

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Exatas

Departamento de Química

Juliana Divina Almeida Raposo

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE SÓDIO, POTÁSSIO E CÁLCIO EM
BIODIESEL POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM CHAMA
UTILIZANDO EMULSÃO COMO PREPARO DAS AMOSTRAS**

Belo Horizonte

2010

UFMG/ICEx/DQ.828^a

D.480^a

Juliana Divina Almeida Raposo

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE SÓDIO, POTÁSSIO E CÁLCIO EM
BIODIESEL POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM CHAMA
UTILIZANDO EMULSÃO COMO PREPARO DAS AMOSTRAS**

**Dissertação apresentada ao Departamento de
Química do Instituto de Ciências Exatas da
Universidade Federal de Minas Gerais como
requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Química - Química Analítica .**

Belo Horizonte

2010

Raposo, Juliana Divina Almeida

R219d Determinação simultânea de sódio, potássio e cálcio
2010 em biodiesel por espectrometria de emissão atômica com
D chama utilizando emulsão como preparo das amostras /
Juliana Divina Almeida Raposo. 2010.

ix, 94 f. : il.

Orientador: Paulo Jorge Sanches Barbeira.

Coorientadora: Letícia Malta Costa.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química.
Bibliografia p.85-94.

1.Química analítica - Teses 2.Biodiesel - Teses
3.Emulsão - Teses 4. Espectroscopia de chama - Teses
5.Metals alcalinos - Teses I.Barbeira, Paulo Jorge Sanches, Orientador II.Costa, Letícia Malta, Coorientadora III.Título

CDU 043



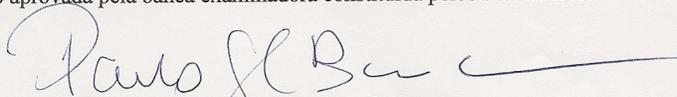
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - ICEX
31270-901 - BELO HORIZONTE - MG
TEL.: 031 - 3409-5732
FAX: 031 - 3409-5711
E-MAIL: pgquimic@qui.ufmg.br

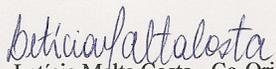


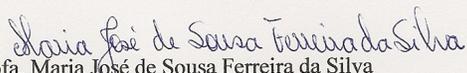
"Determinação Simultânea de Sódio, Potássio e Cálcio em Biodiesel por Espectrometria de Emissão Atômica com Chama Utilizando Emulsão como Preparo de Amostra"

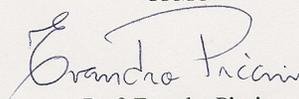
Juliana Divina Almeida Raposo

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Prof. Paulo Jorge Sanches Barbeira - Orientador
UFMG


Profa. Letícia Malta Costa - Co-Orientadora
UFMG


Profa. Maria José de Sousa Ferreira da Silva
UFMG


Prof. Evandro Piccin
UFMG

Belo Horizonte, 30 de julho de 2010.

A Deus pela força e pela vida

*Aos meus amados pais Marcos Antônio e Maria José, e
aos queridos irmãos, pelo amor, amizade e incentivo*

*Ao querido Josan pelo amor, confiança e
companheirismo*

Agradecimentos

Ao professor Paulo Jorge Sanches Barbeira, pela orientação, paciência, incentivo e valiosos conselhos.

A professora Letícia Malta Costa pela orientação e incentivo.

Ao professor Valmir pelas valiosas contribuições indiretas no desenvolvimento desse trabalho.

Aos amigos do laboratório Helga, Gisele, Beatriz, Daniela e Pedro por tudo que vivemos principalmente as alegrias.

Aos amigos que conquistei no departamento de química, Maria Elisa, Miriam, Fabrício, Laysa, Láuris e Fernando pelas conversas, risadas e apoio.

Ao colega Bibo pela contribuição no início desse trabalho e pelo apoio e simpatia.

A técnica Milene pelo auxílio, persistência e dedicação nas análises.

A amiga Deyse pelo apoio e pela companhia nos momentos alegres e difíceis.

Aos meus queridos sobrinhos pelo carinho, risadas e brincadeiras.

Aos eternos amigos conquistados em Sete Lagoas e Viçosa e pelo carinho, conversas e companheirismo.

Ao LEC pela infra-estrutura disponibilizada e pelas amostras cedidas para realização desse trabalho.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	vi
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Biocombustíveis	1
1.2. Biodiesel	2
1.2.1. Síntese de Biodiesel – Reação de Transesterificação	4
1.3. Metais em biodiesel	5
1.4. Técnicas utilizadas para determinação de metais em amostras de biodiesel	6
1.5. Métodos de preparação de amostras	10
1.5.1. Diluição direta com solventes orgânicos	11
1.5.2. Decomposição ácida	12
1.5.3. Emulsões e microemulsões	14
1.5.3.1 Otimização do preparo das emulsões	22
1.6. Considerações gerais	23
2. OBJETIVOS	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1. Equipamentos	26
3.1.1. Sistema de medição de emissão atômica com chama	26
3.1.2. Espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente	27
3.1.3. Outros equipamentos	28

3.2. Materiais, reagentes e soluções	28
3.3. Amostras	29
3.4. Limpeza do material	30
3.5. Preparo das emulsões	31
3.5.1. Otimização do preparo das emulsões	31
3.5.2. Emulsificação das amostras	31
3.5.3. Quantificação de Na, K e Ca nas amostras	32
3.6. Validação do método	32
3.6.1. Faixa linear de trabalho e seletividade	33
3.6.2. Precisão, limite de detecção e limite de quantificação	34
3.6.3 Exatidão	34
3.6.3.1. Quantificações de acordo com a norma NBR 15553	35
3.7. Determinação de Na e K em fotômetro de chama comercial	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1. Interferências	36
4.2. Composição das emulsões	41
4.2.1. Otimização das condições experimentais	43
4.3. Estudo de estabilidade das emulsões	60
4.4. Validação da Metodologia	64
4.4.1. Faixa linear de trabalho e seletividade	64
4.4.2. Precisão, limite de detecção e limite de quantificação	74
4.4.3. Exatidão	77
5. CONCLUSÕES	83
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Principais matérias primas utilizadas para produção do biodiesel no Brasil (janeiro/2009 a abril/2010)	3
Figura 1.2: Equação geral da reação de transesterificação.	5
Figura 1.3: Esquema dos tipos de emulsões: a) emulsão óleo em água (O/W); b) emulsão bicontínua (O/W/O); c) emulsão água em óleo (W/O).	16
Figura 3.1: Sistema FAES com o detector de emissão contínua	27
Figura 4.1: Espectro de emissão contínua para os elementos Na, Ca, Li e K.	38
Figura 4.2: Comparação dos sinais obtidos para Na, K, Li (1 mg kg^{-1}) e Ca (5 mg kg^{-1}) em solução aquosa (■), em solução de Triton X-100 (▨) e em óleo mineral base emulsificado com Triton X-100 (▩). As barras indicam o desvio padrão para $n = 3$	40
Figura 4.3: Comparação da razão dos sinais obtidos para Na/Li, K/Li (1 mg kg^{-1}) e Ca/Li (5 mg kg^{-1}) em solução aquosa (■), em solução de Triton X-100 (▨) e em óleo mineral base emulsificado com Triton X-100 (▩). Desvio padrão ($n = 3$)	40
Figura 4.4: Emulsão com n-butanol em Triton X-114 (a); emulsões com n-butanol (b), n-propanol (c) e etanol (d) em Triton X-100.	43
Figura 4.5: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão Na/Li para amostra de biodiesel de soja.	47
Figura 4.6: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão Na/Li para amostra de biodiesel de algodão.	47
Figura 4.7: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão Na/Li para amostra de biodiesel de girassol.	48

- Figura 4.8:** Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão Na/Li para amostra de mistura de biodiesel. 48
- Figura 4.9:** Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão K/Li para amostra de biodiesel de soja. 52
- Figura 4.10:** Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão K/Li para amostra de biodiesel de algodão. 52
- Figura 4.11:** Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão K/Li para amostra de biodiesel de girassol. 53
- Figura 4.12:** Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão K/Li para amostra de mistura de biodiesel. 53
- Figura 4.13:** Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão Ca/Li para amostra de biodiesel de girassol. 56
- Figura 4.14:** Estabilidade para sódio em: emulsão com biodiesel de soja (—■—) e de girassol (—■—), padrão contendo (—●—) $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Na. Barras representam desvio padrão ($n=3$). 62
- Figura 4.15:** Estabilidade para sódio em: emulsão com biodiesel de algodão (—■—), padrão contendo (—●—) $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de Na. Desvio padrão ($n=3$). 62
- Figura 4.16:** Estabilidade para potássio em: emulsão com biodiesel de algodão (—■—), padrão aquoso (—●—) $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de K. Desvio padrão ($n=3$). 63
- Figura 4.17:** Estabilidade para potássio em: emulsão com biodiesel de soja (—■—), padrão contendo (—●—) $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ de K. Desvio padrão ($n=3$). 63
- Figura 4.18:** Estabilidade para cálcio em: emulsão com biodiesel de girassol (—■—), padrão contendo (—■—) $2,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de Ca. Desvio padrão ($n=3$). 64
- Figura 4.19:** Curvas analíticas ($n=3$) para Na, K e Ca em solução aquosa com padronização interna. 66

- Figura 4.20:** Curvas analíticas ($n=3$) para Na, K e Ca em solução com Triton X-100 com padronização interna. 66
- Figura 4.21:** Curvas analíticas ($n=3$) para Na, K e Ca em óleo base emulsificado com padronização interna. 67
- Figura 4.22:** Curvas de analíticas para Na, K e Ca em solução aquosa (■), com Triton X-100 (+) e óleo base emulsificado (△) com padronização interna. 67

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Parâmetros instrumentais do ICP OES	28
Tabela 3.2: Características das amostras de biodiesel.	30
Tabela 4.1: Planejamento composto central para otimização das quantidades de HNO ₃ e Triton X-100	44
Tabela 4.2: Sinal analítico da razão Na/Li para cada amostra de biodiesel avaliada	46
Tabela 4.3: Influência da quantidade de Triton X-100 e de HNO ₃ sobre o sinal analítico da razão Na/Li nas amostras de biodiesel	49
Tabela 4.4: Estimativa dos efeitos principais e de interação sobre o sinal analítico da razão Na/Li para cada amostra de biodiesel e os parâmetros R^2 e erro puro	49
Tabela 4.5: Sinal analítico da razão K/Li para cada amostra de biodiesel avaliada	51
Tabela 4.6: Influência da quantidade de Triton X-100 e de HNO ₃ sobre o sinal analítico da razão K/Li nas amostras de biodiesel	54
Tabela 4.7: Estimativa dos efeitos principais e de interação sobre sinal analítico da razão K/Li para cada amostra de biodiesel e os parâmetros R^2 e erro puro	54
Tabela 4.8: Sinal analítico da razão Ca/Li para amostra de biodiesel de girassol	56
Tabela 4.9: Estimativa dos efeitos principais e de interação sobre o sinal analítico da razão Ca/Li para amostra de biodiesel de girassol e os parâmetros R^2 e erro puro	57

Tabela 4.10: Valores críticos das quantidades de HNO ₃ e Triton X-100 para análise dos sinais analíticos dos íons sódio, potássio e cálcio em amostras de biodiesel.	59
Tabela 4.11: Condição ótima definida no preparo das emulsões para análise dos íons sódio, potássio e cálcio por FAES com detector EPP2000 Stellarnet.	60
Tabela 4.12: Comparação dos parâmetros das curvas analíticas obtidas para sódio	69
Tabela 4.13: Comparação dos parâmetros das curvas analíticas obtidas para potássio	71
Tabela 4.14: Comparação dos parâmetros das curvas analíticas obtidas para cálcio	72
Tabela 4.15: Equações de calibração para quantificação de Na, K e Ca nas amostras de biodiesel utilizando emulsões.	74
Tabela 4.16: Limites de detecção (<i>LD</i>), limite de quantificação (<i>LQ</i>) e precisão (%) pra determinação de Na, K, e Ca em amostras de biodiesel por diferentes técnicas.	76
Tabela 4.17: Testes de recuperação de sódio, potássio e cálcio (em %, média ± intervalo de confiança (95%), <i>n</i> =5) em amostras de biodiesel enriquecidas com padrões inorgânicos contendo 1,0 mg kg ⁻¹ de Na e K e 5,0 mg kg ⁻¹ de Ca.	77
Tabela 4.18: Resultados para sódio, potássio e cálcio (em mg kg ⁻¹ , média ± intervalo de confiança (95%), <i>n</i> =5), em amostras de biodiesel, obtidos pelo método de referência e pelos métodos por FAES.	79
Tabela 4.19: Resultados de Na + K e Ca para diferentes amostras de biodiesel certificadas.	81

LISTA DE ABREVIATURAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
- BLH - Balanço Lipofílico-Hidrofílico
- BX - Mistura de óleo diesel com biodiesel, onde X é o teor de biodiesel em % (v/v)
- B100 - Biodiesel Puro
- CCD - Planejamento Composto Central
- CEN - Comité Européen de Normalisation
- CNPE - Conselho Nacional de Política Energética
- ET AAS - Espectrometria de Emissão Atômica com Atomizador Eletrotérmico
- ETV-ICP-MS - Espectrometria de massa com plasma acoplado por indução e vaporização eletrotérmica
- FAAS - Espectrometria de Absorção Atômica por Chama
- FAES - Espectrometria de Emissão Atômica com Chama
- FLT - Faixa Linear de Trabalho
- GF AAS - Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite
- GLP - Gás Liquefeito de Petróleo
- ICP AES - Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado por Indução
- ICP MS Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado por Indução
- ICP OES - Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado por Indução
- INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
- LD - Limite de Detecção
- LEC - Laboratório de Ensaio de Combustíveis
- LQ - Limite de Quantificação

LIMA - Laboratório de Instrumentação de Metodologia Analítica

NBR - Normas Brasileiras

DPR - Desvio Padrão Relativo

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido um método analítico para a determinação simultânea de Na, K e Ca nos quais as amostras de biodiesel, em forma de emulsão, foram analisadas em um equipamento baseado na técnica de espectrometria de emissão atômica por chama em conjunto com o detector de emissão contínua. O preparo das emulsões foi otimizado usando o planejamento experimental, sendo que as condições ótimas experimentais foram de 0,4 mL de HNO₃ e 1,0 g de Triton X-100. As interferências de transporte e da matriz foram corrigidas utilizando o elemento Li como padrão interno e óleo base emulsificado e padrões inorgânicos no preparo das curvas analíticas. O método apresentou boa linearidade ($R > 0,999$) e desvios padrão relativos menores que 5%. Os limites de quantificação de 0,32 e 0,16 mg kg⁻¹ para Na e K, respectivamente, mostraram alta sensibilidade do método para quantificação desses elementos em biodiesel por emulsão. Porém, o alto limite de quantificação para Ca (10,8 mg kg⁻¹), mostrou baixa sensibilidade do método proposto. A exatidão do método foi avaliada através da comparação dos resultados obtidos pelo método de referência (NBR 15553) e por ensaios interlaboratoriais, além de testes de recuperação. Também foram comparados os resultados obtidos de Na e K para as amostras de biodiesel sob forma de emulsão usando um fotômetro de escala comercial. O método apresentou bons percentuais de recuperação e boa exatidão na análise de Na, K e Ca em amostras de biodiesel de diferentes oleaginosas. A utilização de emulsões com a técnica FAES foi uma estratégia simples e de baixo custo para avaliar a qualidade do biodiesel em termos das concentrações dos metais Na, K e Ca.

