

CONTROLE DE QUALIDADE DE MISTURAS DE DIESEL:BIODIESEL USANDO UM SMARTPHONE

QUALITY CONTROL OF BLENDS DIESEL:BIODIESEL USIN A SMARTPHONE

¹Rayana Alvarenga Costa.

²Maycom Cezar Valeriano

³Flávia Tosato Borghi.

⁴Natália Mendonça da Cruz.

⁵Natalia Lepaus Loureiro.

⁶Paulo Roberto Filgueiras.

⁷Wanderson Romão.

¹Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: (rayaalvarenga@gmail.com).*

²Universidade Federal do ABC. E-mail: (maycomcezar@gmail.com).

³Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: (fla.tosato@gmail.com).

⁴Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Cariacica. E-mail: (natali.menc@gmail.com).

⁵Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Cariacica. E-mail: (natalialepaus@gmail.com).

⁶Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: (filgueiras.pr@gmail.com).

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo/Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Vila Velha. E-mail: (wandersonromao@gmail.com).

Artigo submetido em XX/XX/XXXX, aceito em XX/XX/XXXX e publicado em 10/03/2023.

Resumo: O uso de dispositivos eletrônicos pode ser uma alternativa inovadora para garantir a qualidade e segurança nas análises químicas. Inúmeras são as reportagens retratando fraude ou adulteração de alimentos, bebidas, documentos, combustíveis, dentre outras matrizes. Casos de fraudes e adulteração são corriqueiros e acontecem de forma acentuada em diversos países. Sendo assim, o controle da qualidade desses produtos é de suma importância e estudos devem ser realizados constantemente para acompanhar a sofisticação dessas fraudes/adulterações. Alguns métodos clássicos podem ser subjetivos e apresentar pouca seletividade, portanto, análises que garantem confiabilidade, simplicidade e baixo custo de operação são essenciais para o monitoramento da autenticidade desses produtos. Assim, podemos nos reportar às análises colorimétricas envolvendo o sistema RGB relacionado a análises quimiométricas de imagens (MIA) associadas a *smartphones* que veem sendo empregadas em diversas áreas como agricultura, medicina, química forense dentre outras. Diante disso, o trabalho propõe uma nova metodologia para a quantificação de biodiesel em misturas de diesel/biodiesel empregando cromatografia em camada delgada (CCD) aliada a tratamentos quimiométricos com aplicativo de smartphone. No estudo foram avaliados os instrumentos de aplicação, tipo de suporte, fase móvel, volume de padrão/amostra e meio de revelação da placa cromatográfica além de relacionar os resultados obtidos com o método de referência (espectroscopia de infravermelho na região do próximo) por teste estatístico. Os resultados obtidos mostram o potencial do emprego das imagens digitais como meio para quantificação de biodiesel, visto que apresentaram excelente valores de R², RMSEC, LD e LQ (0,97; 0,77; 2,6; 0,08 e 0,26% m/m).

Palavras-chave: biodiesel, smartphone, photometrix, imagem, PLS.

Abstract: The use of electronic devices can be an innovative alternative to ensure quality and safety in chemical analysis. There are numerous reports depicting fraud or adulteration of food, beverages, documents, fuels, among other matrices. Cases of fraud and tampering are commonplace and occur sharply in several countries. Therefore, the quality control of these products is of paramount importance and studies must be carried out constantly to monitor the sophistication of these frauds/adulterations. Some classic methods can be subjective and have little selectivity, so analyses that ensure reliability, simplicity and low operating cost are essential for monitoring the authenticity of these products. Thus, we can report to colorimetric analyses involving the RGB system related to chemometric analysis of images (MIA) associated with smartphones that see being used in several areas such as agriculture, medicine, forensic chemistry, among others. Therefore, the work proposes a new methodology for the quantification of biodiesel in diesel/biodiesel mixtures using thin layer chromatography (TLC) combined with chemometric treatments with smartphone application. In the study, the application instruments, type of support, mobile phase, pattern volume/sample and means of revelation of the chromatographic plate were evaluated, in addition to relating the results obtained with the reference method (infrared spectroscopy in the region of the next) by statistical test. The results obtained show the potential of the use of digital images as a means for biodiesel quantification, since they presented excellent values of R^2 , RMSEC, LD and LQ (0.97; 0.77; 2.6; 0.08 and 0.26% m/m).

Keywords: biodiesel, smartphone, photometric, image, PLS

1 INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os principais produtores e consumidores de biodiesel estando atrás apenas da Indonésia e Estados Unidos da América. No ano de 2020 foram consumidos no país 6,4 bilhões de litros de biodiesel (ENERGÉTICA, 2022). Com aumento do consumo desse biocombustível e os casos de adulteração passou a ganhar força no cenário mundial. Essa adulteração pode ocorrer a partir da adição de um produto/mistura ou a adição de um componente não permitido ao combustível. O controle de qualidade de combustíveis tem como intuito prevenir danos a motores bem como diminuição do impacto ambiental e econômico devido a utilização de combustíveis de baixa qualidade ou adulterados (CORREIA et al., 2018).

Esse controle é realizado mundialmente sendo conhecidos o padrão de qualidade americano pela *American Society of Testing and Materials* (ASTM – ASTM D7467 B20 ou ASTM D6751 B100) (ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, 2016) e o da União Europeia por meio do *Comité Européen de Normalisation* (CEN – EN14214) (LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009). No Brasil, a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

(ANP) é responsável pelas regulamentações e fiscalizações e recomenda a utilização da técnica de infravermelho para a quantificação dessas misturas. Porém, cabe ressaltar que esse método não detecta alguns tipos de adulterações (ROCHA et al., 2017). Portanto, outras técnicas analíticas estão sendo utilizadas para estudo do controle de biodiesel em diesel como espectrometria de massas (CUNHA et al., 2012), espectroscopia de ressonância magnética nuclear com domínio de tempo (TD-NMR) (ROCHA et al., 2017), testes colorimétricos associados espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis), cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID), cromatografia gasosa acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS) (BORSATO et al., 2010), espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR) (FERNANDES, 2011), micro-espectrômetro portátil na região do infravermelho próximo (CORREIA et al., 2018) e análise por imagem digital (SOARES; LIMA; ROCHA, 2017).

A busca por técnicas mais simples, de menor custo e com eficiência similar as técnicas clássicas é uma procura constante de pesquisadores. Avanços tecnológicos têm facilitado o desenvolvimento de

software e aplicativos para fins de pesquisa científica. Aplicativo de celulares tem aproximado cada vez mais o usuário de uma realidade onde a praticidade e comodidade são bens que as empresas tentam fornecer, de maneira mais simples e rápida, ao seu público-alvo, uma vez que a interação entre a mistura e formação da imagem proporcionam a quantificação por métodos quimiométricos (PLS) (HELFER et al., 2016).

