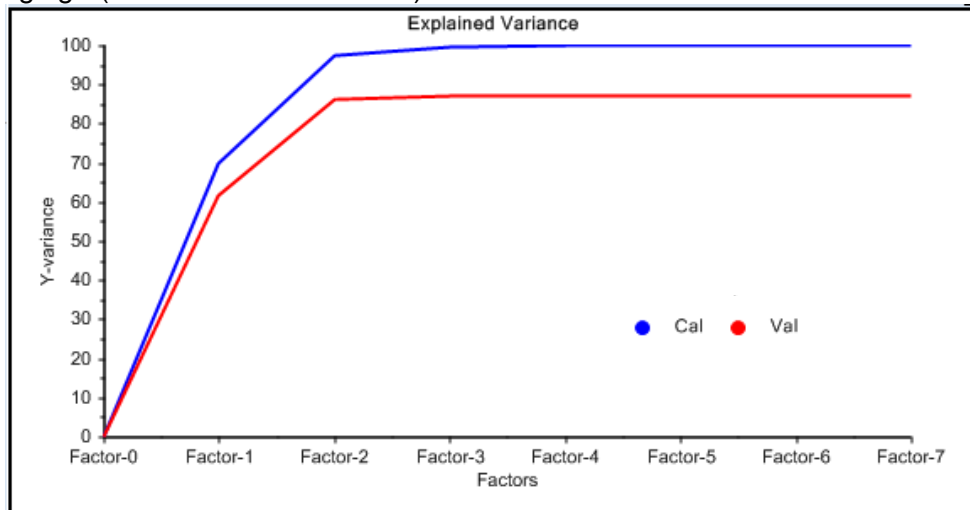
Figura 15. Modelo PLS de amostras B20 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹ (Dados UV Vis Q798FIL)



Fonte: Autoria própria, 2018.

Na Figura 16 é observada que foram utilizados dois fatores e a mesma não atingiu 100% (UNSCRAMBLER, 2018).

Figura 16. Variância explicada do modelo PLS de amostras B20 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹ (Dados UV Vis Q798FIL)



Fonte: Autoria própria, 2018.

As análises foram realizadas também para amostras de B00 a B45 com concentração de enxofre fixa em 10 e 15 mg kg⁻¹, o qual gerou gráficos de espectros, PCA e PLS. Esses dados estão dispostos no Apêndice A, pois não apresentaram relevância na validação e calibração do método.

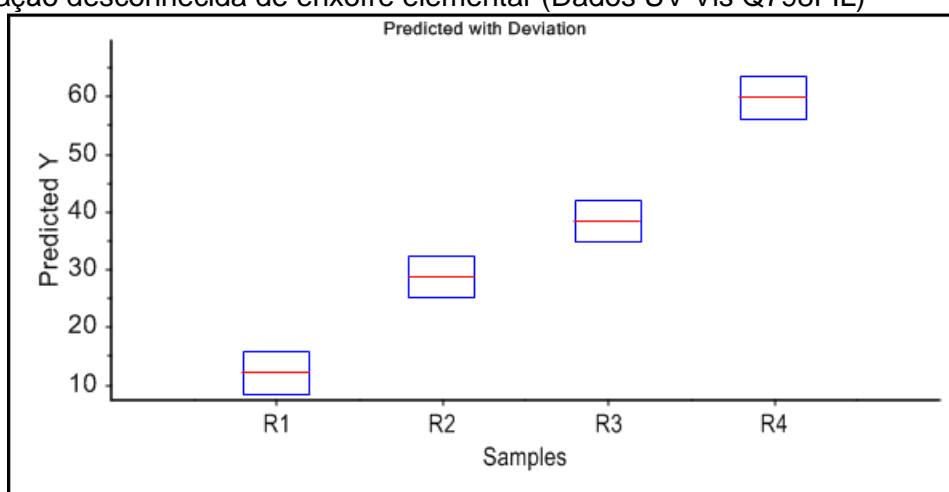
5.2.1. Calibração e validação externa do modelo PLS de amostras B10 e B20 com adição de enxofre elementar

A validação externa consiste na introdução de novos dados para avaliar a capacidade preditiva do modelo PLS. A validação externa é recomendada para o uso de amostras não utilizadas na construção do modelo de calibração (BRAGA e POPPI, 2004).

A Figura 17 mostra o gráfico do valor predito do teor de enxofre com desvio para quatro novas amostras de B10 com concentração desconhecida de enxofre elementar.

Já para a etapa de calibração, a relação entre o teor de enxofre e espectros foi estimada a partir de um conjunto de amostras de referência. Na etapa de predição, os resultados da calibração foram utilizados para estimar a concentração de enxofre de um espectro de amostra desconhecido.

Figura 17. Valor predito do teor de enxofre e desvio para quatro amostras de B10 com concentração desconhecida de enxofre elementar (Dados UV Vis Q798FIL)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Tabela 11 mostra os desvios médios em $0,3644 \text{ mg kg}^{-1}$ de enxofre. A validação externa mostra que este modelo PLS tem boa capacidade de predição e pode ser usado para prever as concentrações de enxofre em misturas de B10.

Tabela 11. Valores preditos do teor de enxofre com desvio para quatro amostras de B10 com concentração desconhecida de enxofre elementar

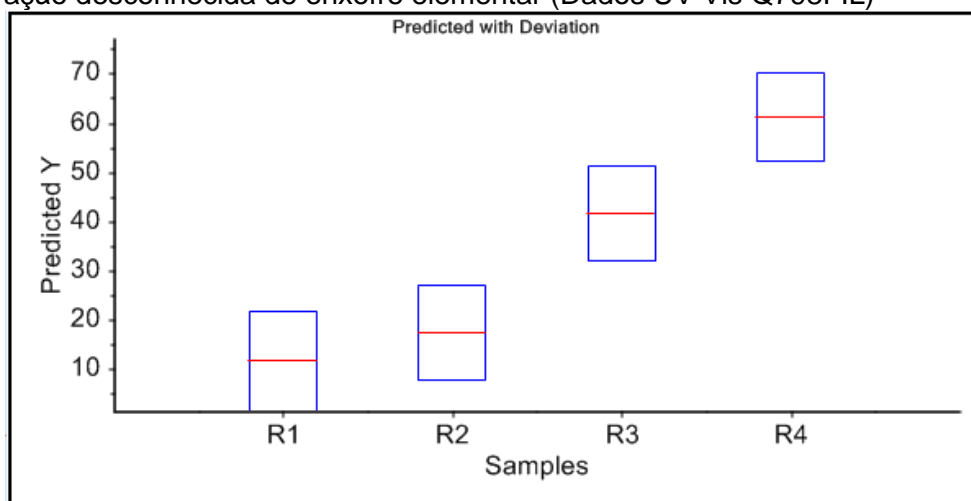
Valor real (mg kg^{-1})	Predito (mg kg^{-1})	Desvio
10	11,8741	0,3675

Valor real (mg kg ⁻¹)	Predito (mg kg ⁻¹)	Desvio
30	28,5859	0,3621
40	38,2049	0,3610
60	59,7544	0,3669

Fonte: Autoria própria, 2018.

A Figura 18 mostra o gráfico do valor predito do teor de enxofre e desvio para quatro novas amostras de B20 com concentração desconhecida do padrão de enxofre elementar.

Figura 18. Valor predito do teor de enxofre e desvio para quatro amostras de B20 com concentração desconhecida de enxofre elementar (Dados UV Vis Q798FIL)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Tabela 12 mostra os desvios médios em 0,9587 mg kg⁻¹ de enxofre. A validação externa mostra que este modelo PLS tem boa capacidade de previsão e pode ser usado para prever as concentrações de enxofre em misturas de B20.

Tabela 12. Valor predito do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B20 com adição de enxofre elementar

Valor real (mg kg ⁻¹)	Predito (mg kg ⁻¹)	Desvio
10	11,5002	0,9993
15	17,2999	0,9681
40	41,5431	0,9663
60	61,1040	0,9011

Fonte: Autoria própria, 2018.

Uma forma de avaliar a representatividade da calibração do modelo é pela comparação dos resultados encontrados com as figuras de méritos estudadas nesse trabalho. Por exemplo, o RMSE_c obtido na calibração com o RMSE_v da validação. O esperado é que o RMSE_p seja maior que o RMSE_c, mas se for muito maior pode indicar que a calibração não foi representativa. Modelos que apresentam RMSE_p>>RMSE_c normalmente possuem problemas conceituais ou mesmo erros de programação (LEGATES; McCABE Jr, 1999; NASH; SUTCLIFFE, 1970; WILLMOT, 1981).

Os resultados nesse trabalho para o RMSE_c obtido na calibração em comparação com RMSE_p da validação mostram que a validação pode ter sido pouca representativa para o conjunto de amostras B20, enquanto que para as amostras de B10 analisadas no mesmo equipamento, apresentaram valores para as mesmas figuras de méritos com RMSE_c um pouco maior que a RMSE_v e, portanto, pode apresentar um modelo representativo para calibração.

Para determinar limite de detecção e quantificação foram preparadas amostras em branco e submetidas a análise empregando o raio-x (equipamento de referência) e UV Vis Q798FIL (equipamento proposto).

De acordo com os valores de limite de detecção e quantificação obtidos por meio do software Unscrambler®, pode-se supor que o modelo construído só pode detectar valores iguais ou superiores a 1,12924 e 3,02902 (mg kg⁻¹) de enxofre, para B10 e B20, respectivamente. Enquanto para quantificação, o modelo não consegue determinar valores menores que 3,76412 e 10,09674 (mg kg⁻¹) de enxofre para B10 e B20, respectivamente. Como a concentração de enxofre varia de 5 a 10 mg kg⁻¹, pode-se considerar o modelo eficaz para detectar e quantificar esse analito.

Tabela 13. Comparação entre as figuras de mérito dos modelos de B10 e B20 com adição de enxofre elementar

Figuras de mérito	B10	B20
RMSE _c *	3,2910	1,6623
RMSE _p *	4,4696	12,2298
Sensibilidade	0,9867	0,9971
Bias _c *	-0,0672	-7,9437x10 ⁻⁷
Bias _v *	5,0863x10 ⁻⁷	-0,0520
Limite de detecção	1,12924	3,02902
Limite de quantificação	3,76412	10,09674

Figuras de mérito	B10	B20
Razão sinal/ruído	0,371	1,007

*valores em (mg kg⁻¹).

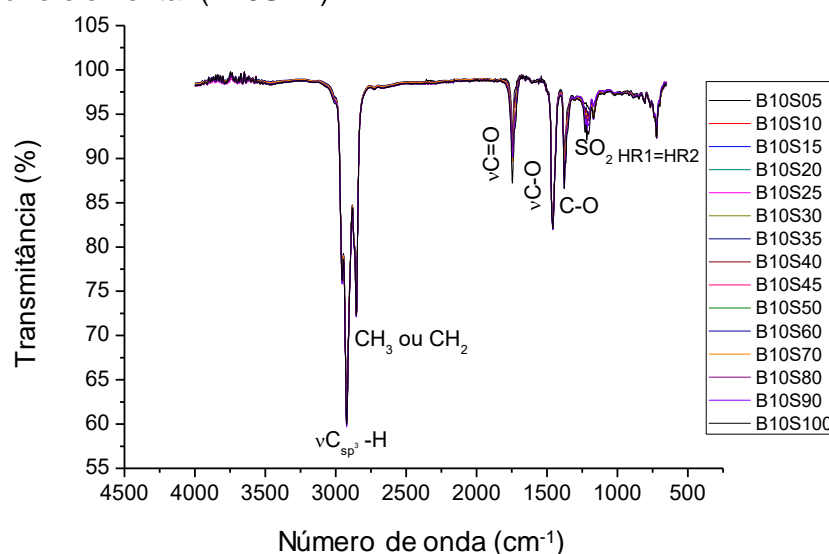
Fonte: Aatoria própria, 2018.

5.3. MÉTODO EMPREGANDO FTIR

As Figuras 19 e 20 mostram os espectros de FTIR das misturas de biodiesel em diesel com adição de enxofre (Tabela 5). Os espectros foram sobrepostos para facilitar a visualização das absorções das ligações C-H do esqueleto hidrocarbônico em 2924, 2855 e 1458 cm⁻¹; absorção da ligação H-C das duplas ligações presentes nos ácidos graxos insaturados em 3009 cm⁻¹ e 1560 cm⁻¹.

A absorção na região de 1500-600 cm⁻¹ está associada a diversos tipos de vibração: deformações axiais e angulares de ligações C-O, C-N, C-C e C-X. Observa-se também que a absorção nessa região apresenta ligações do tipo C-O e C=O. Os espectros de absorção da carbonila de ésteres em 1746 cm⁻¹ e absorção da ligação C-O em 1337 e 1167 cm⁻¹ de SO₂ (sulfona), indicando a presença de compostos de enxofre com bandas de deformação axial assimétrica e simétrica, respectivamente. Foram utilizados os códigos de B10Sxx e B20Sxx, no qual o B10 e B20 representa o erentual de biodiesel presente na amostra e Sxx a representação da concentração do analito em estudo que varia de 0 a 100 mg kg⁻¹.

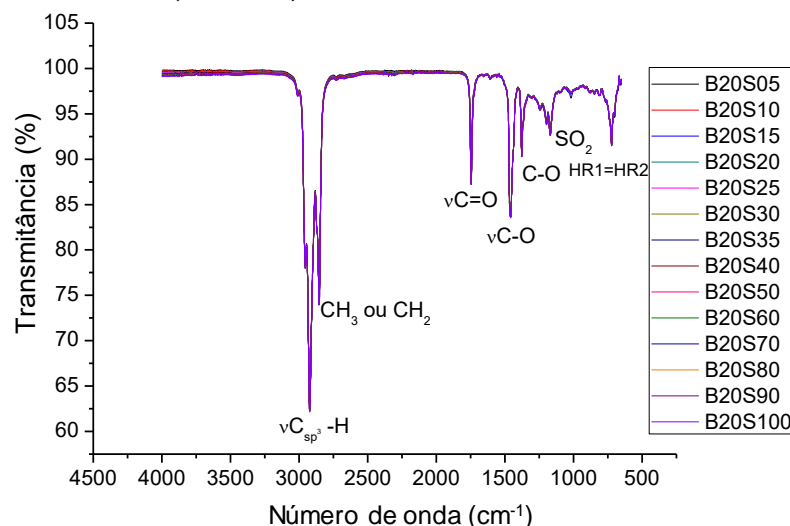
Figura 19. Espectro de FTIR das amostras de combustíveis (Biodiesel em diesel) com adição de enxofre elementar (B10SXX)



Fonte: Aatoria própria, 2018.

Quando comparamos a Figura 19 com a Figura 20 podemos observar diferenças espectrais no intervalo de 1500 a 500 cm^{-1} devido à maior adição de biodiesel na amostra B20 (20%) em relação à amostra B10 (10%). Entre 975 a 530 cm^{-1} temos frequências correspondentes à transição vibracional da ligação C-S, sendo bandas difíceis de observar no espectro, por se tratar de bandas fracas quando observadas no FTIR provenientes do enxofre como cadeias carbônicas ou como sulfetos, modo em que se apresenta no diesel (SOARES; REZENDE; FORTES, 2010).

Figura 20. Espectro de FTIR das amostras de combustíveis (Biodiesel em diesel) com adição de enxofre elementar (B20SXX)



Fonte: Autoria própria, 2018.

5.3.1. Espectros das amostras oxidadas

O armazenamento dos combustíveis em postos de gasolina está sujeito à influência de intempéries ambientais. Por exemplo, o biodiesel quando exposto à umidade, temperatura e microorganismos ocorre oxidação e afeta o material que está em contato com ele. Nos motores automobilísticos causa mau funcionamento dos motores e entupimento dos bicos injetores devido sua oxidação e formação de polímeros indesejáveis. Portanto, a aceleração da oxidação desse combustível foi estudada para verificar a influência nas misturas preparadas.

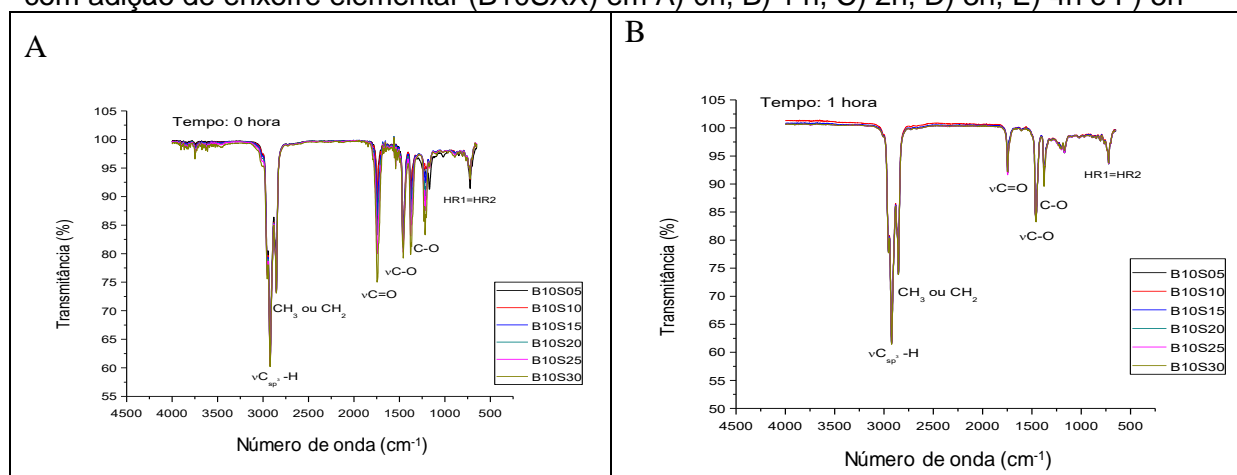
A Figura 21 mostra os espectros das amostras de biodiesel oxidadas em diesel com a adição de enxofre elementar. No espectro apresentado na Figura 21A das amostras no tempo zero, observa-se que ocorre absorção na região 3000 –

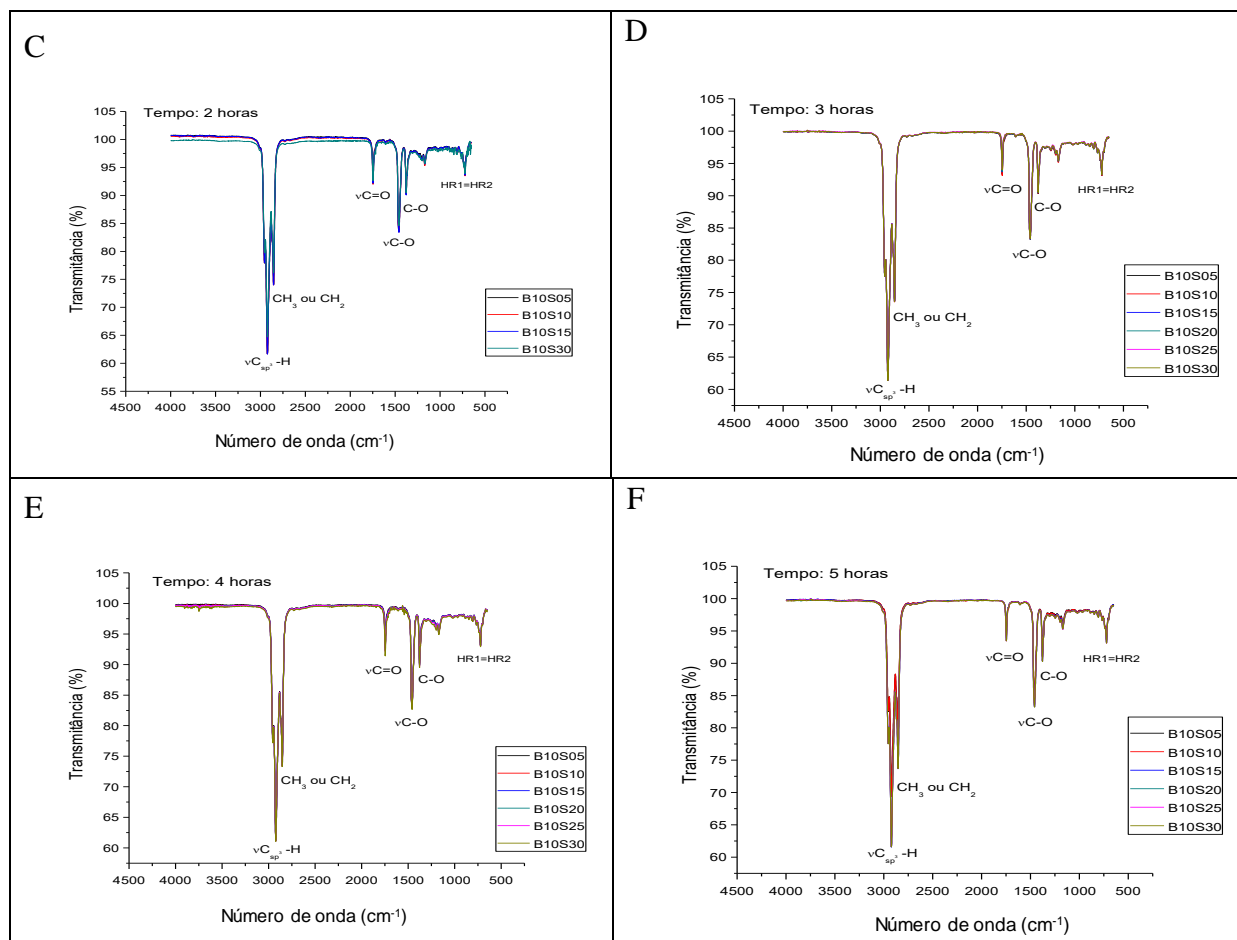
1000 cm^{-1} com a presença de ligações entre C-H, C-O e C=O. A banda em 2863 cm^{-1} é devido às ligações de estiramento C-H e a banda de 2924 cm^{-1} à ligação $\nu\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$, que indica estiramento e a ressonância de Fermi. Já a banda em 1750 cm^{-1} é devido à deformação assimétrica, enquanto que a banda 1337 cm^{-1} deve-se à deformação simétrica do grupo C-H.

Nos espectros da Figura 21A, B, C, D, E e F verifica-se a diminuição da intensidade do pico relacionado com a ligação éster em 1744 cm^{-1} , essa variação pode estar relacionada com a quebra das ligações dos ésteres provocada pelo processo de oxidação acelerada (BATISTA, 2016).

Com os dados obtidos nas análises realizadas com as amostras oxidadas, tanto fixando quanto variando a concentração de enxofre, nas misturas de biodiesel em diesel, foram gerados gráficos de PCA e PLS, os quais encontram-se no Apêndice B. A importância da análise é principalmente pela possibilidade de verificar se ocorreu variação da composição química das amostras. O Apêndice C apresenta os períodos de indução das amostras que foram oxidadas.

Figura 21. Espectro de FTIR das amostras oxidadas de combustíveis (Biodiesel em diesel) com adição de enxofre elementar (B10SXX) em A) 0h, B) 1 h, C) 2h, D) 3h, E) 4h e F) 5h





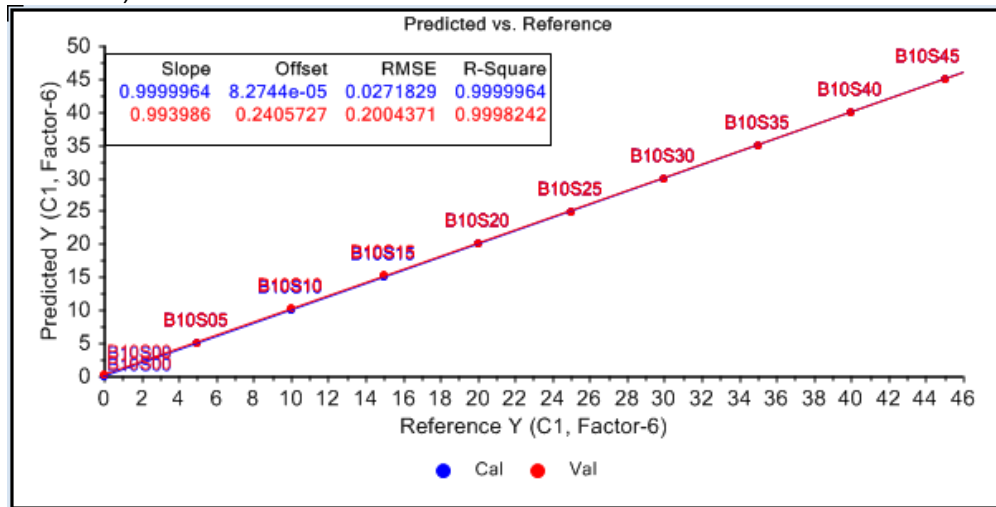
Fonte: Autoria própria, 2018.