ABSTRACT

This work developed an analytical method for simultaneous determination of Na, K and Ca in which samples of biodiesel, in the emulsion form, were analyzed in an equipment based on the technique of atomic emission spectrometry flame in conjunction with the detector of continuous emission. The preparation of emulsions was optimized using the experimental design, and the optimal experimental conditions were: 0.4 mL HNO₃ and 1.0 g of Triton X-100. Interference of transport and matrix were corrected using the element Li as internal standard and emulsified oil and inorganic standards in the preparation of the analytical curves. The method showed good linearity ($R > 0.999$) and relative standard deviations less than 5%. The limits of quantification of 0.32 and 0.16 mg kg⁻¹ for Na and K, respectively, they showed high sensibility of the method for quantification of those elements in biodiesel for emulsion. However, the high quantification limit for Ca (10,8 mg kg⁻¹), it showed low sensibility of the proposed method. The accuracy was assessed by comparing the results obtained by the reference method (NBR 15553) and interlaboratory tests, beyond recovery tests. We also compared the results of Na and K for samples of biodiesel in the form of emulsion using a photometer commercial scale. The method presented good percentile of recovery and good accuracy in the analysis of In the, K and Ca in biodiesel samples of different oleaginous. The results were consistent with those achieved by the proposed method at 95% confidence. The use of emulsions with FAES technique was a simple strategy and low cost to evaluate the quality of biodiesel in terms of concentrations of metals Na, K and Ca.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Biocombustíveis

A alta demanda de energia no mundo industrializado e no setor doméstico, bem como os problemas de poluição causados devido ao grande consumo de combustíveis derivados do petróleo, como a gasolina e o diesel, têm impulsionado a necessidade de desenvolver fontes de energia renováveis e que resultem em um menor impacto ambiental [1]. Desse modo, a busca por fontes de energia alternativas e renováveis tem sido assunto de interesse em todo o mundo.

Biocombustíveis, derivados de biomassa renovável, podem substituir, parcial ou totalmente, combustíveis derivados de petróleo e gás natural em motores a combustão ou em outro tipo de geração de energia [2]. Entre estes destacam-se biomassa, o biogás, o álcool, os óleos vegetais e o biodiesel [3].

O uso dos óleos vegetais como combustível alternativo para os equipamentos a diesel tem sido investigado desde o surgimento dos motores a diesel [4]. Quimicamente, os óleos de gorduras animais e vegetais consistem de moléculas de triacilglicerídeos, as quais são constituídas de três ácidos graxos de cadeia longa ligados na forma de ésteres a uma molécula de glicerol [1,5]. Porém, o uso de óleo vegetal em substituição ao óleo diesel é considerado insatisfatório e impraticável, devido a alta viscosidade, conteúdos de ácidos graxos livres, combustão incompleta e baixa volatilidade que resulta na formação de depósitos nos injetores de combustível das máquinas [1,4,5].

Para reduzir esses problemas, os triacilglicerídeos são transformados em derivados com propriedades semelhantes às do óleo diesel a partir de processos como a pirólise, a microemulsificação, a diluição e a transesterificação com etanol ou metanol [1,4-7]. Dentre esses métodos, a transesterificação é a rota tecnológica

amplamente utilizada, pois produz ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos (conhecido como biodiesel) que apresentam características físicas muito próximas daquelas do diesel [4-7]. Além disso, este processo reduz a massa molecular para um terço em relação aos triacilglicerídeos, como também reduz a viscosidade e aumenta a volatilidade [4].

1.2. Biodiesel

O biodiesel é um combustível renovável, biodegradável e não tóxico produzido a partir de uma reação de transesterificação de óleo vegetal ou gordura animal. É um combustível para uso em motores a combustão por compressão podendo substituir parcial ou totalmente o óleo diesel de origem fóssil [1,7,8].

Segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), através da resolução nº 7 de 19/03/2008, é definido como biodiesel (B100) o combustível composto de alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gordura animal, e biodiesel (BX) o combustível comercial composto por (100-X) % em volume de óleo diesel e X % em volume de biodiesel (B100) [8]. Desde 1º de janeiro de 2010, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 5% de biodiesel, de acordo com o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) [9].

Uma grande variedade de matérias-primas pode ser utilizada para a produção de biodiesel como os óleos vegetais, gorduras de origem animal (usualmente sebo) e óleos de descarte como exemplo óleos usados em frituras [4]. Devido à grande extensão territorial e à diversidade climática, no Brasil várias oleaginosas (palma, babaçu, soja, girassol, amendoim, mamona, dendê, entre outros) podem ser utilizadas conforme a produtividade da região [4,6].

De acordo com o Boletim Mensal de Biodiesel da ANP [10] o óleo de soja é a matéria prima mais utilizada para a produção deste biocombustível no Brasil, como exemplificado pelos dados referentes ao intervalo de janeiro de 2009 a abril de 2010, apresentados na Figura 1.1.

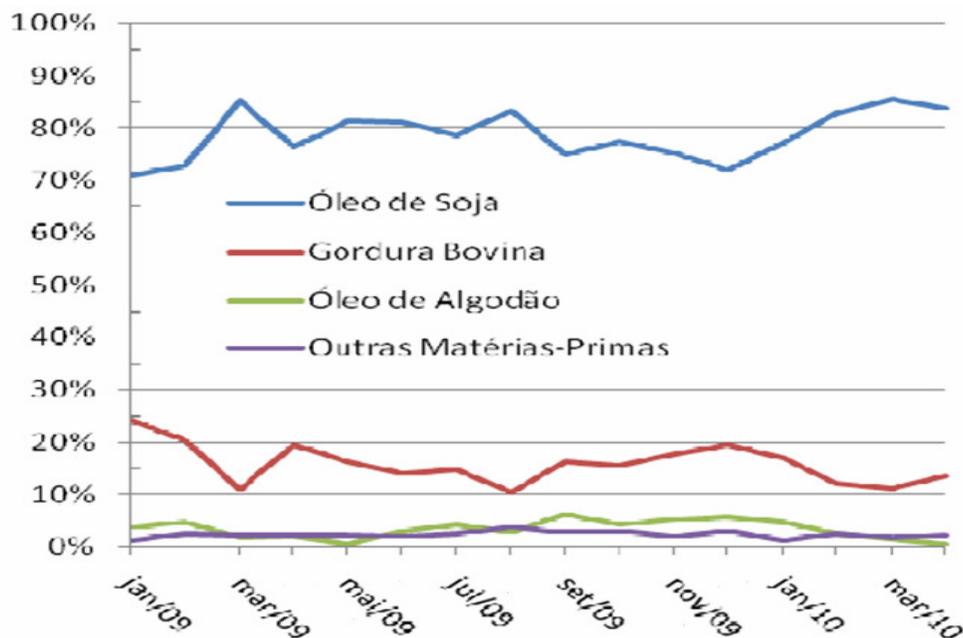


Figura 1.1: Principais matérias primas utilizadas para produção do biodiesel no Brasil (janeiro/2009 a abril/2010) [10].

A expansão da participação do biodiesel na matriz energética nacional traz benefícios econômicos/sociais e ambientais. O maior uso de biodiesel favorece a agregação de valor às matérias-primas oleaginosas de origem nacional, o desenvolvimento da indústria nacional de bens e serviços e a ampliação da geração de emprego e renda em sua cadeia produtiva, com caráter nitidamente social, com enfoque na agricultura familiar [9].

Na comparação com o diesel de petróleo, a queima do biodiesel emite menos monóxido de carbono, material particulado (que penetra nos pulmões) e hidrocarbonetos não queimados [7,11,12]. Além disso, quando se utiliza combustíveis provenientes da biomassa o ciclo do carbono é fechado. O CO₂ liberado após a queima do biodiesel (biomassa produzida) é reabsorvido pela fotossíntese nas próximas plantações da biomassa [7,12]. Isto contribui consideravelmente para diminuição do efeito estufa.

1.2.1. Síntese de Biodiesel – Reação de Transesterificação

O biodiesel é obtido a partir da reação de transesterificação de triacilglicerídeos (óleos) com álcool, em presença de um catalisador, levando à formação de ésteres de ácidos graxos e glicerina [1,4,7]. A reação, cuja equação geral é apresentada na Figura 1.2, é feita sob refluxo e agitação e ocorre em aproximadamente uma hora. Os álcoois mais utilizados no processo de transesterificação são o metanol e o etanol, devido as suas características físico-químicas como baixa massa molar e cadeia carbônica pequena [5].

Este procedimento pode ser realizado tanto em meio ácido como em meio básico ou utilizando enzimas. Entre os catalisadores básicos estão os hidróxidos de metais alcalinos, carbonatos e alcóxidos de metais alcalinos (metóxido de sódio, etóxido de sódio, propóxido de sódio e butóxido de sódio) [4,5]. A maior parte dos trabalhos descritos na literatura emprega catalisadores básicos, tais como KOH e NaOH onde foram observados maior rendimento, baixo custo e seletividade [7].

Após a reação, a mistura é transferida para um funil de separação para permitir a decantação e separação das fases: superior contendo biodiesel e inferior composta de glicerina, sabões, excesso de base e álcool. A fase superior

correspondente ao biodiesel passa por processos sucessivos de lavagem para retirada das impurezas [6].

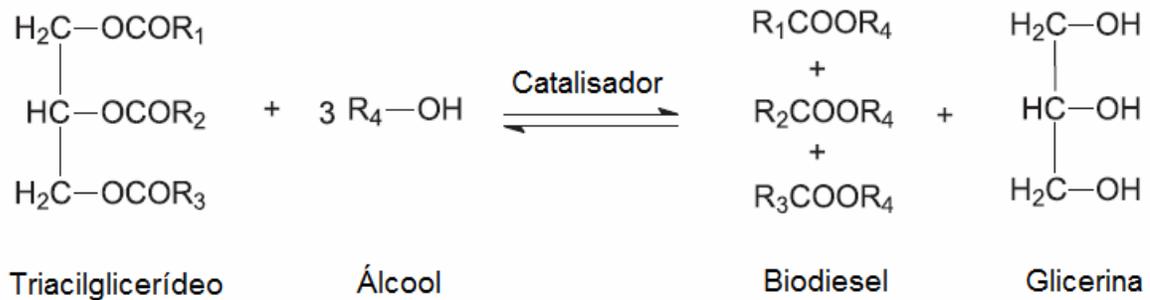


Figura 1.2: Equação geral da reação de transesterificação.

1.3. Metais em biodiesel

Alguns metais podem ser incorporados no biodiesel durante o armazenamento e produção fazendo parte da composição final do combustível. A presença de metais nos combustíveis é geralmente indesejável uma vez que pode promover a decomposição do combustível e corrosão de partes do motor [13]. Usualmente, cálcio e magnésio são provenientes da água de lavagem e sódio e potássio do catalisador [14,15].

A presença de elementos como o Na, K, Ca e Mg podem ocasionar a formação de sabões insolúveis e conseqüentemente a formação de depósitos nos filtros dos veículos contribuindo com a corrosão de partes do motor (injetor, bomba de combustível, pistões, anéis, etc.) [14,15].

Mesmo em baixas concentrações a quantificação destes elementos é relevante para avaliar a qualidade do combustível. De acordo com a resolução nº 7 de 19/03/2008 da ANP [8], a concentração máxima no biodiesel para os parâmetros Na + K e Ca + Mg é de 5 mg kg⁻¹. Os limites estabelecidos pelos parâmetros de

qualidade devem ser respeitados para que o combustível seja considerado conforme, ou seja, adequado para consumo.

Desse modo, o controle da concentração dos elementos metálicos presentes no biodiesel é necessário para o bom funcionamento do motor.

1.4. Técnicas utilizadas para determinação de metais em amostras de biodiesel

O desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de metais em combustíveis é de grande interesse ambiental e econômico. Porém vários problemas estão associados com as análises devido a alta complexidade da matriz orgânica das amostras [13].

De acordo com Monteiro *et al.* [17] trabalhos descritos na literatura empregam principalmente a técnica baseada na espectrometria de absorção atômica (AAS) para determinação de metais em amostras de combustíveis. As técnicas mais utilizadas para o monitoramento de amostras de biodiesel e óleos vegetais são a espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS) [14,15], a espectrometria de emissão atômica com chama (FAES) [18-20], espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) [21-25] e espectrometria de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP MS) [25-28]. Alguns trabalhos mostram o uso da potenciometria [29] e eletroforese capilar [30] como alternativa para análise de metais em biodiesel.