Diante do exposto, esse trabalho tem por objetivo propor uma nova metodologia, prática, rápida, menor custo e igualmente eficaz para quantificação de biodiesel em blendas de diesel/biodiesel utilizando cromatografia em camada delgada associada a tratamento quimiométrico de imagens digitais empregando aplicativo de *smartphone*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O biodiesel é produzido através da transesterificação de um óleo com a adição de um álcool na presença de ácido ou base e que quando adicionado ao diesel reduz a emissão de particulados na atmosfera sem comprometer o funcionamento dos motores e barateando o consumo (BOSATO et al., 2010). A utilização efetiva do biodiesel se deu após a década de 70, quando vários países europeus, como Áustria, França e Alemanha passaram a buscar fontes renováveis de combustíveis. Em 1980 esses países passaram a promover políticas de estímulo para a produção de biodiesel. Nos EUA a aprovação do biodiesel como combustível se deu apenas em 1990 (MATTEI, 2009).

Com o passar dos anos a adulteração de combustíveis passou a ganhar força no cenário mundial. A quantificação do nível de mistura ou blendas (Bn) e a qualidade tornaram-se fatores importantes para a comercialização das misturas. Diversas são as técnicas conhecidas que avaliam e realizam o controle de biodiesel como já mencionado anteriormente. Cabe ressaltar, que essas técnicas apresentam um custo

elevado considerando questões de manutenção, aquisição de consumíveis, gases dentre outros (CORREIA et al., 2018).

Com o crescente avanço tecnológico tem ocorrido um rápido aumento na tecnologia de fotografia digital o que contribui para o desenvolvimento de novas metodologias empregando o uso de imagens digitais. A relação entre imagem digital e ensaios colorimétricos favorece a obtenção de dados qualitativos e medições analíticas qualitativas e quantitativas (BYRNE et al, 2000). A imagem digital tem sido cada vez mais utilizada para análises de alimentos (COSTA et al., 2020), bebidas (FRANCO et al., 2021), combustíveis (SOARES et al., 2019) dentre outras matrizes devido ao baixo custo e rapidez em análise e obtenção de dados.

Soares e colaboradores (2019), propuseram a quantificação de biodiesel em misturas de diesel por meio de imagens digitais obtidas por *smartphone*. Os autores utilizaram o aplicativo PhotoMetrix para a conversão em valores RGB e os resultados processados pelo software Statistica 7.0. A metodologia proposta apresentou limites de detecção (1,0% v/v), coeficiente de correlação ($R^2 = 0,998$), coeficiente de variação (CV = 0,9%), precisão e seletividade dentro do esperado mostrando ser uma nova ferramenta analítica quando comparada aos resultados por espectroscopia de infravermelho. Além de ser um método rápido, preciso, consumo baixo de amostras, reagentes e solventes reduzindo o volume de resíduos ao final.

Portanto, o emprego de imagens digitais associadas ao aplicativo de *smartphone* mostra-se como potencial ferramenta frente as técnicas clássicas tornando-se uma alternativa viável para novas pesquisas na vertente do controle de qualidade dos combustíveis.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ENSAIO DE OTIMIZAÇÃO

3.1.1 Método de aplicação

Para os testes do volume e tamanho dos spots na aplicação das amostras nas cromatoplas, foram utilizados capilar de vidro, micropipeta (0,5–10µL - MDI) e microseringa (25µL - Hamilton). Nesta etapa, foi observado qual instrumento proporcionaria uma separação mais efetiva para obter manchas definidas e melhor volume de aplicação, para que os spots não se misturassem.

3.1.2 Tipo suporte

Os suportes utilizados nas placas cromatográficas foram de vidro e de alumínio (MachereyNagel®) a fim de observar qual apresentaria melhor separação e menor interação com as amostras. As cromatoplas foram ativadas em estufa a 110°C por 20 minutos (min).

3.1.3 Fase móvel

Nesta etapa realizou-se a otimização do sistema da fase móvel a qual as análises seriam realizadas. Assim, foram utilizadas fases móveis compostas por:

1. Éter de petróleo + éter etílico + ácido acético (90:10:1 v/v)
2. Éter de petróleo + éter etílico + ácido acético (80:20:1 v/v)
3. Hexano + acetato de etila (92:8 v/v)
4. Hexano + éter etílico + ácido acético (85:15:1 v/v)

Essas fases foram utilizadas para teste inicial visando avaliar qual apresentaria melhor separação das substâncias, uma vez que são as mais utilizadas em estudos de amostras contendo óleos (CONSTANTINO et al., 2019; ABDELNUR, et al., 2013 FERRARI; OLIVEIRA; SCABIO, 2005).

3.2 IDENTIFICAÇÃO DOS SPOTS E AMOSTRAS

Para identificar o que cada mancha representava foi preparada uma placa contendo diesel S-10, biodiesel de soja, óleo de soja, mistura de diesel S10:biodiesel de

soja (1:1 m/m) e mistura de diesel S-10:biodiesel de soja:óleo de soja (1:1:1 m/m). Em seguida, preparou-se uma placa com diversos biodiesel advindos de óleos vegetais soja (SJ), girassol (GR), milho (ML), canola (CN), algodão (AG), mamona (MN), linhaça (LN), Gergelim (GG), amendoim (AM) e abobora (AB), com intuito de avaliar o perfil cromatográfico de cada um. Todas as amostras (n=15) empregadas no estudo e os diferentes tipos de biodieseis (padrão) foram cedidas pelo Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Metodologias para Análise de Petróleos da UFES.

3.3 CONTRUÇÃO CURVA ANALÍTICA

A partir de uma amostra padrão de diesel S-10 e biodiesel de soja foram preparadas diversas concentrações conhecidas de: 0; 3,0; 4,5; 5,0; 6,0; 7,5; 9,0; 10,0; 12,0; 13,0; 15,0 18,0; 20,0; 21,0; 24,0; 25,0; 30,0; 35,0; 40,0; 50,0; 60,0; 70,0; 80,0; 100,0% (m/m) de diesel e biodiesel. Posteriormente, foram preparadas 4 curvas analíticas com concentrações variando de 0-15%, 0-30%, 0-50%, 0-100% (m/m), em triplicata. Após a construção da curva analítica e eluição das placas cromatográficas, realizou-se a revelação em câmara com luz ultravioleta (TECNAL®) e em câmara saturada com iodo. Os valores do limite de detecção (LD – equação 1) e limite de quantificação (LQ - equação 2) foram obtidos de acordo com o Guia Eurachem (EURACHEM, 2019). Foram realizadas dez medidas de um único branco de calibração para obter o desvio padrão.

$$(LD = 3 \cdot S_0') \quad (\text{eq. 1})$$

$$(LQ = 10 \cdot S_0') \quad (\text{eq. 5})$$

Onde S_0' é calculado pela equação:

$$s_0' = s_0 \sqrt{\frac{1}{\eta} + \frac{1}{n_b}} \quad (\text{eq.6})$$

Onde:

S_0 : desvio padrão estimado de m resultados únicos na concentração zero ou próximo a zero.