5.4. MÉTODO EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X DE ENERGIA DISPERSIVA (EDXRF)

Os dados dos experimentos empregando EDXRF foram utilizados na construção dos modelos de regressão de calibração multivariada (PLS), com adição do enxofre (Figura 22).

O modelo PLS apresentou uma alta correlação entre os valores reais e preditos de acordo com os valores de R^2 (0,9999964 e 0,9998242 para calibração e validação, respectivamente).

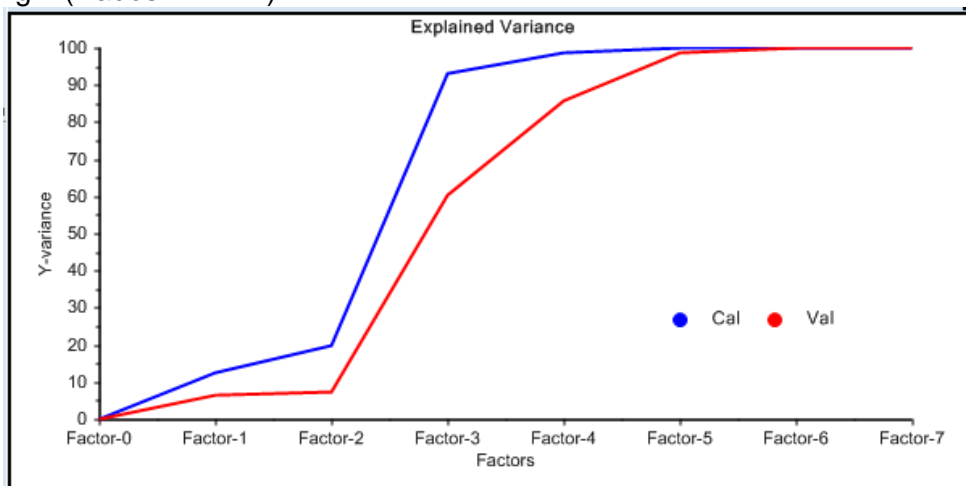
Figura 22. Modelo PLS de amostras B10 com adição de enxofre elementar de 0 a 45 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

Na Figura 23 observa-se que foram necessários vários fatores para alcançar uma variância de 100%, mas só foi possível a partir do fator 4 e 5 para calibração e validação, respectivamente. Esse comportamento pode ser justificado pela presença dos *outliers*, o que causa uma queda da variação explicada, principalmente para validação (UNSCRAMBLER, 2018).

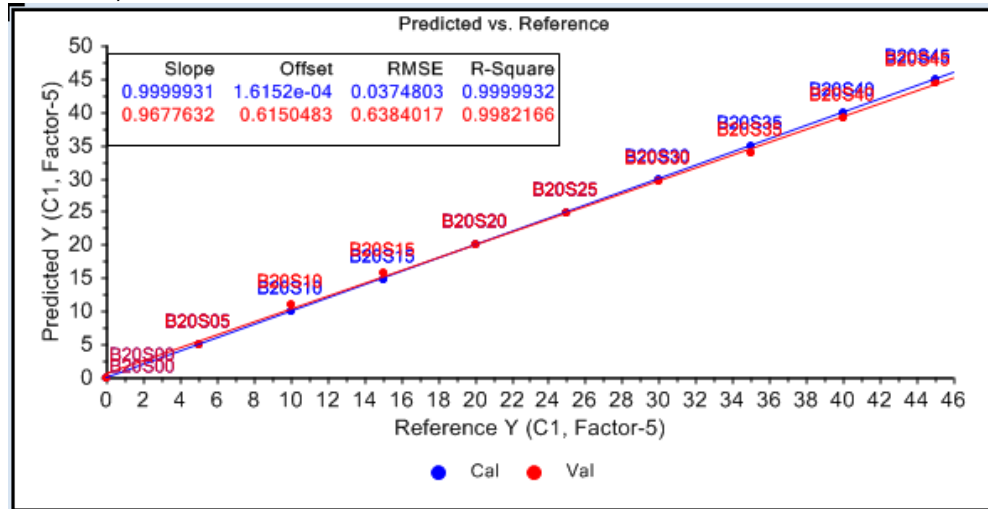
Figura 23. Variância explicada do modelo PLS de amostras B10 de enxofre elementar de 0 a 45 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

O modelo PLS (Figura 24) aplicada as amostras B20 apresentou uma alta correlação entre os valores reais e previstos de acordo com os valores de R² (0,99999932 e 0,9982166, respectivamente, para calibração e validação).

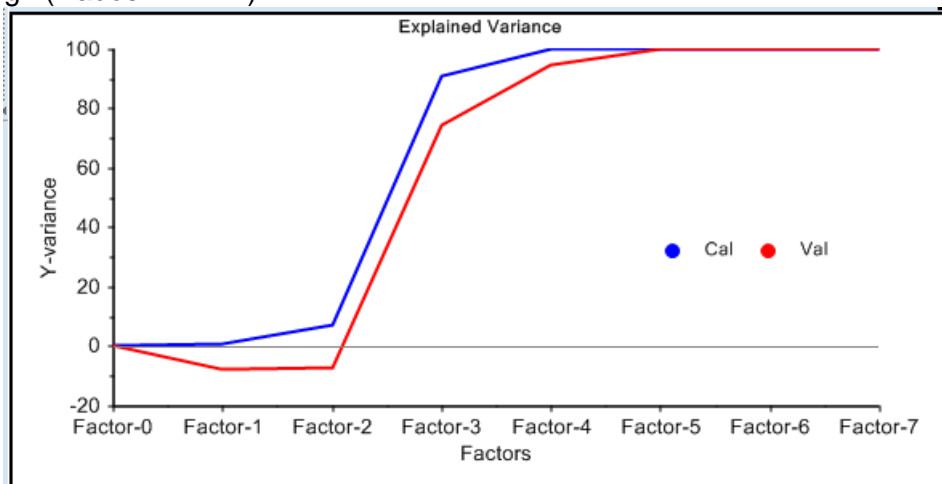
Figura 24. Modelo PLS de amostras B20 com adição de enxofre elementar de 0 a 45 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Figura 25 apresenta a variância explicada do modelo PLS para as amostras de B20. O Comportamento do gráfico pode ser justificado pelo fato de que às vezes, os *outliers* podem causar grande variação residual (ou pequena variância explicada). Eles também podem causar uma diminuição na variância de validação explicada.

Figura 25. Variância explicada do modelo PLS de amostras B20 de enxofre elementar de 0 a 45 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



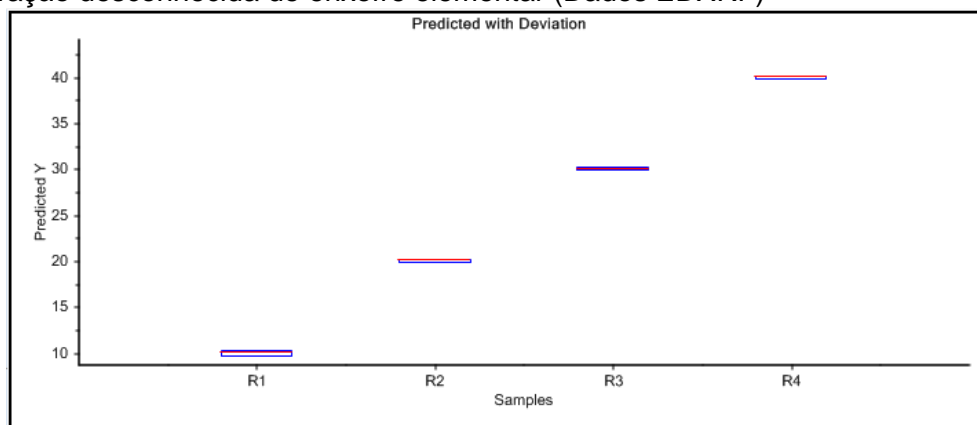
Fonte: Autoria própria, 2018.

5.4.1. Calibração e validação externa do modelo PLS de amostras B10 e B20 com adição de enxofre elementar

Como já foi dito anteriormente, para a validação externa é feita adição de amostras com concentrações desconhecidas de enxofre com a intenção de avaliar a

capacidade preditiva do modelo, assim Figura 26, apresenta o valor predito do teor de enxofre com desvio para quatro amostras de B10.

Figura 26. Valor predito do teor de enxofre e desvio para quatro amostras de B10 com concentração desconhecida de enxofre elementar (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A média dos desvios é de 0,1760 mg kg⁻¹ para concentração de enxofre apresentados na Tabela 14 o que confirma mais uma vez que a validação externa do modelo PLS tem boa capacidade de previsão e pode ser usada para prever as concentrações de enxofre em misturas de B10.

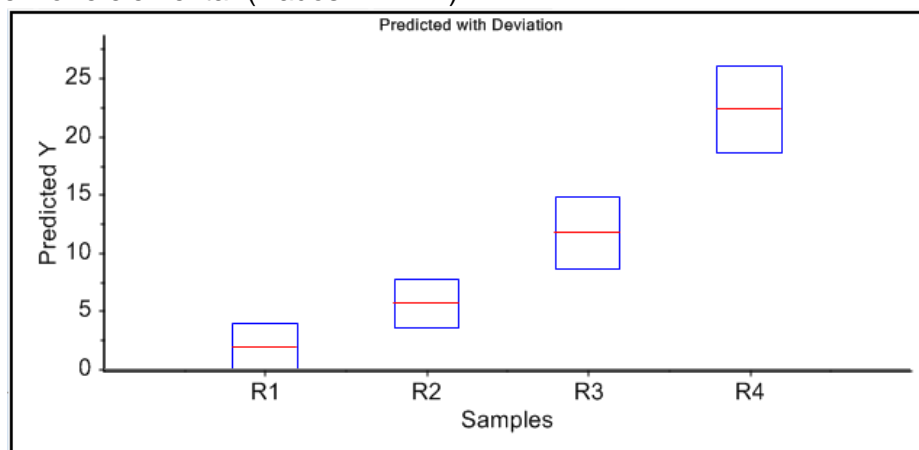
Tabela 14. Valor predito do teor de enxofre elementar com desvio para amostras no escuro de B10

Valor real (mg kg ⁻¹)	Predito (mg kg ⁻¹)	Desvio
10	9,97119	0,2473
20	20,0166	0,1464
30	30,0249	0,1526
40	40,0009	0,1578

Fonte: Autoria própria, 2018.

A Figura 27 mostra o gráfico do valor previsto do teor de enxofre e desvio para quatro amostras de B20 com adição de concentração desconhecida de enxofre.

Figura 27. Valor predito do teor de enxofre e desvio para amostras no escuro de B20 com adição de enxofre elementar (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Tabela 15 mostra os desvios médios em 2,727 mg kg⁻¹ de enxofre. A validação externa indica que este modelo PLS tem boa capacidade de previsão e pode ser usado para prever as concentrações de enxofre em misturas de B20.

Tabela 15. Valor previsto do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B20 com adição de enxofre elementar

Valor real (mg kg ⁻¹)	Predito (mg kg ⁻¹)	Desvio
5	1,8782	2,0142
10	5,6628	2,1004
15	11,6877	3,0467
25	22,3264	3,7464

Fonte: Autoria própria, 2018.

Na Tabela 16 encontram-se as figuras de mérito das amostras B10 e B20. Observa-se baixos valores do Erro Quadrático Médio, tanto para calibração quanto para validação e valores de sensibilidade muito próximo de 1.

Os valores obtidos para Bias - valor médio de todos os pontos que estão sistematicamente acima (ou abaixo) da linha de regressão - de calibração e validação encontram-se próximo a zero, indicando uma distribuição aleatória de pontos sobre a linha de regressão. Portanto, é possível dizer que o modelo encontra-se satisfatório na predição da contração de enxofre (UNSCRAMBLER, 2018).

Considerando os valores de limite de detecção e quantificação, pode-se inferir que o modelo construído só pode detectar valores iguais ou superiores a 0,6438 e

1,2489 (mg kg⁻¹) de enxofre, para B10 e B20, respectivamente. Enquanto para quantificação, o modelo não consegue determinar valores menores que 2,1460 e 4,1630 (mg kg⁻¹) de enxofre para B10 e B20, respectivamente. Como a concentração de enxofre varia de 5 a 10 mg kg⁻¹, pode-se considerar o modelo eficaz para detectar e quantificar esse analito. Isso ocorre porque os valores dos limites, tanto de detecção quanto de quantificação encontrados, são menores que os padrões (limite) definidos pela legislação e presentes usualmente em amostras comerciais percentagens de enxofre presentes nas amostras.

Tabela 16. Comparação entre as figuras de mérito dos modelos de B10 e B20 com adição de enxofre elementar

Figuras de mérito	B10	B20
RMSEc*	0,0272	0,0375
RMSEp*	0,2004	0,6384
Sensibilidade	0,9999	0,9999
Bias _c *	7,6294x10 ⁻⁷	6,2943x10 ⁻⁶
Bias _p *	0,1053	-0,1103
Limite de detecção*	0,6438	1,2489
Limite de quantificação*	2,1460	4,1630
Razão sinal/ruído*	0,21	0,42

*Valores em (mg kg⁻¹).

Fonte: Autoria própria, 2018.

5.5. VALIDAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO (FIL) PELO MÉTODO DE REFERÊNCIA (EDXRF)

5.5.1. Curva de calibração por adição de padrão

A construção de uma curva de calibração empregando o método de adição de padrão é bastante relevante para a análise química quantitativa de espécies inorgânicas e orgânicas devido ao fato de permitir atenuar os efeitos de interferência da matriz (KELLY et al., 2011).

Sua utilização ocorreu a partir dos estudos de Hohn (1906-1978) sobre análise química por polarografia, cujo o livro foi publicado em 1937 (HOHN, 1937). Após alguns anos, o método foi introduzido em análises químicas quantitativas

realizadas com a utilização de espectroscopias ópticas, tais como espectroscopia de fluorescência de raios-x e fotometria de chama (KELLY et al., 2011).

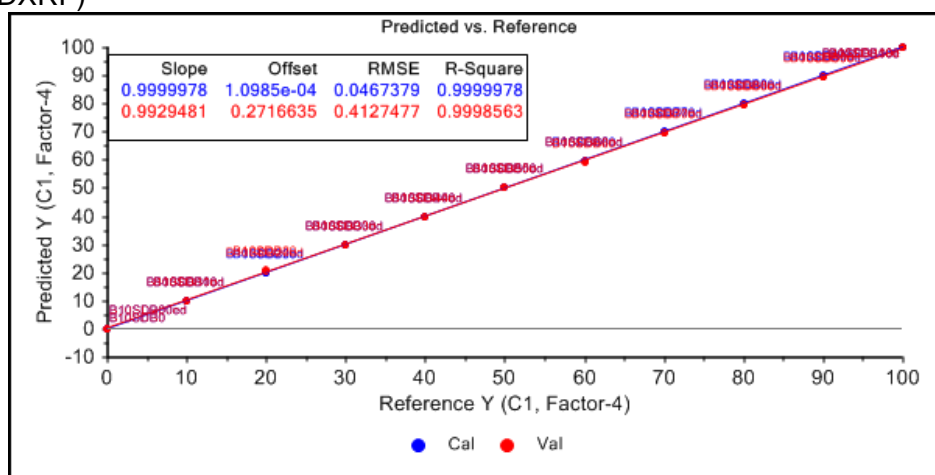
Este método por adição de padrão é recomendado quando a composição da amostra é desconhecida ou complexa e afeta o sinal analítico. Pois além do sinal do analito, a matriz é tudo que existe na amostra desconhecida.

O efeito de uma matriz pode ser considerado como uma mudança no sinal analítico causada por qualquer interferente na amostra que seja diferente do analito. Assim, o método de adição padrão compensa uma série de interferências quando se adiciona quantidades conhecidas de analito à amostra desconhecida em sua matriz complexa (HARRIS, 2005).

Para esse trabalho foi feita a construção da curva de calibração utilizando amostras de misturas de biodiesel em diesel com adição de enxofre e seu padrão utilizando o método de adição por padrão.

Os dados do EDXRF foram utilizados na construção dos modelos de regressão de calibração multivariada (PLS), com adição do SDB (Figura 28).

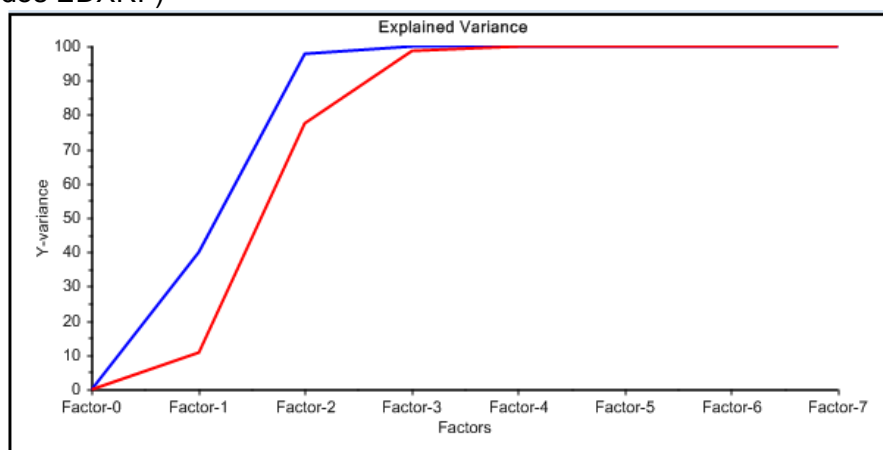
Figura 28. Modelo PLS de amostras B10 com adição de padrão SDB de 0 a 100 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Figura 29 apresenta três variáveis latentes que predizem 100% da variância total. Portanto, o modelo mostra, mais uma vez, ser útil para prever mudanças na concentração de enxofre quando adicionado à misturas de biodiesel em diesel com base na variância espectral de fluorescência.

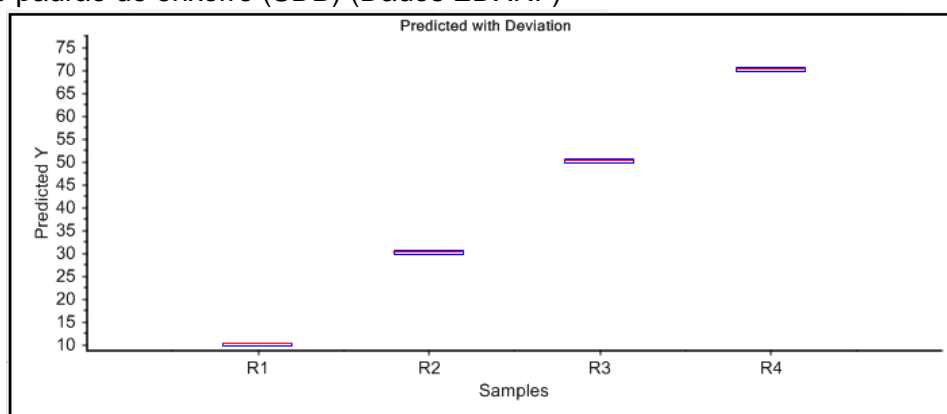
Figura 29. Variância explicada do modelo PLS de amostras B10 e padrão SDB de 0 a 100 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

Como dito anteriormente, para a validação externa é feita adição de novos dados com a intenção de avaliar a capacidade preditiva do modelo, assim como mostra a Figura 30, o valor predito do teor de enxofre com desvio para quatro amostras com adição do padrão SDB com concentrações desconhecidas em B10.

Figura 30. Valor predito do teor de enxofre e desvio para amostras no escuro de B10 com adição do padrão de enxofre (SDB) (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A média dos desvios é de 0,38845 mg kg⁻¹ para concentração de enxofre apresentados na Tabela 17 confirma mais uma vez que a validação externa do modelo PLS tem boa capacidade de previsão e pode ser usado para prever as concentrações de enxofre em misturas de B10 empregando o EDXRF.

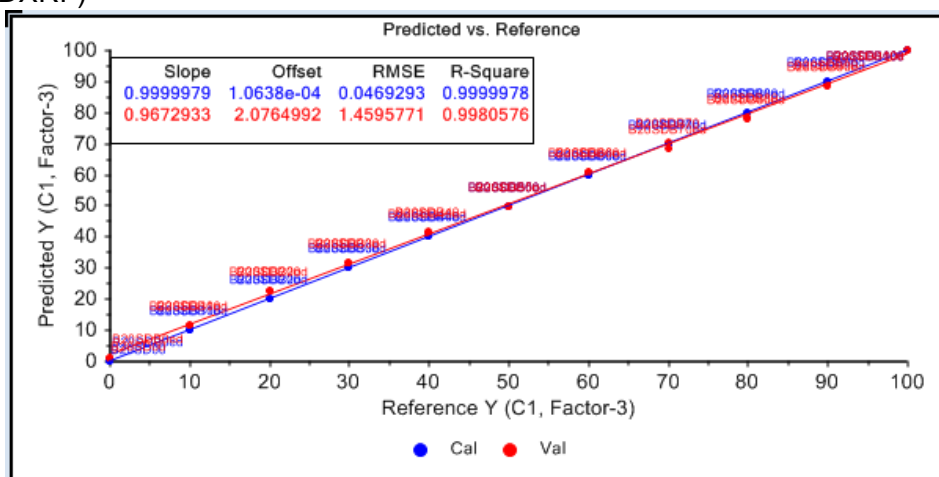
Tabela 17. Valor predito do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B10 com adição de seu padrão (SDB)

Valor real (mg kg ⁻¹)	Predito (mg kg ⁻¹)	Desvio
10	9,9706	0,3257
30	29,9633	0,3447
50	50,0951	0,4613
70	70,0369	0,4221

Fonte: Autoria própria, 2018.

O modelo PLS apresentou uma alta correlação entre os valores reais e preditos de acordo com os valores de R^2 (0,9999978 e 0,9980576, respectivamente, para calibração e validação) (Figura 31).

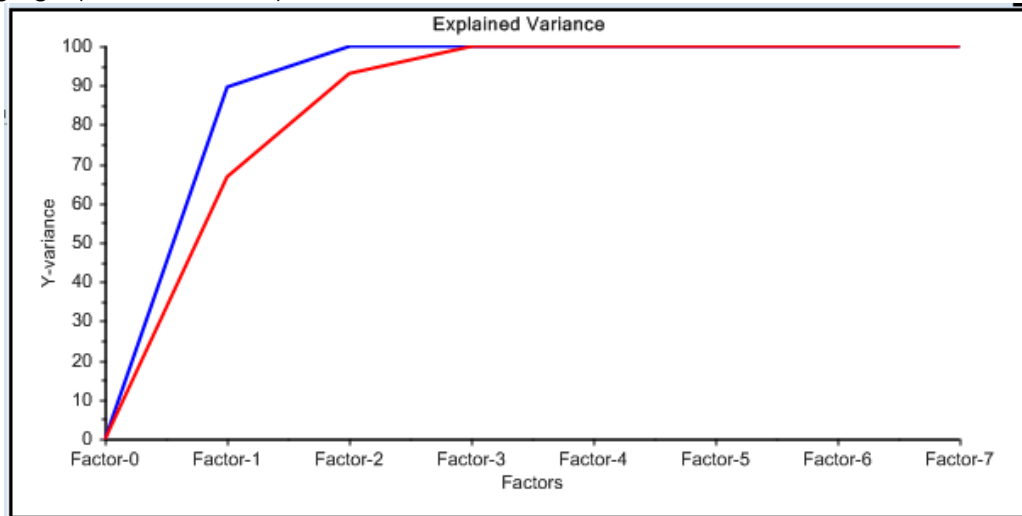
Figura 31. Modelo PLS de amostras B20 com adição de padrão SDB de 0 a 100 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Figura 32 apresenta três variáveis latentes que predizem 100% da variância total. Portanto, o modelo mostra, mais uma vez, ser útil para prever mudanças na concentração de enxofre quando adicionado à misturas de biodiesel em diesel, com base na variância espectral de fluorescência.

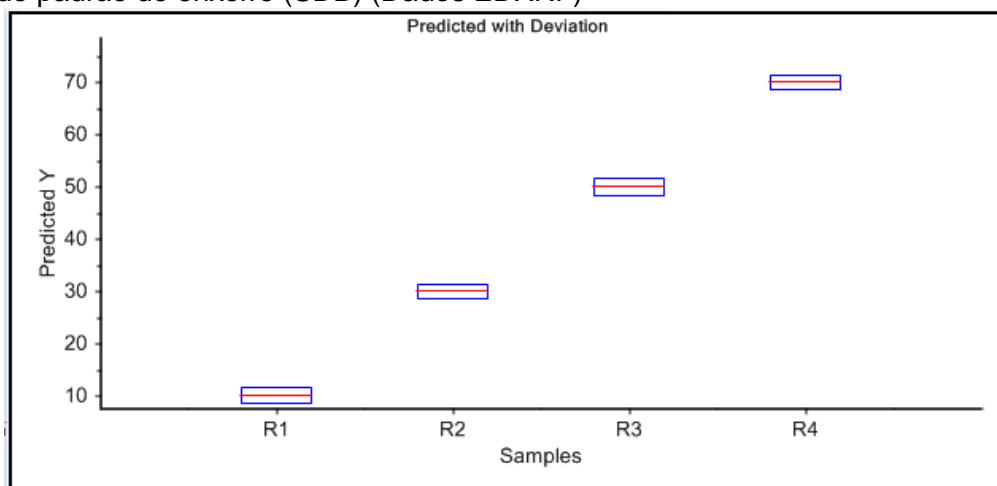
Figura 32. Variância explicada do modelo PLS de amostras B20 e seu padrão (SDB) de 0 a 100 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

Como já foi dito anteriormente, para a validação externa é feita adição de novos dados com a intenção de avaliar a capacidade preditiva do modelo, assim como mostra a Figura 33, o valor predito do teor de enxofre com desvio para quatro amostras com adição do seu padrão (SDB) com concentrações desconhecidas em B20.