Os métodos adotados pela Agência Nacional do Petróleo [8] para determinação de Na, Ca, Mg, K e P em amostras de biodiesel utilizam as técnicas de FAAS [42-46] e ICP OES [47-48].

A espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS) é uma das técnicas mais utilizadas devido a seletividade, simplicidade e baixo custo do

instrumento. É uma técnica essencialmente monoelementar e só pode ser utilizada para determinação de elementos na faixa de ppm (partes por milhão), e não para os elementos presentes em menores concentrações na faixa de ppb (partes por bilhão). Além disso, o alto conteúdo orgânico das amostras prejudica a análise direta por FAAS. Este problema pode ser solucionado pela diluição com solvente orgânico apropriado embora esta ação deteriore o limite de detecção do procedimento. Alternativamente a amostra pode ser mineralizada, mas este procedimento consome tempo, induz a contaminação e perda do analito. Emulsificação das amostras também é uma alternativa, mas neste caso podem ocorrer problemas com a estabilidade da emulsão [31].

A espectrometria de absorção atômica com chama vem sendo empregada para determinação de Na e K em amostras de biodiesel utilizando a emulsão com preparo das amostras [14]. Um recente trabalho propôs um método para determinação de Na, Ca, K e Mg em biodiesel sob a forma de microemulsão por FAAS [15]. Cloreto de cézio e cloreto de potássio foram utilizados como supressores de ionização para eliminar interferências. Para determinação de cálcio foi utilizada a chama de óxido nitroso/acetileno proporcionando baixo limite de detecção desse elemento para o método proposto.

Se comparada com a FAAS, a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS) é substancialmente mais sensível apresentando menores limites de detecção, para a maioria dos elementos, em concentrações da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$. A técnica GF AAS é uma boa alternativa para análise de metais traços em combustíveis devido a sua alta sensibilidade para esses elementos [31]. Alguns trabalhos vêm utilizando essa técnica para determinação de metais traços em biodiesel [32] e óleos vegetais [33]. Foram determinados os metais Cu, Pb, Ni e Cd

em amostras de biodiesel por dois procedimentos distintos (microemulsão e digestão ácida em forno de micro-ondas) [32] e os metais Cu e Ni foram determinados em óleos vegetais por análise direta [33].

A espectrometria de emissão atômica com chama (FAES) é uma técnica simples e de baixo custo, geralmente utilizada para determinação de Ca, K, Li e Na em diversos tipos de amostras [34,35]. A FAES é a técnica mais usual para análise de amostras líquidas ou digeridas. A introdução da amostra é realizada através de um sistema de nebulização. Apresenta ainda uma boa sensibilidade, principalmente para determinação de metais alcalinos [36].

Nowka [18] propôs uma metodologia para a determinação de Na e K em biodiesel por FAES utilizando diluição direta da amostra com querosene. O método foi comparado com a técnica FAAS depois da digestão ácida das amostras, e os resultados foram concordantes. Chaves *et al.* [19] avaliaram um método para determinar Na e K em amostras de biodiesel por FAES sob a forma de microemulsão. Foram comparadas a introdução discreta (DA) e aspiração contínua (CA) das amostras apresentando limites de detecção semelhantes, na ordem de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ para os analitos Na e K, sendo adequados para determinação dos mesmos, conforme os limites estabelecidos pela legislação brasileira. Oliveira *et al.* [20] determinaram sódio em amostras de biodiesel por FAES após decomposição por queima em mufla das amostras. A exatidão do método foi avaliada por teste de recuperação obtendo resultados satisfatórios.

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) é uma técnica multielementar robusta e amadurecida capaz de determinar metais e não metais, como enxofre e fósforo. Além disso, apresenta baixos limites de detecção para os elementos traços [37,38]. Em análises de

amostras mais complexas, problemas relacionados com interferências da matriz podem ser minimizados com a otimização do procedimento de preparação da amostra, escolha criteriosa das linhas de emissão e uso de métodos apropriados para introdução da amostra. Assim, essa técnica tem sido utilizada para a determinação de elementos traço em amostras de petróleo e derivados [16]. Devido alta viscosidade de algumas amostras de combustíveis, geralmente o uso do ICP OES requer pré-tratamento das amostras antes da aspiração no plasma.

Um procedimento para a determinação de Ca, Cl, K, Mg, Na e P em biodiesel por ICP OES, dissolvendo as amostras e os padrões organometálicos em querosene, foi descrito por Edlund *et al.* [21]. Santos *et al.* [22] desenvolveram um método simples e seguro para determinação multielementar de Ca, Mg, K, P e Na por ICP OES com visão axial utilizando etanol como solvente nas amostras de biodiesel. Foi desenvolvido um método simples e rápido para determinação simultânea de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na e P em biodiesel por ICP OES empregando ítrio como padrão interno [23]. Essa técnica também foi avaliada para determinação de metais traços em óleos comestíveis de girassol [39] e azeite de oliva [40].

Métodos analíticos baseados na espectrometria de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP MS) foram também aplicados em amostras de combustíveis. ICP MS é uma técnica notável com alta sensibilidade e seletividade e multielementar, porém a instrumentação é mais complexa e relativamente mais cara do que a utilizada em ICP OES. Além disso, a introdução de carga orgânica é significativamente mais problemático em ICP MS do que em ICP OES [13].

Woods e Fryer [27] propuseram a análise direta de vários metais em biodiesel por ICP MS equipado com célula de reação, utilizando diluição direta em querosene, oxigênio como gás auxiliar e padronização interna. Entretanto, esse

procedimento requer a utilização de padrões orgânicos de calibração e a utilização de gás auxiliar o que torna o método mais trabalhoso e caro. Foram também propostos métodos por ICP MS para determinação de metais traços em azeite de oliva [28] e biodiesel [26] utilizando a emulsão como preparo das amostras.

Outras técnicas também foram desenvolvidas em amostras de biodiesel. Piovezan *et al.* [30] desenvolveram um método rápido por eletroforese capilar com detecção U.V. visível para determinação dos cátions inorgânicos Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} em biodiesel utilizando o cátion Ba^{2+} como padrão interno. Esse método alternativo apresentou boa linearidade ($R > 0,999$) e baixos limites de detecção ($0,3 \text{ mg kg}^{-1}$) para os analitos. Castilho e Stradiotto [29] avaliaram um método potenciométrico para determinar íons potássio em biodiesel usando um eletrodo modificado de hexacianoferrato de níquel. O método permitiu a determinação de potássio com limite de detecção de $1,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos foram semelhantes aos encontrados por fotometria de chama mostrando boa reprodutibilidade e baixo desvio padrão do método proposto.

1.5. Métodos de preparação de amostras

Em geral, para utilizar uma técnica espectrométrica de análise, é necessário que as amostras sejam submetidas a algum tipo de tratamento para que se tornem compatíveis com a técnica utilizada. A escolha desses procedimentos de preparação é crítica para o sucesso de uma metodologia, assim, vários fatores, tais como a simplicidade, custo, tempo de preparação, perigos de contaminação da amostra, fator de diluição entre outros, devem ser considerados. Em especial, as análises de combustíveis geralmente são um desafio analítico devido à complexidade dessas matrizes (alta volatilidade e/ou viscosidade) e requerem

procedimentos apropriados tanto de preparação quanto para a sua introdução no espectrômetro.

Procedimentos diferentes vêm sendo estudados para simplificação da matriz de óleo, especialmente em biodiesel e óleos vegetais, como a diluição direta da amostra com solvente orgânico, digestão ácida da amostra e conversão da amostra em uma emulsão ou microemulsão [41].

1.5.1. Diluição direta com solventes orgânicos

O método da diluição direta vem sendo muito utilizado em amostras de óleo devido à simplicidade do preparo das soluções reduzindo o tempo de análise.

As normas européias (EN 14108 e EN 14109) e as normas da ABNT (NBR 15554, NBR 15555 e NBR 15556) [42-48] recomendam a diluição de amostras de biodiesel em xileno ou querosene com determinação de sódio [42,44], potássio [43,45], cálcio e magnésio [46] por FAAS e utilização de padrões orgânicos para calibração. Um método por ICP OES para determinação dos teores de Ca, Mg, Na, K e P em amostras de ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos é especificado na norma européia EN 14538 [47] e na norma da ABNT NBR 15553 [48]. No preparo das amostras de biodiesel e das soluções padrões para calibração, são utilizados solventes orgânicos como xileno ou querosene.

Woods e Fryer [27] desenvolveram um método para determinação de várias espécies inorgânicas em biodiesel por ICP MS após diluição direta das amostras em querosene. Alguns trabalhos da literatura mostram a determinação de Na, K, Ca, Mg e P em biodiesel por ICP OES através da diluição direta das amostras com querosene [21] e etanol [22] e utilizando uma mistura de argônio-oxigênio como gás nebulizador. Um gás auxiliar (O_2) geralmente é necessário para minimizar o

sinal de fundo emitido por espécies de carbono assim como diminuir os depósitos de carbono na tocha.

A diluição direta das amostras com solventes orgânicos pode aumentar o sinal de fundo (background) na técnica por ICP OES [49]. Isto foi observado nos estudos de Murillo e Chirinos [50] que utilizaram xileno como solvente na ordem de reduzir a viscosidade de amostras de óleo combustíveis formando uma emulsão com a fase oleosa. Os resultados mostraram que a emulsão com xileno perturba o processo de descarga do plasma. Concluíram que a emissão de plasma é principalmente perturbada pela volatilidade do material orgânico na emulsão.

Embora a diluição direta com solventes orgânicos seja um procedimento atrativo, esse método apresenta desvantagens, como a baixa estabilidade do analito em soluções orgânicas, a necessidade de padrões organometálicos para calibração e o uso de solventes perigosos (com exemplo o xileno) que requerem cuidados especiais para manuseio [22]. O uso de padrões organometálicos para quantificação apresenta desvantagens por serem caros, relativamente instáveis e voláteis, o que provoca mudança na concentração do analito, nas soluções estoque e nas de calibração afetando a exatidão dos resultados analíticos [16].

1.5.2. Decomposição ácida

Para minimizar problemas relacionados com as matrizes complexas, a mineralização das amostras de combustíveis com mistura de ácidos inorgânicos fortes tem sido uma alternativa utilizada. Procedimentos usando decomposição ácida em forno de micro-ondas destroem a matéria orgânica e solubilizam o analito que pode estar presente sob a forma de partículas metálicas, além disso, converter as espécies presentes, como as organometálicas, em íons inorgânicos. Este método

possibilita o uso de soluções padrão aquosas como referência, já que as propriedades físicas e químicas da amostra tratada são similares aos dos padrões aquosos [41].

Estudos realizados por Zeiner *et al.* [40] avaliaram o método da digestão ácida em amostras de azeite de oliva utilizando uma mistura de HNO_3 e H_2O_2 em forno de micro-ondas para determinação de Ca, Mg, Fe, Na e Zn por ICP OES. O método apresentou boa precisão com desvio padrão relativo (DPR) de aproximadamente 2% e as faixas de recuperação dos analitos variaram de 97% a 108%.

Ansari *et al.* [51] descreveram um procedimento de digestão ácida em forno de micro-ondas para determinação de Cd, Pb e Zn em amostras de óleo de semente de girassol e utilizaram padrões inorgânicos para calibração. Chaves *et al.* [25] determinaram Ca, K, Mg, Na e P em sementes de vegetais após decomposição ácida com HNO_3 e H_2O_2 em forno de micro-ondas. Foram utilizadas as técnicas ICP OES e ICP MS e calibração externa com padrões aquosos. A exatidão do método foi avaliada por material de referência certificado obtendo resultados concordantes.

Aucélio e Curtius [52] fizeram uma comparação de diferentes métodos e um dos realizados foi o da digestão em forno de micro-ondas. Uma quantidade de 0,1 g de óleo lubrificante foi decomposta com 5,0 mL de HNO_3 concentrado. Os resultados obtidos com a digestão por micro-ondas foram concordantes com os valores de referência de materiais certificados e com o método de emulsão. No entanto os resultados obtidos com a diluição com solvente não foram concordantes, pois este método apresentou uma baixa reprodutibilidade.

Como o procedimento de digestão ácida em forno de micro-ondas é realizado em ambiente fechado, são minimizados os riscos de contaminação pela

atmosfera e pelos reagentes utilizados para decomposição. A perda de componentes voláteis muito embora diminuída, não é completamente eliminada [16]. O tempo requerido para a realização de um processo de decomposição é um dos pontos negativos desse procedimento. Além disso, o número de amostras que pode ser digerida ao mesmo tempo é pequeno, limitando a frequência de análise. Outro agravante é a possibilidade de perda de analitos pela formação de precipitados insolúveis no tratamento com alguns tipos de ácido [37,53].

1.5.3. Emulsões e microemulsões

Uma alternativa para amostras orgânicas líquidas imiscíveis em água é a modificação da matriz da amostra pela formação de microemulsões ou emulsões.

O termo microemulsão foi introduzido por Schulmann em 1943 e é definido como sendo uma dispersão transparente, fluida, opticamente isotrópica e termodinamicamente estável de dois líquidos imiscíveis, contendo quantidades apropriadas de surfactante e/ou de co-surfactante. A fase dispersa consiste de pequenas gotas com diâmetro na faixa de 10 a 100 nm [54-56].

Emulsões são sistemas heterogêneos contendo uma fase líquida, dispersa na forma de microgotas, em uma segunda fase líquida. Os componentes das emulsões têm pouca ou nenhuma solubilidade mútua, resultando em sistemas de estabilidade limitada que são mantidos por meios mecânicos (agitação dos componentes) ou por um terceiro componente que pode ser um surfactante (agente tensoativo) ou solvente comum aos dois componentes imiscíveis [57]. Deve se ter uma concentração ótima de surfactante para se ter uma emulsão estável, facilitando a mistura efetiva e total interação das fases imiscíveis. O que diferencia as emulsões

das microemulsões é o tamanho das gotas da fase dispersa (0,1 a 10 μm) tornando as emulsões turvas e com menor estabilidade.