S_0 : desvio padrão usado para calcular o LD e LQ.

n : média da determinação da amostra ao relatar os resultados no qual cada replicata é obtida seguindo todo o procedimento de medição.

n_b : média dos valores do branco quando calculando a correção do branco de acordo com todo o procedimento de medição.

3.4 ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram obtidos utilizando o aplicativo PhotoMetrix®, desenvolvido pelo grupo de pesquisa em quimiometria da Universidade Federal de Santa Cruz do Sul disponível para aparelhos Android e iOS (<http://www.photometrix.com.br>). Foi utilizado o modo de análise por mínimos quadrados parciais (PLS) para a construção do modelo para a quantificação do teor de biodiesel nas amostras. As análises foram realizadas em triplicata, imediatamente após revelação e 38 min depois, e as imagens obtidas a uma distância de 10 cm entre a placa de CCD e a câmera do *smartphone* Samsung S7 (câmera de 12 megapixels, abertura F 1.7, estabilização óptica, resolução 4290x2800 pixel e sistema operacional Android 8.0 Samsung Experience 9.0 Oreo) e com uma região de interesse (ROI) de 32x32.

3.5 ANÁLISE POR MICRONIR

Para análise por infravermelho próximo (do inglês *Near-infrared spectroscopy - NIR*) foi utilizado o equipamento portátil MicroNIR™ Pro, modelo 1700 produzido por Viavi Solutions Inc. As mesmas concentrações e padrões da curva analítica da análise de CCD foram utilizadas para posterior quantificação nas amostras. Os dados foram obtidos por meio do software Viavi Solutions Inc. versão 3.0. Os espectros do MicroNIR foram adquiridos na faixa de 1676 - 908 nm, com 100 varreduras, tempo de integração de 8 ms e aquisição de 125 pontos por varredura com acessório Vial Holder. Todos os espectros MicroNIR foram inicialmente

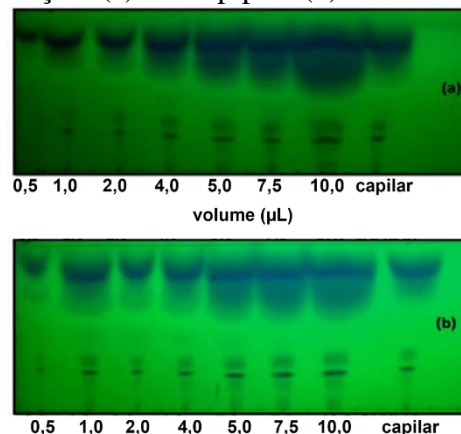
pré-processados utilizando a primeira derivada do algoritmo de Savitzky-Golay com janela de 7 pontos, gerando valores de concentração média de maneira randômica para não obtermos um modelo superestimado. O método de calibração multivariada utilizado foi PLS. Todos os cálculos foram realizados usando o software Mathworks Matlab 7.0 (R2013a) com plugin PLSToolBox (Eigenvector Research, Inc.).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 MÉTODO DE APLICAÇÃO

Foi avaliado qual instrumento de aplicação dos padrões e amostras seria mais apropriado para as análises de CCD. Foram utilizadas microseringa (25 μ L), micropipeta e capilar de vidro. O emprego da micropipeta proporciona medidas mais precisas, porém o utilizar a microseringa foi observado que a aplicação foi mais controlada, ou seja, podendo ser realizada de forma gradativa e concentrada em um único ponto. Assim, manchas mais definidas e menos espalhadas foram obtidas. Por fim, o volume de aplicação selecionado foi de 4 μ L, visto que (Figura 1) não ocasionou espalhamento além de ser um volume pequeno tornando-o vantajoso uma vez que não há grande consumo de amostra.

Figura 1: Teste do instrumento (capilar, micropipeta e capilar) e volume (μ L) de aplicação: (a) micropipeta (b) microseringa.



Fonte: Autoria própria (2022).

4.2 SUPORTE DA FASE ESTACIONÁRIA

Com objetivo de determinar qual o suporte mais adequado para determinação do teor de biodiesel em diesel, realizou-se o experimento em cromatoplasmas com suporte de alumínio e vidro. Os resultados obtidos em placas de alumínio não apresentaram separações efetivas. Ao passo que era realizada a corrida cromatográfica, era observado que as amostras tendiam a se misturar dificultando a identificação dos spots e posteriormente quantificação. Para as placas com suporte de vidro, verificou-se melhor separação entre as substâncias, com manchas mais definidas proporcionando a identificação de dos spots. Portanto, a placa de vidro frente a de alumínio foi selecionada para o estudo em questão.

4.3 ESCOLHA DA FASE MÓVEL

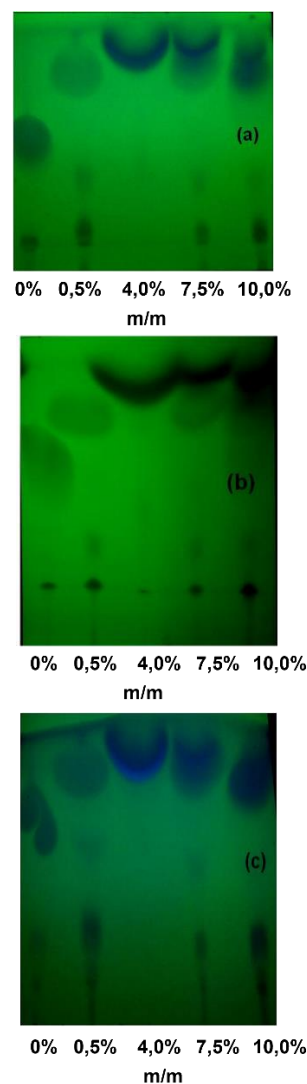
Inicialmente, testou-se as fases móveis composta por éter de petróleo:éter etílico:ácido acético nas proporções (90:10:1 v/v) e (80:20:1 v/v), hexano:acetato de etila(92:8 v/v) e hexano:éter etílico:ácido acético (85:15:1 v/v). Após os testes, percebeu-se que a fase móvel composta por éter de petróleo, éter etílico e ácido acético mostrou uma separação mais efetiva das substâncias presentes na amostra. Dentre essa, a de 90:10:1(v/v) apresentou manchas com melhor definição (Figura 2) e separação quando comparada com a de (80:20:1 v/v) a qual visualizou-se arraste indicando polaridade da mistura não adequada para o estudo.