Figura 33. Valor predito do teor de enxofre e desvio para amostras no escuro de B20 com adição do padrão de enxofre (SDB) (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A média dos desvios é de 1,5045 mg kg⁻¹ para concentração de enxofre apresentados na Tabela 18, o que confirma mais uma vez que a validação externa do modelo PLS tem boa capacidade de previsão e pode ser usado para prever as concentrações de enxofre em misturas de B20.

Tabela 18. Valor previsto do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B20 com adição de seu padrão (SDB)

Valor real (mg kg ⁻¹)	Predito (mg kg ⁻¹)	Desvio
10	9,9445	1,5090
30	29,9274	1,4234
50	49,9940	1,6134
70	70,0111	1,4723

Fonte: Autoria própria, 2018.

Para construção dos gráficos analíticos foi utilizado intervalo de concentração de 0 – 45 mg kg⁻¹ de enxofre elementar (S₂) e 0 – 100 mg kg⁻¹ do padrão de enxofre (SDB), adicionado à mistura de biodiesel em diesel para B10 e B20 perfazendo um total de 20 amostras com adição de S₂ e 22 amostras com SDB.

A Tabela 19 apresenta os valores das figuras de méritos calculadas por meio da curva de calibração construída com os dados obtidos a partir das análises das amostras de B10 e B20 com adição de padrão de enxofre (SDB).

Os resultados obtidos para o RMSE_c em comparação com RMSE_p mostram que a validação pode ter sido pouca representativa para o conjunto de amostras de B10 e B20, enquanto que para os resultados de Bias, mostrou-se representativa, pois apresentou valores próximos a zero, tanto para calibração quanto para validação.

Em relação aos valores de limite de detecção e quantificação obtidos, pode-se supor que o modelo construído só pode detectar valores iguais ou superiores a 1,0608 e 4,0617 (mg kg⁻¹) de enxofre, para B10 e B20, respectivamente. Enquanto para quantificação, o modelo não consegue determinar valores menores que 3,5360 e 13,5390 (mg kg⁻¹) de enxofre para B10 e B20, respectivamente. Já a sensibilidade dos dois modelos apresentaram valor satisfatório, bem próximos a 1.

Tabela 19. Comparação entre as figuras de mérito dos modelos de B10 e B20 com adição do padrão de enxofre (SDB)

Figuras de mérito	B10	B20
RMSE _c *	0,0467	0,0469
RMSE _p *	0,4127	1,4596
Sensibilidade	0,9999	0,9999
Bias _c *	8,6698x10 ⁻⁷	0,4412
Bias _p *	-0,0809	-2,0807x10 ⁻⁶
Limite de detecção*	1,0608	4,0617

Figuras de mérito	B10	B20
Limite de quantificação*	3,5360	13,5390
Razão sinal/ruído*	0,35	1,35

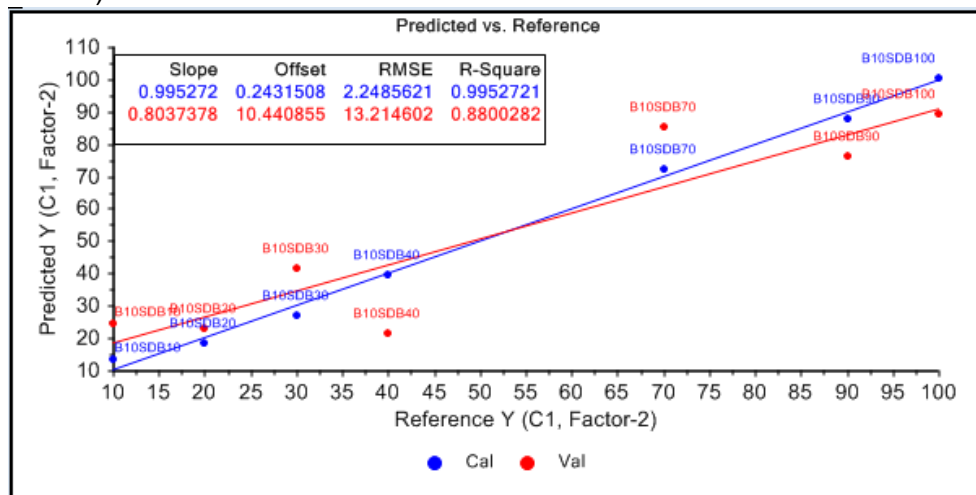
*Valores em (mg kg⁻¹).

Fonte: Autoria própria, 2018.

Os dados do FIL foram utilizados na construção dos modelos de regressão de calibração multivariada (PLS), com adição do SDB (Figura 34).

O modelo PLS apresentou uma alta correlação entre os valores reais e preditos de acordo com os valores de R² (0,9952721 e 0,8800282, respectivamente, para calibração e validação).

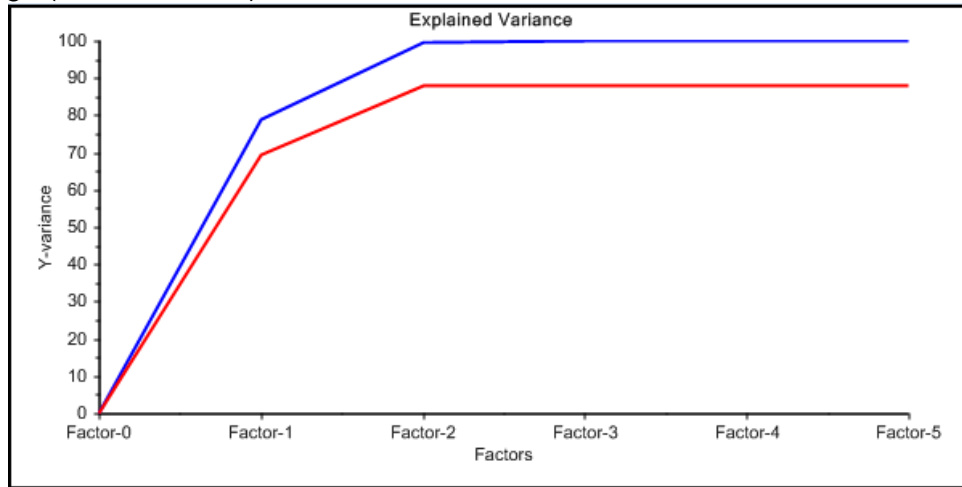
Figura 34. Modelo PLS de amostras B10 com adição de padrão SDB de 0 a 100 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Figura 35 apresenta duas variáveis latentes que predizem 100% da variância total. Portanto, o modelo mostra, mais uma vez, ser útil para prever mudanças na concentração de enxofre quando adicionado à misturas de biodiesel em diesel com base na variância espectral de fluorescência.

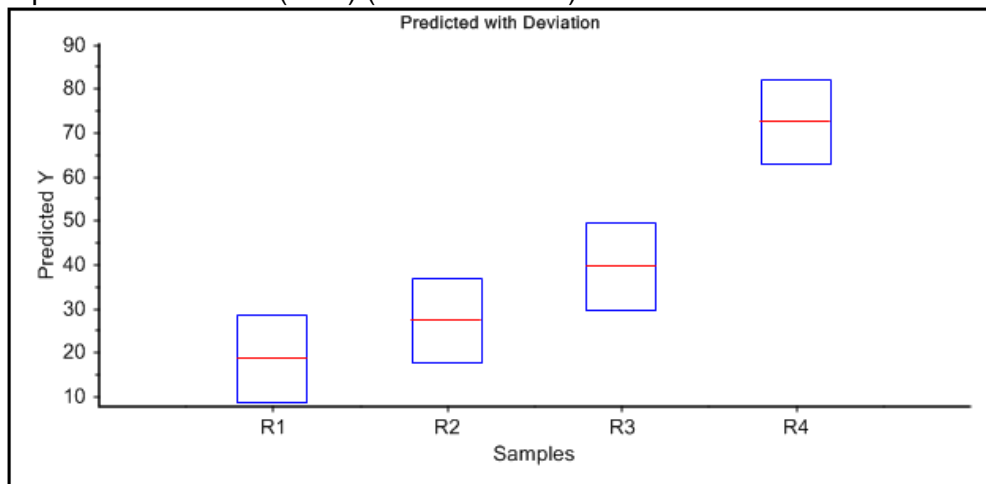
Figura 35. Variância explicada do modelo PLS de amostras B10 e seu padrão (SDB) de 0 a 100 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Figura 36 apresenta o valor predito do teor de enxofre com desvio para quatro amostras com adição do seu padrão (SDB) com concentrações desconhecidas em B10.

Figura 36. Valor predito do teor de enxofre e desvio para amostras no escuro de B10 com adição do padrão de enxofre (SDB) (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A média dos desvios é de 0,9791 mg kg⁻¹ para concentração de enxofre apresentados na Tabela 20 confirma mais uma vez que a validação externa do modelo PLS tem boa capacidade de previsão e pode ser usado para prever as concentrações de enxofre em misturas de B10.

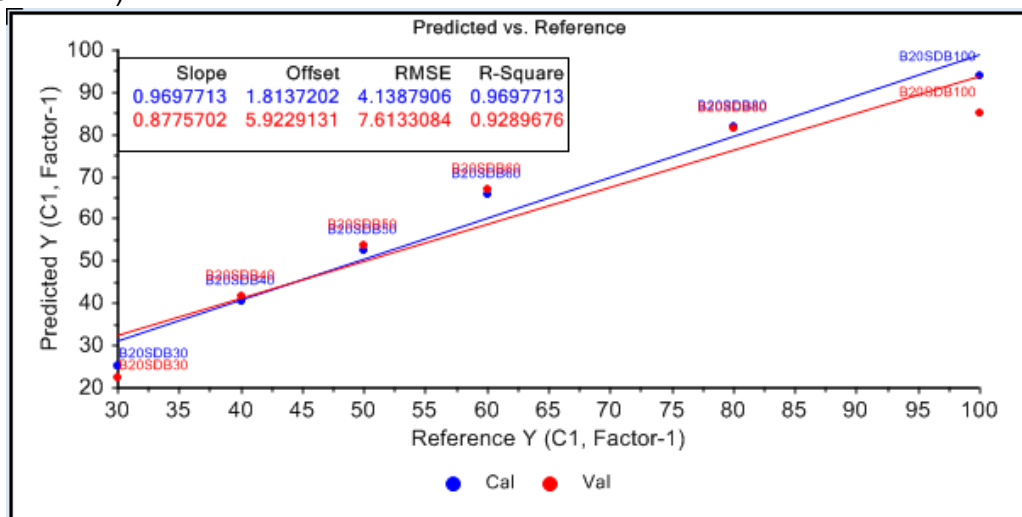
Tabela 20. Valor previsto do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B10 com adição de seu padrão (SDB)

Valor real (mg kg ⁻¹)	Predito (mg kg ⁻¹)	Desvio
20	18,4863	0,9860
30	27,0661	0,9713
40	39,4632	1,0022
70	72,4594	0,9567

Fonte: Autoria própria, 2018.

O modelo PLS apresentou uma alta correlação entre os valores reais e preditos de acordo com os valores de R^2 (0,9697713 e 0,9289676, respectivamente, para calibração e validação) (Figura 37).

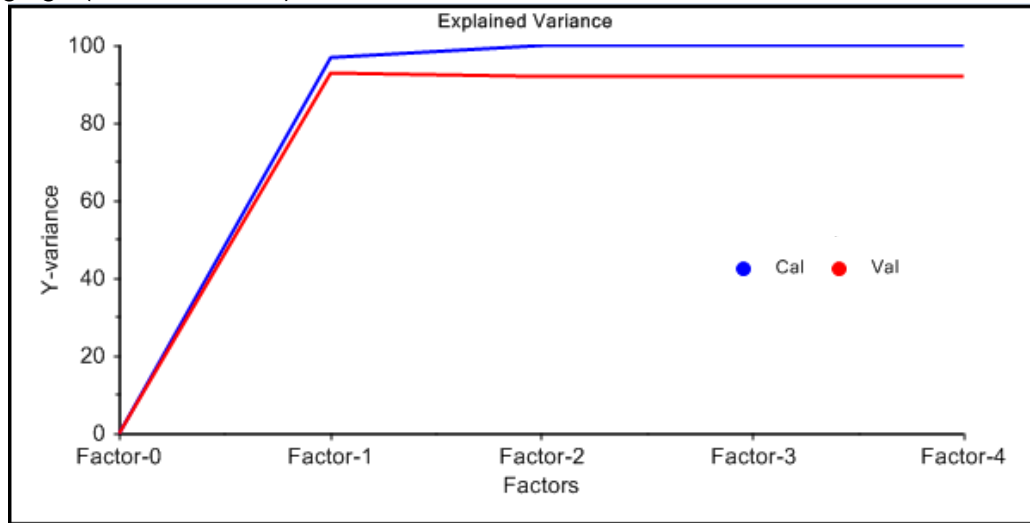
Figura 37. Modelo PLS de amostras B20 com adição de padrão SDB de 0 a 100 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Figura 38 apresenta duas variáveis latentes que predizem 100% da variância total (quase 100% para a primeira variável latente). Portanto, o modelo mostra, mais uma vez, ser útil para prever mudanças na concentração de enxofre quando adicionado à misturas de biodiesel em diesel com base na variância espectral de fluorescência.

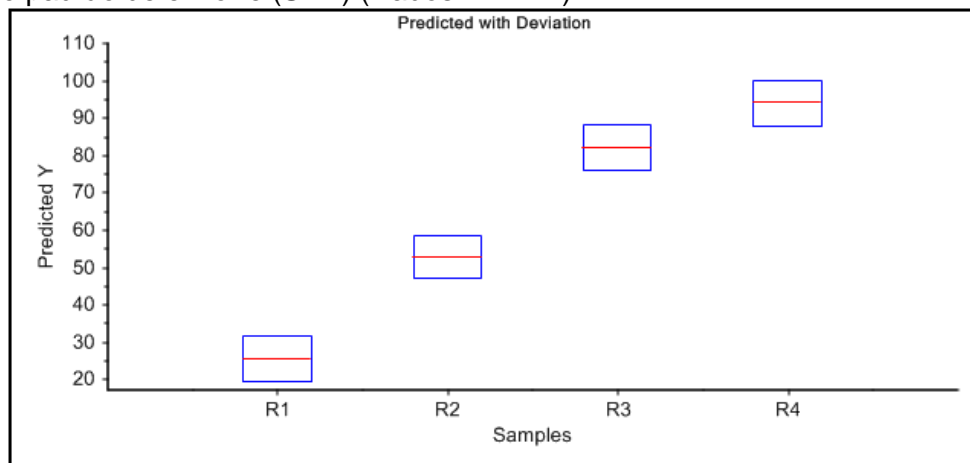
Figura 38. Variância explicada do modelo PLS de amostras B20 e seu padrão (SDB) de 0 a 100 mg kg⁻¹ (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Figura 39 apresenta o valor predito do teor de enxofre com desvio para quatro amostras com adição do seu padrão (SDB) com concentrações desconhecidas em B20.

Figura 39. Valor predito do teor de enxofre e desvio para amostras no escuro de B20 com adição do padrão de enxofre (SDB) (Dados EDXRF)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A média dos desvios é de 0,6043 mg kg⁻¹ para concentração de enxofre apresentados na Tabela 21 confirma mais uma vez que a validação externa do modelo PLS tem boa capacidade de previsão e pode ser usado para prever as concentrações de enxofre em misturas de B20.

Tabela 21. Valor previsto do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B20 com adição de seu padrão (SDB)

Valor real (mg kg ⁻¹)	Predito (mg kg ⁻¹)	Desvio
25	25,3578	0,6210
50	52,6398	0,5736
80	81,9184	0,6091
90	93,8816	0,6145

Fonte: Autoria própria, 2018.

A Tabela 22 apresenta os valores das figuras de méritos calculadas através da curva de calibração construída com os dados obtidos a partir da análise das amostras B10 e B20 com adição de padrão de enxofre (SDB).

Os resultados obtidos para o RMSEc em comparação com RMSEp mostram que a validação pode ter sido pouca representativa para o conjunto de amostras de B10, visto que para as amostras B20 RMSEp foi um pouco maior que o RMSEc, os resultados de Bias se mostrou representativo, pois apresentou valores próximos a zero para calibração em relação a validação para B20 não se obteve um resultado tão representativo.

Em relação aos valores de limite de detecção e quantificação obtidos, pode-se supor que o modelo construído só pode detectar valores iguais ou superiores a 0,3448 e 1,1494 (mg kg⁻¹) de enxofre, para B10 e B20, respectivamente. Enquanto para quantificação, o modelo não consegue determinar valores menores que 2,8340 e 9,4466 (mg kg⁻¹) de enxofre para B10 e B20, respectivamente. Ou seja, o modelo se adéqua ao conjunto de dados utilizados no intervalo de 5 a 10 mg kg⁻¹. Tanto em relação à sensibilidade, quanto em relação ao sinal-ruído os dois modelos apresentaram valor muito satisfatório, bem próximos a 1 e a zero, respectivamente.

Tabela 22. Comparação entre as figuras de mérito dos modelos de B10 e B20 com adição do padrão de enxofre (SDB)

Figuras de mérito	B10	B20
RMSEc*	0,2249	0,4139
RMSEp*	1,3215	0,7613
Sensibilidade	0,9953	0,9698
Bias _c *	-1,0899x10 ⁻⁶	0
Bias _p *	0,3474	-1,4229
Limite de detecção*	0,3448	1,1494

Figuras de mérito	B10	B20
Limite de quantificação*	2,8340	9,4466
Razão sinal/ruído*	0,11	0,92

*Valores em (mg kg⁻¹).

Fonte: Autoria própria, 2018.

5.5.2. Correlação dos dados do método proposto (FIL) e do método de referência (EDXRF)

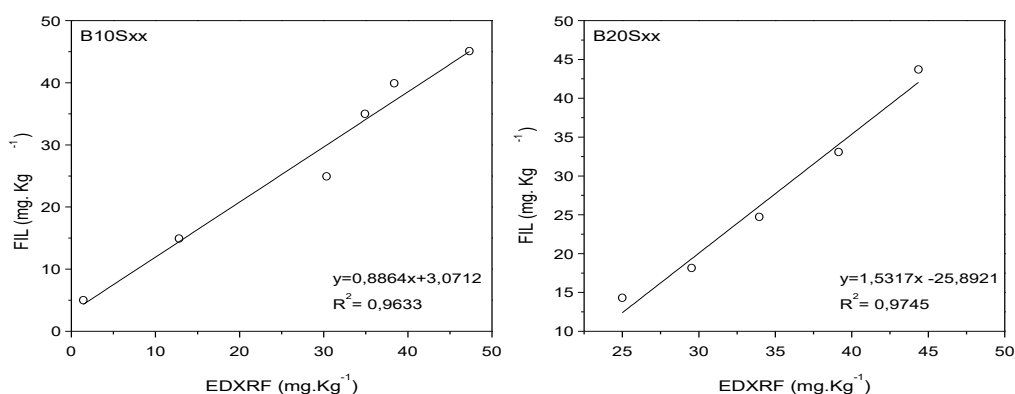
A correlação amostral mede o grau de associação entre duas variáveis quantitativas distintas (X e Y), a representação gráfica desse conjunto de dados pode ser feita utilizando um diagrama de dispersão, que é uma representação dos pares de valores de X e Y em um sistema cartesiano (FIGUEIREDO-FILHO e SILVA-JÚNIOR, 2009).

No caso estudado nas Figuras 40 e 41, tem-se uma correlação positiva entre as variáveis, ou seja, quando uma das variáveis “cresce” a outra, em média também “cresce”.

Na Figura 40 observa-se que das amostras de B10Sxx foram utilizadas seis amostras para construção do gráfico analítico. Para o B20Sxx foram utilizadas apenas cinco amostras para construção devido a presença de outliers.

As amostras de B10Sxx e B20Sxx (Sxx de 0 a 45 mg kg⁻¹) apresentaram os coeficientes angulares próximos a 1 (0,9633 e 0,9745) mostrando assim uma associação positiva e bastante forte entre os métodos de referência e proposto, quando é adicionado enxofre elementar nas amostras, conforme mostra a Figura 40.

Figura 40. Correlação dos dados obtidos no FIL versus EDXRF para amostras de biodiesel em diesel com adição de enxofre elementar (0 a 45 mg kg⁻¹)



Fonte: Autoria própria, 2018.

Após a construção da curva de calibração linear no software Origin® foi obtido os parâmetros de regressão para amostras de de B10Sxx e B20Sxx e, em seguida, foi calculado os parâmetros de validação utilizando as fórmulas dadas no rodapé da Tabela 23.

Tabela 23. Parâmetros de validação para determinação de B10Sxx e B20Sxx

Validation parameters	B10Sxx	B20Sxx
Número de pontos	6	5
Equação	$y = 0,8864x + 3,071$	$y = 1,5317x - 25,892$
Graus de liberdade (DOF)	4	3
Soma residual dos quadrados (RSS)	34,9762	10,7237
Desvio Padrão Residual (RSD)	2,957	1,8906
Limite de Detecção (LOD)	10,01%	3,7%
Limite de Quantificação (LOQ)	26,21%	12,3%
Sensibilidade (Slope)	0,8864	1,5317
R-square	0,9633	0,9745

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

Fonte: Autoria própria, 2018.

Testes de hipóteses, também chamados de testes de significância recebem esse nome por se tratar de uma regra onde o operador decide rejeitar ou não uma hipótese estatística baseado nos dados da sua amostra. Entre esses testes encontram-se os testes t e testes F. Para o teste t pressupõe-se normalidade dos dados com variâncias desconhecidas (FIGUEIREDO-FILHO e SILVA-JÚNIOR, 2009).

Para os cálculos do teste t foram usados os valores de predição das amostras e para os testes F foram usados os valores de desvios padrão das amostras de B10 e B20, relacionando o método proposto (FIL) com o método de referência (EDXRF).

Quando o valor de t é maior que o nível de significância não podemos rejeitar a hipótese nula. Essa hipótese nula seria, nesse caso, se valores preditos do método de referência e do método proposto fossem iguais. Como foi obtido no teste t o valor de 0,0109 e 0,1845 para B10 e B20, respectivamente, sendo o valor para B20 maior que 0,05 - nível de significância mais utilizado - a hipótese nula é aceita para B20 e, portanto, conclui-se que não há diferença significativa entre os valores preditos para B10 e B20 (Tabela 23).

Tabela 24. Teste de significância para as amostras de B10 e B20 com adição de enxofre elementar

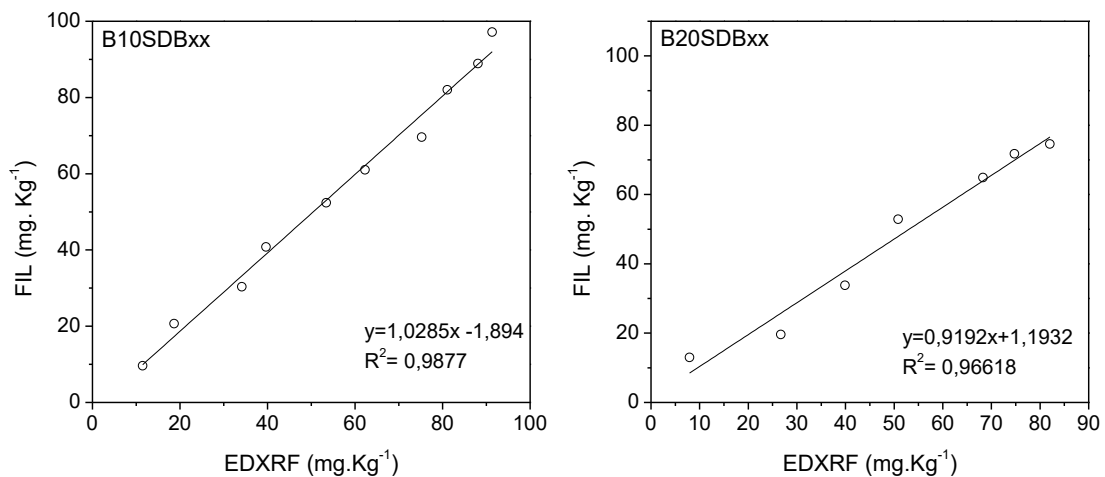
Testes de significância	B10	B20
Teste <i>t</i>	0,0109	0,1845
Teste F	$9,54 \times 10^{-6}$	0,0021

Fonte: Autoria própria, 2018.

