

AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO E DA ADULTERAÇÃO DE BIODIESEL ATRAVÉS DA ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA.

Denise Rocco de Sena¹, Geovane Lopes de Sena², Tamires Lacerda da Silva³ e Rafaella de Rezende Marques⁴.

Resumo: Neste trabalho foi realizado um estudo comparativo dos espectros de emissão de óleos vegetais de soja, canola, milho, girassol e seus respectivos biodieseis. Foi avaliada também a sensibilidade da espectroscopia de fluorescência em detectar a presença de óleo residual de fritura como adulterante em biodiesel de soja. Os resultados mostraram que a espectroscopia de fluorescência não discriminou os diferentes tipos de óleo, entretanto, mostrou um grande potencial para avaliar grau de envelhecimento de óleos e biodieseis, visto que a degradação de compostos fluorescentes pôde ser monitorada. Nas misturas de biodiesel de soja com óleo residual de fritura, a espectroscopia de fluorescência se mostrou eficiente, quando pelo menos 1% de óleo residual de fritura estava presente na mistura.

Palavras-chave: Biodiesel; Fluorescência; Óleo vegetal.

EVALUATION OF DEGRADATION AND CORRUPTION OF BIODIESEL BY FLUORESCENCE SPECTROSCOPY.

Abstract: In this paper a comparative study of the emission spectra of vegetable oils from soybeans, canola, corn, sunflower and their biodiesels was done. We also evaluated the sensitivity of fluorescence spectroscopy to detect the presence of residual frying oil as an adulterant in soybean biodiesel. The results showed that the fluorescence spectroscopy did not distinguish the different types of oil, however, has shown great potential to evaluate the degree of aging of oils and biodiesels, since the degradation of fluorescent compounds could be monitored. In soybean biodiesel blends with frying oil, the fluorescence spectroscopy proved effective when at least 1% residual frying oil was present in the mixture.

Keywords: Biodiesel; Fluorescence; Vegetable oil.

INTRODUÇÃO

¹ Pesquisadora do Instituto Federal do Espírito Santo – *campus* Vila Velha. *E-mail* para contato: denisesena@ifes.edu.br.

² Pesquisador da Universidade Federal do Espírito Santo – *campus* Goiabeiras.

³ Aluna de Iniciação Tecnológica do Instituto Federal do Espírito Santo – *campus* Vila Velha.

⁴ Aluna de Iniciação Científica do Instituto Federal do Espírito Santo – *campus* Vila Velha.

O biodiesel é um biocombustível obtido a partir de óleos vegetais. Varias técnicas foram desenvolvidas para caracterizar o biodiesel com o objetivo de identificar, classificar e monitorar a presença de adulterantes, que são adicionados ao biodiesel alterando sua composição, sem, contudo, modificar as propriedades recomendadas pela Agência Nacional do Petróleo (ANP) para sua certificação (ANP, 2012). Entretanto, o biodiesel pode sofrer alterações em sua composição, durante o armazenamento, em virtude da ação do oxigênio do ar ou mesmo da ação da luz, alterando suas propriedades físico-químicas iniciais (JAKERIA, 2014). A investigação de novas técnicas com potencial para o desenvolvimento de métodos de fácil aplicação é importante para controlar a qualidade do biodiesel.

O biodiesel obtido a partir de óleos vegetais apresenta uma fluorescência intrínseca, que é devida à presença de resíduos fluorescentes provenientes dos óleos vegetais originais. Isso confere ao biodiesel uma propriedade que pode ser explorada com o objetivo de contribuir para o aumento do número de técnicas com capacidade de atestar um produto dentro das normas exigidas pelos órgãos governamentais. Scherer (2011) e Caires (2012) constataram a eficiência da fluorimetria na quantificação de biodiesel em misturas de diesel/biodiesel. A emissão de fluorescência mostrou uma dependência linear com o conteúdo de biodiesel na mistura. Nesses estudos, os espectros foram obtidos a partir do biodiesel puro, sem diluição, e verificou-se que o perfil da curva espectral foi independente do tipo de óleo a partir do qual o biodiesel foi obtido.

As espécies responsáveis pela emissão de fluorescência pelos biodieseis e óleos vegetais ainda são objeto de discussão (MAGALHÃES, 2014 e ESCUDEIROS, 2009). Na literatura é estimada uma faixa de comprimento de onda, onde a emissão é atribuída aos diferentes compostos: (i) entre 300-400 nm geralmente é atribuída a tocoferóis; (ii) entre 420-490 nm atribui-se a polienos conjugados; (iii) entre 650-700 nm é atribuída a clorofila e feofitinas. Utilizando padrões, Magalhães e colaboradores (2014) concluíram que a banda observada entre 350-500 nm deve ser atribuída a tetraenos conjugados, provenientes da degradação de moléculas insaturadas, como o linolenato de metila. Mas

deve-se lembrar que associar o comportamento de um padrão com moléculas imersas em um meio altamente sinérgico pode levar a interpretações errôneas dos resultados. Muitas interações não previstas podem estar presentes. Chudinova e colaboradores (1993), investigando a interação de vitamina E com derivados oxidados de ácidos graxos, sugeriram a formação de exímeros e excíplexes para explicar o perfil de emissão observado. Portanto, temos um quadro ainda muito especulativo para esses sistemas.