De acordo com Pellizetti e Pramauro [56] as microemulsões e emulsões são como agregados usualmente contendo água, a fase oleosa, um surfactante e um co-surfactante (tipicamente um álcool).

A estrutura de um surfactante típico pode ser expressa como R-X, onde R é a cadeia de hidrocarbonetos variando de 8-18 átomos (normalmente linear) e X é o grupo cabeça (polar ou iônico). Dependendo da natureza de X, os surfactantes podem ser classificados como não-iônicos, catiônicos, aniônicos ou anfóteros [56,57].

Um co-surfactante (ou co-solvente) é uma molécula não-iônica com função de neutralizar o efeito repulsivo entre as cabeças polares do surfactante permitindo a formação de uma membrana entre a micela e a fase contínua da emulsão, o que impede a elevação significativa da viscosidade do sistema. Adicionalmente, a presença de um álcool pode influenciar a solubilidade das fases aquosa e oleosa, devido à sua partição entre ambas as fases [58,59].

Quando a fase oleosa é dispersa na água, obtém-se uma emulsão óleo em água (O/W) onde a fase contínua é uma solução aquosa. Se as gotículas de água são dispersas em uma fase oleosa contínua, a emulsão é denominada água em óleo (W/O). Emulsões mais complexas, tais como O/W/O (gotas de óleo dentro de gotas aquosas dispersas em uma fase de óleo contínua) também são possíveis. A Figura 1.3 mostra o esquema dos três tipos de emulsões.

As emulsões do tipo O/W (óleo em água) tem microgotas de óleo, estabilizadas por uma camada de moléculas anfifílicas (interfase) do surfactante e do co-solvente, dispersas no meio contínuo, no caso, a água.

A maior parte de trabalhos já publicados em análise de combustíveis faz uso de emulsões O/W, pois estas oferecem condições para dispersão homogênea da amostra de óleo com a minimização de carga orgânica, em geral necessária para o uso das técnicas espectrométricas [16].

A preparação de amostras de óleo na forma de emulsão é um procedimento atrativo por ser extremamente simples e rápido. Assim, como na diluição direta em solvente orgânico, a emulsificação exige um mínimo de manipulação da amostra, com praticamente o mesmo fator de diluição e com a vantagem da diminuição em até 90 % da carga orgânica da amostra.

Porém, vários fatores podem influenciar a estabilidade das emulsões como o as relativas concentrações dos reagentes (óleo, água, surfactante e co-solvente), o tipo de surfactante e co-solvente e as técnicas utilizadas para agitação e homogeneização dos componentes [53]. Felizmente existem algumas orientações relativas para formação de emulsões que podem ser empregadas para identificar um surfactante e co-solvente apropriados.

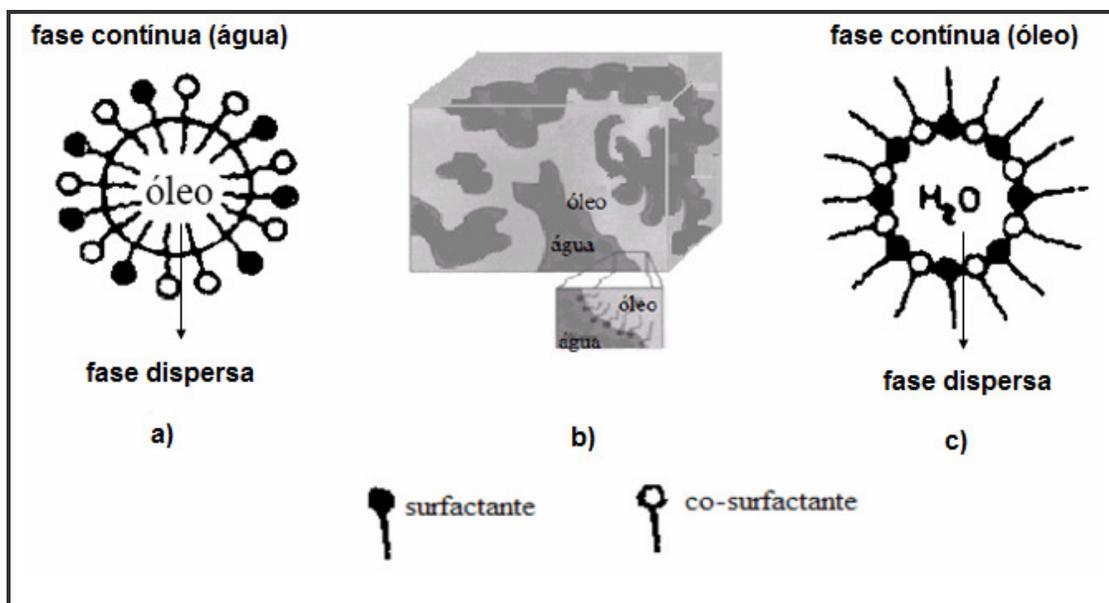


Figura 1.3: Esquema dos tipos de emulsões: a) emulsão óleo em água (O/W); b) emulsão bicontínua (O/W/O); c) emulsão água em óleo (W/O).

Um índice empírico útil conhecido como BLH (balanço lipofílico-hidrofílico) é adotado pra descrever o comportamento relativo de agentes de superfície ativa. O BLH é numericamente representado em uma escala de valores, em função do tamanho da cadeia polar do surfactante [60]. Becher [57] resumiu os resultados de estudos envolvendo um grande número de emulsões, e concluiu que o surfactante ideal deveria ter um valor de BLH na faixa de 8-18 para formar uma emulsão estável de óleo em água.

Alguns trabalhos têm reportado o uso de surfactantes não-iônicos e seus desempenhos como emulsificantes em amostras de combustíveis. Triton X-100 (BLH 13,5) é frequentemente empregado no preparo de emulsões água em óleo em amostras de petróleo [49], óleo lubrificante [52, 61], gasolina [38,62], óleos vegetais [24,39] e biodiesel [23,26]. O uso desse emulsificante satisfaz a todos os critérios necessários além de sua fácil disponibilidade na maioria dos laboratórios.

Outros surfactantes não-iônicos também são utilizados como etoxinonilfenol [37,39,63], Triton X-114 [52] Tween 20 [28,39], e Span 20 [28] com BLH 14,0; 12,4; 16,7 e 8,6 respectivamente [64].

Geralmente é adicionado um co-surfactante (ou co-solvente) para o preparo das emulsões para diminuir a viscosidade e a tensão interfacial do sistema óleo/água/surfactante. Os principais co-surfactantes utilizados são álcoois e glicóis, de massa molecular pequena ou média, que apresentam uma cadeia contendo entre dois a dez carbonos [65].

Nas emulsões, as gotículas de óleo contendo os analitos de interesse estão homogeneamente dispersas na fase aquosa se comportando muito similarmente às soluções aquosas. Este fato, associado à acidificação do meio emulsificado, viabiliza os procedimentos de calibração que utilizam curvas de

calibração feitas com padrões analíticos inorgânicos. A acidificação converte espécies organometálicas do analito ou particulados metálicos em espécies iônicas em solução, uniformizando as espécies de analito presentes na amostra. Tem sido demonstrado, que com o uso de emulsões acidificadas, correlações diretas podem ser feitas entre os sinais dos analitos na amostra e com os sinais dos analitos dos padrões inorgânicos aquosos [41,53,61].

Na seqüência estão apresentados alguns trabalhos que utilizaram emulsões e microemulsões na preparo de amostras de combustíveis.

Saint'Pierre *et al.* [62] fizeram uso de emulsão de óleo em água, na determinação de Cu, Mn, Ni e Sn em gasolina por vaporização eletrotérmica com espectrômetro de massa com plasma acoplado por indução (ETV-ICP-MS). As emulsões foram preparadas em frascos volumétricos de 10 mL com a adição de 1 mL de amostra de gasolina, 0,5 mL de ácido nítrico concentrado e 0,1 mL de surfactante (Triton X-100) e com agitação em banho ultrasônico por 5 minutos. A emulsão foi pré-concentrada por repetidas pipetagens e secagens. Utilizou-se o método de calibração externa com padrões aquosos em uma emulsão de gasolina purificada.

Aucélio e Curtius [52] utilizaram xileno como co-solvente no preparo das emulsões para diluir as amostras de óleo lubrificante. Após adição de 0,5 mL de HNO₃ e 0,4 mL Triton X-100 as emulsões (10 mL) foram homogeneizadas em agitador magnético tipo vortex por 2 minutos e depois em banho de ultrassom por 5 minutos. Obtiveram resultados concordantes quando comparados aos valores certificados e ao estudo feito com digestão por micro-ondas.

Murilo e Chirinos [37] também utilizaram xileno pra reduzir a viscosidade das amostras de óleo (petróleo). Foi utilizado o surfactante etoxinonilfenol e agitação

contínua em um ultrassom. A preparação das emulsões foi extremamente rápida e em relação aos outros métodos foram obtidas boa exatidão e precisão.

Souza *et al.* [66] propuseram um método para quantificação de Mo, Cr, V e Ti em diesel e óleo combustível por ICP OES utilizando emulsões como preparo das amostras e adição de HNO₃ permitindo o uso de padrões inorgânicos para calibração. Um planejamento fatorial 2³ foi aplicado para estabelecer relações entre três variáveis experimentais: presença de HNO₃, quantidade de diesel ou óleo combustível e a presença de O₂ no fluxo de gás de argônio no plasma. Resultados mostraram que o melhor desempenho é alcançado utilizando 10% (m/m) da amostra junto com HNO₃ concentrado (5% v/v) e O₂ como gás auxiliar.

Santelli *et al.* [67] desenvolveram um método por emulsão para determinação de vanádio em amostras de petróleo condensado, diesel e gasolina por GF AAS. Para o preparo das amostras utilizou HNO₃ concentrado e Triton X-100 com agitação em banho ultrassônico e por sonificação. Foram comparadas as inclinações de três curvas analíticas com padrões inorgânicos: curva aquosa, curva em Triton X-100 e HNO₃ e curva de adição de padrão. Os resultados mostraram que a curva contendo Triton X-100 e HNO₃ pode ser aplicada com sucesso para análise de V nessas amostras de combustíveis.

Foi avaliado um procedimento para amostras de petróleo preparados na forma de microemulsões para determinação de Mo, Zn, Cd, Si, Ti, Ni, V, Fe, Mn, Cr e Co por ICP OES [49]. A microemulsão é composta por 0,6 g de óleo e 0,4 mL de HNO₃ concentrado adicionando o solvente n-propanol como estabilizante do sistema até massa final de 10 g. As soluções foram homogeneizadas com o uso do agitador magnético e banho ultrassônico. Um estudo de estabilidade das microemulsões foi realizado durante sete dias mostrando sinais analíticos constantes dos elementos

neste intervalo de tempo. O elemento escândio (Sc) é usado como padrão interno para correção do efeito matriz. A metodologia é testada pela análise de material padrão de referência com recuperações entre 97,9% e 103,8%.

A formação das microemulsões em óleos vegetais foi investigada por alguns autores. Murillo *et al.* [39] avaliaram diferentes surfactantes (etoxinonilfenol, Tween 21, Tween 80 e Triton X-100) para análise de Cu, Fe e Ni em óleos comestíveis de girassol. Melhores resultados foram obtidos com as emulsões contendo o surfactante Tween 80. Foi desenvolvido um método por ICP OES para determinar Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Mn em diferentes amostras orgânicas (óleo vegetal, margarina e manteiga) utilizando n-propanol como estabilizante da microemulsão [24].

Para o preparo das amostras de biodiesel foi proposto por Jesus *et al.* [14] a formação de uma microemulsão utilizando 20% (g/g) de biodiesel, 57,6% (g/g) de n-pentanol como co-solvente, 14,4% (g/g) de Triton X-100 e 8% (g/g) de água acidificada com HNO₃. O ácido nítrico adicionado na fase aquosa foi importante, pois aumenta a estabilidade do analito nas amostras e nos padrões emulsificados.

Silva *et al.* [68] propuseram um método analítico para determinação de Cd, Pb, e Tl em amostras de biodiesel sob a forma de microemulsão adicionando 2 g de biodiesel, 1 mL de solução aquosa de HNO₃ 10% (v/v) e n-propanol até volume final de 10 mL. Foram avaliadas diferentes técnicas de calibração com padrões inorgânicos: curva aquosa, curva com simulação de matriz (óleo base) e curva de adição de padrão. Os resultados mostraram que a curva aquosa não é apropriada para análise do método proposto enquanto a curva com simulação de matriz é recomendada.

Lyra *et al.* [15] utilizaram microemulsão com n-propanol e HNO₃ para tratamento das amostras de biodiesel com posterior determinação de Na, Ca, K e Mg por FAAS. A composição das emulsões foi de 10 % (m/m) de biodiesel, 75% (v/v) de n-propanol, 1% (v/v) de HNO₃ e 14 % (v/v) de solução aquosa contendo 0,2 % (v/v) de HNO₃ e 0,5 % (v/v) de supressor ionizante. Os sinais analíticos dos elementos foram estáveis por 15 dias e curvas analíticas com padrões organometálicos foram utilizados para quantificação. Foram obtidos testes de recuperação satisfatórios (89 a 103%) mostrando que o método proposto não apresentou interferências de matriz.

Chaves *et al.* [19] avaliaram um método para determinar Na e K em amostras de biodiesel por FAES com preparo de microemulsões pela mistura de 0,5 g de biodiesel, 100 µL solução ácida e n-propanol (co-solvente) até volume final de 10 mL, permitindo o uso de padrões inorgânicos para calibração. A exatidão do método foi avaliada por testes de recuperação, e por meio da comparação dos resultados obtidos por ICP OES através da diluição das amostras em etanol obtendo resultados satisfatórios. Para verificar a estabilidade das micro-emulsões, foram monitoradas amostras com concentrações conhecidas de Na e K durante um intervalo de 30 a 250 minutos, que indicaram estabilidade do analito durante este tempo.