4.4 IDENTIFICAÇÃO DOS SPOTS

Após o preparo da placa contendo diesel S-10, biodiesel de soja, óleo de soja, mistura de diesel S-10:biodiesel de soja (1:1), mistura de diesel S10:biodiesel de soja:óleo de soja (1:1:1) e sua revelação (câmara UV e iodo) foi possível identificar o que cada mancha caracterizava (Figura 3). Assim, determinou-se também o perfil cromatográfico dos biodieseis oriundos das

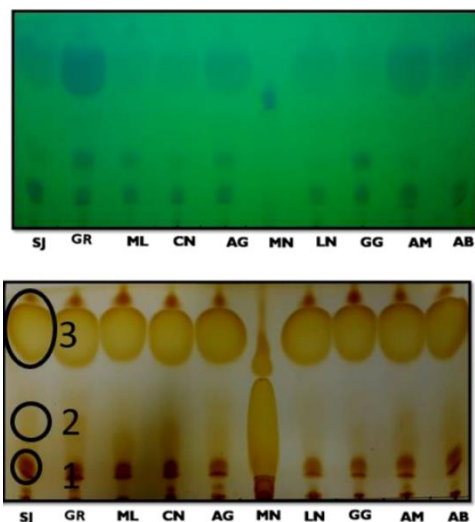
matrizes mais comuns. Por meio de observação visual e dos valores do coeficiente de retenção (R_f) (Tabela 1), constatou-se que todos possuíam um perfil de separação semelhante, exceto o biodiesel de mamona, logo a metodologia se mostrou aplicável a diferentes tipos de matrizes de biodiesel. Sendo assim, o spot a ser quantificado, referente ao biodiesel, é o identificado na Figura 3 como spot 3 (FERRARI; OLIVEIRA; SCABIO, 2005).

Figura 2: Ensaio para escolha da fase móvel para separação de diesel/biodiesel (a) éter de petróleo:éter etílico:ácido acético (90:10:1 v/v), (b) éter de petróleo:éter etílico: ácido acético (80:20:1 v/v), (c) hexano:éter etílico:ácido acético (85:15:1 v/v).



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 3: Perfil cromatográfico de biodiesel oriundo de diferentes matrizes.



Fonte: Autoria própria (2022).

Tabela 1: Coeficiente de retenção (Rf) para todas as matrizes de biodiesel utilizadas para a otimização.

Coeficiente de retenção (Rf)			
Spot	1	2	3
SJ	0,11	0,17	0,75
GR	0,11	0,11	0,75
ML	0,11	0,11	0,75
CN	0,11	0,17	0,75
AG	0,11	0,11	0,75
LN	0,11	0,11	0,75
GG	0,11	0,17	0,75
AM	0,11	0,11	0,75
AB	0,11	0,11	0,75

SJ: soja; GR: girassol; ML: milho; CN: canola; AG: algodão; MN: mamona; LN: linhaça; GG: gergelim; AM: amendoim; AB: abóbora.

Fonte: Autoria própria (2022).

4.5 CURVA ANALÍTICA

4.5.1 Análise imediata após revelação

Inicialmente a construção da curva analítica foi realizada, sem replicata, em concentração de 0 –100% (m/m) de biodiesel em diesel. Avaliou-se por meio dessa curva qual o meio de revelação seria mais adequado para o uso do aplicativo

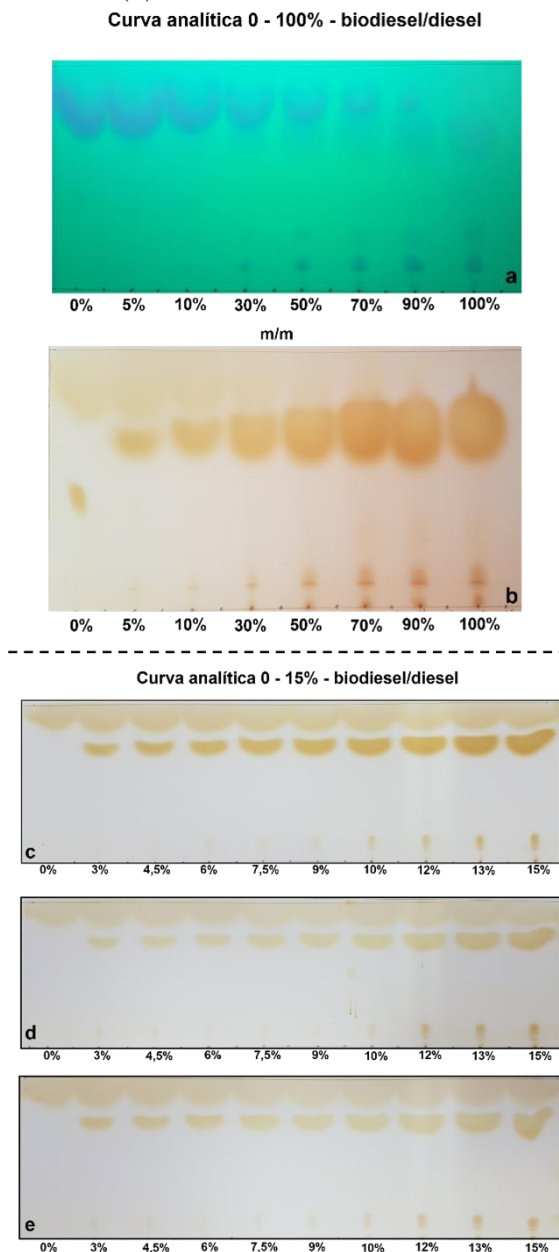
PhotoMetrix®, ou seja, foi avaliado se os dados obteriam melhores resultados ao serem revelados em luz UV ou em câmara saturada com iodo sólido.

Os resultados mostraram (Figura 4) que, as revelações em iodo além de facilitar o manuseio das placas para aquisição das imagens, ocasionaram valores mais significativos dos parâmetros analíticos (Figura 5). Dadas essas conclusões, foram utilizadas para as análises seguintes apenas revelação em câmara de iodo. Cabe ressaltar que, a curva analítica de 0 - 100% (m/m) apresentou valores de LD e LQ relativamente altos, visto que o LQ está acima do valor de biodiesel em diesel determinado pela ANP, mostrando não ser aplicável para este estudo.