Na Figura 41 observa-se que das amostras de B10SDBxx foram utilizadas oito amostras para construção do gráfico analítico. Para o B20SDBxx foram utilizadas dez amostras para construção do gráfico.

As amostras de B10SDBxx e B20SDBxx com adição de SDB apresentaram os coeficientes angulares próximos da unidade (Figura 41). Mostrando assim, uma associação positiva e bastante forte entre os métodos de referência e proposto, quando é adicionado padrão de enxofre nas amostras. É possível avaliar também que a associação entre os métodos é mais forte quando se adiciona o padrão de enxofre em relação ao enxofre elementar.

Figura 41. Correlação dos dados obtidos no FIL versus EDXRF para amostras de biodiesel em diesel com adição do padrão de enxofre SDB (0 a 100 mg kg⁻¹)



Fonte: Autoria própria, 2018.

A Tabela 25 apresenta os parâmetros de regressão para amostras de B10SDBxx e B20SDBxx após construção da curva de calibração linear no software Origin® e para calcular os parâmetros de validação foi utilizada as fórmulas dadas no rodapé da mesma tabela.

Tabela 25. Parâmetros de validação para determinação de B10SDBxx e B20SDBxx

Validation parameters	B10SDBxx	B20SDBxx
Número de pontos	10	7
Equação	$y = 1,02852x - 1,894$	$y = 0,91922x + 1,193$
Graus de liberdade (DOF)	8	5
Soma residual dos quadrados (RSS)	86,935	107,422
Desvio Padrão Residual (RSD)	3,296	4,635
Limite de Detecção (LOD)	9,61%	15,1%
Limite de Quantificação (LOQ)	32,05%	50,4%
Sensibilidade (Slope)	1,02852	0,91922
R-square	0,98771	0,96618

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

Fonte: Autoria própria, 2018.

A interpretação dos testes de hipóteses para um conjunto de dados está associada à escolha do nível de significância (indicado como alfa) sendo este o risco máximo aceitável para rejeitar a hipótese nula quando ela é verdadeira (SANTOS, 2013). Um nível de significância de 0,05 indica que o risco de se concluir que existe uma diferença, quando, na verdade, não existe nenhuma diferença real, é de 5%. Portanto, no caso dos dados das amostras de B10SDBxx analisados é possível inferir que não existe diferença entre os métodos, pois o valor do teste F obtido (Tabela 24) está acima do nível de significância escolhido.

Para as amostras de B20Sxx, o teste F ficou abaixo do nível de significância, portanto, os desvios padrão para os métodos não são iguais. Porém, o valor para o teste *t* foi de 0,9 sendo ele maior que 0,05, a hipótese nula é aceita e, portanto, concluiu-se que não há diferença significativa entre os dois valores preditos (Tabela 24).

Tabela 26. Teste de significância para as amostras de B10 e B20 com adição do padrão de enxofre (SDB)

Testes de significância	B10	B20
Teste <i>t</i>	0,9214	0,9449
Teste F	0,1834	0,0072

Fonte: Autoria própria, 2018.

6. CONCLUSÃO

Para desenvolver e validar o método visando a predição de teor de enxofre em misturas de biodiesel em diesel foram utilizadas as técnicas de espectrofluorimetria UV Vis (FIL) e espectrometria de fluorescência de raios-X de energia dispersiva (EDXRF) utilizando a calibração multivariada (PLS). Para obter um método mais completo e funcional foram realizadas análises no espectrofluorímetro e no espectrômetro de infravermelho (FTIR), no primeiro equipamento foram obtidas informações complementares de fluorescência das amostras e no segundo equipamento, informações sobre o comportamento químico das amostras com o aumento da concentração de enxofre e com a oxidação das amostras.

Em relação aos resultados obtidos no espectrofluorímetro, o modelo PLS apresentou alta correlação entre as variáveis, com coeficiente de correlação e R^2 próximos a +1 para calibração e validação, considerando as amostras de B10 e B20 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹.

A detecção de fluorescência induzida por diodo emissor de luz associada ao PLS mostrou-se mais simples e melhor custo-efetivo do que outros métodos usados para determinar a presença de enxofre, como por exemplo, a espectroscopia de infravermelho. Além disso, tem a vantagem de fácil utilização para análise *in loco*.

A validação externa mostrou que os modelos têm boa capacidade de previsão e podem ser usados para prever as concentrações de enxofre em misturas de B10 e B20, pois apresentaram desvios médios relativamente baixos. Em relação aos valores de limite de detecção e quantificação o método é eficaz para detectar e quantificar o analito, pois a concentração que é encontrada de enxofre no diesel comercial está entre 5 a 10 mg kg⁻¹ valores que se enquadram nos limites encontrados tanto para B10 quanto para B20.

Os espectros obtidos no FTIR para as amostras de B10 e B20 com adição de enxofre mostraram bandas dos mesmos compostos com intensidades diferentes, porém é observada diferenças espectrais no intervalo de 1500 a 500 cm⁻¹ devido à maior adição de biodiesel na amostra B20 (20%) em relação à amostra B10 (10%). Em relação às amostras preparadas com o biodiesel oxidado observa-se que os picos apresentam diminuição da sua intensidade com relação à ligação de éster em 1744 cm⁻¹. Essa variação pode estar relacionada com a quebra das ligações dos

ésteres com o processo de oxidação acelerada. Pode-se concluir com essa análise que, tanto as amostras oxidadas, quanto as com maior teor de biodiesel no diesel, não afetaram, de um modo geral, o método proposto.

Em termos de comparação entre as técnicas associadas aos modelos matemáticos desenvolvidos, figuras de mérito e testes de hipóteses estudados no presente trabalho, de modo geral, os resultados foram satisfatórios, com baixos valores de RMSE_c e RMSE_p para validação do método e valores de teste *t* e *F* com nível de significância aceitável. Portanto, o método proposto atingiu resultados satisfatórios, além de utilizar um equipamento versátil e de baixo custo (Q789FIL), quando comparado com o preconizado pela norma ABNT NBR 14533 a qual utiliza o EDXRF.

Deve-se salientar que o método pode ser considerado validado mesmo que alguns parâmetros não se enquadrem nos limites estabelecidos na literatura, mas se os mesmos forem criteriosamente conhecidos e adequados ao objetivo do estudo a ser realizado.

Contudo, o modelo se mostra mais eficiente para amostras com baixas concentrações de biodiesel em diesel, apresentando, de modo geral, melhores valores para 10% de biodiesel em diesel (B10) do que para 20% de biodiesel em diesel (B20) em relação aos parâmetros e figuras de méritos estudados.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Produção de pelo menos mais um artigo com os dados apresentados no trabalho.

Montar um dispositivo que utilizará um método rápido e de baixo custo, e deverá determinar o parâmetro teor de enxofre em diesel, em misturas de biodiesel em diesel e biodiesel oxidado em diesel, de acordo com as normas e legislação vigente.

Após a validação e pedido de patente depositado, o método estará apto para montagem e testes visando a construção de um dispositivo mais simples e específico. O novo equipamento será baseado no espectrofluorímetro (amplo, versátil e mais caro) desenvolvido pelo laboratório LABLASER do Instituto de Química da UFBA e pela empresa Quimis (Quimis espectrofluorímetro Q798FIL) patenteado e lançado no mercado (BR011110000662).

REFERÊNCIAS

ABDI, H. **Partial Least Squares (PLS) Regression**. 7p. The University of Texas at Dallas. Disponível em: <<https://www.utdallas.edu/~herve/Abdi-PLS-pretty.pdf>>. Acesso em: 04 out. 2018.

ABNT NBR 14533: Produtos de Petróleo – Determinação de enxofre por Espectrofluorimetria de Fluorescência de Raio-x (Energia Dispersiva), 2000.

ABNT NBR ISO 20884: Petroleum Products - Determination of Sulfur Content of Automotive Fuels-Wavelength-Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry, ABNT: Rio de Janeiro, 2000.

ABNT NBR ISO20846: *Petroleum Products-Determination of Sulfur Content of Automotive Fuels-Ultraviolet Fluorescence Method*, ABNT: Rio de Janeiro, 2011.

AHMADI, M.; AGUIRRE, M. A.; MADRAKIAN, T.; AFKHAMI, A.; CANALS, A. Total sulfur determination in liquid fuels by ICP-OES after oxidation extraction desulfurization using magnetic graphene oxide. **Fuel**, v. 210, p. 507-513, 2017.

AL-ZARANI, I.; BASHEER, C.; HTUN, T. J. Application of liquid-phase microextraction for the determination of sulfur compounds in crude oil and diesel. **Chromatogr. A.**, v. 1330, p. 97- 102, 2014.

AMAI, RENATA S.; AMARAL, CLARICE D. B.; FIALHO, LUCIMAR L.; SCHIAVO, DANIELA; NOBREGA, JOAQUIM A. Determination of P, S and Si in biodiesel, diesel and lubricating oil using ICP-MS/MS. **Analytical methods**, v. 6, n. 13, p. 4516-4520, 2014.

AMAI, R. S.; AMARAL, C. D. B.; FIALHO, L. L.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA, J. A. Determination of P, S and Si in biodiesel, diesel and lubricating oil using ICP-MS/MS. **Analytical Methods**, p. 4516-4520, 2014.

ANP. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução ANP nº 65, de 9.12.2011 – DOU 12.12.2011.

ANP. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução ANP nº 50, de 23.12.2011 – DOU 24.12.2011.

ASTM D4294: Standard Test Method for Sulfur in Petroleum and Petroleum Products by Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry, ASTM International: West Conshohocken, PA, 1998.

AZAMBUJA, A. O.; BUCKER, F.; DE QUADROS, P.D.; ZHALNINA, K.; DIAS, R.; VACARO, B. B.; CORREA, C.; FERRAO, M. F.; CAMARGO, F. A. D.; TRIPLETT, E.; BENTO, F. M. Microbial community composition in Brazilian stored diesel fuel of varying sulfur content, using high-throughput sequencing. **Fuel**, p. 340-349, 2017.

BARKER, L. R.; KELLY, W. R.; GUTHRIE, W. F. Determination of Sulfur in Biodiesel and Petroleum Diesel by X-ray Fluorescence (XRF) Using the Gravimetric Standard Addition Method-II. **Energy & Fuels**, v. 22, p. 2488-2490, 2008.

BATISTA, A. C. M. **Utilização da Análise Térmica para Avaliação da qualidade do Biodiesel**. 2016. 62f. Monografia (Graduação em Química do petróleo). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN. Natal, RN, 2016.

BIODIESELBR. **O Que é Biodiesel?** Publicado em 27 de janeiro de 2006. Disponível em: <<https://www.biodieselbr.com/biodiesel/definicao/o-que-e-biodiesel.htm>>. Acesso em: 03 out. 2018.

BOOPATHY, R. Use of anaerobic soil slurry reactors for the removal of petroleum hydrocarbons in soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, p. 161-166, 2003.

BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Figures of merit for determination of the polymorphic purity of carbamazepine by infrared spectroscopy and multivariate calibration, **Journal of Pharmaceutical Science**., v. 93, n. 8, p. 2124-2134, 2004.

BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Validação de modelos de calibração multivariada: uma aplicação na determinação de pureza polimórfica de carbamazepina por espectroscopia no infravermelho próximo. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 1004-1011, 2004.

BRAUN, S.; APPEL, L. G.; SCHMAL, M. A poluição gerada por máquinas de combustão interna movidas à diesel - a questão dos particulados. Estratégias atuais para a redução e controle das emissões e tendências futuras. **Química Nova** [online], v. 27, n. 3, p. 472-482, 2004.

BREGNARD, T. P. A.; HANER, A.; HOHENER, P.; ZEYER, J. Anaerobic degradation of pristane in nitrate-reducing microcosms and enrichment cultures. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 2077-2081, 1997.

BRESSOLLE, F.; BROMET-PETIT, M.; AUDRAN, M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods: applications to pharmacokinetics. **J. Chromatogr. B**, v.686, p.3-10, 1996.

BRITO, N. M. **Resíduos de pesticidas organoclorados (OC) e organofosforados (OF) em matriz de coco: metodologia e aplicação**. 2001. 121f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica), Universidade Estadual Paulista, UNESP. São Paulo, SP, 2001.

CAMERA, A. S.; ARCÊNIO, P. P.; PACHECO FILHO, MARANHÃO, T. A.; OLIVEIRA, J. S.; FRESCURA, V. L. A. Method development and validation for sulfur determination via CS molecule in petroleum green coke by high resolution continuum source molecular absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 134, p. 301–308, 2017.

CARDOSO, A. A.; FRANCO, A. Algumas reações do enxofre de importância ambiental. **Química Nova na Escola**, v. 15, p. 39-41, mai. 2002.

CARDOSO, A. A.; PITOMBO, L. R. M. Contribuição dos compostos reduzidos de enxofre no balanço global do estoque de enxofre ambiental. **Química Nova**, v. 15, n. 3, p. 219-223, 1992.

CRUZ, S. M.; TIRK, P.; DALLA NORA, F. M.; SHMIDT, L.; WILTSCHE, H.; BIZZI, C. A.; KNAPP, G.; FLORES, E. M. M. Feasibility of sulfur determination in diesel oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after microwave-induced combustion using flame retardant. **Fuel**, v. 160, p. 108-113, 2015.

CUSANO, C. M.; WANG, J. C. Corrosion of copper and lead containing materials by diesel lubricants. **Lubrication Engineering**, p. 89-95, 1995.

DECESARO, A.; RAMPOL, A.; MACHADO, T. S.; THOME, A.; REDDY, K.; MARGARITES, A. C.; COLLA, L. M. Bioremediation of Soil Contaminated with Diesel and Biodiesel Fuel Using Biostimulation with Microalgae Biomass. **Journal of Environmental Engineering**, 2017.

DeRos, P. C. Standard Guide to Fluorescence - Instrument Calibration and Validation, NISTIR 7458, vol 03.06., Gaithersburg, MD 20899-8312, 2007 october.

DOCEKAL, B.; KRIVAN, V.; PELZ, N. Trace and minor element characterization of diesel soot. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, p. 873-878, 1992.

DUPUY, L. D.; et al. Origin of French virgin olive oil registered designation of origins predicted by chemometric analysis of synchronous excitation emission fluorescence spectra. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p. 9361-9368, 2005.

EURACHEM/CITAC – WORK GROUP. Guide of quality in analytical chemistry – An aid to accreditation. 2. ed. 2002.

EURACHEM/CITAC – WORK GROUP. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 2. ed. 2000.

FERRÃO, M. F.; VIERA, M. S.; PAZOS, R. E. P.; Fachini, D.; GERBASE, A. E.; MARDER, L. Simultaneous determination of quality parameters of biodiesel/diesel blends using HATR-FTIR spectra and PLS, iPLS or siPLS regressions. **Fuel**, v. 90, n. 2, p. 701-706, February 2011.

FIGUEIREDO-FILHO, D. B.; SILVA-JÚNIOR, J. A. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, v. 18, n. 1, 2009.

GUIMARÃES, A. K.; LIMA VIEIRA, A. M.; MUSSE, A. P. S. **Passivação de PEAD e de PEBD para inibir a Deposição de Parafinas em Dutos e Tanques**. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. 29. 2006. Águas de Lindóia. Livro de Resumos da 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, v. 1. p. TC028, 2006.

HARRIS, D. **Análise Química Quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC. 2005.

HOHN, H. Chemische Analysen mit dem Polarographen. Berlin: Springer-Verlag. 1937.

HUA, R.; LI, Y.; LIU, W.; ZHENG, J.; WEI, H.; WANG, J.; LU, X.; KONG, H.; XU, G. Determination of sulfur-containing compounds in diesel oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography with a sulfur chemiluminescence detector. **Journal of Chromatography A**, v. 1019, n. 1–2, p. 101-109, 26 November 2003.

HUBER, C. S.; VALE, M. G. R.; WELZ, B.; ANDRADE, J. B.; DESSUY, M. B. Investigation of chemical modifiers for sulfur determination in diesel fuel samples by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry using direct analysis. **Spectrochimica Acta Part B.**, v. 108, p. 68–74, 2015.

HUBER, L. **Validation of analytical methods**: review and strategy. LC/GC International, Feb 1998, p. 96-105.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Programa de controle de emissões veiculares (Proconve)**. Publicado em 18 de abril de 2017. Disponível em: <<https://www.ibama.gov.br/emissoes/veiculos-automotores/programa-de-controle-de-emissoes-veiculares-proconve>>. Acesso em: 04 out. 2018.

ICH. Harmonised Tripartite Guideline. **Validation of analytical methods: definitions and terminology**. London: ICH, 1995. 5 p. (CPMP/ICH/381/95).

IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis, **Pure Appl. Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002.

KALLIGEROS, S.; ZANNIKOS, F.; STOURNAS, S.; LOIS, E.; ANASTOPOULOS, G. A survey of the automotive diesel quality in the Athens área. **International Journal of Energy Research**, p. 1381-1390, 2000.

KELLY, W. R.; PRATT, K. W.; GUTHRIE, W. F.; MARTIN, K. R. Origin and early history of Die Methode des Eichzusatzes or The Method of Standard Addition with primary emphasis on its origin, early design, dissemination, and usage of terms. **Anal. Bioanal. Chem.**, p. 1805-1812, abril de 2011.

KNOTHE, G. Perspectivas históricas de los combustibles diesel basados em aceites vegetales. **Revista A&G**, v. 47, Tomo XII, n. 2, 2001.

KOWALSKI, B.; SEASHOLTZ, M. B. The parsimony principle applied to multivariate calibration. **Analytica Chimica Acta**, v. 277, n. 2, p. 165-177, 1993.

KUMKE, M. U.; LÖHMANNSTRÖBEN, H. G.; ROCH, T. Fluorescence spectroscopy of polynuclear aromatic compounds in environmental monitoring. **J. Fluoresc.**, v. 5, n. 2, p. 139-152, Jun. 1995.

LANGBEHN, A.; STEINHART, H. Determination of organic-acids and ketones in contaminated soils. **HRC-Journal of High Resolution Chromatography**, p. 293-298, 1994.

LEGATES, D. R.; MCCABE JR, G. J. Evaluating the use of "goodness-of-fit" measures in hydrologic and hydroclimatic model validation. *Water Resour. Res.* 35:233-241, 1999.

LIMA JUNIOR, P. et al. **O laboratório de mecânica**. Porto Alegre: IF-UFRGS, 2012.

LOPEZAVILA, V.; MILANES, J.; BECKERT, W. F. Single-laboratory evaluation of method 8060 for the determination of phthalates in environmental-samples. **Journal of The Association Of Official Analytical Chemists**, p. 793-808, 1991.

MARÇAL, R. Retrospectiva 2007: Programa Nacional de Produção de Biodiesel. **BiodieselBR**, 13 jan. 2008.

MARGESIN, R. Potential of cold-adapted microorganisms for bioremediation of oil-polluted Alpine soils. **International Biodeterioration & Biodegradation**, p. 3-10, 2000.

MEIRA, M. QUINTELLA, C. M.; PEPE, I. M.; COSTA NETO, P. R.; SANTOS, A. T.; SILVA, GONÇALVES, H. R. Prediction of properties of biodiesel-diesel blends using spectrofluorimetry and multivariate calibration. **Central European Journal of Chemistry** (Print), v. 10, p. 1328-1337, 2012.

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

MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; LUNA, S.; SANTOS, M. A. Determination of the oxidative stability of biodiesel and oils by ATR-FTIR spectroscopy and multivariate calibration. **Global Journal of Advanced Engineering Technologies and Sciences**, v. 2, p. 1-7, 2015c.

MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; RIBEIRO, E. M. O.; GONCALVES, H. R.; GUIMARÃES, A. K.; LUNA, S.; SILVA, W. L.; BRITO, I. J. Determination of Adulterants in Diesel by Integration of LED Fluorescence Spectra. **Journal of the Brazilian Chemical Society** (Impresso), v. 26, p. 1351-1356, 2015a.

MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; RIBEIRO, E. M. O.; GUIMARÃES, A. K.; SILVA, W. L. Determination of adulterants in diesel by multivariate calibration associated with LED Spectrofluorimetry. **International Journal of Chemistry**, v. 6, p. 1-6, 2014.

MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; RIBEIRO, E. M. O.; SILVA, W. L. Gaussian fit to the fluorescence spectra for determination of adulteration to diesel by addition of residual oil. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 5, p. 295-297, 2015b.

MEIRA, M.; QUINTELLA, C. M.; TANAJURA, A. A.; SILVA, H. R. G.; FERNANDO, J. E. S.; COSTA NETO, P. R.; PEPE, I. M.; SANTOS, M. A.; NASCIMENTO, L. L. Determination of the oxidation stability of biodiesel and oils by spectrofluorimetry and multivariate calibration. **Talanta**, v. 35, n. 1, p. 430-434, 2011a.

MELLO, P. A.; BARIN, J. S.; FLORES, E. M. M.; Microwave-assisted ultraviolet digestion of petroleum coke for the simultaneous determination of nickel, vanadium and sulfur by ICP-OES. **Talanta**, v. 144, 1052-158, 01 nov. 2015.

MELO JÚNIOR, A. S. **Análise quantitativa do material particulado na região de campinas através das técnicas de microfluorescência de raios-X e reflexão**

total usando radiação síncrotron. 2007. 283f. Tese (Doutorado em Química) - Unicamp, Campinas, São Paulo, 2007.

MISKOLCZI, N.; BARTHA, L.; BORSZÉKI, J.; HALMOS, P. Determination of sulfur content of diesel fuels and diesel fuel-like fractions of waste polymer cracking **Talanta**, v. 69, n. 3, p. 776-780, 15 May 2006.

MONYEM, A.; VAN GERPEN, J. H. The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions. **Biomass&Bioenergy**, v. 20, p. 317, 2001a.

MUTHUKUMAR, N.; MARUTHAMUTHU, S.; PALANISWAMY, N. Role of cationic and nonionic surfactants on biocidal efficiency in diesel-water interface. **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces**, p. 152-160, 2007.

NAGATA, N.; BUENO, M. I. M. S.; PERALTA-ZAMORA, P. G. Métodos matemáticos para correção de interferências espectrais e efeitos interelementos na análise quantitativa por fluorescência de raios-X. **Química Nova** [online], v. 24, n.4, p. 531-539, 2001.

NAKADI, F V; SOARES, A L C; VEIGA, M A M S. Determination of sulfur in diesel via CS molecule by high-resolution molecular absorption spectrometry applying palladium nanoparticles as chemical modifier. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 29, n. 10, p.1871-1879, 2014

NASH, J. E.; SUTCLIFFE, D. J. V. River flow forecasting through conceptual models, I, A discussion of principles, *J. Hydrol.*, 10, 282- 290, 1970.

NEEFT, J. P. A.; MAKKEE, M.; MOULIJN, J. A. Diesel particulate emission control. **Fuel Processing Technology**, v. 47, n. 1, 1996.

NOGUEIRA, T. **Eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato aplicada à avaliação da qualidade de biocombustíveis (biodiesel e etanol) e ao estudo sobre os processos de oxidação do biodiesel.** 2011. 136f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade de São Paulo – UNESP. São Paulo, SP, 2011.

OETTERER, M.; D'ARCE, M. A. B. R.; SPOTO, M. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos.** 2006, 632p.

Origin, OriginLab; available at <https://www.originlab.com/>, accessed on December 18, 2017.

PARREIRA, T. F. **Utilização de métodos quimiométricos em dados de natureza multivariada.** 2003. 106f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Estadual de Campinas – Unicamp. Campinas, SP, 2003.

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

POULLI, K. I.; MOUSDIS, G. A.; GEORGIU, C. A. Classification of edible and lampante virgin olive oil based on synchronous fluorescence and total luminescence spectroscopy. **Anal Chim Acta**, v. 542, n. 2, p. 151-156, 2005.

QUINTELLA, C. M.; MUSSE, A. S.; GUIMARAES, A. K. (Brasil) **Método para monitorar qualidade em processos de obtenção de combustíveis e dispositivo sensor para sua operação**. PI 09059768, 21 de Junho de 2011.

QUINTELLA, C. M.; SANTOS, W. P.; RODRIGUES, L. M. T. S.; HANNA, S. A. Busca de Anterioridade. In: Núbia Moura Ribeiro. (Org.). *Prospecção Tecnológica*. 1ed. Salvador, BA, Brasil: Editora do Instituto Federal da Bahia (EDIFBA), 2018, v. 1, p. 109-140.