Amais *et al.* [26] determinaram metais traços (Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti, e Zn) em biodiesel por ICP MS usando emulsão com 0,5 mL de biodiesel, 0,25 mL de Triton X-100, 0,25 mL de solução 20 % (v/v) de HNO₃ e n-propanol até volume final de 5,0 mL. Souza *et al.* [23] também propuseram um método simples e rápido utilizando 1 g de biodiesel, 6 g de Triton X-100, 0,2 mL de HNO₃ e água até massa final de 10 g para determinação de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na e P por ICP OES. Foram

obtidos bons resultados nos teste de recuperação dos analitos (90% a 109 %) e a precisão (DPR < 8%) foi satisfatória para o método proposto.

1.5.3.1 Otimização do preparo das emulsões

Tendo em vista as diferentes condições de preparo das emulsões disponíveis na literatura, estudos são necessários para otimização dos parâmetros de análise para determinação de metais em amostras de combustíveis. Técnicas multivariadas utilizando planejamentos fatoriais vem sendo crescentemente aplicadas para otimização de métodos analíticos [69].

Dentre as técnicas, destaca-se o Planejamento Composto Central “CCD - Central Composite Design” que é baseado na metodologia de análise de superfície de resposta, executada para otimização dos experimentos. Esse planejamento apresenta critérios desejáveis como: proporcionar boas estimativas para todos os coeficientes do modelo, exigir poucos experimentos e fornecer condições de avaliação dos coeficientes e do modelo como regressão e falta de ajuste [70-72].

Para aplicar o método de análise de superfície de resposta são realizados ensaios através de um planejamento fatorial, experimentos no ponto central e experimentos nos pontos axiais. O planejamento fatorial é constituído de dois níveis (nível -1 e nível +1) para cada variável estudada. Assim para “ n ” variáveis envolvidas no estudo, o numero de experimentos realizados para investigar todas as combinações possíveis é igual a 2^n . Para estimativa do erro experimental (ou erro puro) associado aos ensaios, geralmente são realizados três ensaios no ponto central (nível 0) correspondente as condições intermediárias entre os dois níveis atribuídos a cada variável. Para obter um modelo quadrático complementa-se o planejamento fatorial inicial com mais $2*n$ ensaios distribuídos rotacionalmente

(pontos axiais) a uma distância α da condição do ponto central formando a parte estreita do planejamento, onde $\alpha = (2^n)^{(1/4)}$ (72).

Brandão *et al.* [73] utilizaram planejamento composto central para definir a composição ótima da microemulsão para determinação de arsênio em diesel, gasolina e nafta por GF AAS. Dentre as variáveis, foram avaliadas a quantidade de HNO_3 entre 0,15 a 0,75 % (v/v) e a razão amostra/n-propanol (v/v) entre 0,31 a 0,67 para amostras de diesel e 0,70 a 2,06 para amostras de gasolina e nafta. A otimização das microemulsões mostrou que as condições ótimas de HNO_3 foram 0,47; 0,39 e 0,49 % (v/v) e a razão amostra/n-propanol foram 0,57; 1,51 e 1,25 para diesel, gasolina e nafta, respectivamente.

Murillo *et al.* [39] aplicaram a metodologia de superfície de resposta para encontrar as condições ótimas de emulsão óleo em água para determinação de cobre, ferro e níquel em óleos comestíveis por ICP OES. As variáveis independentes analisadas foram quantidade de óleo (0 a 50 % m/m) e quantidade de surfactante (0 a 10 % m/m). Foram avaliados três surfactantes: etoxinonilfenol, Tween 80 e Triton X-100. A resposta ou variável dependente foi em termos de intensidade de emissão dos analitos. A otimização multivariada apresentou as condições ótimas de óleo de 35 % m/m e a quantidade de surfactante entre 0,5 a 9 % m/m na composição final das emulsões O/W.

1.6. Considerações gerais

A determinação de metais em biodiesel como Na, K, Ca e Mg busca avaliar a qualidade do combustível. Conforme a Portaria da ANP [8], as concentrações desses elementos são avaliadas mediante o emprego das normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e das normas européias “Comité

Européen de Normalisation” (CEN). A norma NBR 15553 da ABNT [48] recomenda a diluição das amostras de biodiesel em querosene para determinação de Na, K, Ca e Mg por ICP OES. No entanto, o método da diluição direta em solvente orgânico, apresenta desvantagens como a baixa estabilidade do analito em soluções orgânicas e a necessidade de padrões organometálicos para calibração que são caros, instáveis e voláteis.

Diante disso, o desafio para químicos analíticos é o de elaborar uma metodologia que permita determinação rápida e confiável de metais, com um mínimo de preparo de amostra e aplicável a uma larga variedade de matrizes. Além da simplicidade, tal método deve ter capacidade para determinação multielementar, ser suficientemente sensível, rápido, preciso, exato, e com baixos custos operacionais.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como principal objetivo o desenvolvimento de um método analítico para determinação simultânea de sódio, potássio e cálcio em amostras de biodiesel utilizando a técnica de espectrometria de emissão atômica por chama em conjunto com detector de emissão contínua. Propõe-se uma metodologia de emulsificação da amostra orgânica devido à facilidade e rapidez do procedimento além de possibilitar o uso de padrões inorgânicos para calibração.

Objetivos específicos investigados no trabalho:

- Verificar as possíveis interferências;
- Estabelecer as condições ótimas para o preparo das emulsões;
- Avaliar a estabilidade de Na, K e Ca nas emulsões;
- Validar o método proposto avaliando as figuras de mérito (seletividade, faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação, precisão, exatidão e robustez);
- Avaliação das concentrações de Na, K e Ca presente nas amostras de biodiesel e comparação com a legislação vigente.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Equipamentos

3.1.1. Sistema de medição de emissão atômica com chama

As medidas foram realizadas por um equipamento de medição de emissão atômica com chama adaptado pelo Laboratório de Instrumentação de Metodologia Analítica (LIMA) da UFMG utilizando um sistema nebulizador-combustor de um fotômetro de chama da Evans Electro Selenium Ltd (Essex, England) em conjunto com o detector EPP2000 StellarNet.

O equipamento foi conectado a um computador com o programa SpectraWiz em ambiente operacional Windows®. Os sinais analíticos foram obtidos a partir dos espectros de emissão contínua registrados pelo detector com auxílio de uma fibra ótica. Os parâmetros instrumentais utilizados foram: comprimento de onda de 589 nm para Na, 620,5 nm para Ca, 668,5 nm para Li e 769,5 nm para K e vazão da amostra de 2,6 mL min⁻¹. As medidas dos sinais de intensidade foram baseadas na altura do pico de emissão.

Na Figura 3.1 está disposto um esquema representativo da análise por espectrofotometria emissão atômica com chama (FAES) com o detector de emissão contínua.

Os elementos Na e K foram também determinados em um fotômetro de chama de escala comercial Metronic (Rio de Janeiro, Brasil).

Para os dois equipamentos, utilizou-se ar comprimido como oxidante fornecido por compressor de ar da Olidef CZ (modelo C-71). Como gás combustível foi utilizado gás liquefeito de petróleo (GLP) fornecido pela VINIGÁS (São Paulo, Brasil).

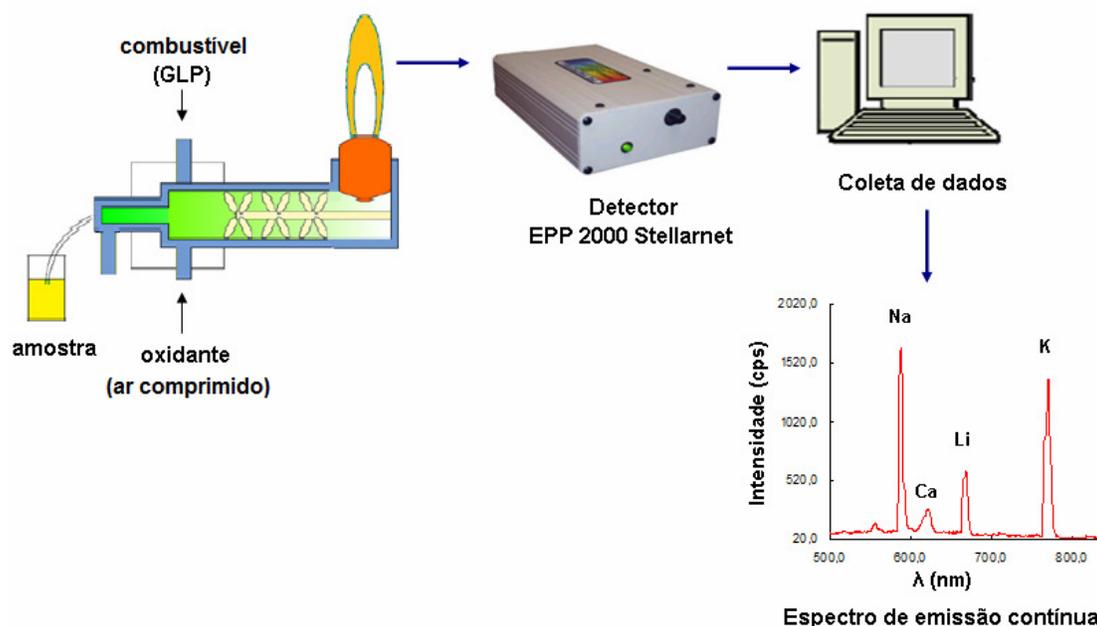


Figura 3.1: Sistema FAES com o detector de emissão contínua

3.1.2. Espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente

As medidas foram realizadas em espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente com visão dupla-radial e axial (Optima 5300 DV, PerkinElmer, Norwalk, USA). Argônio comercial (99,997%) foi utilizado para geração do plasma, como gás de nebulização e auxiliar. O sistema de introdução da amostra consiste em um nebulizador do tipo GemCone® acoplado a uma câmara ciclônica de vidro (PerkinElmer). As intensidades de emissão foram medidas nas linhas com maior sensibilidade e ausência de interferências. Os parâmetros instrumentais do ICP OES estão listados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Parâmetros instrumentais do ICP OES

Potência de radiofrequência	1300 W
Fluxo de argônio	15 L min ⁻¹
Fluxo de argônio auxiliar	0,2 L min ⁻¹
Bomba peristáltica	2,0 mL min ⁻¹
Tempo de integração	15 s
Comprimento de onda, nm	Ca(II) 393,366, K(I) 766,490 e Na(I) 589,592
Replicatas	5

(I): linha atômica, (II) linha iônica

3.1.3. Outros equipamentos

Um banho de ultrassom da Unique modelo USC-1800 com frequência de 40 kHz e agitador de tubos vortex da Phoenix modelo AP-56 foram utilizados para o preparo das emulsões.

Para pesagem foi utilizada uma balança analítica calibrada da Shimadzu modelo AY220 com capacidade mínima de 0,01 g e máxima de 220g.

3.2. Materiais, reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico. As soluções e emulsões foram preparadas com água destilada e posteriormente deionizada com resistividade de 18,2 MΩ cm em um sistema Milli-Q (Millipore, USA).

Soluções padrão inorgânicas foram preparadas a partir de solução estoque aquosa (1000 mg kg⁻¹) de Na, K, Li (Merck, Darmstadt, Germany) e Ca (Carlo Erba, Itália). Padrões organometálicos Conostan (USA) com concentração de

Na e K 5000 mg kg⁻¹ e Ca 500 mg kg⁻¹, foram utilizados para o preparo das soluções padrão organometálicas para metodologia normalizada NBR 15553.

Para o preparo das emulsões foi utilizado ácido nítrico 65% P.A. (Carlo Erba, Itália), álcool (N) butílico P.A (Synth, Brasil) como co-solvente e Triton X-100 P.A. (Vetec, Brasil) como surfactante. Triton X-114 (Sigma-Aldrich, USA), álcool etílico e álcool (N) propílico (P.A, Synth, Brasil) foram testados para emulsificação.

Óleo mineral base (USP-Sulfal) com massa específica de 0,854 g mL⁻¹ foi utilizado para estudos de simulação de matriz e querosene (Aldrich) foi usado como solvente orgânico na metodologia normatizada NBR 15553 [48].

Todas as amostras e padrões foram preparados em recipientes descartáveis de polipropileno de 15,00 e 50,00 mL da Corning.

3.3. Amostras

As amostras de biodiesel foram obtidas pela transesterificação básica de óleos vegetais e gordura animal provenientes de diferentes fontes, como mostrado na Tabela 3.2.

As amostras foram fornecidas pelo Laboratório de Ensaio de Combustíveis (LEC) da UFMG (S-01, C-01, B-01, A-01, M-01 e Ma-02), na Prefeitura Municipal de Varginha, Brasil (Ol-01 e G-02) e em estabelecimentos comerciais (Se-01, Se-02, S-02, S-03 e G-01). A amostra B-02 foi fornecida pela Petrobás Biocombustível S.A., Montes Claros, Brasil juntamente com o certificado de qualidade de biodiesel. Foram obtidas amostras de ensaio interlaboratorial (EI-01 e EI-02) utilizadas no Programa de Comparação Interlaboratorial em Biodiesel da ANP (6ª edição).

Tabela 3.2: Características das amostras de biodiesel.

Amostra	Matéria Prima	Rota
S-01, S-03	Soja	Metílica
Se-01	Sebo	Etílica
C-01	Canola	Etílica
G-01	Girassol	Etílica
Se-02	Sebo bovino	Não disponível
OI-01	Óleo residual	Não disponível
G-02	Girassol	Não disponível
B-01	Mistura	Indefinida
A-01	Algodão	Metílica
S-02	Soja	Não disponível
B-02	98% algodão	Metílica
M-01	Milho	Metílica
Ma-02	Macaúba	Metílica
EI-01	Não disponível	Não disponível
EI-02	Não disponível	Não disponível

3.4. Limpeza do material

Todos os frascos e vidrarias utilizados, seja para o armazenamento das soluções padrões ou preparo das emulsões e diluições com solvente, foram previamente lavados e descontaminados em solução de HNO₃ 10% (v/v) por 48 horas.