Com o objetivo de melhorar esses resultados, planejou-se uma nova curva, em triplicata, variando a concentração de 0 a 50% m/m. Os resultados obtidos também apresentaram parâmetros analíticos insatisfatórios para a metodologia utilizada uma vez esperavam-se valores de LD e LQ abaixo 11%.

Com o intuito de adequar os valores de LD e LQ para quantificação de biodiesel em diesel, visto que as amostras apresentam faixas de adulteração próximas ao limite estabelecido pela ANP (2019) que é de 11%, uma nova curva variando de 0 a 30% (m/m), foi preparada. Para as novas curvas preparadas avaliando o de coeficiente de determinação (R²) o valores obtidos foram insatisfatórios (0,7946; 0,8810 e 0,7047) para as placas 1, 2 e 3, respectivamente. Esses valores sinalizam que os valores reais não se correlacionam bem com os valores preditos pelo aplicativo. Os valores de LD e LQ também foram acima do esperado, tornando a sua utilização inviável.

Figura 4: Curva analítica 0 – 100% m/m biodiesel:diesel revelada em luz UV (a) e em iodo (b) e 0 – 15% m/m biodiesel:diesel.

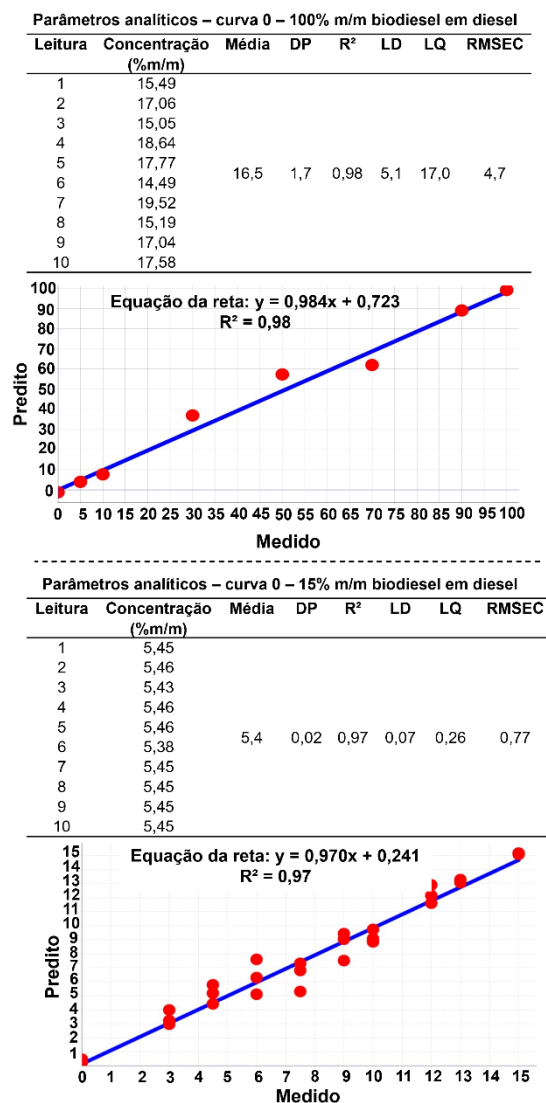


Fonte: Autoria própria (2022).

Foi preparada então uma nova curva, com variação de 0 a 15% m/m (Figura 4 c, d e), visto que as preparadas anteriormente foram insatisfatórias. Para cada ponto da curva foram obtidas três imagens. Pela Figura 5, verifica-se que valores de LD, LQ e erro médio de calibração (RMSEC) mais baixos foram obtidos apontando maior sensibilidade do

método para quantificação em amostras de concentração desconhecida. Os dados ainda mostram um R^2 de 0,97 apontando melhor linearidade de resposta (Figura 5).

Figura 5: Curva de calibração e parâmetros analíticos 0 – 100% e 0 – 15% m/m de biodiesel em diesel.



Fonte: Autoria própria (2022).

Com esses novos resultados, a curva mostrou-se aplicável para quantificação de valores abaixo da norma, tornando sua utilização mais precisa e exata.

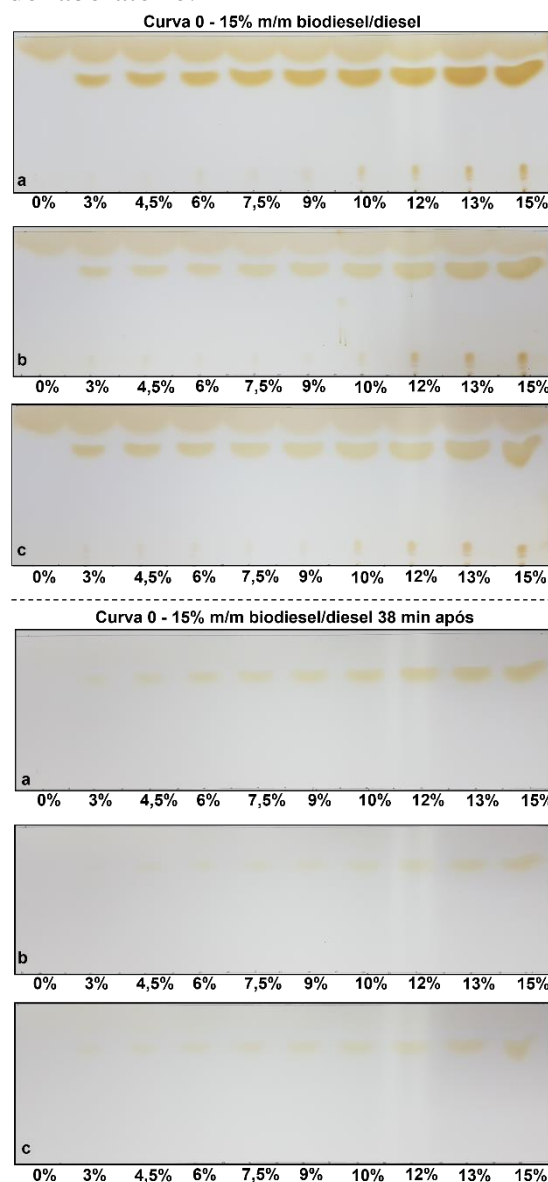
Os dados acima foram obtidos pela curva analítica preparada na primeira cromatoplaça, visto que a segunda e a terceira apresentaram valores de LD e LQ altos. Isso pode ter acontecido porque o

iodo adsorvido nas placas 2 e 3 pode ter evaporado enquanto era realizada a aquisição das imagens da primeira placa, fazendo com que as manchas perdessem cor, deixando-as mais claras o que influencia nos resultados obtidos pelo aplicativo que faz uso do sistema RGB para a compilação dos dados.