Nesse estudo, foi investigado o perfil de emissão de fluorescência de óleos vegetais e seus respectivos biodieséis puros, de misturas de biodiesel de soja adulterado com óleo residual de fritura, em solução de n-hexano 0,1% (v/v), para minimizar efeitos de autoquenching e transferência de energia. Modificações na banda de emissão dos óleos vegetais e biodiesel foram analisadas.

PERCURSO METODOLÓGICO

Foram utilizados óleos vegetais de canola, milho, girassol e soja, adquiridos no mercado local. Todos os óleos se encontram dentro do prazo de validade. Os biodieséis foram obtidos a partir dos óleos comprados. Foram preparadas soluções 0,1% (v/v) de óleo vegetal e biodiesel em n-hexano, grau HPLC, para obtenção dos espectros de fluorescência. As soluções preparadas foram deixadas em repouso por pelo menos 24h após a dissolução através de banho ultrassônico. A densidade óptica das soluções foi abaixo de 0,5 e não foi observada nenhuma emissão de fluorescência a partir do solvente puro.

Os espectros de fluorescência foram obtidos em um espectrofluorímetro Perkin Helmer LS 55, com resolução de 0,5 nm, pelo método de ângulo reto, utilizando filtro para atenuação de luz de excitação espalhada até 390 nm. A velocidade de varredura que apresentou um espectro com melhor resolução foi de 50 nm/min. O comprimento de onda de excitação, que apresentou resultados reprodutíveis foi o de 330 nm. Uma fenda de excitação de 15 nm combinada com uma fenda de emissão de 10 nm foram as que apresentaram a melhor razão sinal/ruído. Foi utilizada célula de quartzo com dimensões de 10 mm x 10 mm.

O espectro de fluorescência da Vitamina E comercial (Ester de acetato de α -tocoferol), foi obtido nas mesmas condições utilizadas nas amostras de óleos e biodiesel, para comparação.

As medidas de viscosidade foram feitas utilizando um sistema automático de determinação de viscosidade capilar da SCHOTT Instruments GmbH: AVS 370, acoplado a um banho termoeletrônico (SCHOTT Instrument) com precisão de $\pm 0,01^\circ\text{C}$. A aquisição de dados e cálculos da viscosidade foram feitos através do *software* Winvisco – Version 3.79.8k – interfaceado com o aparelho. Foram utilizados viscosímetros certificados, do tipo Ubbelohde, com constantes viscosimétricas de $0,3100 \text{ mm}^2/\text{s}^2$, para medir os óleos vegetais e $0,03299 \text{ mm}^2/\text{s}^2$, para medir os biodieseis. Antes de cada medida, os viscosímetros foram lavados com n-heptano e secos com acetona. Os valores de viscosidade foram obtidos a partir da média de cinco medidas de tempo de escoamento a 40°C .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise comparativa dos espectros de emissão de óleos vegetais e biodiesel.

A figura 1 mostra o espectro de emissão dos óleos vegetais utilizados, em solução de n-hexano 0,1 % (v/v). Os resultados mostram o aparecimento de uma banda larga no intervalo de 350 nm até 575 nm, com máximo de emissão em 430 nm, aproximadamente, apresentando um ombro próximo a 515 nm. O perfil do espectro é independente do tipo de óleo. Segundo a literatura já citada, essa banda aparece em uma região que pode ser atribuída a tocoferóis, polienos conjugados e produtos de oxidação do óleo (REDA, 2009 e TENA, 2009). A diferença marcante é a intensidade da fluorescência, que está diretamente ligada à concentração das espécies fluorescentes, conforme a figura abaixo.

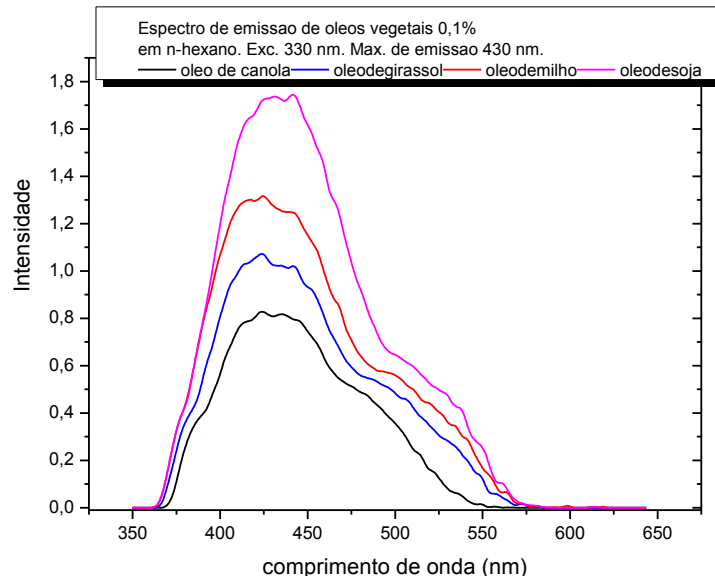


Figura 1. Espectro de emissão dos diferentes óleos utilizados em solução de n-hexano 0,1% (v/v). $\lambda_{exc.} = 330$ nm.