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

RAMOS, D. T.; DA SILVA, M. L. B.; CHIARANDA, H. S.; ALVAREZ, P. J. J.; CORSEUIL, H. X. Biostimulation of anaerobic BTEX biodegradation under fermentative methanogenic conditions at source-zone groundwater contaminated with a biodiesel blend (B20). **Biodegradation**, p. 333-341, 2013.

RAMOS, D. T.; DA SILVA, M. L. B.; NOSSA, C. W.; ALVAREZ, P. J. J.; CORSEUIL, H. X. Assessment of microbial communities associated with fermentative-methanogenic biodegradation of aromatic hydrocarbons in groundwater contaminated with a biodiesel blend (B20). **Biodegradation**, p. 681-691, 2014.

SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; CARVALHO, M. F. B.; BEZERRA, M. A.; FREIRE, S. A. Total sulfur determination in gasoline, kerosene and diesel fuel using inductively coupled plasma optical emission spectrometry after direct sample introduction as detergent emulsions Original. Research **Article Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 63, n. 7, p. 800-804, July 2008.

SENA, M. M.; POPPI, R. J.; FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 547-556, 2000.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SIKORSKA, E.; et al. Synchronous fluorescence spectroscopy of edible vegetable oils. Quantification of tocopherols. **J Agric Food Chem**, p. 6988-6994, 2005.

SILVA, H.; QUINTELLA, C. M.; MEIRA, M. Separation and Identification of Functional Groups of Molecules Responsible for Fluorescence of Biodiesel Using FTIR Spectroscopy and Principal Component Analysis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 1, p. 1-9, 2017.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos da Química Analítica**. São Paulo: Thomson, 8ed. 2005. 1124p.

SOARES, I. P.; REZENDE, T. F.; FORTES, I. C. P. Determination on sulfur in diesel using ATR/FTIR and multivariate calibration. **Eclética química**, v. 35, n. 2, 2010.

SOUZA, R. M. S.; SANTOS, M. F.; COSTA, M. F. D. Quimioluminescência e bioluminescência. **Química Nova**, v. 16, n. 3, p. 200-209, 1993.

SPEIGHT, J. G. **Fundamentals and Applications in the Petroleum Industry**. L.L. Schramm (editor) *Advances in Chemistry Series* n. 251, 1996.

SUNDUS, F.; FAZAL, M. A.; MASJUKI, H. H. Tribology with biodiesel: A study on enhancing biodiesel stability and its fuel properties. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, p. 399-412, 2017.

TANAJURA, A. C. **Aplicação da espectrofluorimetria e análise multivariada na determinação da viscosidade estabilidade oxidativa e massa específica de combustíveis biocombustíveis e óleos**. 2013. 86f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, 2013.

TEIXEIRA, A. P.; QUINTELLA, C. M.; KPRN, M. A.; FERNANDES, A. P.; CASTRO, M. T. P. O. Determinação de Mn e Zn em arroz empregando Espectrometria de Fluorescência de Raios-x de Energia Dispersiva. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1133-1136, 2012.

TOPINKOVA, B.; NESETRIL, K.; DATEL, J.; NOL, O.; HOSL, P. Geochemical heterogeneity and isotope geochemistry of natural attenuation processes in a gasoline-contaminated aquifer at the Hnevice site, Czech Republic. **Hydrogeology Journal**, p. 961-976, 2007.

UNSCRAMBLER. Software pago. Help. 2018.

VALDERRAMA, P. **Avaliação de figuras de mérito em calibração multivariada na determinação de parâmetros de controle de qualidade em indústria alcooleira por espectroscopia no infravermelho próximo**. 2005. 135f. Dissertação – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP, 2005.

VALDERRAMA, O.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, v. 32, n. 5, São Paulo, 2009.

VAN HAMME, J. D.; SINGH, A.; WARD, O. P. Recent advances in petroleum microbiology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 2003.

WILLMOTT, C. J. **On the validation of models**, *Phys. Geogr.*, 2, p. 184-194, 1981.

WOLD, S.; ERIKSSON, L.; TRYGG, J.; KETTANEH, N. The PLS method -- partial least squares projections to latent structures -- and its applications in industrial RDP (research, development, and production). **PLS in Industrial RPD** – for Prague. 2004. 44p.

ZARDA, B.; MATTISON, G.; HESS, A.; HAHN, D.; HOHENER, P.; ZEYER, J. Analysis of bacterial and protozoan communities in an aquifer contaminated with monoaromatic hydrocarbons. **FEMS Microbiology Ecology**, p. 141-152, 1998.

ZANDOMENEGHI, M.; CARBONARO, L.; CAFFARATA, C. Fluorescence of Vegetable Oils: Olive Oils. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 53, p. 759, 2005.

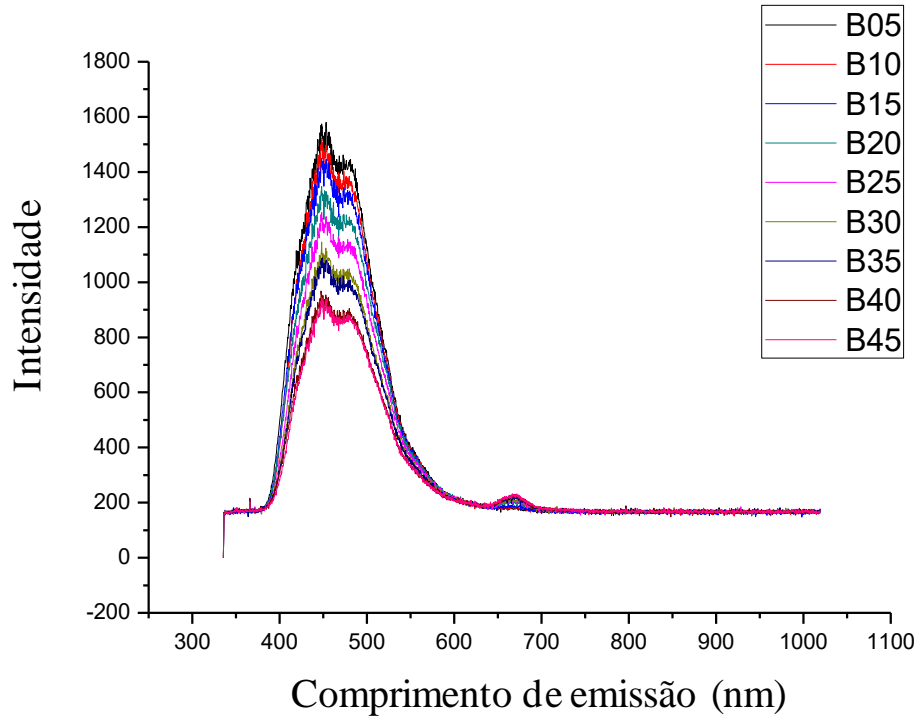
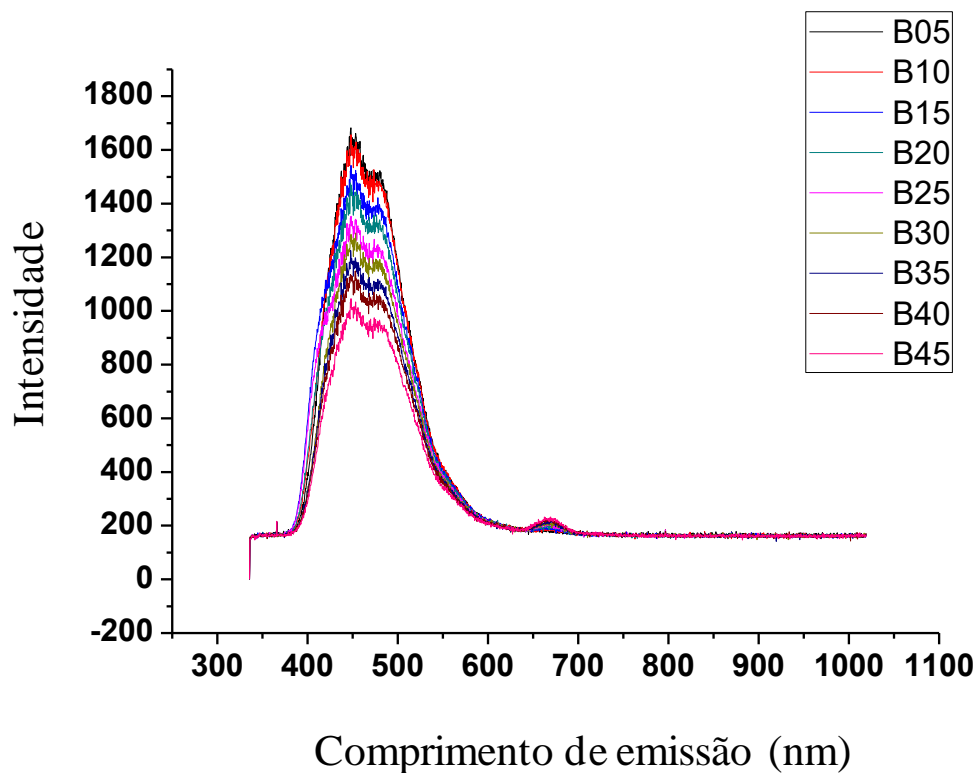
APÊNDICE A – Gráficos gerados a partir dos resultados obtidos no Q798FIL**Figura 1.** Espectros de fluorescência das misturas de biodiesel em diesel (5 a 45%) com adição de 10 mg L^{-1} de enxofre**Figura 2.** Espectros de fluorescência das misturas de biodiesel em diesel (5 a 45%) com adição de 15 mg.L^{-1} de enxofre

Figura 3. Scores PC1 em relação a PC4

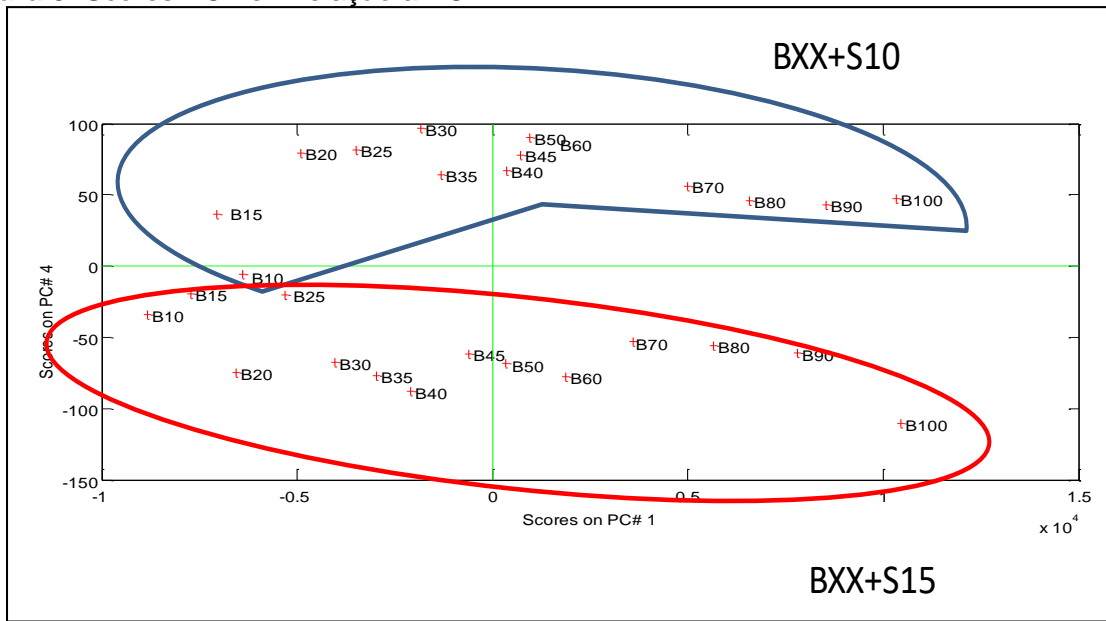


Figura 4. Scores PC1 em relação a PC4

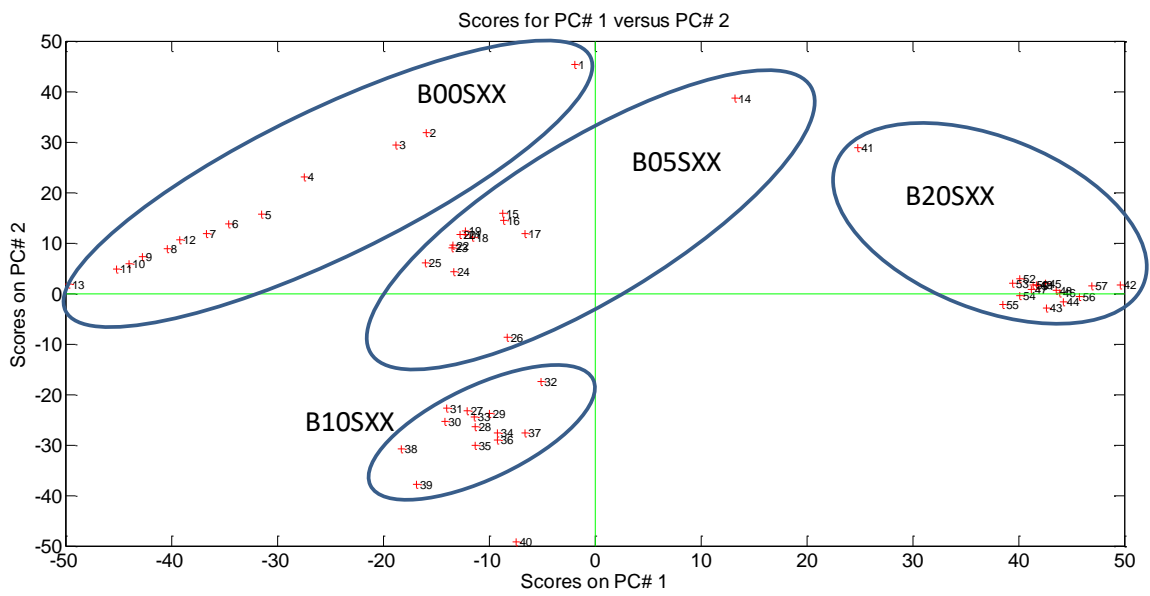


Figura 5. Loading PC1

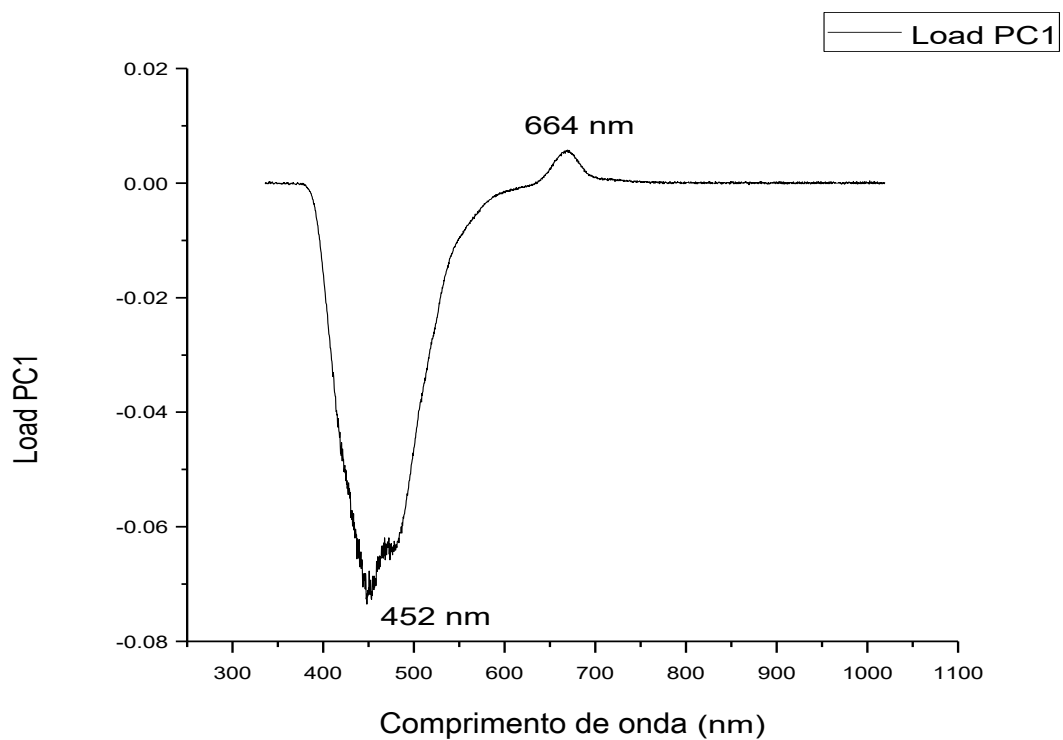


Figura 6. PC4 loading

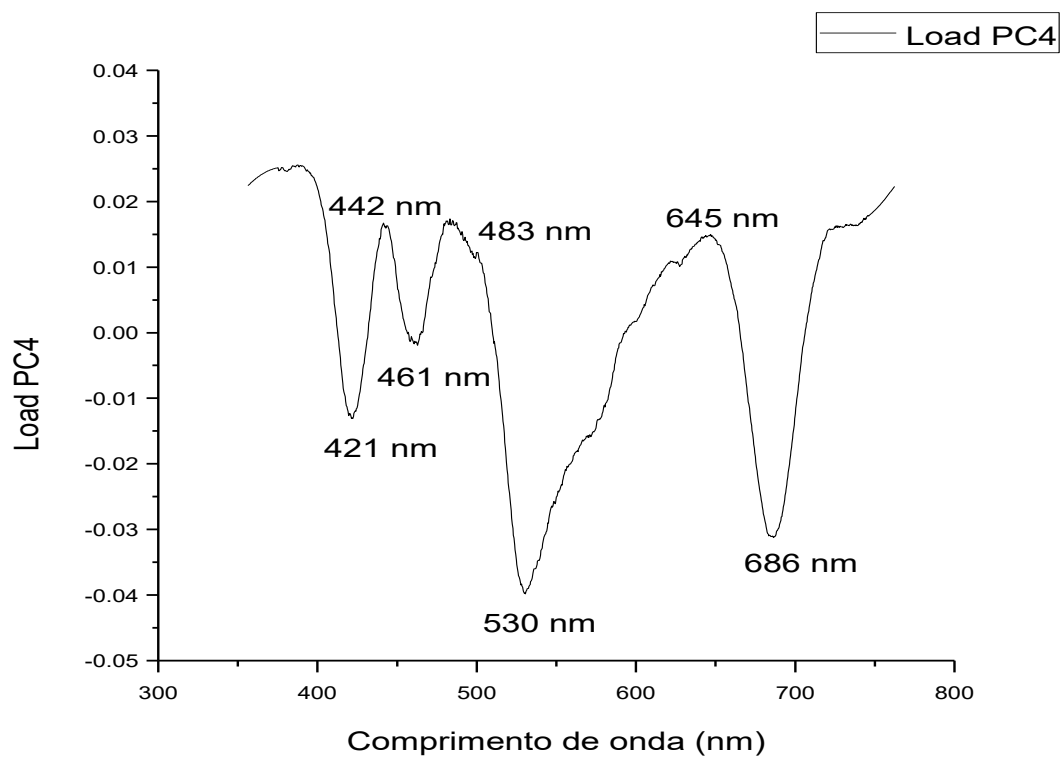


Figura 7. Modelo PLS das misturas de biodiesel em diesel com adição de 10 mg kg^{-1} de enxofre

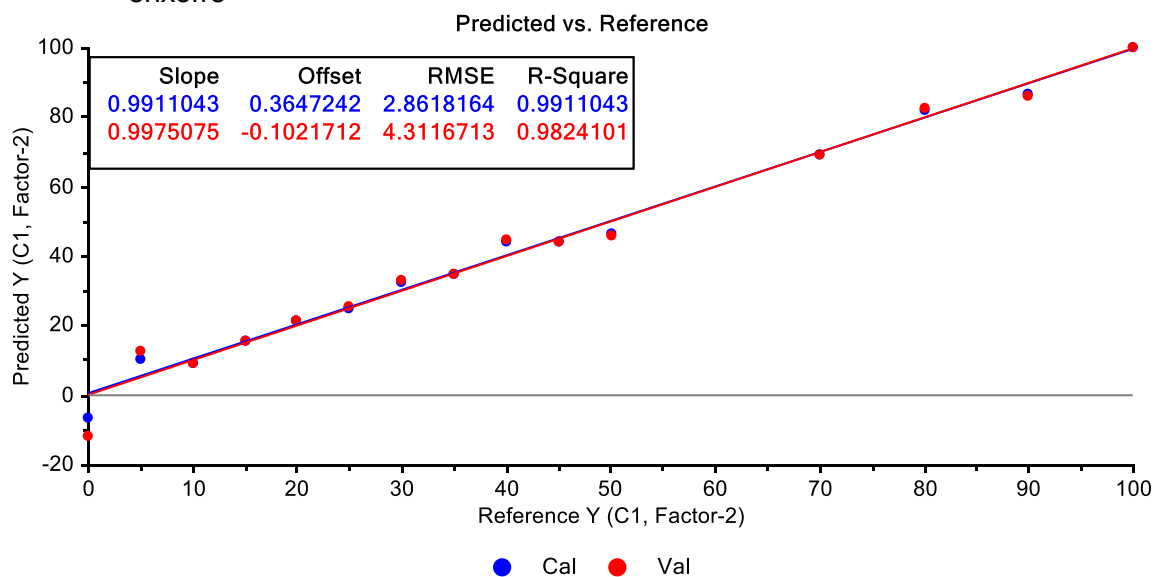


Figura 8. Variância explicada do modelo PLS das misturas de biodiesel em diesel com adição de 10 mg kg^{-1} de enxofre

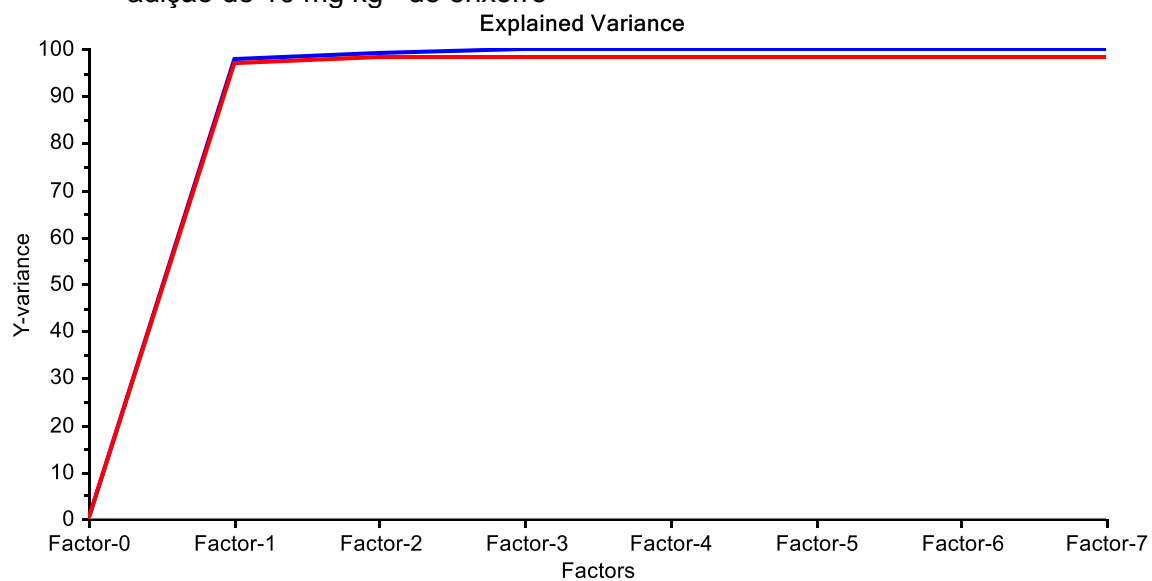


Figura 9. Modelo PLS de mistura biodiesel em diesel (5 a 45%) com 15 mg kg⁻¹ de enxofre