3.5. Preparo das emulsões

3.5.1. Otimização do preparo das emulsões

Emulsões óleo em água foram preparadas usando proporções de reagentes cuidadosamente otimizadas, de modo a garantir o máximo de sinal analítico e emulsões homogêneas e estáveis.

Foram realizados testes preliminares e otimizações para avaliar as melhores condições experimentais para determinação de Na, K e Ca em emulsão por FAES. Foram avaliadas as variáveis: quantidade de amostra, quantidade de Triton X-100, volume de HNO₃ e tipo de co-solvente.

Para avaliar as condições ótimas de Triton X-100 e HNO₃ utilizou-se planejamento composto central (CCD). Após a definição da condição ótima, foram realizados ensaios na condição otimizada para confirmar experimentalmente os resultados obtidos pela análise de superfície de resposta.

Os resultados foram analisados no programa Statistica 7.0 StatSoft utilizando a “Análise e Planejamento de Experimentos/Composto Central” que gerou resultados na forma gráfica de curvas de nível e superfícies de resposta.

3.5.2. Emulsificação das amostras

Para o preparo das emulsões, uma alíquota de 1,0 g de biodiesel foi adicionada num frasco de polipropileno de 15 mL e tratada com 0,4 mL de HNO₃ concentrado. Após agitação manual foi adicionado 1,0 mL de n-butanol para reduzir a viscosidade da amostra e facilitar a interação entre óleo e surfactante, Triton X-100, acrescentado logo em seguida (1,0 g). Após agitação manual adicionou-se 100 µL de solução padrão de Li 100 mg kg⁻¹ usado como padrão interno juntamente com água Milli-Q até massa final de 10,0 g. A mistura foi agitada por 1 minuto em

vortex e, logo em seguida, em banho ultra-sônico por 5 minutos. Esse procedimento favorece a formação de uma emulsão homogênea leitosa e estável por alguns minutos, mas facilmente reconstituível por agitação manual.

3.5.3. Quantificação de Na, K e Ca nas amostras

Foram utilizados métodos de calibração externa e interna com padronização interna. As curvas analíticas foram preparadas em diferentes meios: padrões inorgânicos em água, padrões inorgânicos e organometálicos em Triton X-100, padrões inorgânicos em óleo base emulsificado, curva de adição de padrão utilizando padrões inorgânicos. O uso destes diferentes meios e de padrões de calibração visou um estudo comparativo para escolha do procedimento mais adequado.

As curvas preparadas com óleo base seguiram o mesmo procedimento da emulsão óleo em água, já descrito, porém, com o uso de padrões inorgânicos dos elementos de interesse.

As curvas em Triton X-100 também seguiram o mesmo procedimento da curva em óleo base, porém sem o uso deste. Foram utilizados padrões inorgânicos e organometálicos dos elementos de interesse.

Para quantificação de Na, K e Ca por FAES, os procedimentos de preparo das amostras foram realizados em cinco replicatas.

3.6. Validação do método

A adequação do método de determinação de Na, K e Ca em emulsão por FAES com detector de emissão contínua foi avaliada com base nos resultados dos parâmetros estabelecidos como faixa linear de trabalho, seletividade, exatidão,

precisão, limites de detecção e quantificação. Foram utilizados os testes de hipótese, testes F de homogeneidade de variâncias, teste t-Student de comparação das médias e teste t-Student com dados pareados, dentro de um intervalo de confiança de 95 % ($\alpha = 0,05$) [69]. Os cálculos foram feitos em planilhas comerciais pelos programas Origin 6.1 e Excel 2003.

3.6.1. Faixa linear de trabalho e seletividade

A faixa linear de trabalho (*FLT*) foi definida com base nas curvas analíticas com padrões inorgânicos em meio aquoso, em emulsão com óleo mineral base e sem o óleo mineral base com padronização interna. Foram preparadas soluções padrões multielementares e os níveis de concentrações utilizados foram de 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 e 10,0 mg kg⁻¹ para sódio e potássio, 0,05; 0,25; 0,5; 2,5; 5,0; 10,0; 25,0 e 50,0 mg kg⁻¹ para cálcio. Foram obtidas as curvas analíticas da intensidade de emissão (razão analito/padrão interno) em função da concentração e uma faixa de trabalho linear foi definida para cada meio de preparo.

Com a definição da *FLT*, a seletividade do método foi testada comparando-se as inclinações das curvas analíticas com as curvas de adição de analito, conforme sugerido pelo INMETRO (2007) [74]. Para isso foram selecionadas amostras de biodiesel de soja, sebo, girassol, algodão e mistura de biodiesel (S-03, Se-02, G-02, B-01e B-02) e avaliou-se o efeito de matriz dos analitos nesses tipos de amostras. Esse estudo foi importante para selecionar o procedimento mais adequado para quantificação dos analitos.

Todas as curvas analíticas utilizadas foram construídas com três replicatas independentes em cada nível de concentração.

3.6.2. Precisão, limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção ($LD = 3s/m$) e o limite de quantificação ($LQ = 10s/m$) foram calculados de maneira convencional, a partir do desvio padrão (s) de dez brancos representativos e da sensibilidade (m) das curvas analíticas.

A repetitividade da metodologia de emulsificação foi determinada pelo desvio padrão de replicatas das amostras ($n = 5$) em termos de desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de correlação (CV%) e o limite de confiança foi calculado, segundo Student, para um grau de confiança de 95 %.

3.6.3 Exatidão

Devido à indisponibilidade de material de referência certificado de biodiesel, a exatidão do método proposto foi avaliada por ensaios de recuperação, comparações de ensaios interlaboratoriais e comparação com método de referência.

Para os testes de recuperação, foram adicionadas às amostras quantidades conhecidas de padrões inorgânicos dos analitos (1 mg kg^{-1} de Na e K e 5 mg kg^{-1} de Ca). Foram utilizadas amostras de diferentes tipos (canola, sebo, óleo residual, girassol, mistura, algodão, soja, milho e macaúba) e os testes foram realizados em quintuplicata.

Os resultados de Na, K e Ca obtidos pelo Programa de Comparação Interlaboratorial em Biodiesel da ANP (amostras EI-01 e EI-02, média \pm desvio padrão) e pelo Certificado de Qualidade de Biodiesel da Petrobrás (amostra B-02) foram utilizados para comparação com o método proposto.

3.6.3.1. Quantificações de acordo com a norma NBR 15553

A fim de verificar a exatidão do método proposto para determinação de Na, K e Ca em FAES, as amostras foram analisadas de acordo com a metodologia normalizada NBR 15553 [48]. Esta norma foi adotada pela Resolução ANP, Nº 7 de 2008 [8] para determinação dos teores de cálcio, magnésio, sódio, fósforo e potássio em ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos ou B100. Este método consiste na diluição direta da amostra em solvente orgânico (xileno ou querosene) com determinação por ICP OES.

Neste trabalho o querosene foi utilizado como solvente orgânico para diluição das amostras e dos padrões organometálicos para calibração. As amostras foram preparadas pesando 1,0 g (determinação de Na e Ca) e 5,0 g (determinação de K) e diluídas em querosene até massa final de 10,0 g. Os padrões para curva analítica foram preparados a partir das soluções estoque de padrões organometálicos e utilizou-se óleo base mineral para ajustar a viscosidade.

3.7. Determinação de Na e K em fotômetro de chama comercial

As determinações de Na e K nas emulsões foram também realizadas em um fotômetro de chama comercial com o objetivo de comparar com os resultados obtidos pelo método proposto empregando FAES com detector de emissão contínua. Utilizou-se o método da curva analítica sem o uso de padrão interno, uma vez que as medidas são realizadas um elemento por vez e o equipamento não possuía filtro ótico para o elemento lítio.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No método proposto para determinação simultânea de Na, K e Ca em amostras de biodiesel utilizando a técnica FAES em conjunto com detector de emissão contínua, avaliou-se possíveis interferências, estabeleceu-se condições experimentais para o preparo das emulsões e foi avaliada a estabilidade dos analitos. Quanto à escolha do melhor procedimento de calibração, curvas analíticas com padronização interna em diferentes meios foram construídas. A metodologia foi validada por ensaios de adição e recuperação e comparação dos resultados com método normalizado e com resultados obtidos por empresas nacionais.

4.1. Interferências

Interferências espectrais e não espectrais são possíveis na FAES, no entanto estas podem ser minimizadas ou corrigidas. Dentre as interferências não espectrais, destacam-se as interferências químicas e as interferências de excitação e ionização. Esse tipo de interferência é caracterizado pela redução ou aumento do sinal do analito devido a fatores como a influência do transporte da amostra e a ionização na chama, e está muita vezes, diretamente relacionada com a composição e concentração dos concomitantes da matriz da amostra. As interferências espectrais são devidas à emissão de linhas ou bandas adjacentes quando o elemento a analisar e o interferente tem comprimentos de onda de emissão próximos ou sobrepostos. A correção das interferências pode ser realizada através de técnicas como a simulação de matriz e a escolha de outra linha analítica [36,75].

Em geral, um aumento na temperatura da chama causa um aumento na intensidade de emissão para a maioria dos elementos. Isso não acontece com os

elementos que se ionizam facilmente como sódio, potássio e lítio. Devido à competição entre a ionização e a excitação atômica desses elementos, a determinação de metais alcalinos é preferencialmente realizada em chamas com temperaturas mais baixas [36].

Neste trabalho empregou-se uma chama ar-gás combustível (GLP), que opera em uma temperatura entre 1700 e 1900 °C. Dessa forma, a energia fornecida é baixa, porém suficiente para excitar os átomos de Na, K e Li gerando a emissão de linhas atômicas e posterior quantificação desses elementos.

A determinação de cálcio também é possível por essa técnica [20,35,36,77], porém apresenta baixa sensibilidade analítica devido à formação de óxidos refratários que não se dissociam na chama [35,36].

As linhas de emissão características para os elementos Na ($\lambda = 589$ nm), Ca ($\lambda = 620,5$ nm), Li ($\lambda = 668,5$ nm) e K ($\lambda = 769,5$ nm) foram escolhidas com base na sensibilidade e ausência de interferências espectrais. A Figura 4.1 representa um espectro de emissão contínua, registrado pelo detector, após leitura de um padrão aquoso contendo 1 mg kg^{-1} de Na, Li e K e 5 mg kg^{-1} de Ca. A intensidade de cada linha emitida depende da concentração da espécie excitada e da probabilidade de ocorrência da transição eletrônica.

Foi avaliada também a possibilidade de interferência do sinal de um analito sobre os demais analitos. Para isso, mediu-se o sinal de emissão de um dos elementos e comparou-se com o sinal de uma solução contendo a mesma concentração do analito (1 mg kg^{-1}), porém contendo os outros analitos em concentrações de 1, 5 e 10 mg kg^{-1} . O elemento Li foi utilizado como padrão interno. Observou-se que não existe interferência entre os elementos de interesse nas linhas escolhidas.

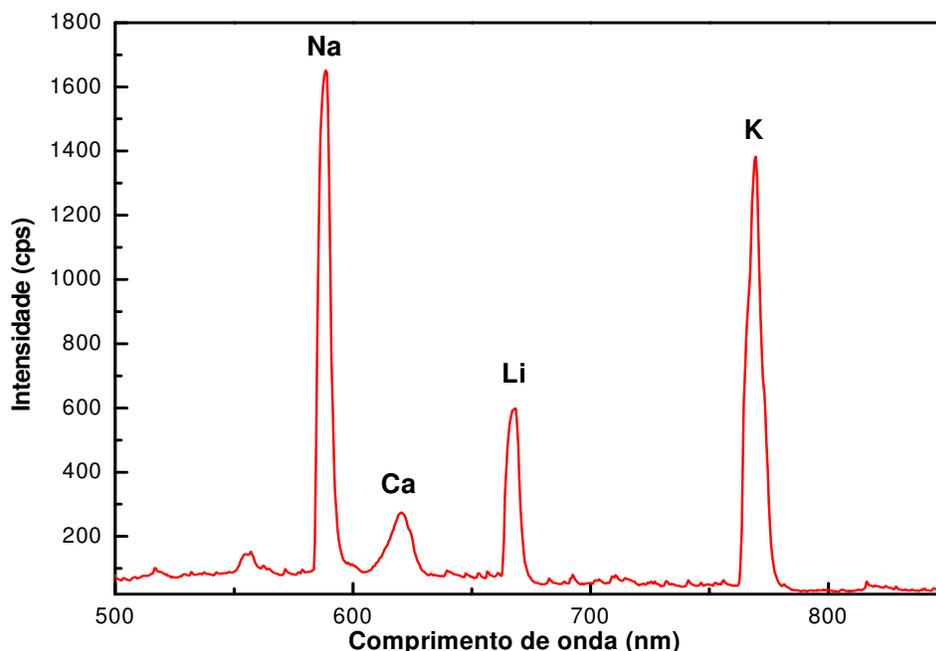


Figura 4.1: Espectro de emissão contínuo para os elementos Na, Ca, Li e K.

Na excitação em chama, a taxa de aspiração da solução e a eficiência de nebulização são altamente dependentes das propriedades físicas da solução. Soluções de calibração e amostras devem apresentar semelhança em propriedades como viscosidade, tensão superficial, densidade e pressão de vapor [19]. A padronização interna corrige flutuações do sinal decorrentes de variações na viscosidade, densidade e tensão superficial, os quais afetam diretamente o transporte da amostra melhorando a repetitividade e exatidão [76].

O padrão interno é uma substância que é adicionada em quantidade constante a todas as amostras e padrões de calibração em uma análise. Se for escolhido e usado adequadamente, pode compensar vários tipos de erros aleatórios e sistemáticos [75]. O procedimento envolve o cálculo da razão do sinal do analito pelo sinal do elemento escolhido como padrão interno. Normalmente, ocorre proporcionalidade direta entre as razões e as concentrações dos analitos e essa

razão deve ser idêntica para uma amostra e um padrão contendo o analito de mesma concentração.