A Figura 2 apresenta um quadro comparativo entre os espectros de emissão dos óleos vegetais e seus respectivos biodieseis. Nota-se que o perfil de emissão dos biodieseis é o mesmo, sugerindo que as espécies fluorescentes presentes são as mesmas presentes nos óleos vegetais. Para os biodieseis de soja e de canola, nota-se uma maior redução na intensidade de emissão, quando comparada com a emissão dos respectivos óleos. Para os biodieseis de milho e girassol, as intensidades não são significativamente alteradas. Isso pode ser atribuído à perda de fluoróforos durante o processo de purificação do biodiesel ou ao efeito da variação na viscosidade do meio. A primeira suposição pode ser descartada, uma vez que foi utilizada a mesma rota de preparação para todos os biodieseis. Com isso, deveria ser observada uma proporcionalidade na redução da intensidade. O aumento de viscosidade, por sua vez, diminui a mobilidade molecular, inibindo os processos de desativação não radiativos, tais como colisões intermoleculares e relaxações vibracionais. Isso aumenta a probabilidade de emissão de fluorescência. Portanto, era de se esperar que, se esse fosse o único fator responsável pela diminuição da intensidade de fluorescência, maiores diminuições de viscosidade

levariam a uma maior redução na intensidade de fluorescência. As viscosidades dos óleos e respectivos biodieseis são apresentadas na Tabela 1. A viscosidade dos biodieseis obtidos a partir dos óleos usados neste trabalho são muito equivalentes. As maiores variações de viscosidade são observadas para biodieseis de canola e girassol, e a menor para óleo de soja. No entanto, a redução na intensidade de emissão observada para o biodiesel de soja é comparável à do biodiesel de canola, que tem um $\Delta\eta$ bem maior. Isso sugere que a viscosidade não determina o comportamento observado para esses sistemas.

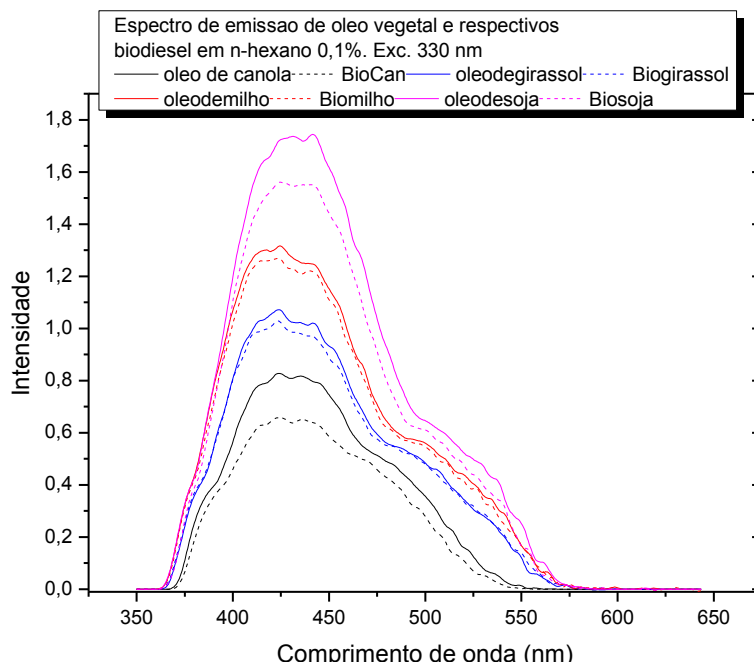


Figura 2. Espectro de emissão dos óleos vegetais e seus respectivos biodieseis em solução de n-hexano 0,1% (v/v). $\lambda_{exc.} = 330$ nm.

Tabela 1. Viscosidade (η) dos óleos vegetais e respectivos biodieseis, determinadas a 40°C. Razão de intensidade de fluorescência em 430 nm.

Óleo	$\eta_{Óleo}(\text{mm}^2/\text{s})$	$\eta_{Biod.}(\text{mm}^2/\text{s})$	$\Delta\eta(\text{mm}^2/\text{s})$	I_{oleo}/I_{bio}
Soja	31,47	4,51	26,96	1,1197
Milho	33,72	5,00	28,72	1,0391
Canola	35,53	5,00	30,53	1,2644
Girassol	35,20	3,89	31,31	1,0390

$I_{\text{óleo}}$ = intensidade do óleo em 430 nm. $I_{\text{biod.}}$ = intensidade do biodiesel em 430 nm.