4.5.2 Análise versus tempo

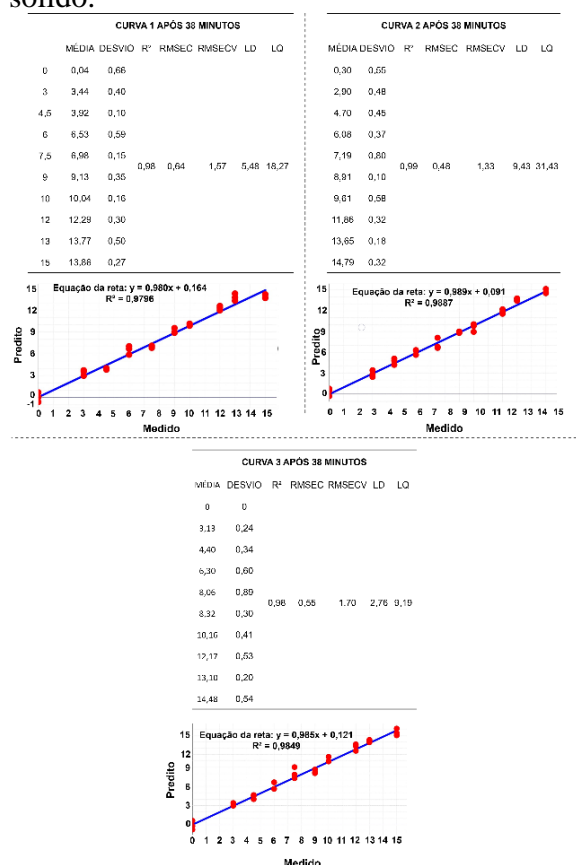
Outra variável avaliada foi relacionada a aquisição das imagens pelo aplicativo após determinado tempo. Depois de reveladas, as placas foram deixadas expostas ao ambiente do laboratório, por 38 minutos, antes das imagens serem capturadas a fim de analisar a viabilidade da sua utilização após determinado tempo (Figura 6). Para todas as placas, os valores de LD e LQ foram altos. Em alguns casos os valores de R^2 foram melhores que nas curvas reveladas por imediato, no entanto, com valores dos parâmetros analíticos altos, a utilização das curvas reveladas após 38 minutos se mostrou inviável para amostras de baixa concentração (Figura 7). O valor de R^2 correlaciona que os valores preditos estão dentro do esperado, porém, a quantificação de baixos teores de biodiesel em blendas de biodiesel/diesel não será satisfatória devido aos altos valores obtidos de LD e LQ. Esses valores maiores podem estar associados a interferência de luminosidade como também ao tempo de exposição da placa no ambiente do laboratório pela perda da coloração dos spots.

Figura 6: Curvas analíticas 0 – 15% m/m biodiesel/diesel (a, b, c) após revelação em câmara saturada com iodo sólido e (c, d, e) após exposição de 38 minutos ao ambiente do laboratório.



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 7: Curva e parâmetros analíticos para quantificação de biodiesel em diesel após 38 min de revelação em saturação de iodo sólido.



Fonte: Autoria própria (2022).

4.6 QUANTIFICAÇÃO EM AMOSTRAS COMERCIALIZADAS

Um total de 15 amostras comerciais foram disponibilizadas para o estudo. Para a inserção dos dados no aplicativo, utilizou-se a aquisição de três imagens sucessivas de cada amostra para cada placa, uma vez que a análise foi realizada em triplicata. Após o processamento das imagens e geração dos valores preditos pelo aplicativo realizou-se a média entre os valores obtidos como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2: Quantificação de biodiesel em amostras de diesel comercializadas pelo aplicativo PhotoMetrix.

AMOSTRA	PLACA 1 (%)	PLACA 2 (%)	PLACA 3 (%)
B1	5,5±3,0	8,1±3,1	10,4±0,73
B2	8,6±3,7	9,9±4,1	8,0±2,2
B3	10,7±1,2	10,5±2,5	7,02±1,4
B4	9,1±0,16	12,3±1,9	9,3±2,9
B5	10,4±3,6	7,3±3,4	8,5±1,4
B6	9,8±0,92	6,9±1,4	8,8±3,4
B7	9,7±0,38	8,7±0,47	10,6±1,2
B8	7,1±3,2	12,3±0,47	11,1±0,64
B9	6,0±1,4	8,1±0,43	7,4±1,7
B10	7,4±1,5	8,4±3,4	7,5±1,1
B11	6,0±2,5	6,8±2,4	3,4±3,8
B12	8,8±1,08	8,5±1,3	9,9±0,86
B13	10,7±2,0	6,1±1,2	8,2±0,46
B14	11,1±2,8	4,8±1,2	10,4±3,1
B15	7,2±3,7	5,2±1,8	7,7±0,23

Fonte: Autoria própria (2022).

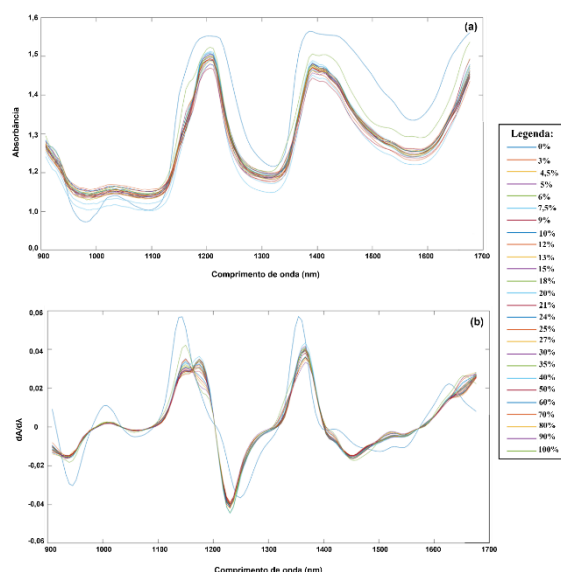
Conforme os dados mostrados na Tabela 2, é possível observar que para a placa cromatográfica 1 apenas a amostra B14 encontra-se dentro do valor estabelecido pela ANP que é de 11% de biodiesel em amostras de diesel. Já para a placa cromatográfica 2 duas amostras (B4 e B8) encontram-se dentro dos padrões estabelecidos, ou seja, as demais estariam enquadradas fora dos 11% de biodiesel em diesel caracterizando o não cumprimento da regulamentação da ANP. O mesmo fato é observado para a placa cromatográfica 3 em que apenas a amostra B8 estaria dentro do padrão. Por ser uma proposta metodológica nova é importante realizar a análise das amostras por uma técnica já difundida cientificamente para a verificação dos valores obtidos pelo aplicativo.