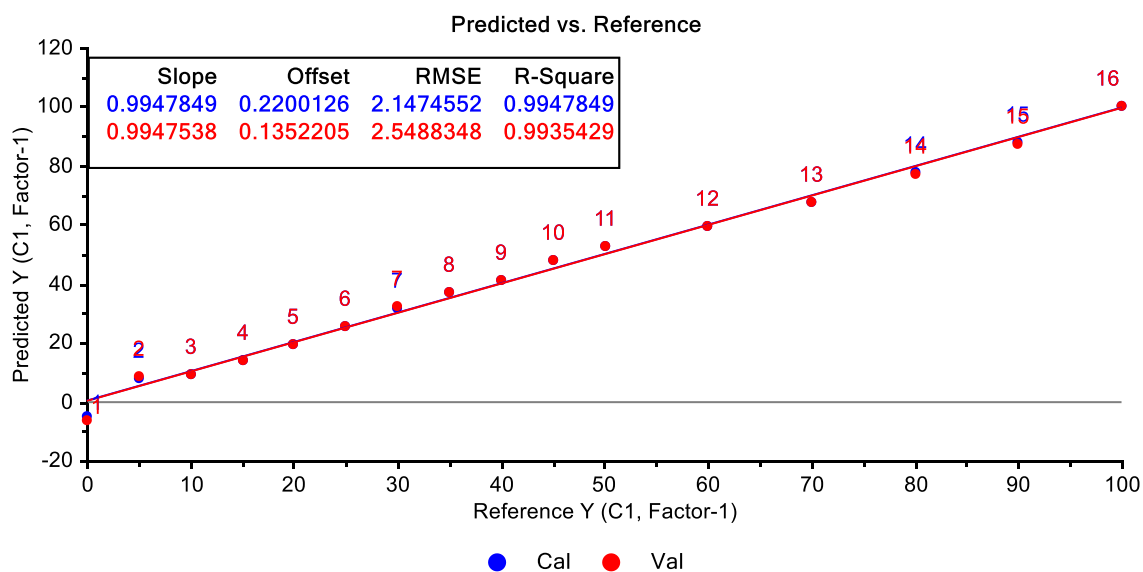
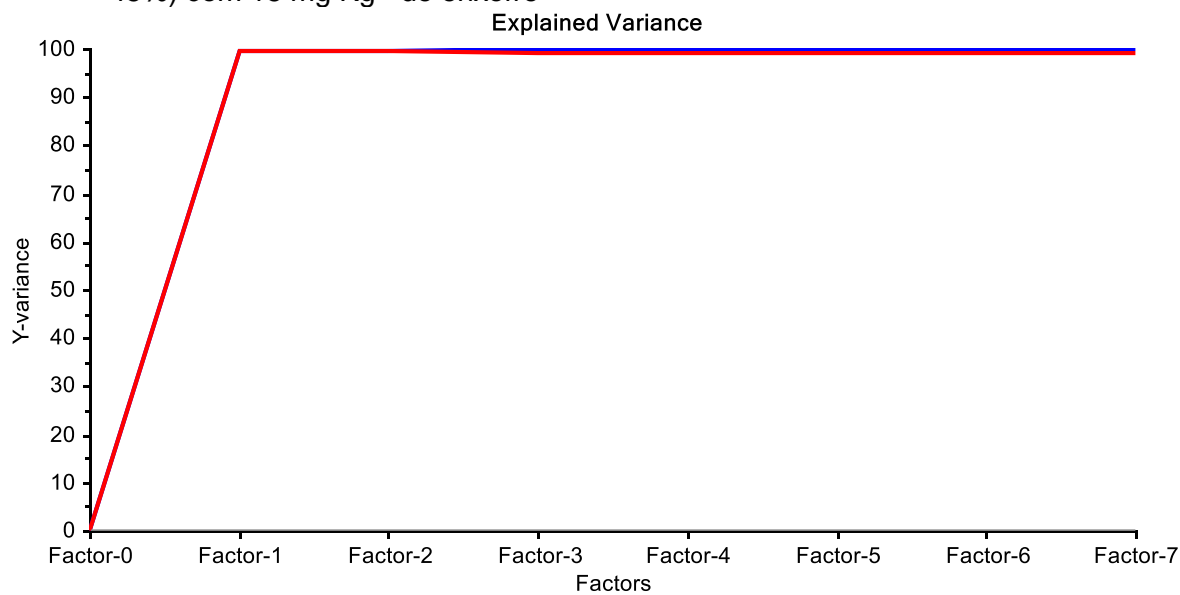


Figura 10. Variância explícita do modelo PLS de misturas de biodiesel em diesel (5 a 45%) com 15 mg Kg⁻¹ de enxofre



APÊNDICE B – Gráficos gerados a partir dos resultados obtidos no FTIR

Figura 1. Misturas de biodiesel em diesel de 0 a 100% V/V com 5 ppm de enxofre

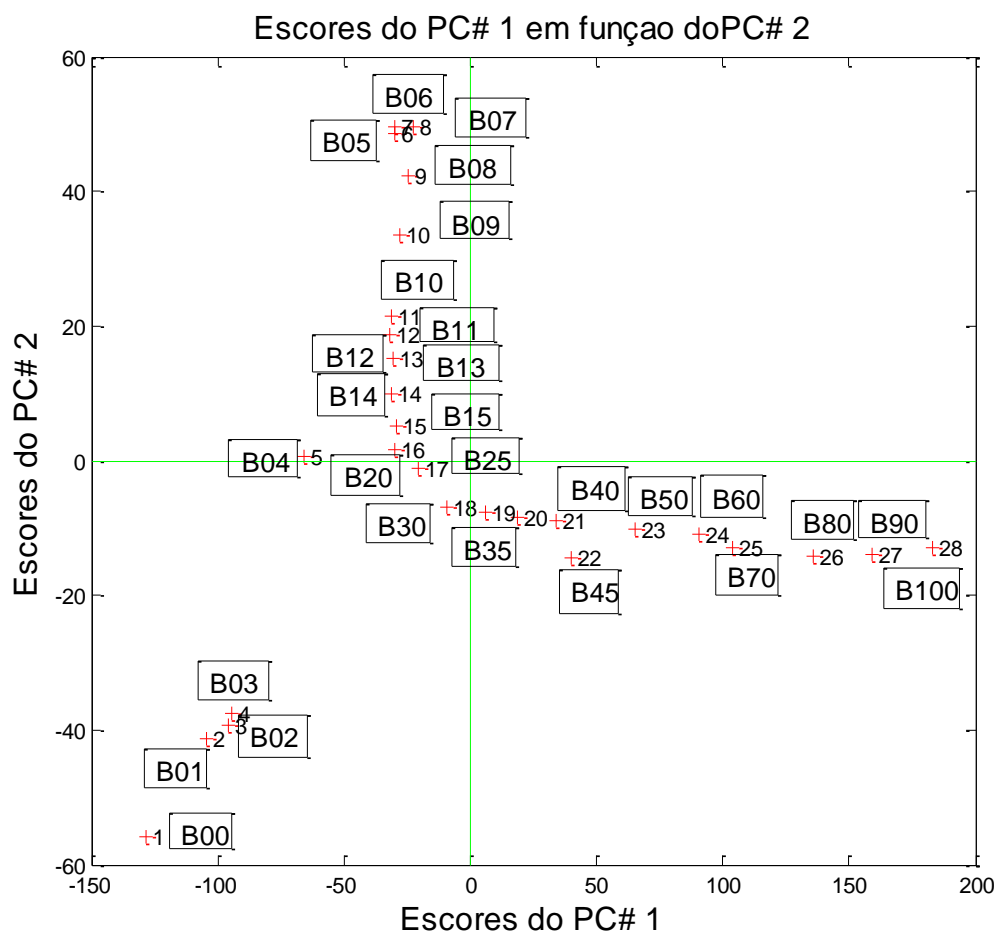


Tabela 1. Percentual de variância do PCA das fluorescências das misturas de biodiesel e enxofre em diesel

Número do PC	% variância do PC	% variância total
1	85,90	85,90
2	10,83	96,73
3	2,55	99,28

Figura 2. Misturas de biodiesel em diesel de 0 a 100% V/V com 10 ppm de enxofre

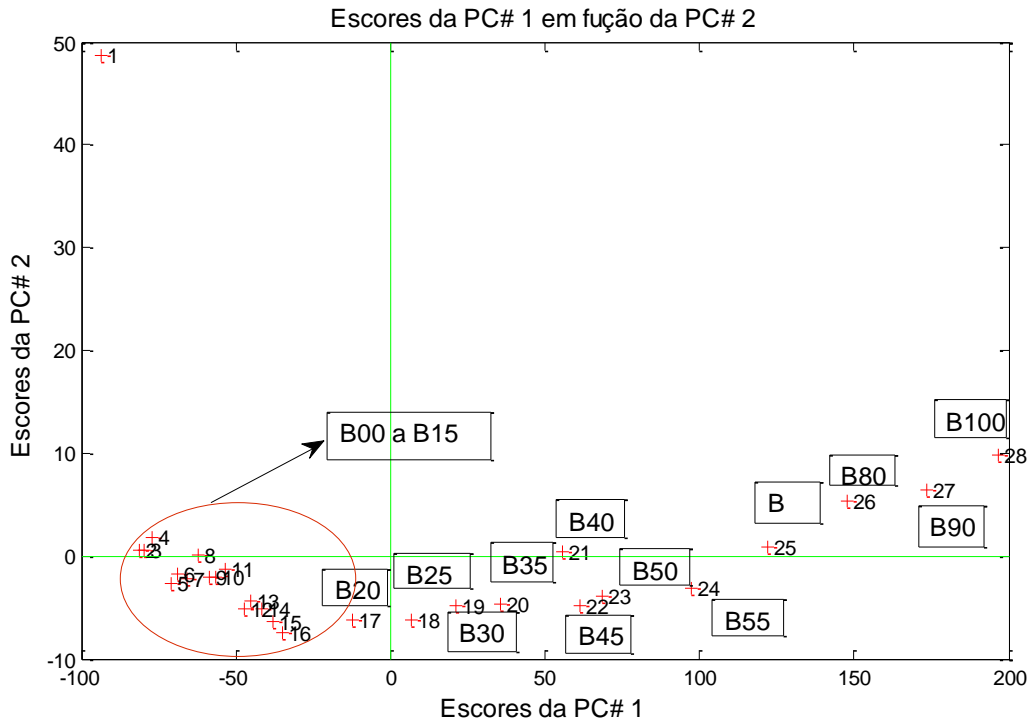


Figura 3. Escores da PC1 em função da PC2

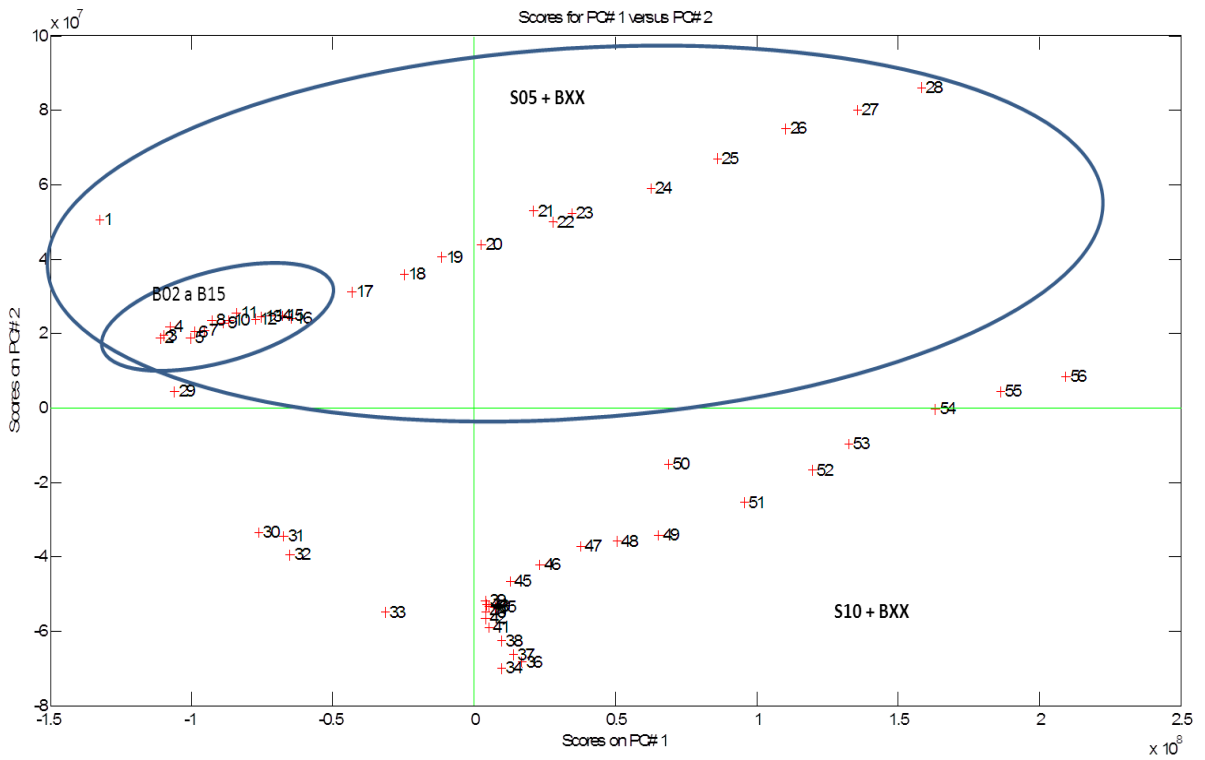


Figura 4. Ampliação do primeiro quadrante da Figura 3

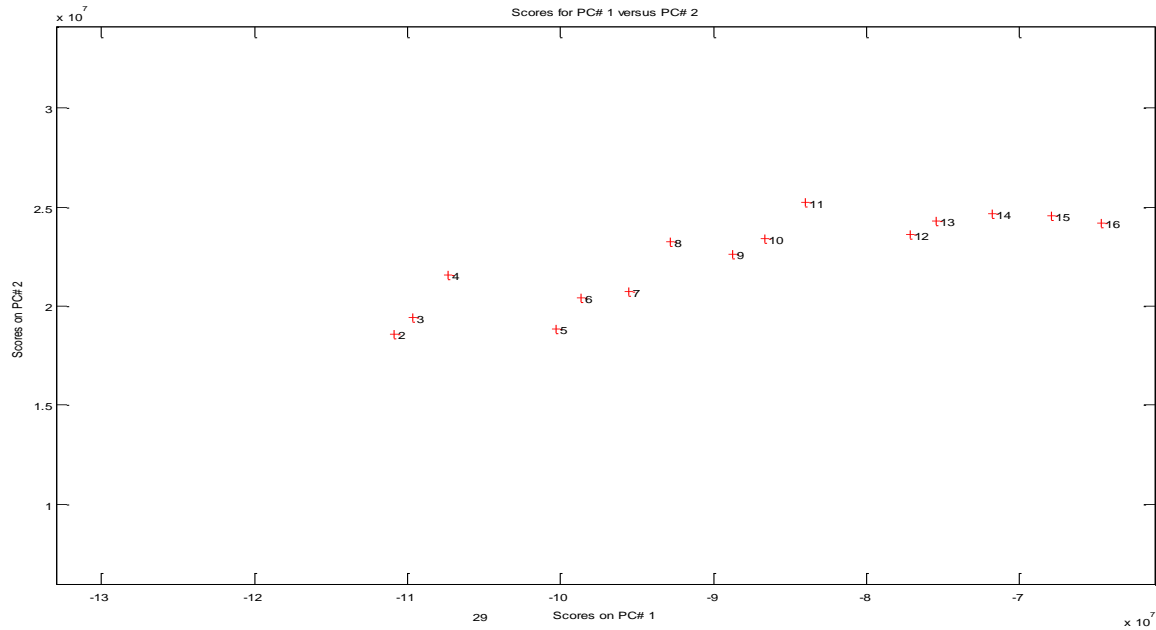


Figura 5. Escores da PC1 em função da PC2 para amostras de misturas de biodiesel em diesel com adição de enxofre

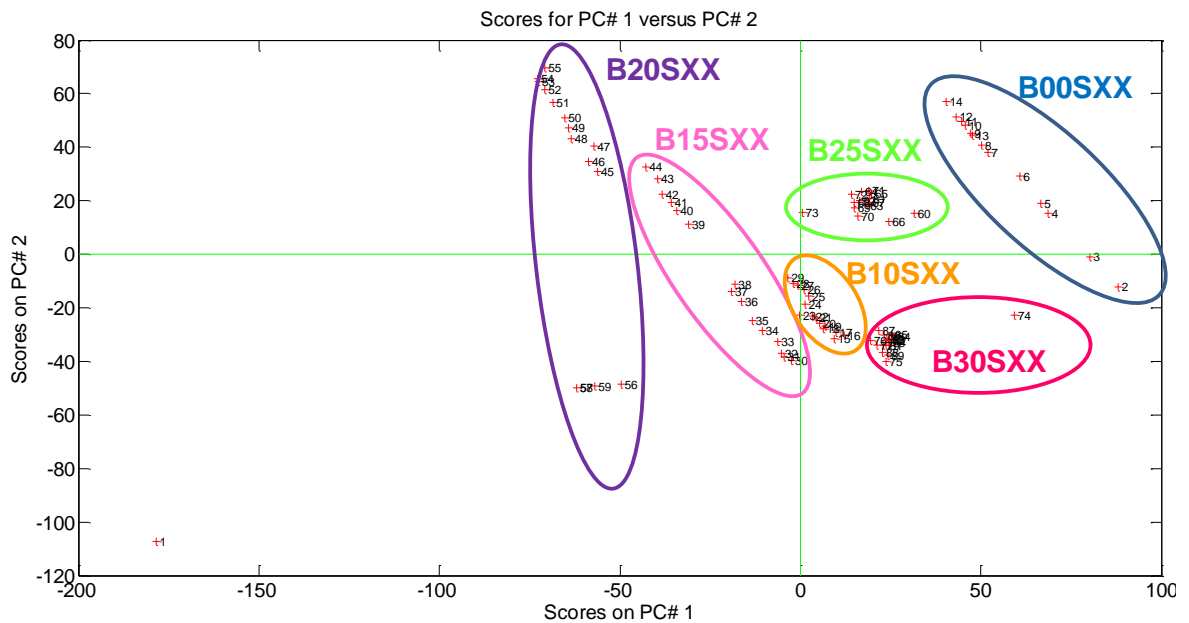


Figura 6. Loading do PC1 das amostras de misturas de combustíveis (biodiesel em diesel) com adição de enxofre inorgânico

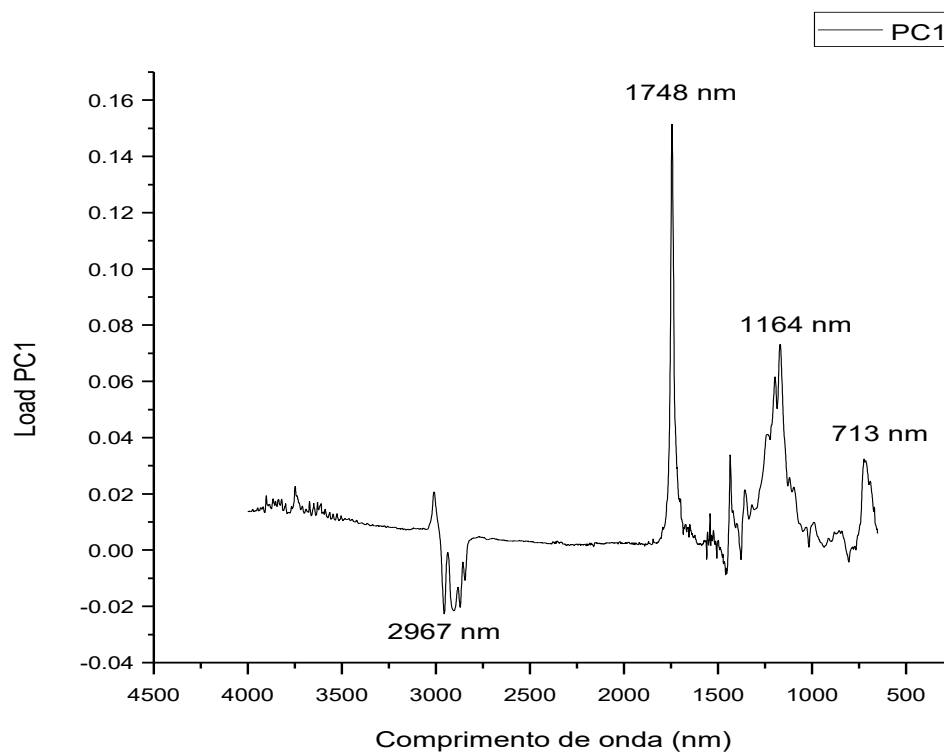


Figura 7. Loading do PC2 das amostras de misturas de combustíveis (biodiesel em diesel) com adição de enxofre inorgânico

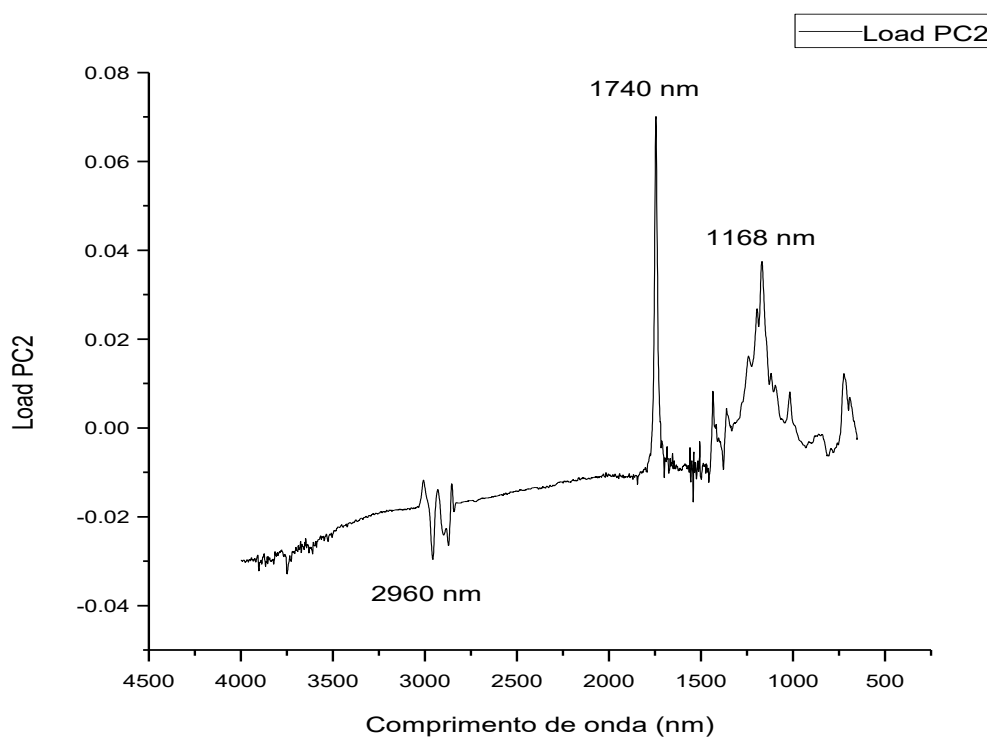


Figura 8. Espectro de FTIR das amostras de combustíveis (Biodiesel em diesel) com adição de enxofre elementar (B00SXX)

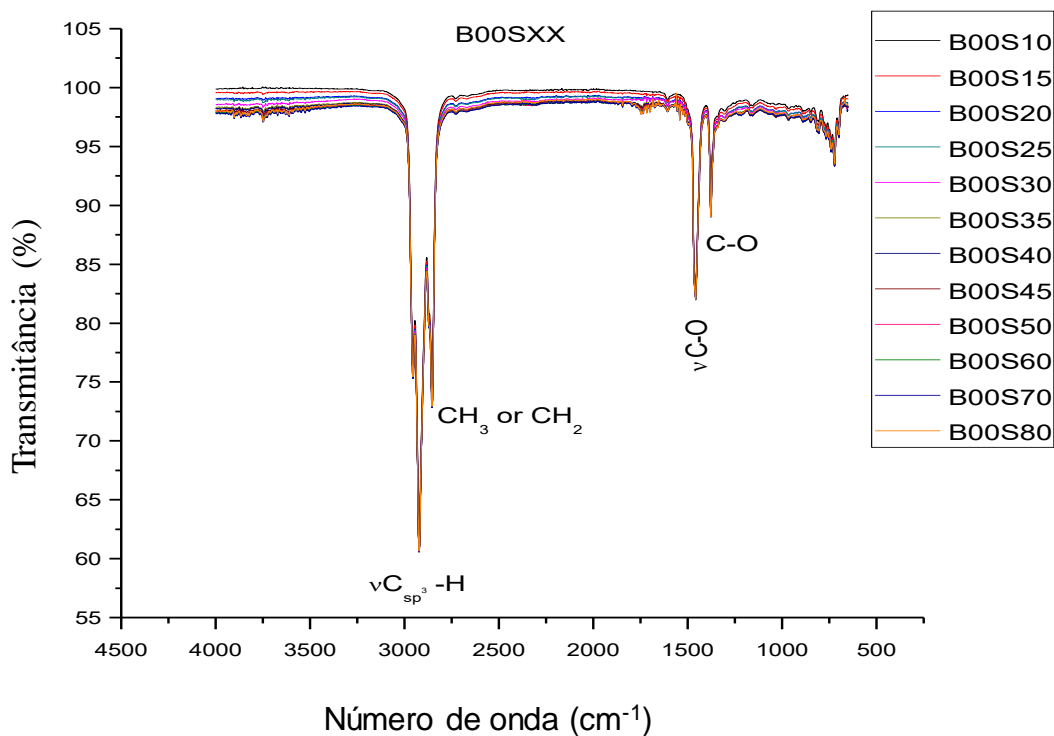


Figura 9. Escores da PC1 em função da PC3 para amostras de misturas de biodiesel em diesel com adição de enxofre elementar