Essa supressão pode estar relacionada à formação de compostos ou agregados não fluorescentes. No entanto, esses resultados mostram que os fluoróforos presentes nos óleos vegetais e nos biodieseis estão experimentando o mesmo ambiente quando soluções com concentração próximas à usada neste trabalho são utilizadas. Espectros obtidos a partir de biodieseis puros podem levar a interpretações errôneas de resultados a respeito das espécies responsáveis pelas emissões. Isso pode ser ilustrado pela observação do espectro de emissão da vitamina E em diferentes concentrações. A Figura 3 apresenta os espectros de emissão obtidos a partir de soluções de vitamina E em n-hexano nas concentrações 0,01; 0,1 e 1 % (v/v). Nota-se uma banda semelhante à observada nos espectros dos óleos vegetais e biodieseis, indicando a grande contribuição da vitamina E nos espectros observados para óleos e biodieseis, mas apresentando um máximo de emissão em comprimento de onda mais curto (402 nm), em concordância com a literatura. A intensidade de emissão aumenta com o aumento da concentração; no entanto, na concentração de 1%, observa-se o aparecimento de bandas em 510 e 550 nm, sugerindo a formação de excímeros (dímeros fluorescentes) ou de agregados maiores. Cillard (1985) isolou três dímeros de α -tocoferol por HPLC. Comportamento semelhante foi registrado por Chudinova (1993), investigando a interação de vitamina E com derivados oxidados de ácidos graxos. Interações moleculares que podem distorcer a forma e a intensidade das bandas de emissão são muito prováveis de ocorrer em sistemas complexos como óleo e biodiesel. Dessa forma, deve-se ainda desenvolver estudos mais sistemáticos para serem feitas tais atribuições.

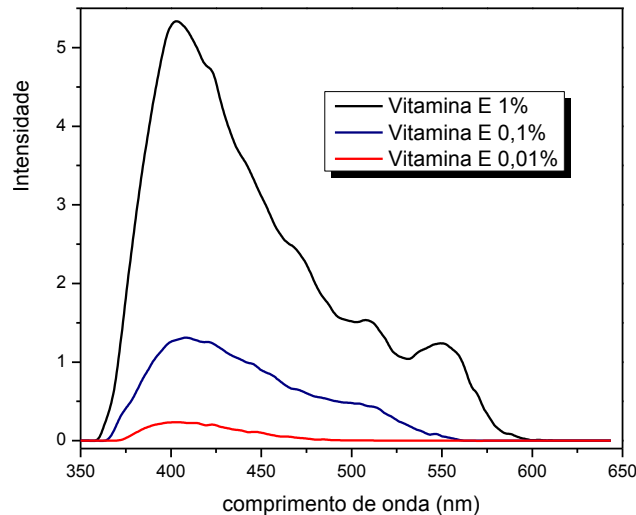


Figura 3. Espectro de emissão da vitamina E em n-hexano com concentrações diferentes. $\lambda_{exc.}=330$ nm.

A Figura 4 mostra um quadro comparativo do espectro de emissão da vitamina E com a emissão dos biodieseis. O resultado mostra a grande contribuição da vitamina E nesse intervalo de comprimento de onda. Comparando essas curvas com os dados publicados por Sikoska (2005) sobre o conteúdo de tocoferol total em óleos comestíveis (Tabela 2), pode-se afirmar que a ordem das intensidades observadas para óleos e biodieseis está diretamente relacionada com o conteúdo de vitamina E no óleo. Dessa forma, pode-se explicar a maior intensidade de emissão apresentada pelo óleo de soja e de milho, pois são os que apresentam maior conteúdo de tocoferóis totais: 775 e 759 mg/L, respectivamente.

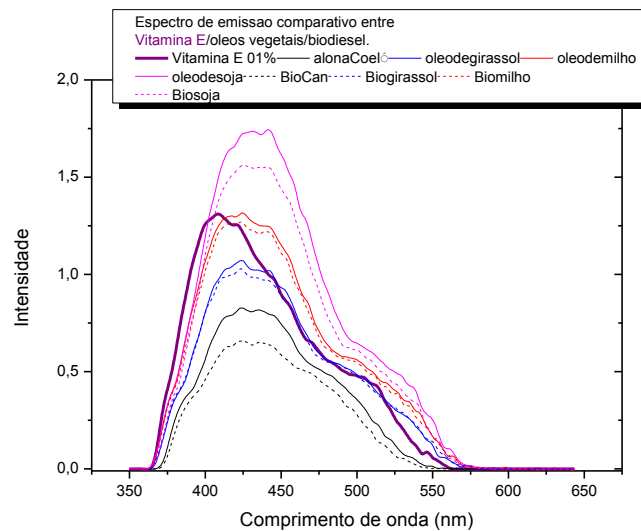


Figura 4. Espectro de emissão comparativo entre vitamina E/óleos vegetais/biodiesel em solução 0,1% em n-hexano. $\lambda_{exc.} = 330 \text{ nm}$. Tabela contendo conteúdo de tocoferol total em vários óleos.

Tabela 2 Conteúdo médio de tocoferol total para vários óleos determinado por Sikorska (2005).

Óleos	Tocoferol total* (mg/cm^3)
Milho	775 (25)
Canola	421(33)
Girassol	671(13)
Soja	759 (15)

*Valores médios determinados em no mínimo três frascos de cada tipo de óleo. Desvios padrões são apresentados entre parênteses.