Correia e colaboradores (2018), propõe em seu estudo a quantificação de biodiesel em amostras de diesel por meio da técnica de espectroscopia do infravermelho próximo com o emprego de um equipamento portátil (microNIR), visto que esta técnica ganhou destaque no setor de

controle de qualidade. Foram preparadas 181 misturas com concentração variando de 0 – 100% m/m e por meio de modelos quimiométricos foi possível determinar valores de $R^2 = 0,998$, LD = 0,5% m/m, LQ = 1,8% m/m, RMSECV – 1,6% m/m e RMSEP = 1,8% m/m (CORREIA et al., 2018).

Com base nesse estudo e a disponibilidade do equipamento no laboratório empregou-se o MicroNIR como método de referência para avaliar os resultados obtidos por imagem digital associada ao aplicativo de smartphone PhotoMetrix®. As bandas entre 1100 - 1200 nm correspondem ao segundo sobretom dos grupos funcionais C-H, muito abundante em blendas de diesel. Outras bandas similares se encontram entre 1300 - 1400 nm e 900 - 1000 nm. Essas são referentes ao terceiro sobretom dos grupos CH, CH₂ e CH₃. Na região entre 1300 - 1680 há muitos sinais altos. Nesta região é possível distinguir o biodiesel do diesel, devido ao segundo sobretom de OH muito presentes em cadeias alifáticas do biodiesel, derivadas de ácidos graxos (Figura 8) (CORREIA et al., 2018; PAIVA et al., 2015).

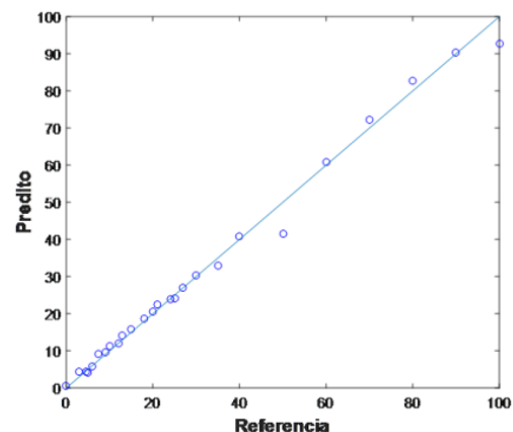
Figura 8: Espectro de MicroNIR de blendas de biodiesel e diesel (a) original e (b) primeira derivada.



Fonte: Autoria própria (2022).

O modelo de PLS foi construído com 5 variáveis latentes (Figura 9). Os valores de predição se relacionaram muito bem com os dados reais, com valor de R^2 de 0,99. Os valores de LD e LQ foram 1,4% m/m e 4,6% m/m respectivamente, se mantendo dentro esperado (Tabela 3). Esses valores demonstram a sensibilidade do método frente a amostras de diesel/biodiesel podendo ser quantificadas até mesmo em amostras de baixas concentrações. Cabe ressaltar que foi obtido um valor bom para o erro médio de predição, (RMSEP = 2,5) demonstrando que o método é adequado e confiável para quantificação de biodiesel em diesel.

Figura 9: Curva analítica de 0 - 100% m/m de biodiesel em diesel para o modelo quimiométrico PLS.



Fonte: Autoria própria (2022).

Tabela 3: Figuras de mérito para curva analítica obtida por meio do MicroNIR.

Parâmetros analíticos				
R^2	RMSEP	VIES	LD	LQ
0,99	2,5	-0,30	1,4	4,6

Fonte: Autoria própria (2022).

É possível observar pela Tabela 4 os valores obtidos pelo MicroNIR e pelo aplicativo PhotoMetrix®. Os dados foram obtidos em triplicata, sendo que para cada placa cromatográfica as imagens foram obtidas, também, em triplicata ponto a ponto.

Tabela 4: Quantificação de biodiesel em amostras comercializadas de diesel por MicroNIR e pelo aplicativo PhotoMetrix.

AMOS -TRA	% m/m MicroNIR	PLACA 1 (% m/m)	PLACA 2 (% m/m)	PLACA 3 (% m/m)
B1	11,6	5,5±3,06	8,1±3,05	10,4±0,73
B2	9,2	8,6±3,7	9,9±4,1	8,01±2,1
B3	10,5	10,7±1,2	10,5±2,5	7,02±1,4
B4	12,0	9,1±0,16	12,3±1,9	9,3±3,0
B5	9,4	10,4±3,6	7,3±3,4	8,4±1,4
B6	10,7	9,8±0,92	6,9±1,4	8,8±3,4
B7	12,7	9,7±0,38	8,7±0,47	10,6±1,2
B8	8,6	7,1±3,2	12,3±0,47	11,1±0,64
B9	8,6	6,0±1,4	8,1±0,43	7,4±1,7
B10	8,9	7,4±1,5	8,4±3,37	7,5±1,1
B11	10,4	6,0±2,5	6,8±2,4	3,4±3,8
B12	6,8	8,8±1,08	8,5±1,3	9,9±0,86
B13	9,2	10,7±2,0	6,1±1,2	8,2±0,46
B14	10,1	11,1±2,8	4,8±1,2	10,4±3,1
B15	6,5	7,2±3,7	5,2±1,8	7,7±0,23

Fonte: Autoria própria (2022).

Para compararmos os dados obtidos pelo aplicativo com os do MicroNIR realizou-se o teste-t pareado. Por meio da Tabela 5, observa-se que para as placas 1 e 3 obtivemos médias equivalentes (teste t) entre o PhotoMetrix e MicroNIR, ou seja, o método proposto apresenta boa exatidão considerando teste bi-caudal e intervalo de confiança de 95 %. Os resultados obtidos foram bons, visto que os valores de p-valor para as placas 1 e 3 foram acima de 5% indicando que não deve-se rejeitar a hipótese nula, sendo as médias iguais ou equivalentes.

Tabela 5: Testes estatísticos entre dados do MicroNIR e PhotoMetrix.

Teste estatísticos	MicroNIR vs Photometrix (placa 1)	MicroNIR vs Photometrix (placa 2)	MicroNIR vs Photometrix (placa 3)
t calculado	1,9	2,2	1,8
t tabelado	2,1	2,1	2,1
p-valor	7,9%	4,4%	9,2%
	médias equivalentes	médias diferentes	médias equivalentes

Fonte: Autoria própria (2022).