Alguns critérios devem ser observados para a seleção apropriada do elemento a ser utilizado como padrão interno. Suas propriedades físicas e químicas devem ser os mais similares possíveis daquelas dos elementos de interesse e sua linha de emissão deve apresentar energia de excitação e de ionização equivalentes a do(s) analito(s). Além disso, o padrão interno deve estar ausente da matriz da amostra de forma que a única fonte de padrão seja a quantidade adicionada [76].

Dessa forma, na análise por espectrofotometria de emissão atômica com chama, o elemento lítio apresenta-se como um bom padrão interno para a determinação de sódio, potássio [75] e cálcio, pois além de apresentar similaridade com os elementos investigados, está ausente (ou em baixa concentração) na matriz das amostras de biodiesel.

Para avaliar a eficiência do Li como padrão interno, foram preparadas soluções com padrões inorgânicos em diferentes meios utilizando padrão interno e sem o uso deste. Os sinais analíticos de Na, Ca, K foram comparados nos meios: solução aquosa, emulsão de óleo mineral base (10%) e soluções com Triton X-100. Essas soluções foram preparadas com padrões inorgânicos de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Na, K e Li e $5,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Ca.

Na Figura 4.2 estão dispostos os resultados da correlação dos sinais em diferentes meios de preparo sem utilizar o cálculo da razão do sinal do analito pelo sinal do padrão interno. Os dados mostram flutuações significativas nos sinais analíticos para os diferentes meios, devido à interferência do transporte do material para o nebulizador. Esses problemas são contornados quando é utilizado o cálculo da razão do sinal do analito pelo sinal do padrão interno de Li (Figura 4.3).

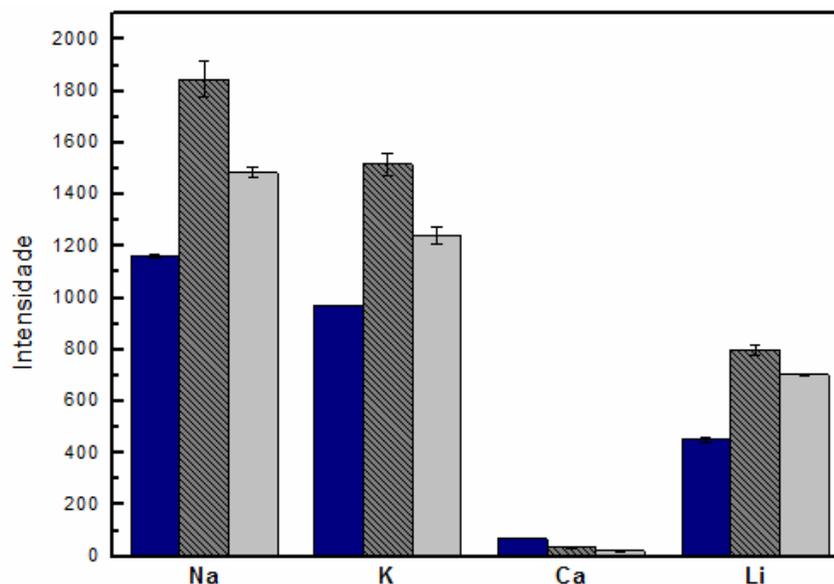


Figura 4.2: Comparação dos sinais obtidos para Na, K, Li (1 mg kg^{-1}) e Ca (5 mg kg^{-1}) em solução aquosa (■), em solução de Triton X-100 (▨) e em óleo mineral base emulsificado com Triton X-100 (□). As barras indicam o desvio padrão para $n = 3$

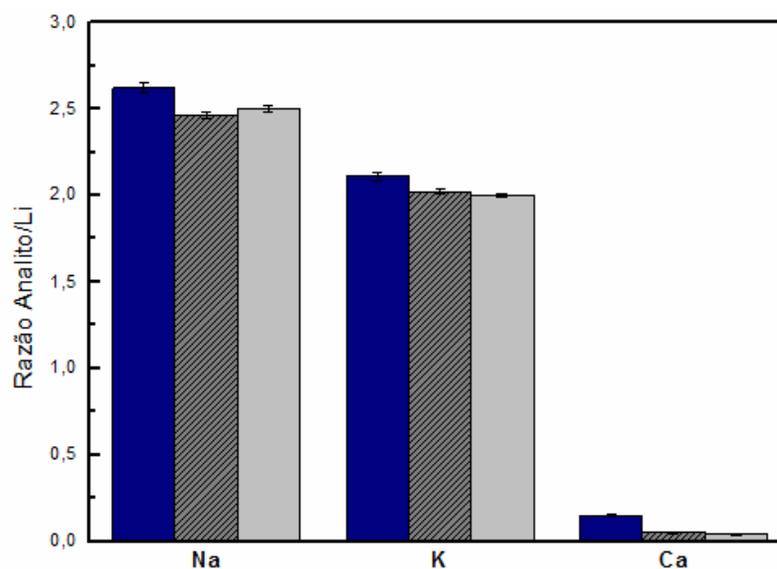


Figura 4.3: Comparação da razão dos sinais obtidos para Na/Li, K/Li (1 mg kg^{-1}) e Ca/Li (5 mg kg^{-1}) em solução aquosa (■), em solução de Triton X-100 (▨) e em óleo mineral base emulsificado com Triton X-100 (□). Desvio padrão ($n = 3$)

De acordo com a Figura 4.2, os sinais dos analitos nos meios em solução de Triton X-100 e em óleo base emulsificado se correlacionam dentro da margem do desvio padrão das medidas. Observa-se uma depreciação do sinal dos analitos preparados nesses meios em relação ao padrão aquoso, principalmente para o elemento cálcio, indicando efeitos da matriz.

Este estudo de correlação de sinal foi importante para prever os meios mais adequados para preparação dos padrões para as curvas de calibração. No entanto, só pode-se aferir com certeza a adequação dessas escolhas a partir dos resultados de seletividade do método utilizando curvas de calibração externa e de adição de analito.

4.2. Composição das emulsões

Vários fatores podem influenciar a estabilidade das emulsões como as relativas concentrações de óleo (amostra), água, surfactante e co-solvente e as técnicas utilizadas para agitação e homogeneização dos componentes [53].

A ordem nas quais os componentes são misturados é uma etapa crítica para o sucesso da formação da emulsão. Após o tratamento ácido das amostras de óleo, o co-solvente deve ser adicionado primeiro para moderar a polaridade da fase oleosa facilitando a interação óleo/surfactante. A adição de água ao sistema é a última etapa para formação da emulsão. A mistura é homogeneizada eficientemente com auxílio de aparelhos mecânicos (agitador vortex) e/ou agitador ultra-sônico [53,57]. A adição prévia de ácido nítrico concentrado nas amostras de óleo tem como objetivo dissolver as partículas em suspensão e converter as espécies organometálicas em inorgânicas [78], além de melhorar a estabilidade dos analitos nas emulsões e padrões para calibração [14].

O uso de uma quantidade máxima de amostra na emulsão é desejável para aumentar a sensibilidade do método analítico, porém também aumenta a viscosidade reduzindo a eficiência do nebulizador. Assim, uma quantidade de 10 % (m/m) de amostra de biodiesel foi suficiente para o preparo das emulsões.

Um surfactante não-iônico foi escolhido para o trabalho em relação a surfactantes iônicos, pois estes introduzem concentrações substanciais de contra-íons (usualmente metais alcalinos) [14] à solução da emulsão, que não é uma situação desejável para análise dos metais Na, K e Ca por FAES.

Foram testados dois surfactantes não-iônicos, Triton X-100 e Triton X-114 para a emulsificação e co-solventes para estabilização da fase oleosa como etanol, n-propanol e n-butanol, em diferentes quantidades (0,5; 1,0 e 2,0 mL) e tendo como parâmetro de comparação entre os diferentes ensaios, a homogeneidade visual do sistema.

A partir dos testes preliminares observou-se que as emulsões preparadas com Triton X-100 e n-butanol apresentaram melhor dispersão de óleo (amostra de biodiesel de óleo de soja) na solução (Figura 4.4). As emulsões com n-butanol foram mais estáveis e homogêneas quando comparadas com as emulsões utilizando os outros co-solventes. Uma quantidade de 1,0 mL de n-butanol foi suficiente para estabilizar as emulsões contendo 10% (m/m) de biodiesel.

Com a definição dos componentes da emulsão, foi realizado um planejamento composto central [70,71] para definir as proporções ótimas de surfactante e ácido nítrico. Esse estudo foi realizado com base na magnitude dos sinais analíticos dos elementos Na, K e Ca, utilizando Li como padrão interno. Foram utilizadas diferentes amostras de biodiesel (como soja, algodão, girassol e mistura

de soja e sebo) para avaliar o comportamento das variáveis sobre os sinais analíticos dos íons Na, K e Ca.

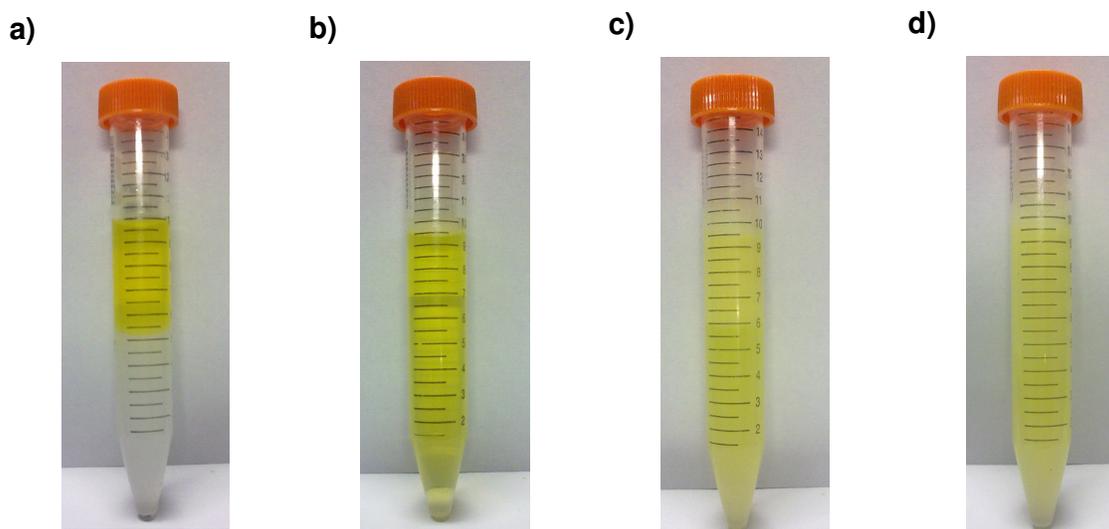


Figura 4.4: Emulsão com n-butanol em Triton X-114 (a); emulsões com n-butanol (b), n-propanol (c) e etanol (d) em Triton X-100.

4.2.1. Otimização das condições experimentais

Foram realizados 11 ensaios (2^2 ensaios, com dois pontos axiais para cada nível independente e três repetições no ponto central) para cada amostra de biodiesel. As emulsões (10,0 g) foram preparadas com quantidades fixas de biodiesel (1,0 g) e n-butanol (1mL). As variáveis independentes em cada ensaio foram as quantidades de Triton X-100 (0,6 a 1,0 g) e volume de HNO_3 (0,3 a 0,7 mL). As variáveis dependentes (respostas) foram as razões entre os sinais analíticos Na/Li e K/Li (amostras de soja, algodão, girassol e mistura) e da razão Ca/Li (amostra de girassol). Na Tabela 4.1 apresenta os níveis utilizados para as variáveis.

Tabela 4.1: Planejamento composto central para otimização das quantidades de HNO₃ e Triton X-100

Variáveis independentes	Níveis				
	-1,41	-1	0*	+ 1	+ 1,41
Volume de HNO ₃ (mL)	0,2	0,3	0,5	0,7	0,8
Quantidade de Triton X-100 (g)	0,5	0,6	0,8	1,0	1,1

* ponto central

▪ **Sinal analítico do íon sódio**

A Tabela 4.2 apresenta as respostas para as condições de cada ensaio realizado para o estudo do sinal analítico da razão Na/Li nas diferentes amostras de biodiesel de soja, algodão, girassol e mistura.

Com base nas curvas de nível e superfícies de resposta (Figuras 4.5 a 4.8) foi construída a Tabela 4.3. Essa Tabela indica se os fatores estudados (volume de HNO₃ e quantidade de Triton X-100) influem significativamente ou não nas respostas obtidas para a razão Na/Li. Na Tabela 4.4 mostra os efeitos padronizados (efeitos principais e de interação) e os parâmetros R^2 (coeficiente de determinação) e erro puro resultantes do planejamento.

Analisando as Tabelas 4.3 e 4.4 e as Figuras 4.5 a 4.8 pode-se constatar que as variáveis quantidades de Triton X-100 e de HNO₃ afetam significativamente o sinal analítico do íon sódio nas amostras de biodiesel de soja e algodão. Nas amostras de girassol e mistura somente a quantidade de HNO₃ foi significativa para o planejamento.

Pode-se perceber pelos dados da Tabela 4.4 que uma diminuição nas quantidades de Triton X-100 e de HNO_3 acarreta em um aumento no sinal analítico do íon sódio para as amostras de biodiesel de soja e algodão.

O modelo codificado obtido pela regressão que relaciona o sinal analítico Na/Li com essas amostras de biodiesel é uma equação de 2ª ordem descrita matematicamente pelas equações abaixo:

$$\text{Sinal Na/Li} = 0,272 - 0,023 \cdot \text{HNO}_3 - 0,067 \cdot (\text{HNO}_3)^2 - 0,0053 \cdot \text{T-100} - 0,069 \cdot (\text{T-100})^2 - 0,020 \cdot \text{HNO}_3 \cdot \text{T-100} \text{ (biodiesel de soja)}$$

$$\text{Sinal Na/Li} = 0,916 - 0,061 \cdot (\text{HNO}_3)^2 - 0,052 \cdot (\text{T-100})^2 \text{ (biodiesel de algodão)}$$

O baixo coeficiente de determinação do modelo proposto para as amostras de biodiesel de girassol e mistura soja/sebo demonstram um ajuste inadequado dos dados experimentais. Esse resultado pode ter sido gerado em função da alta complexidade dessas amostras, quando comparado às amostras de soja e algodão. Mesmo assim, a análise dos efeitos padronizados para a variável quantidade de HNO_3 também mostra um efeito negativo na variável de resposta.