Estudos de termoxidação de óleos de oliva virgem mostram que tocoferóis degradam mais rapidamente que os outros componentes. Tena (2012), observou que, após 30h de aquecimento, as amostras apresentaram um conteúdo de tocoferol até quarenta vezes menor que o dos outros componentes. Isso é devido a sua ação antioxidante, ou seja, a velocidade de sofrer auto-oxidação, catalisada pela temperatura, é maior e com isso preserva os ácidos graxos presentes no óleo. Magalhães e colaboradores (2014) concluíram que a banda observada entre 350-500 nm deve ser atribuída a tetraenos conjugados, provenientes da degradação de moléculas insaturadas, como o linolenato de metila, pois os outros produtos de degradação não são fluorescentes.

Experimentos de termoxidação acelerada foram realizados, e os espectros de emissão dos biodieseis envelhecidos foram medidos. Os resultados são apresentados na Figura 5.

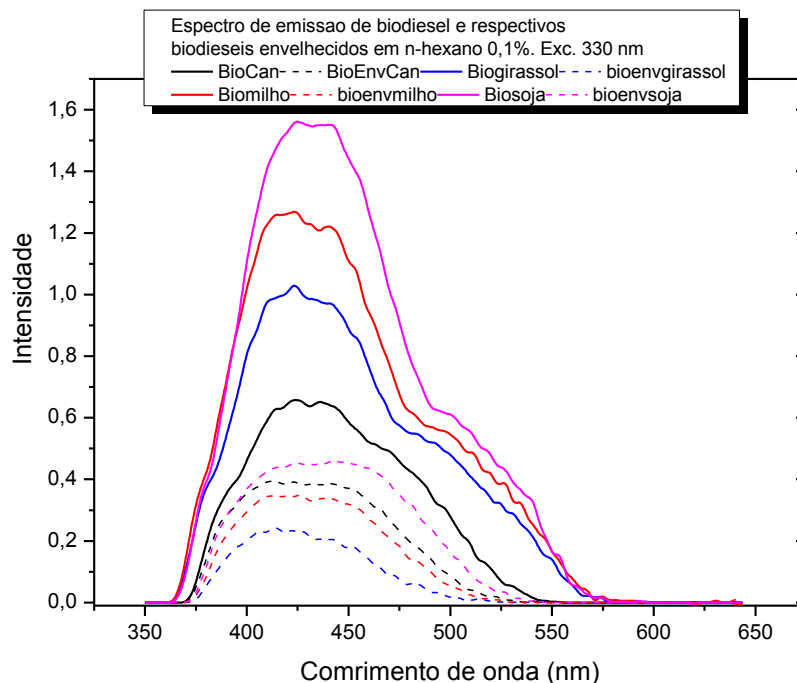


Figura 5. Espectro de emissão em solução de n-hexano 0,1% de biodieseis e respectivos biodieseis envelhecidos por termoxidação acelerada. $\lambda_{exc.} = 330 \text{ nm}$.

Nota-se grande diminuição da intensidade de fluorescência em virtude da oxidação térmica acelerada, para todos os biodieseis, sendo menos pronunciada para o biodiesel de canola. As bandas se tornam mais largas e menos estruturadas. A diminuição da emissão está relacionada principalmente com a degradação termoxidativa da vitamina E presente nos biodieseis. No entanto, para uma interpretação mais correta desses resultados, deve-se levar em conta o teor de ácidos graxos presentes em cada óleo. A Tabela 3 apresenta o percentual médio do teor de ácidos graxos nos óleos utilizados. Em todos os óleos observa-se um maior conteúdo de ácido oleico e linoleico. O ácido linoleico é mais sensível à degradação térmica. Com relação a esse ácido, a canola é o óleo que apresenta um conteúdo significativamente menor quando comparado

aos outros óleos. Isso pode explicar a termoxidação menos pronunciada do biodiesel de canola, pois certamente terá um menor conteúdo de linolenato de metila. Por essa ótica, pode-se explicar também o comportamento do biodiesel de girassol frente à termoxidação, comparando com a composição do seu óleo. Por analogia, o biodiesel de girassol deve apresentar um maior conteúdo de linolenato de etila (Tabela 3) e menor conteúdo de vitamina E (ver Tabela 2), frente aos outros óleos. Tal quadro explica a maior sensibilidade do óleo de girassol à termoxidação. Pela mesma análise, pode-se inferir que os biodieseis de soja e de milho devem possuir quantidades equivalentes de linolenato de metila e vitamina E. Portanto, possuem comportamento semelhante frente à termoxidação. Fazendo a razão entre a intensidade de emissão do biodiesel e a intensidade de emissão do biodiesel envelhecido, ambas em 430 nm, conforme a Tabela 4, pode-se visualizar melhor o comportamento, frente à termoxidação, dos biodieseis estudados. A banda de emissão de fluorescência presente após a termoxidação, pode ser atribuída principalmente aos produtos de decomposição térmica, como por exemplo, os tetraenos conjugados.