5 CONCLUSÕES

Neste estudo foi proposto um planejamento experimental para análise de

CCD aplicado a quantificação de biodiesel em diesel. Foram avaliados os instrumentos de aplicação, tipo e suporte, fase móvel, volume de padrão/amostra e meio de revelação da placa cromatográfica. É importante destacar que após o estudo determinou-se como melhor instrumento de aplicação a microseringa (25µL) com volume de 4µL padrão/amostra, seguida do suporte de vidro para a cromatoplaça associada a fase móvel éter de petróleo:éter etílico:ácido acético (90:10:1 v/v) e revelação em iodo. A quantificação de adulterações em misturas de diesel/biodiesel por aplicativo mostrou satisfatória para curva analítica de 0- 15% (m/m) com valores de R², RMSEC, RMSECV, LD e LQ iguais a 0,97; 0,77; 2,6; 0,08 e 0,26% m/m, respectivamente. Utilizou-se como método de referência, para comparação dos dados obtidos, técnica de espectroscopia de infravermelho na região do próximo a partir de equipamento portátil (MicroNIR). Os resultados indicam o potencial do uso de imagens digitais associadas ao aplicativo de smartphone, PhotoMetrix®®, como meio de quantificação de biodiesel. A técnica mostra-se simples e de baixo custo além de ser promissora nos casos de investigação de adulteração de combustíveis.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPES (EDITAL FAPES/CNPq N° 13/2018 – PICJr – TERMO DE OUTORGA: 480/2108) and CNPq (422555/2018-5, e 305359/2017-7) pelo suporte financeiro. Os autores agradecem também ao Núcleo de Competências em Química do Petróleo e ao LabPetro, Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Vila Velha e Campus Cariacica pelo uso das instalações e desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ENERGÉTICA, E. de P. **Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis – Ano 2020**. 2021. https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-615/NT-EPE-DPG-SDB-2021-03_Analise_de_Conjuntura_dos_Biocombustive.
- CORREIA, R. M.; DOMINGOS, E.; CÁO, V. M.; ARAUJO, B. R.F.; SENA, S.; PINHEIRO, L. U.; FONTES, A. M.; AQUINO, L. F. M.; FERREIRA, E. C.; FILGUEIRAS, P. R.; ROMÃO, W. Portable near infrared spectroscopy applied to fuel quality control. **Talanta**, v. 176, p. 26-33, jan. 2018.
- ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA. US DEPARTMENT OF ENERGY. . **ASTM Biodiesel Specifications**. 2016. Disponível em: https://afdc.energy.gov/fuels/biodiesel_specifications.html#b20. Acesso em: 31 maio 2022.
- LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. da. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.
- ROCHA, G. da; COLNAGO, L. A.; MORAES, T. B.; ZAGONEL, G. F.; MUNIZ, G. I. B. de; PERALTA-ZAMORA, P. G.; BARISON, A. Determination of Biodiesel Content in Diesel Fuel by Time-Domain Nuclear Magnetic Resonance (TD-NMR) Spectroscopy. **Energy & Fuels**, v. 31, n. 5, p. 5120-5125, 26 abr. 2017.
- CUNHA, I. B. S.; FERNANDES, A. M. A. P.; TEGA, D. U.; SIMAS, R. C.; NASCIMENTO, H. L.; SÁ, G. F. de; DARODA, R. J.; EBERLIN, M. N.; ALBERICI, R. M. Quantitation and Quality Control of Biodiesel/Petrodiesel (Bn) Blends by Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry. **Energy & Fuels**, v. 26, n. 11, p. 7018-7022, 19 out. 2012.
- BORSATO, D.; MOREIRA, I.; PINTO, J. P.; MOREIRA, M. B.; NOBREGA, M. M.; CONSTANTINO, L. V. Análise físico-química de diesel interior em mistura com biodiesel. **Acta Scientiarum**. Technology, v. 32, n. 2, p.187-192, 12 jul. 2010.
- SOARES, S; LIMA, M J.; ROCHA, F. R. A spot test for iodine value determination in biodiesel based on digital images exploiting a *smartphone*. **Microchemical Journal**, v. 133, p.195-199, 2017.
- HELPER, G. A.; MAGNUS, V. S.; BOCK, F. C.; TEICHMANN, A.; FERRAO. M. F.; COSTA, A. B. da. PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, p.328-335, 2016.
- MATTEI, L. Programa Nacional para Produção e Uso do Biodiesel no Brasil (PNPB): Trajetória, Situação Atual e Desafios. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 41, n. 04, p.3-10, out. 2009.
- BYRNE, L.; BARKER, J.; PENNARUNTHOMAS, G.; DIAMOND, D. Digital imaging as a detector for generic analytical measurements. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, v. 19, n. 8, p.517-522, ago. 2000.
- COSTA, R.; MORAIS, C. L. M.; ROSA, T. R.; FILGUEIRAS, P. R.; MENDONÇA, M. S.; PEREIRA, I. E. S.; VITTORAZZI, B. V.; LYRA, M. B.; LIMA, K. M. G.; ROMÃO, W. Quantification of milk adulterants (starch, H₂O₂, and NaClO) using colorimetric assays coupled to *smartphone* image analysis. **Microchemical Journal**, v. 156, p. 104968, jul. 2020.

FRANCO, M. de O. K.; SUAREZ, W. T.; SANTOS, V. B. dos; *RESQUE, I. S.* A novel digital image method for determination of reducing sugars in aged and non-aged cachaças employing a *smartphone*. **Food Chemistry**, v. 338, p. 127800-11, fev. 2021.

CONSTANTINO, A. F.; CUBIDES-ROMÁN, D. C.; SANTOS, R. B. dos; QUEIROZ, L. H.K.; COLNAGO, L. A.; C. NETO, Á.; BARBOSA, L. L.; ROMÃO, W.; CASTRO, E. V.R. de; FILGUEIRAS, P. R.; LACERDA, V. Determination of physicochemical properties of biodiesel and blends using low-field NMR and multivariate calibration. **Fuel**, v. 237, p. 745-752, fev. 2019.

ABDELNUR, P. V.; SARAIVA, S. A.; CATHARINO, R. R.; COELHO, M.; SCHWAB, N.; GARCIA, C. M.; SCHUCHARDT, U.; SOUZA, V. de; EBERLIN, M. N. Blends of Soybean Biodiesel with Petrodiesel: direct quantitation via mass spectrometry. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, p. 946-952, 2013.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. da S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja: taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p.19-23, fev. 2005.

Eurachem. **The Fitness for Purpose of Analytical Methods**: a laboratory guide to method validation and related topics. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2014. Disponível em: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf. Acesso em: 15 nov. 2019.

PAIVA, E. M.; ROHWEDDER, J. J. R.; PASQUINI, C.; PIMENTEL, M. F.; PEREIRA, C. F. Quantification of biodiesel and adulteration with vegetable oils in diesel/biodiesel blends using

portable near-infrared spectrometer. **Fuel**, v. 160, p. 57-63, nov. 2015.