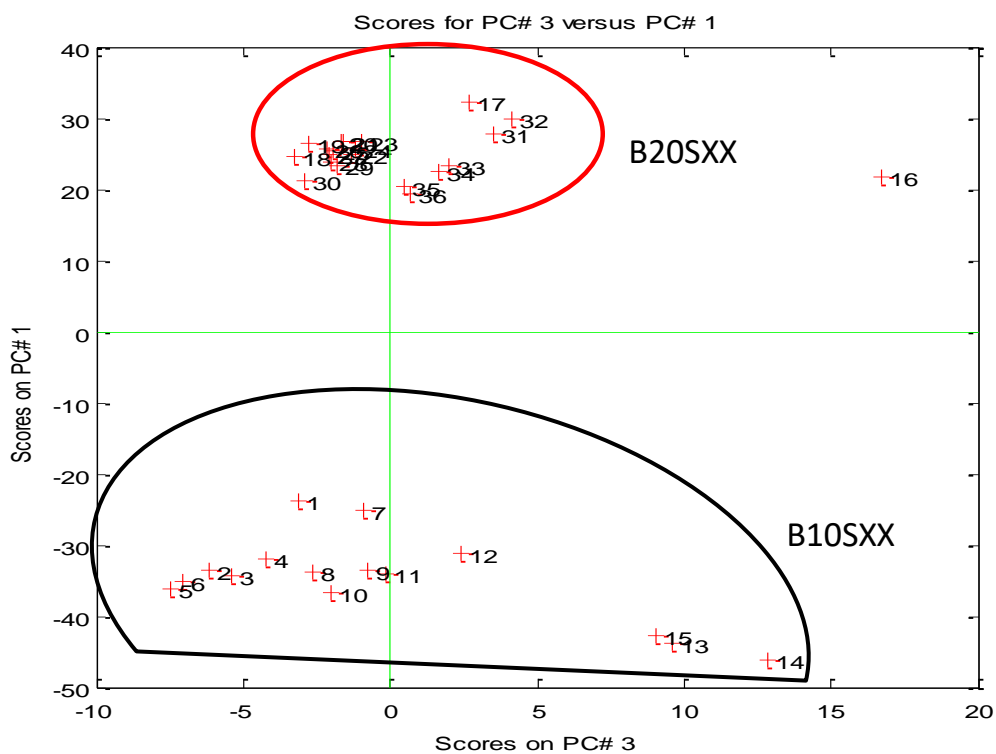


Figura 10. Modelo PLS de amostras B10 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹

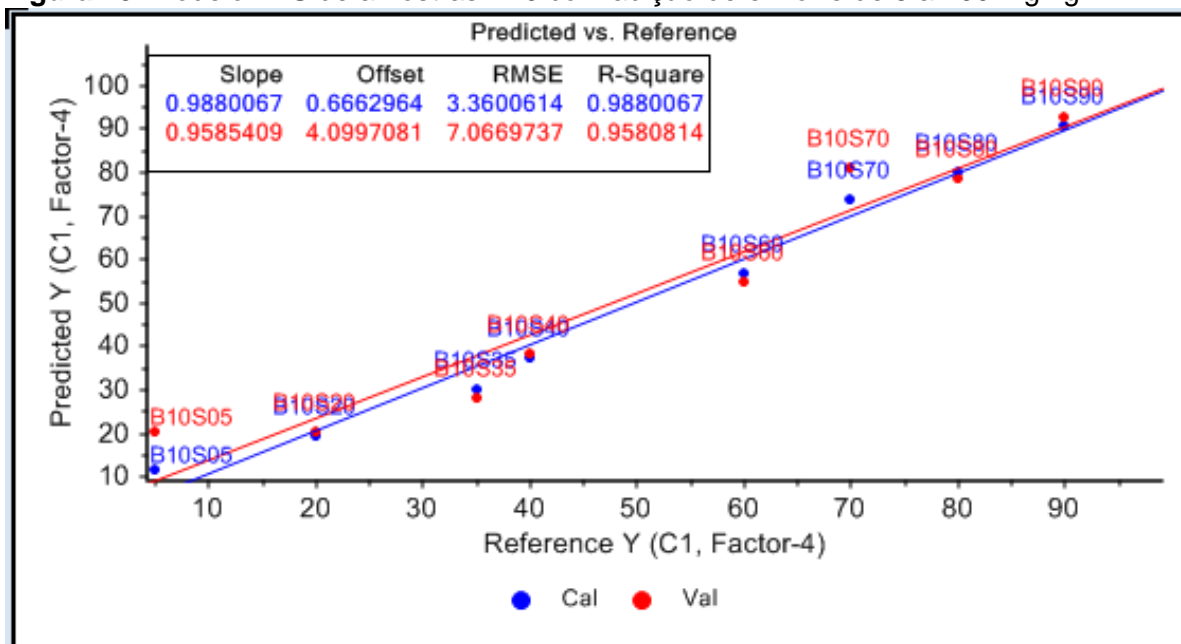


Figura 11. Variância explicada do modelo PLS da B10 com adição de 5 a 100 mg kg⁻¹ de enxofre

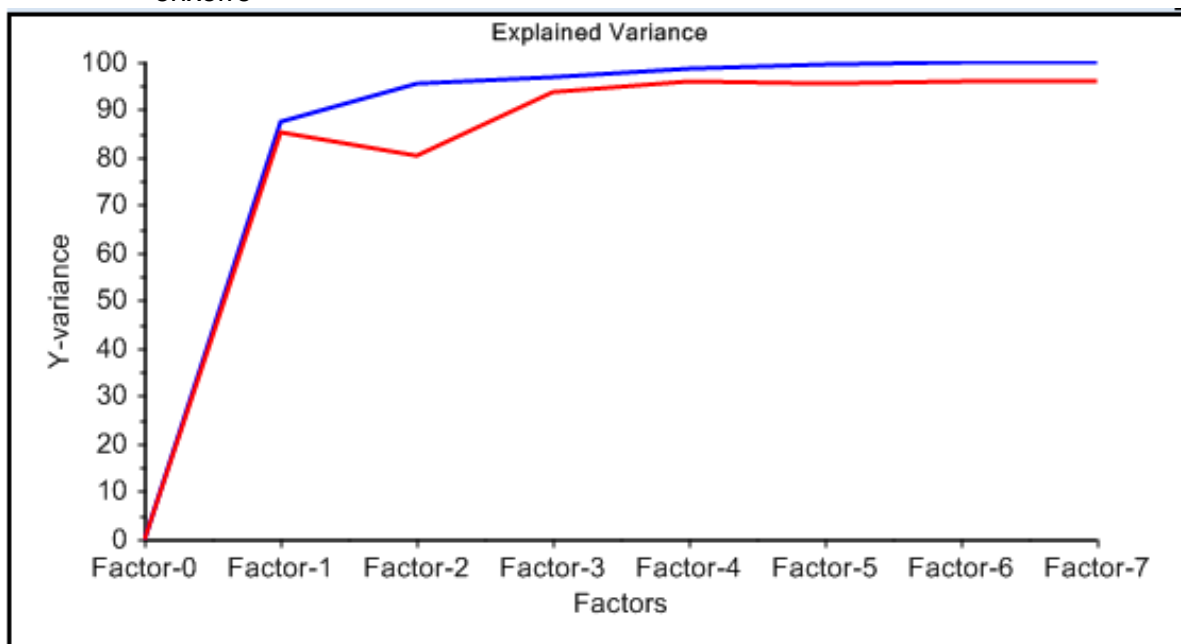


Figura 12. Modelo PLS da B20 com adição de enxofre de 5 a 100 mg kg⁻¹

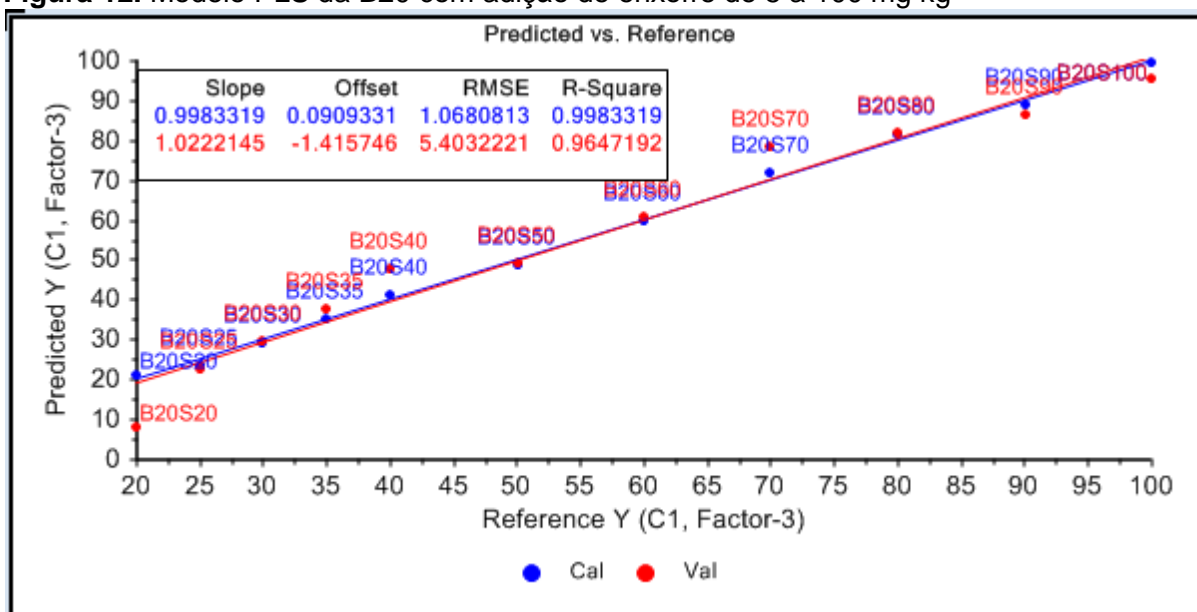


Figura 13. Variância explicada do modelo PLS da B20 com adição de 5 a 100 mg kg⁻¹ de enxofre

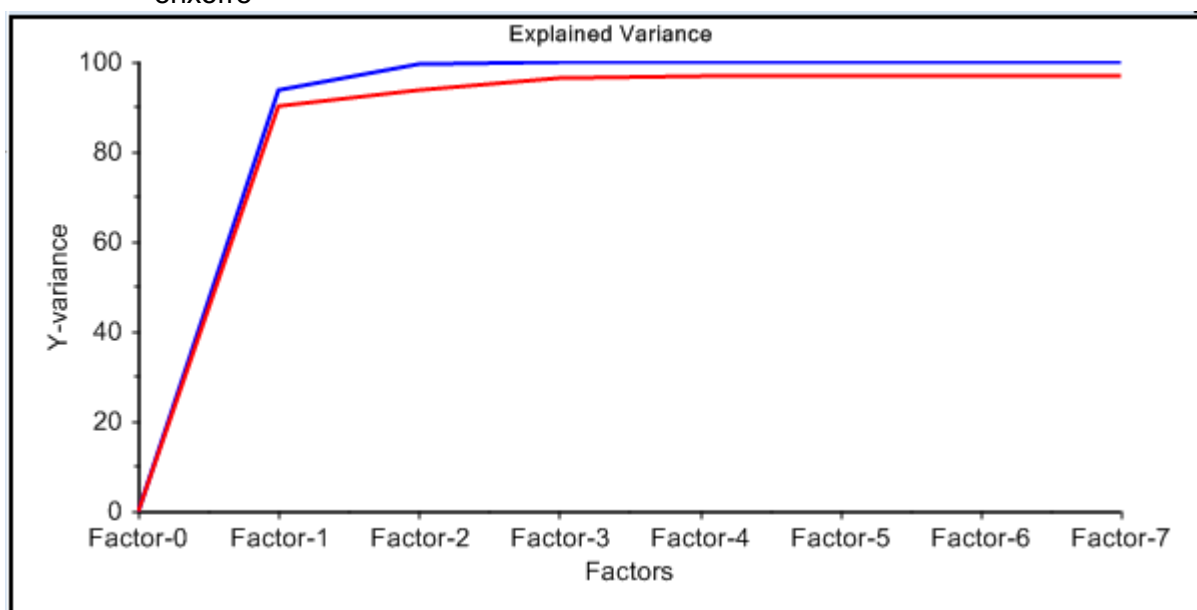


Figura 14. Escores da PC1 em função da PC2 para amostras de misturas de biodiesel oxidado em diesel com adição de enxofre inorgânico

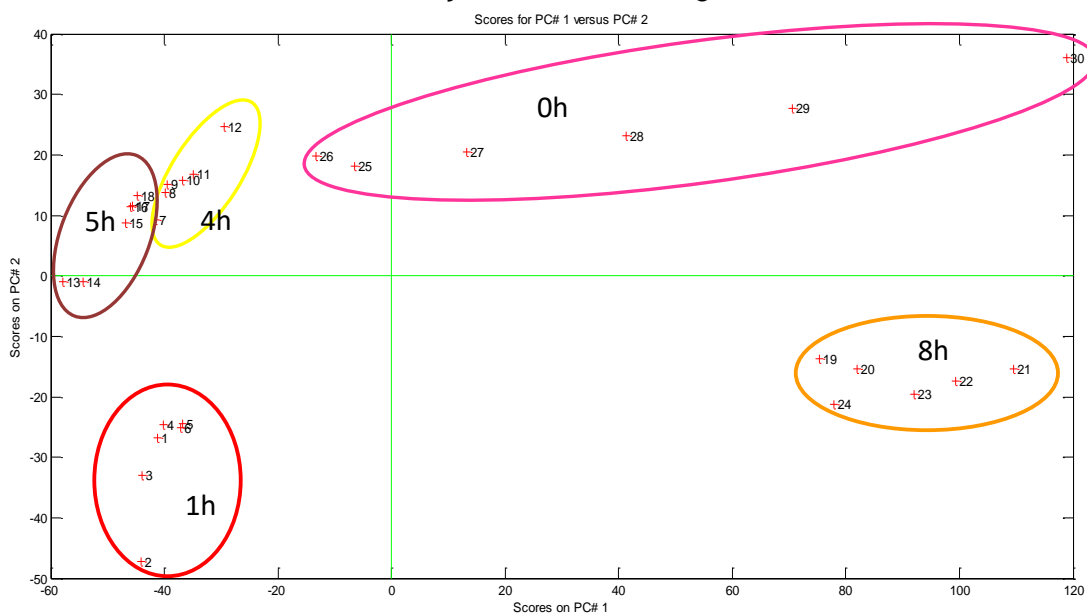


Figura 15. Loading do PC1 das amostras de misturas de biodiesel oxidado em diesel com adição de enxofre inorgânico

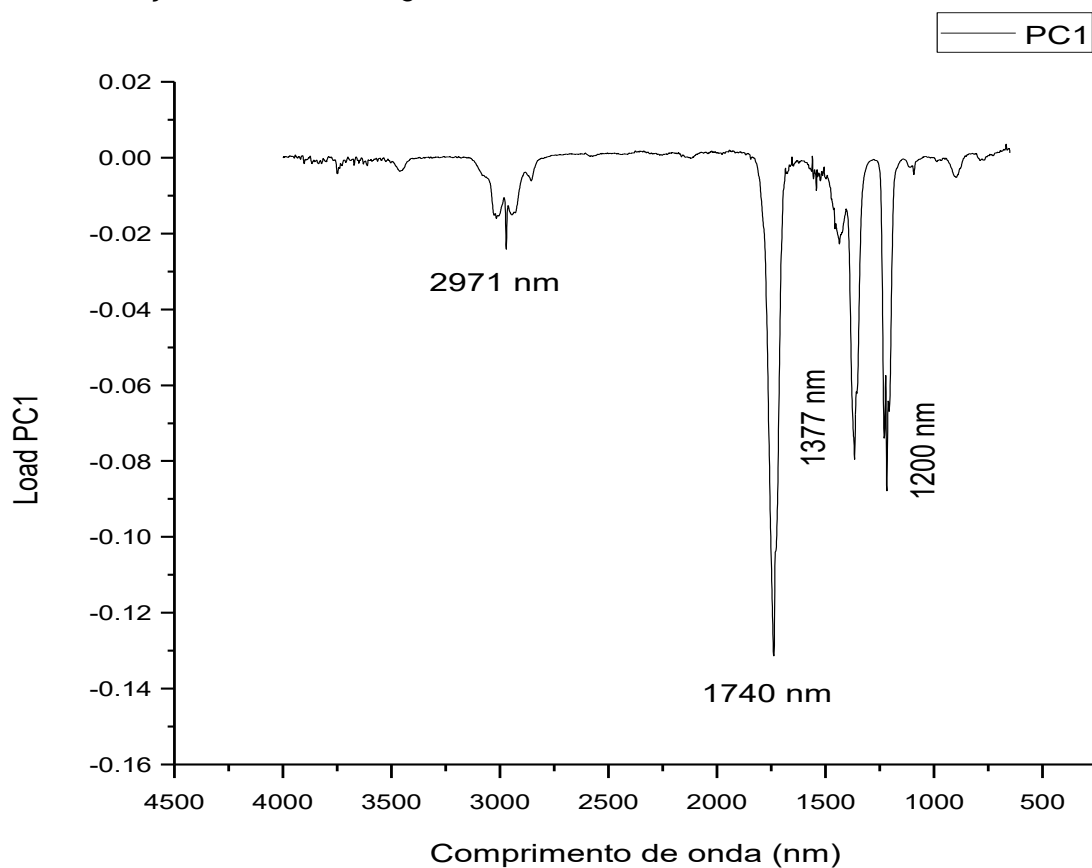


Figura 16. Loading do PC2 das amostras de misturas de biodiesel oxidado em diesel com adição de enxofre

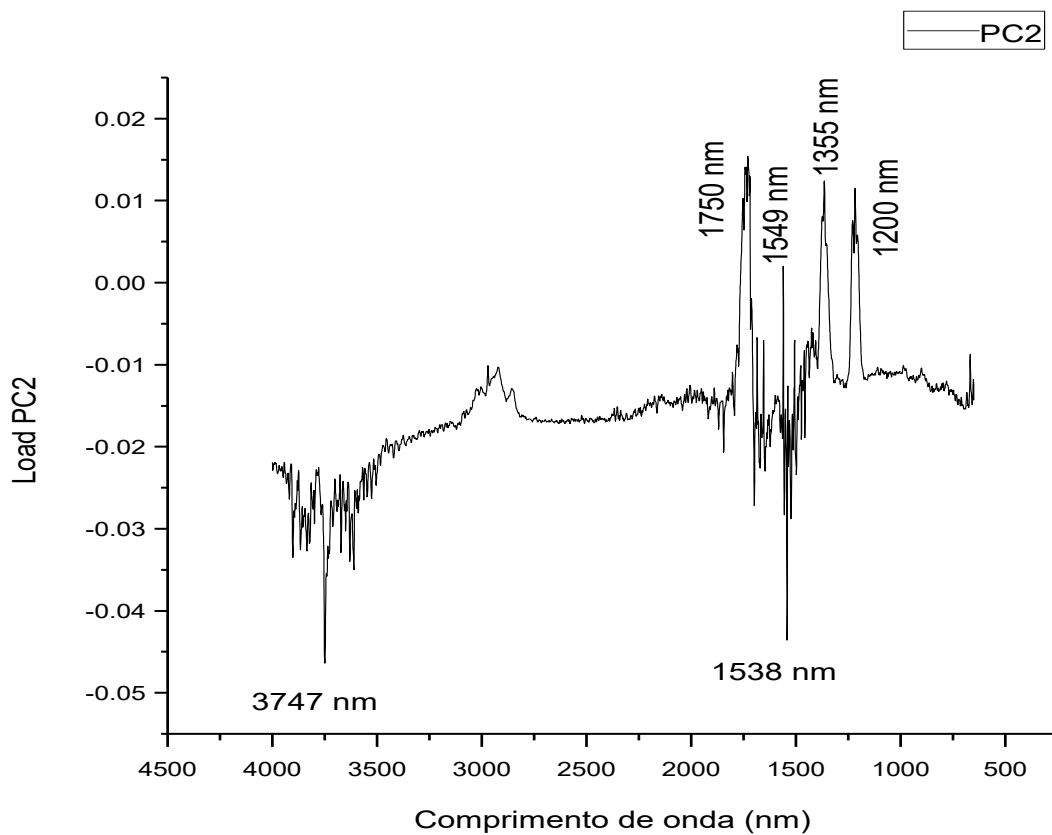


Figura 17. Espectro de FTIR das amostras de combustíveis (Biodiesel em diesel) com adição de enxofre inorgânico (B15SXX)

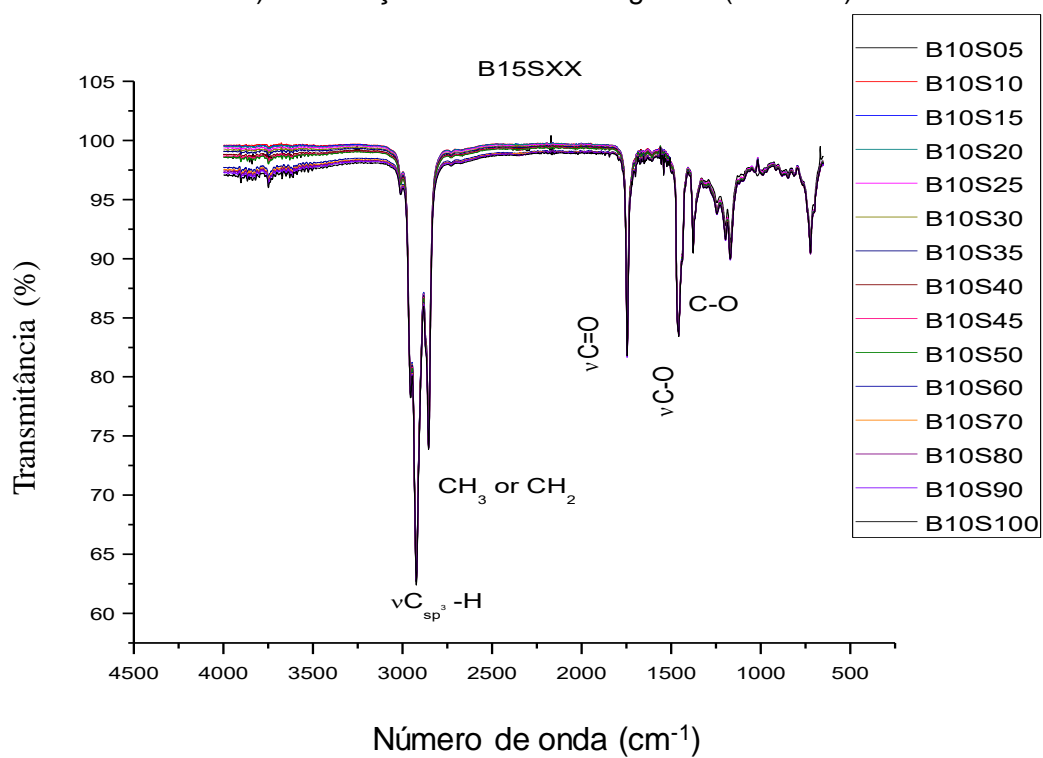


Figura 18. Espectro de FTIR das amostras de biodiesel em diesel com adição de enxofre inorgânico (B25SXX)