Tabela 3. Percentual médio de ácidos graxos presentes em óleos vegetais (ANVISA, 1999)

Tipo de ácido graxo insaturado	Óleo de Soja (g/100g)	Óleo de Milho (g/100g)	Óleo de Girassol (g/100g)	Óleo de Canola (g/100g)
Palmitoléico C 16:1*	< 0,5	< 0,5	< 1,0	< 0,6
Oléico (ω -9) C 18:1	19,0 – 30,0	24,0 – 42,0	14,0 – 35,0	53,0 – 70,0
Linoléico (ω -6) C 18:2	44,0 – 62,0	34,0 – 62,0	55,0 – 75,0	15,0 – 30,0
α -Linolênico (ω -3) C 18:3	4,0 – 11,0	< 2,0	< 0,3	5,0 – 13,0

Tabela 4. Razão das intensidades de emissão em 430 nm, de amostras de biodiesel (I) e biodiesel termoxidado ($I_{env.}$, env.= envelhecido).

Biodiesel	$I/I_{env.}$
Soja	3,4642

Milho	3,6780
Canola	1,6687
Girassol	4,4908

A Figura 6 mostra um quadro comparativo do espectro de emissão do biodiesel de soja e do óleo residual de fritura. Os espectros mostram uma banda larga e intensa em comprimento de onda mais curto. No espectro do óleo residual de fritura, o máximo de emissão está próximo a 415 nm. É observada uma estrutura com mais dois picos. Um próximo a 425 nm e outro próximo a 440 nm. De uma forma mais sutil, a mesma estrutura é observada na banda do espectro do biodiesel, sendo que o máximo está mais próximo de 425nm. Na figura 7, é mostrado o espectro de emissão da vitamina E em n-hexano 0,1 % (v/v), excitado em 330 nm. Nota-se uma grande semelhança com o espectro de emissão do biodiesel de soja, constatando-se a sua grande contribuição na fluorescência observada para esse biodiesel. Em comprimento de onda acima de 500 nm, observa-se um ombro no espectro do biodiesel de soja. Com base no espectro mostrado, pode-se atribuir essa emissão também à vitamina E. Nessa mesma região, observa-se o aparecimento de uma banda, com máximo em 550 nm, no espectro do óleo residual de fritura. Tal emissão pode ser atribuída à formação de produtos de oxidação fluorescentes. Chudinova (1993), investigando a interação de vitamina E com derivados oxidados de ácidos graxos, sugeriu a formação de excíplexes, que são complexos fluorescentes, para explicar essas emissões.

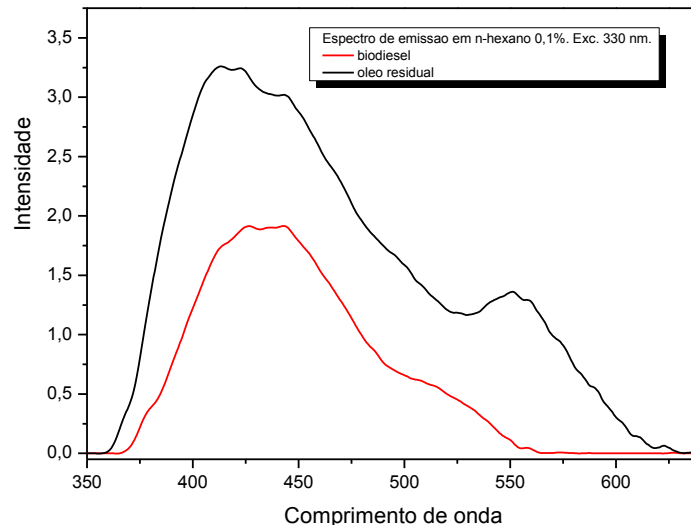


Figura 6. Espectro de emissão de biodiesel de soja e de óleo residual de fritura em solução de n-hexano 0,1% (v/v), com $\lambda_{exc.} = 330$ nm.

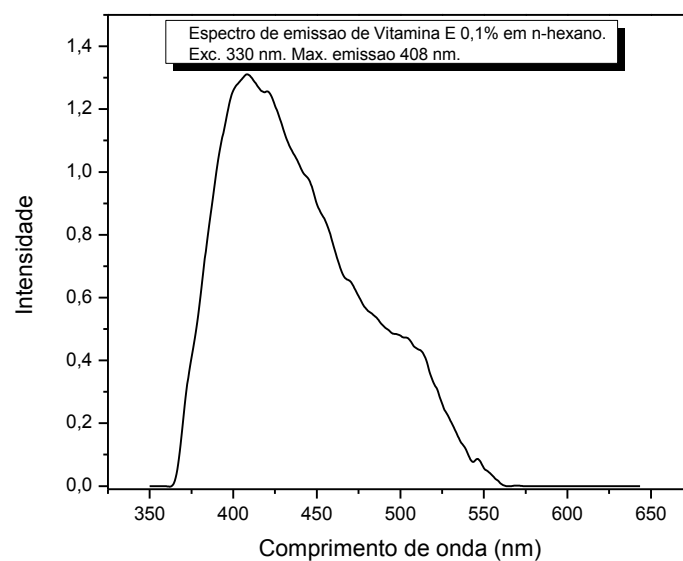


Figura 7. Espectro de emissão de vitamina E em solução de n-hexano 0,1% (v/v) com $\lambda_{exc.} = 330$ nm.