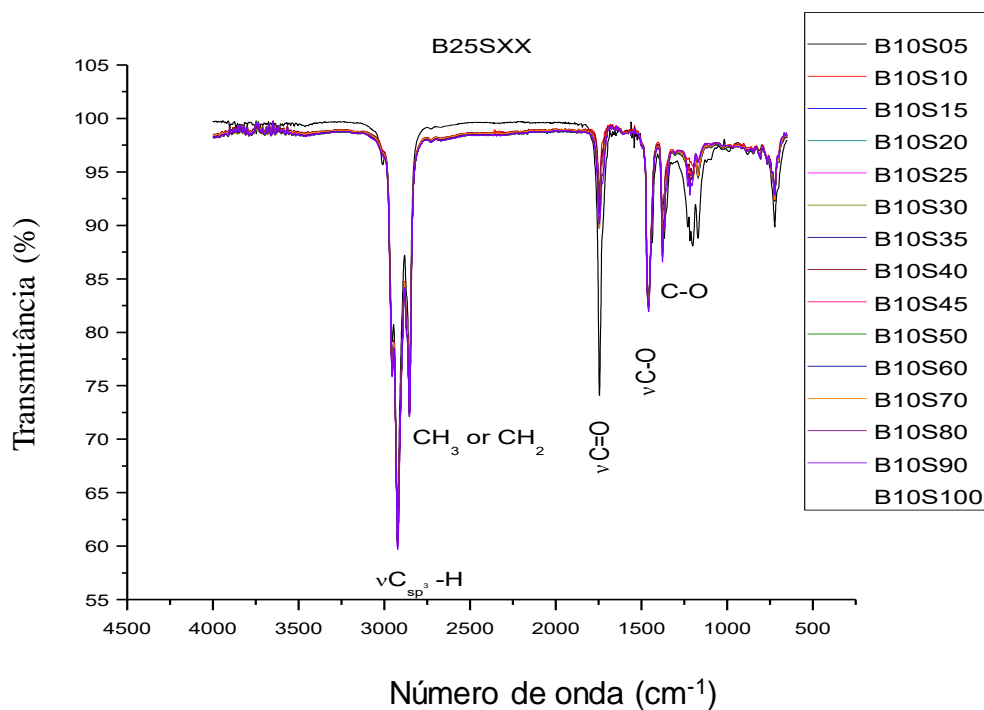
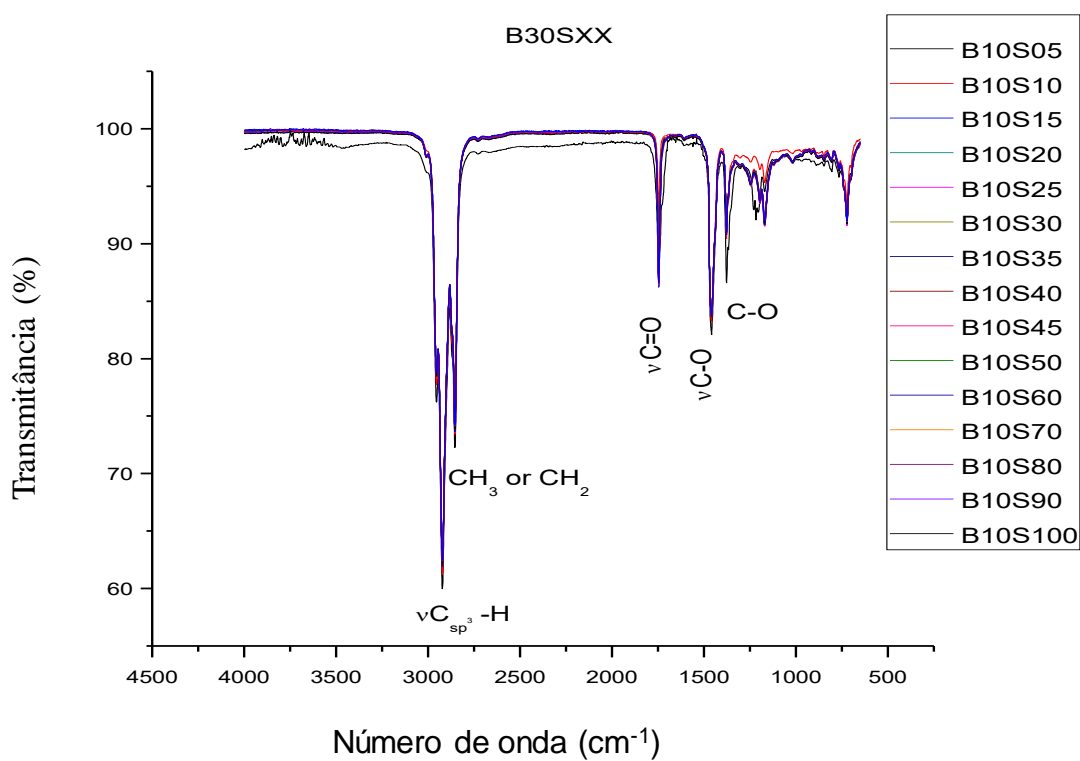


Figura 19. Espectro de FTIR das amostras de biodiesel em diesel com adição de enxofre inorgânico (B30SXX)



APÊNDICE C – Resultados obtidos no Rancimat**Tabela 1.** Período de indução de biodiesel com adição de enxofre 0 a 180 mg kg⁻¹

Amostras	Temperatura (°C)	Período de Indução (h)
B100S00	110	10.16
B100S20	110	9.64
B100S35	110	8.24
B100S50	110	8.75
B100S70	110	9.49
B100S90	110	8.45
B100S100	110	9.04
B100S180	110	7.75

APÊNDICE D – Gráficos gerados a partir dos resultados obtidos no espectrofluorimetro Perkin Elmer LS55

Figura 1. Fluorescência em unidades arbitrárias das misturas de biodiesel em diesel (B20) com adição de enxofre nas concentrações de 5 a 100% v/v em função dos comprimentos de onda de emissão e de excitação

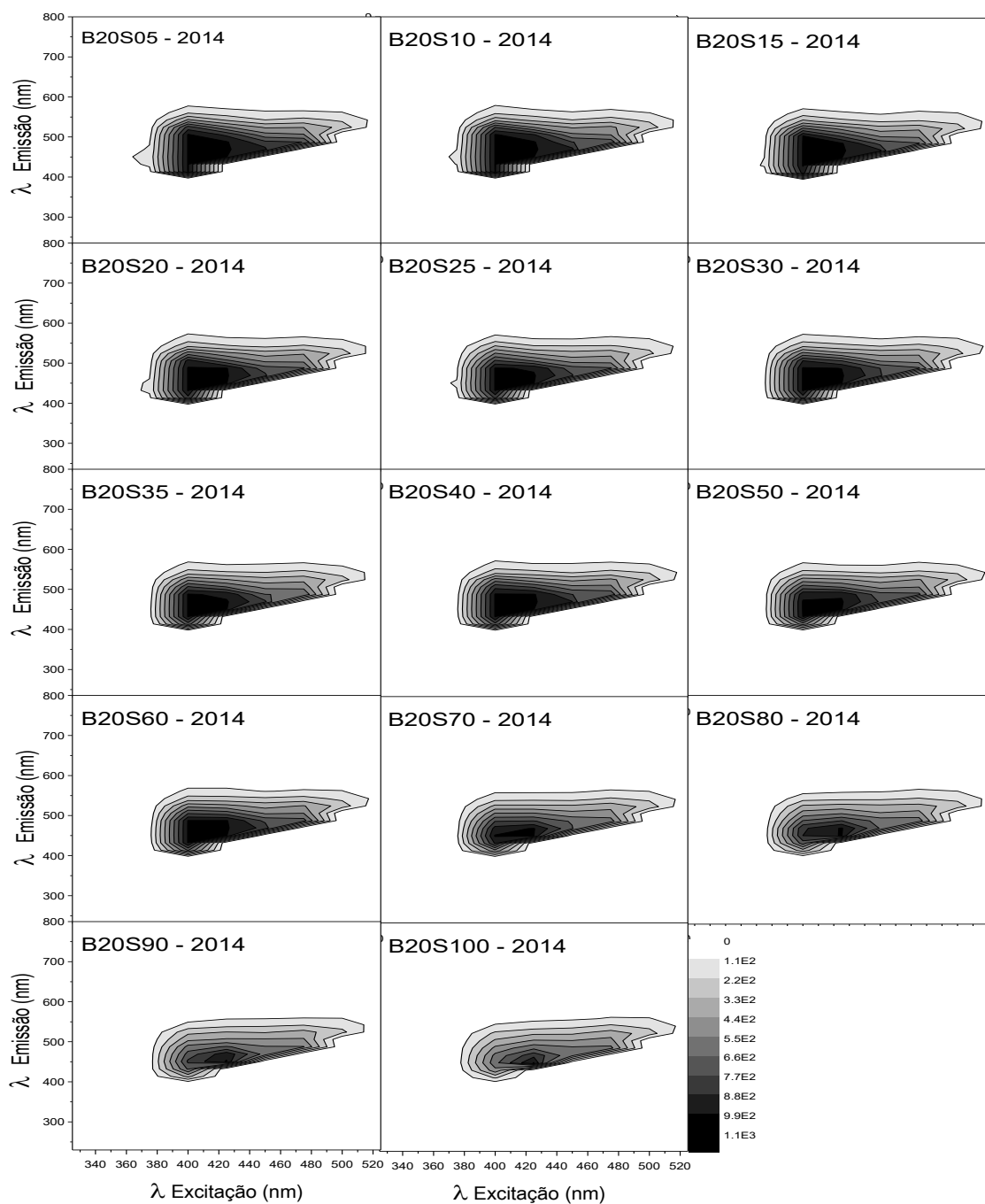


Figura 2. Fluorescência em unidades arbitrárias das misturas de biodiesel em diesel (B10) com adição de enxofre nas concentrações de 5 a 100% v/v em função dos comprimentos de onda de emissão e de excitação

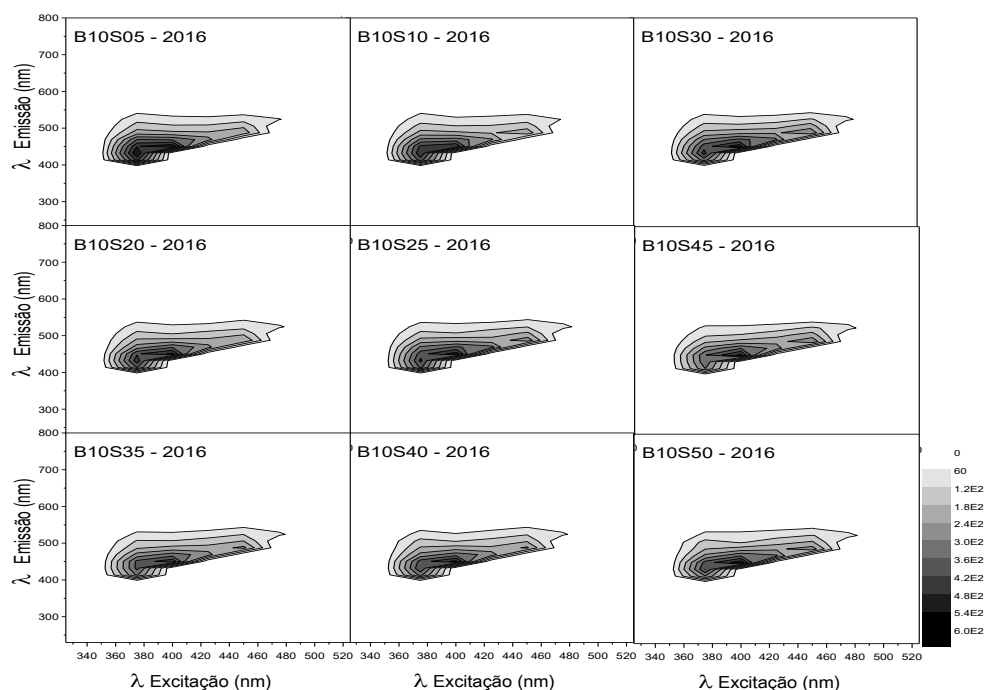


Figura 3. Fluorescência em unidades arbitrárias das misturas de biodiesel em diesel (B20) com adição de enxofre nas concentrações de 5 a 100% v/v em função dos comprimentos de onda de emissão e de excitação

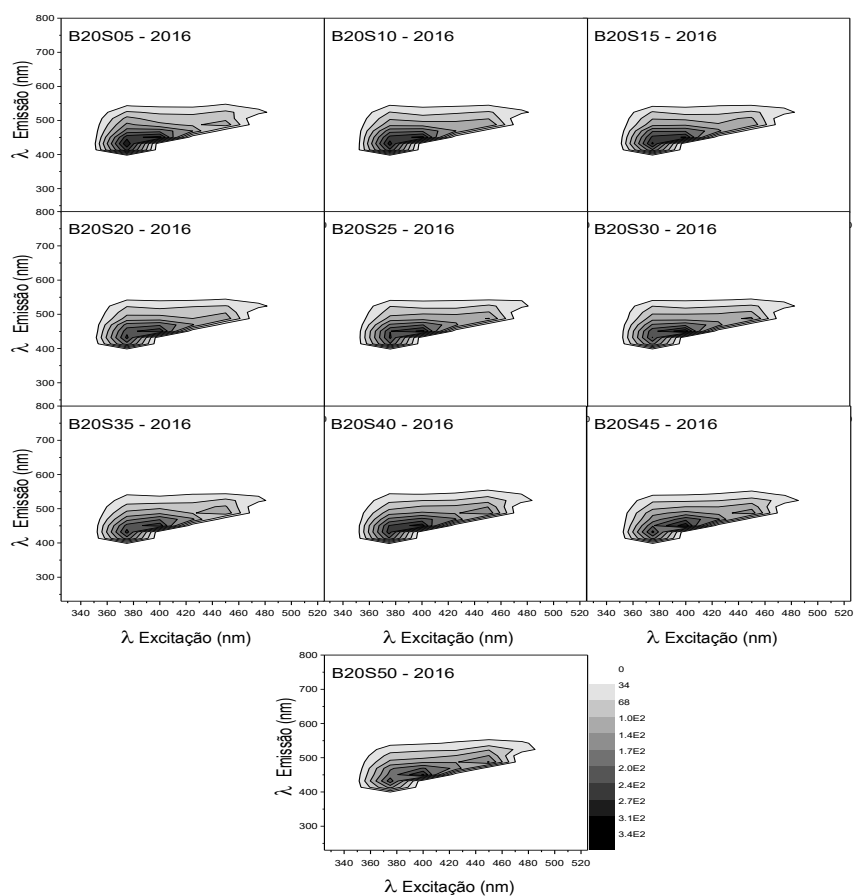
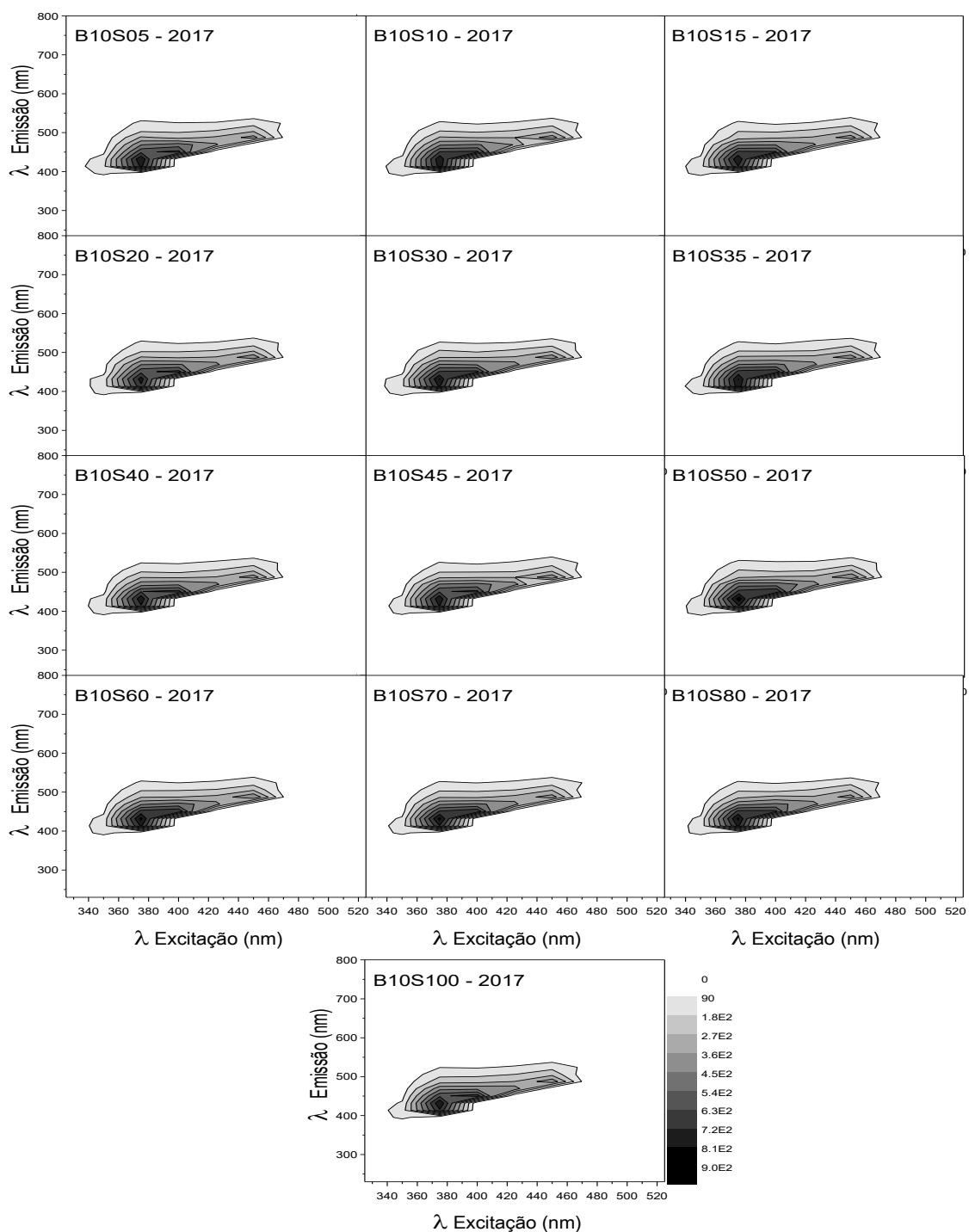


Figura 4. Fluorescência em unidades arbitrárias das misturas de biodiesel em diesel (B10) com adição de enxofre nas concentrações de 5 a 100% v/v em função dos comprimentos de onda de emissão e de excitação



APÊNDICE E – Gráficos gerados a partir dos resultados obtidos no EDXRF

Tabela 1. Amostras utilizando padrão Sulfur in Di-n-butyl Sulfide (SDB)

Amostras	m _{SDB} (g)
B20SDB5	0,1912
B20SDB7	0,2673
B20SDB9	0,3444
B20SDB11	0,4207
B20SDB13	0,4969
B20SDB15	0,5740
B20SDB17	0,6503
B20SDB19	0,7265
B20SDB22	0,8380

Fonte: Autoria própria, 2018.

Figura 42. Modelo PLS de amostras B20 com adição de padrão SDB de 5 a 22 mg kg⁻¹

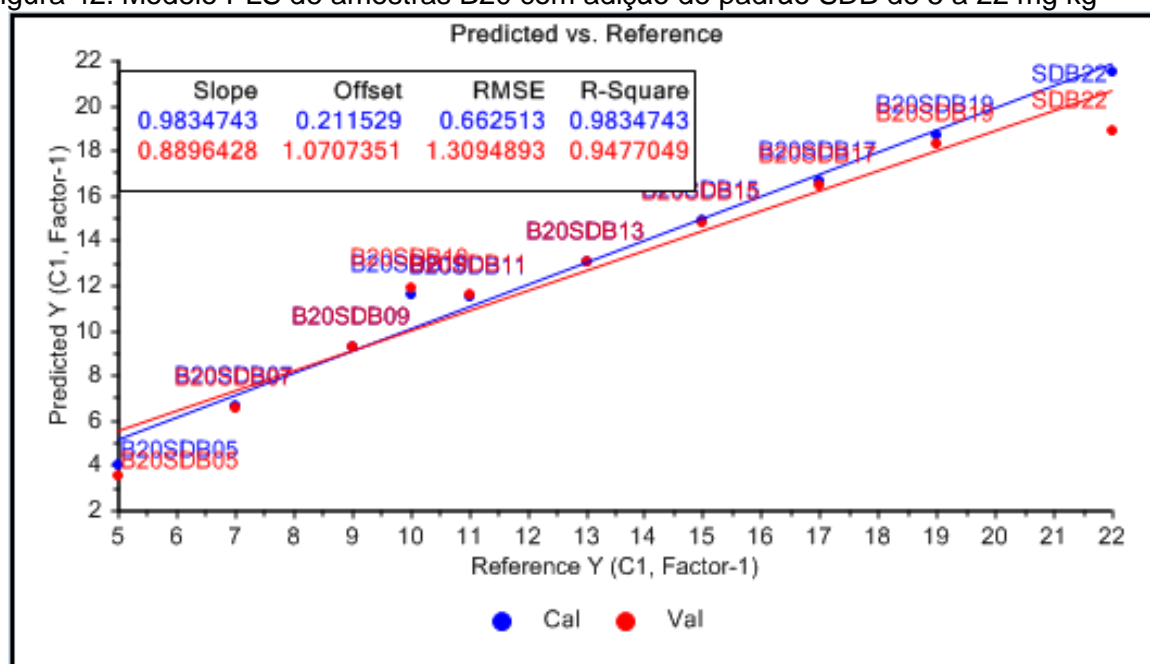


Figura 2. Variância explicada do modelo PLS de amostras B20 com adição do padrão de enxofre (SDB) de 5 a 22 mg kg⁻¹

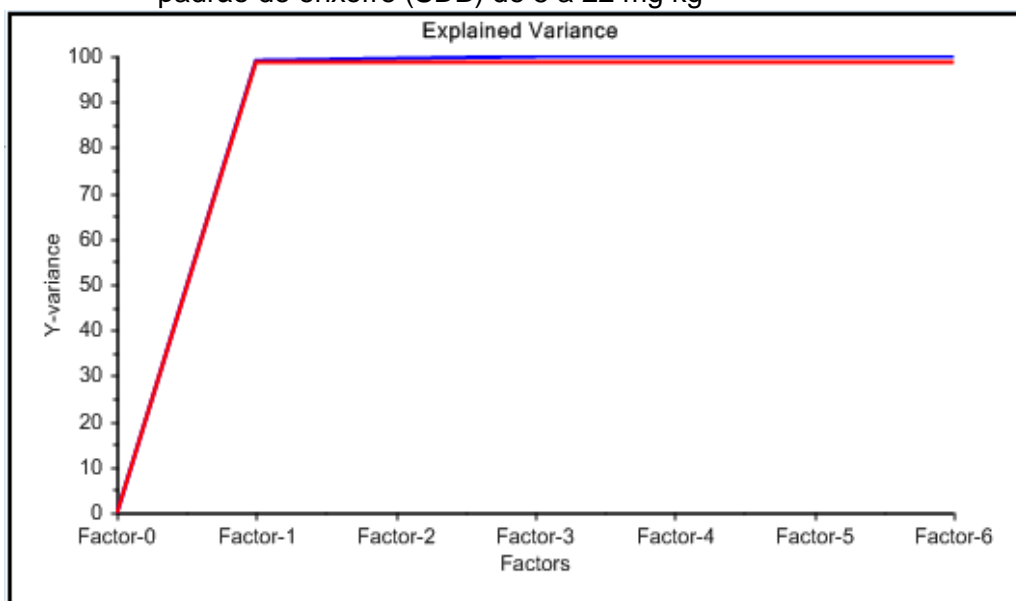


Figura 3. Valor predito do teor de enxofre e o desvio padrão para amostras com adição do seu padrão (SDB) com concentrações desconhecidas em B20

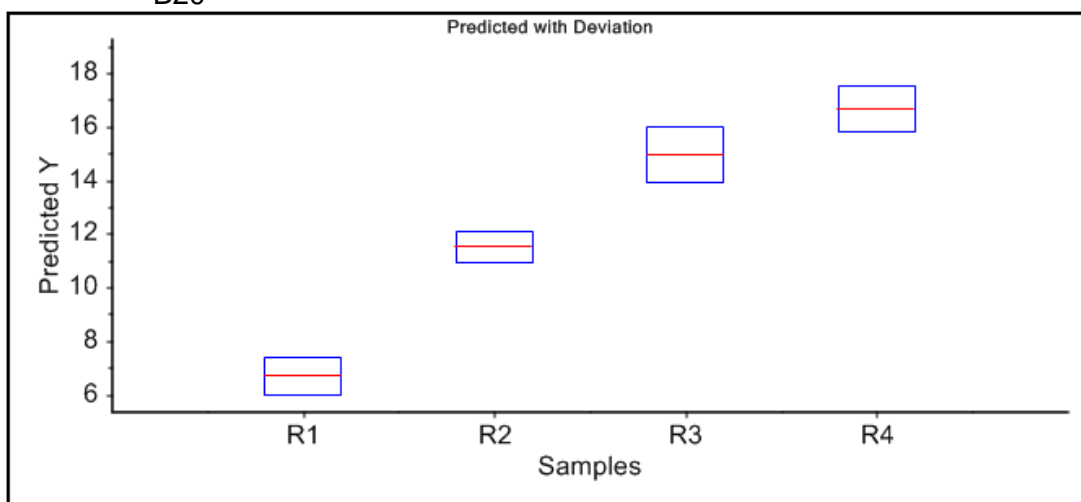


Tabela 2. Valor predito do teor de enxofre com desvio para amostras no escuro de B20 com adição de seu padrão (SDB)

Valor real (mg kg ⁻¹)	Predito (mg kg ⁻¹)	Desvio
7	6,6670	0,7079
11	11,5159	0,5760
15	14,9416	1,0308
17	16,6564	0,8742

ANEXO I – Trabalhos publicados