A Figura 8 mostra os espectros de emissão de misturas de biodiesel com óleo residual de fritura. As porcentagens de biodiesel variam de 100 a 50%. As legendas B100 e B50 representam o espectro de biodiesel puro e a mistura com 50% de biodiesel, respectivamente. Nota-se que, com o aumento do teor de óleo residual na mistura, o ombro próximo a 525 nm se torna cada vez mais evidente. Essa mudança no perfil do

espectro pode ser explorada para se avaliar a adulteração de biodiesel com óleo residual de fritura. Para isso, foram selecionados picos no espectro, com base na emissão do biodiesel puro, pois nota-se que a diferença nas intensidades de emissão em 415, 425 e 450 nm, com relação às intensidades de fluorescência em 525 e 550 nm, mudam em função da adição de óleo residual. Calculando a razão entre as intensidades dos picos escolhidos na banda mais intensa e as intensidades em 525 e 550 nm, obtém-se o que chamaremos de quociente de intensidades. Esse procedimento produz os resultados apresentados na figura 9.

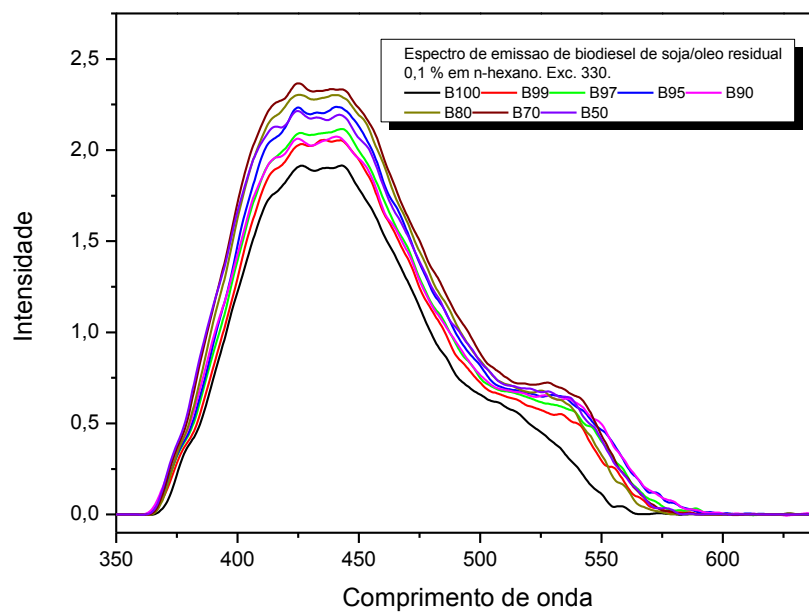


Figura 8. Espectro de emissão de misturas de biodiesel/óleo residual em solução de n-hexano 0,1% (v/v) com $\lambda_{exc.} = 330$ nm.

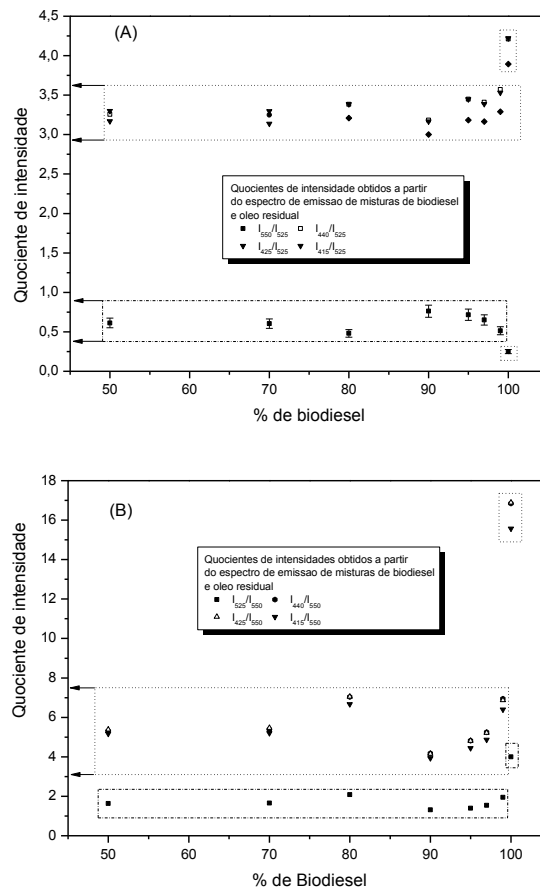


Figura 9. Quocientes de intensidade obtidos a partir de misturas de biodiesel/óleo residual em solução de n-hexano 0,1% (v/v). (A) Quocientes obtidos pela relação I_x/I_{525} . I é a intensidade de emissão e x é 415, 425, 440, ou 550. (B) Quocientes obtidos pela relação I_x/I_{550} . I é a intensidade de emissão e x é 415, 425, 440, 525.

A figura 9 apresenta os quocientes de intensidade obtidos para as misturas de biodiesel/óleo residual no intervalo de composição entre 50% e 100% de biodiesel. Na figura 9A, o quociente I_{550}/I_{525} apresentou uma pequena variação quando comparado ao quociente obtido para o biodiesel puro, B100. Para os quocientes I_{415}/I_{525} , I_{425}/I_{525} e I_{440}/I_{525} , observou-se uma separação maior do valor obtido para a amostra B100. Na figura 9B, da mesma forma, o quociente I_{525}/I_{550} apresentou uma pequena variação quando comparado ao quociente obtido para a amostra B100. No entanto, para os quocientes I_{415}/I_{550} , I_{425}/I_{550} , e I_{440}/I_{525} , o valor do quociente reduziu a menos da metade do valor do quociente obtido para amostra B100, ficando bem mais nítida a separação

entre as amostras adulteradas com óleo residual, com a amostra pura (B100). Isso sugere que, nessas condições e aplicando-se tal procedimento, a espectroscopia de fluorescência é capaz de identificar amostra de biodiesel adulterada com óleo residual com teores a partir de 1%. Portanto, a obtenção de quocientes de intensidade com base na emissão em 550 nm se mostra muito mais eficiente em identificar amostras de biodiesel adulteradas com óleo de fritura.

Apesar dos resultados promissores, misturas complexas como biodiesel e óleos residuais têm a sua composição dependente de vários fatores, que dependem de sua história, desde a produção até o produto final para consumo. Isso faz com que a implantação de qualquer procedimento para classificação desses produtos seja rigorosamente testada, com os mais diversos tipos de amostras e com condições experimentais, fielmente reproduzidas, para avaliar sua reprodutibilidade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nas condições experimentais estudadas mostram que a espectroscopia de fluorescência não consegue diferenciar os diferentes tipos de óleo, mesmo em soluções diluídas, onde efeitos de concentração são minimizados. A espectroscopia de fluorescência mostra um grande potencial para avaliar o grau de envelhecimento de óleos e biodieseis, visto que a degradação de compostos fluorescentes pode ser monitorada. Em se tratando de mistura de biodiesel com óleo residual de fritura, a espectroscopia de fluorescência se mostrou sensível à adulteração do biodiesel com 1% de óleo residual de fritura adicionado. No entanto, mais investigações devem ser feitas, na tentativa de compreender melhor o ambiente molecular que as espécies fluorescentes experimentam, tanto em soluções diluídas como no estado puro.

AGRADECIMENTOS

Ao Ifes, aos programas PIBITI e PIBIC, ao CNPq e ao Núcleo de Competências em Química de Petróleo (UFES).

REFERÊNCIAS

ANP – AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (Brasil). **Resolução ANP nº 14 de 11.5.2012** – DOU 18.5.2012. Disponível em: www.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2012/maio/. Acesso em: 16 jun. 2014.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução nº 482, de 23/09/99. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/resol/482_99.htm. Acesso em: 16 jun. 2014.

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

CILLARD, J., GOBAILLE, J., CILLARDE, P. Separation of three dimers of alpha-tocopherol by high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, 347, p. 434-437, 1985.

CHUDINOVA, V.V., ZAKHAROVA, E.I., ALEKSEEV, S.M. Interaction of vitamin-E (alpha-tocopherol) with oxygenated derivatives of fatty-acids. **Bioorganicheskaya Khimiya**, 19, p. 505-511, 1993.

JAKERIA, M.R., FAZAL, M.A., HASEEB, A.S.M.A. Influence of different factors on the stability of biodiesel: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 30, p. 154-163, 2014.

MAGALHÃES, K.F., CAIRES, A.R.L., SILVA, M.S., ALCANTARA, J.B., OLIVIEIRA, S.L., Endogenous fluorescence of biodiesel and products thereof: Investigation of the molecules responsible for this effect. **Fuel**, 119, p. 120-128, 2014.

SCHERER, M.D., OLIVIEIRA, S.L., LIMA, S.M., ANDRADE, L.H.C., CAIRES, A.R.L. Determination of the biodiesel content in diesel/biodiesel blends: A method based on fluorescence spectroscopy. **Journal of Fluorescence**, 21, p. 1027-1031, 2011.

SCUDEROS, M.E., SAYAGO, A., MORALES, M.T., APARICIO, R. Evaluation of α -tocopherol in virgin olive oil by a luminiscent method. **Grasas y Aceites**, 60, p. 336-342, 2009.

REDA, S.Y., CARNEIRO, P.B. Estudo da termo-oxidação de óleos vegetais por espectroscopia no ultravioleta-visível. **Revista Ciência Agronômica**, 40, p. 48-53, 2009.

TENA, N., GARCIA-GONZALEZ, D.L., APARÍCIO, R. Evaluation of virgin olive oil thermal deterioration by fluorescence spectroscopy. **J. of Agricultural and food chemistry**, 57, p. 10505-10511, 2009.

TENA, N., APARÍCIO, R., GARCIA-GONZALEZ, D.L. Chemical changes of thermoxidized virgin olive oil determined by excitation–emission fluorescence spectroscopy (EEFS), **Food research International**, 45, p. 103-108, 2012.