As equações dos modelos codificados, que relaciona o sinal analítico Na/Li com as amostras de biodiesel de girassol e mistura são as que se seguem:

$$\text{Sinal Na/Li} = 3,39 - 0,24 \cdot (\text{HNO}_3)^2 \text{ (biodiesel de girassol)}$$

$$\text{Sinal Na/Li} = 0,46 - 0,043 \cdot (\text{HNO}_3)^2 \text{ (mistura de biodiesel)}$$

Tabela 4.2: Sinal analítico da razão Na/Li para cada amostra de biodiesel avaliada

Ensaio	HNO ₃ (mL)	Triton X-100 (g)	HNO ₃	T-100	Sinal Na/Li			
	Valores decodificados		Valores codificados		Soja	Algodão	Girassol	Mistura
1	0,3	0,6	-1	-1	0,148	0,765	2,706	0,388
2	0,7	0,6	1	-1	0,187	0,807	2,878	0,310
3	0,3	1,0	-1	1	0,173	0,783	2,993	0,350
4	0,7	1,0	1	1	0,131	0,816	3,143	0,368
5	0,2	0,8	-1,41	0	0,179	0,839	3,045	0,396
6	0,8	0,8	1,41	0	0,0510	0,771	3,137	0,434
7	0,5	0,5	0	-1,41	0,116	0,885	3,584	0,459
8	0,5	1,1	0	1,41	0,107	0,759	3,373	0,415
9	0,5	0,8	0	0	0,272	0,943	3,323	0,464
10	0,5	0,8	0	0	0,274	0,910	3,403	0,484
11	0,5	0,8	0	0	0,271	0,895	3,426	0,444

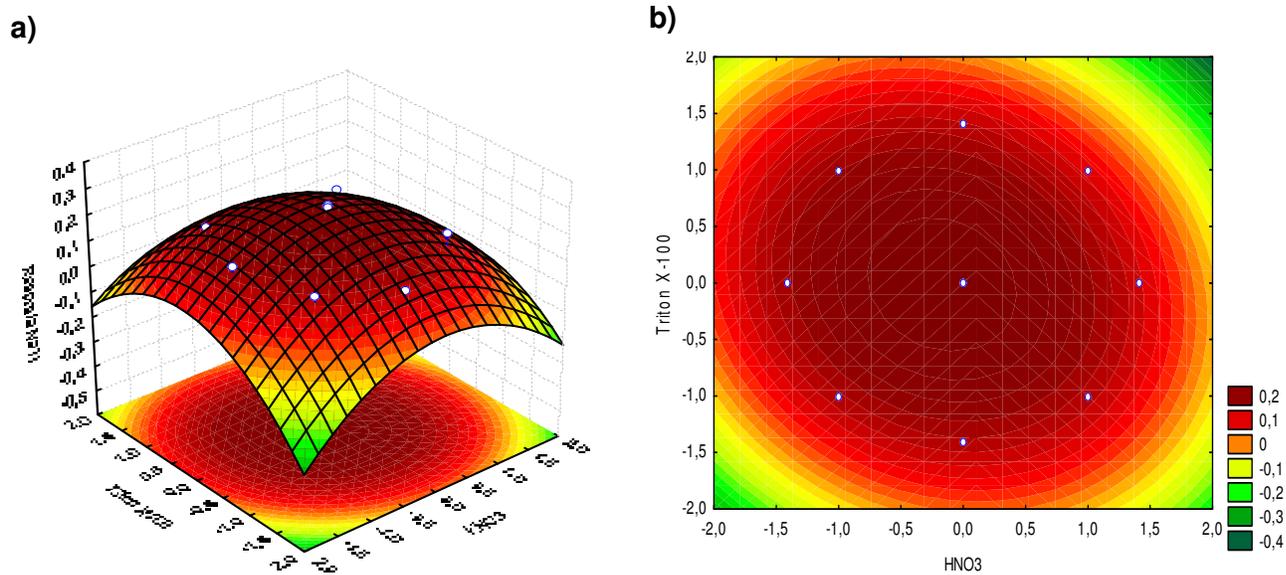


Figura 4.5: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão Na/Li para amostra de biodiesel de soja.

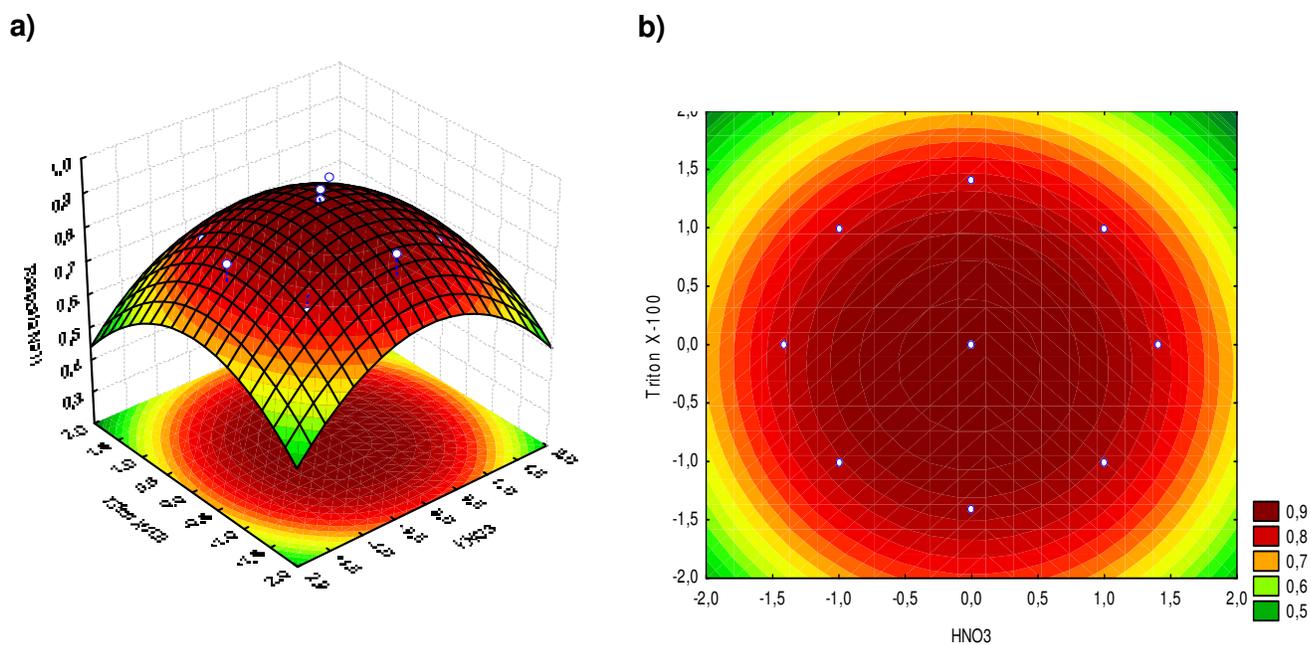
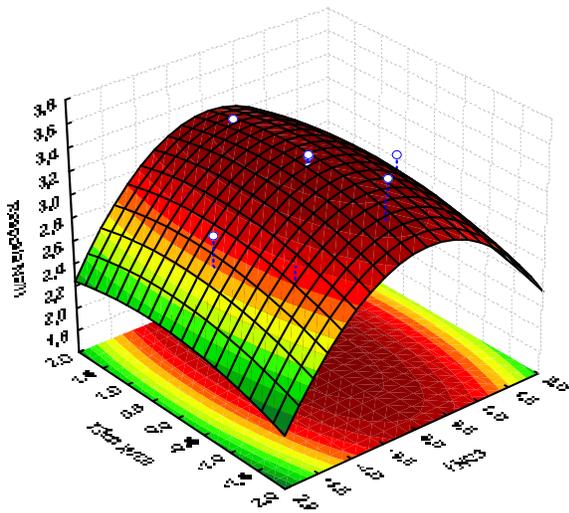


Figura 4.6: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão Na/Li para amostra de biodiesel de algodão.

a)



b)

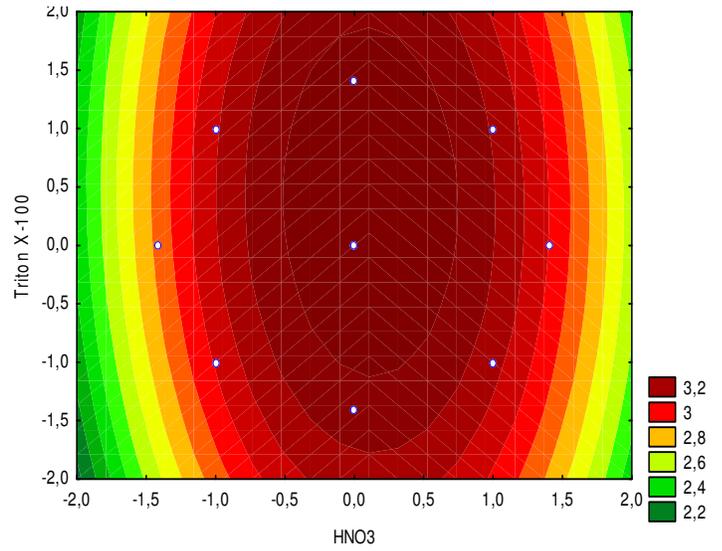
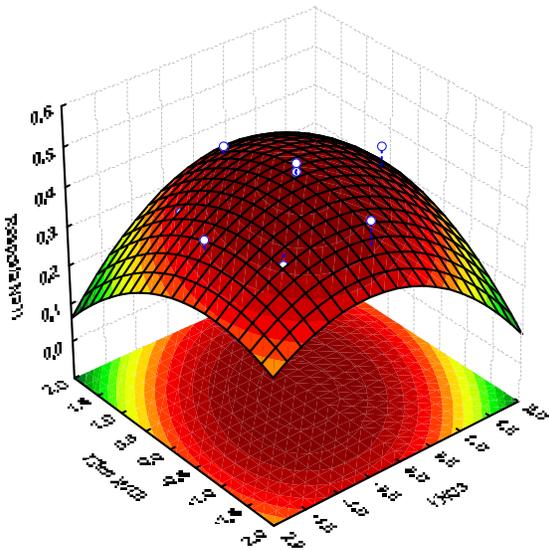


Figura 4.7: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão Na/Li para amostra de biodiesel de girassol.

a)



b)

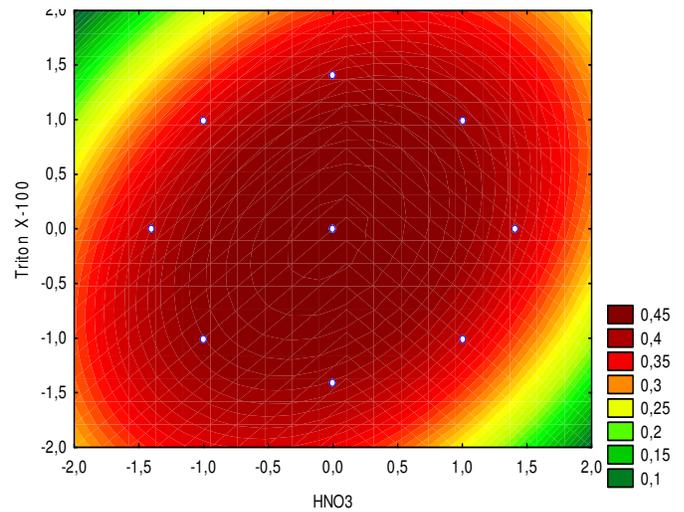


Figura 4.8: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão Na/Li para amostra de mistura de biodiesel.

Tabela 4.3: Influência da quantidade de Triton X-100 e de HNO₃ sobre o sinal analítico da razão Na/Li nas amostras de biodiesel

	Soja	Algodão	Girassol	Mistura
Triton X-100	+	+	-	-
HNO ₃	+	+	+	+

(+) influência significativa; (-) sem influência significativa.

Tabela 4.4: Estimativa dos efeitos principais e de interação sobre o sinal analítico da razão Na/Li para cada amostra de biodiesel e os parâmetros R^2 e erro puro

Fator	Efeito ± erro padrão			
	Soja	Algodão	Girassol	Mistura
Média	0,27224 ± 0,00094	0,916 ± 0,014	3,386 ± 0,031	0,464 ± 0,012
HNO₃ (L)	-0,0460 ± 0,0012	-0,005 ± 0,018	0,113 ± 0,038	-0,002 ± 0,014
HNO₃ (Q)	-0,1345 ± 0,0014	-0,122 ± 0,021	-0,475 ± 0,046	-0,085 ± 0,017
Triton X-100 (L)	-0,0107 ± 0,0012	-0,037 ± 0,018	0,064 ± 0,038	-0,011 ± 0,014
Triton X-100 (Q)	-0,1378 ± 0,0014	-0,105 ± 0,021	-0,084 ± 0,046	-0,063 ± 0,017
Interação	-0,0397 ± 0,0016	-0,004 ± 0,025	-0,012 ± 0,054	0,048 ± 0,020
R^2	0,8452	0,7379	0,5027	0,5263
Erro puro	2,70E-06	6,14E-04	2,91E-03	4,05E-04

L: modelo linear, Q: modelo quadrático e R^2 : coeficiente de determinação. Valores em negrito são significativos a 95% de confiança.

- **Sinal analítico do íon potássio**

A Tabela 4.5 apresenta o sinal analítico da razão K/Li para cada amostra de biodiesel avaliada.

Com base nas curvas de nível e superfícies de resposta (Figuras 4.9 a 4.12) foi construída a Tabela 4.6. Esta tabela indica se os fatores estudados (volume de HNO₃ e quantidade de Triton X-100) influenciam significativamente ou não as respostas obtidas para a razão K/Li. A Tabela 4.7 mostra os efeitos padronizados (efeitos principais e de interação), os parâmetros R^2 e erro puro resultantes desse planejamento.

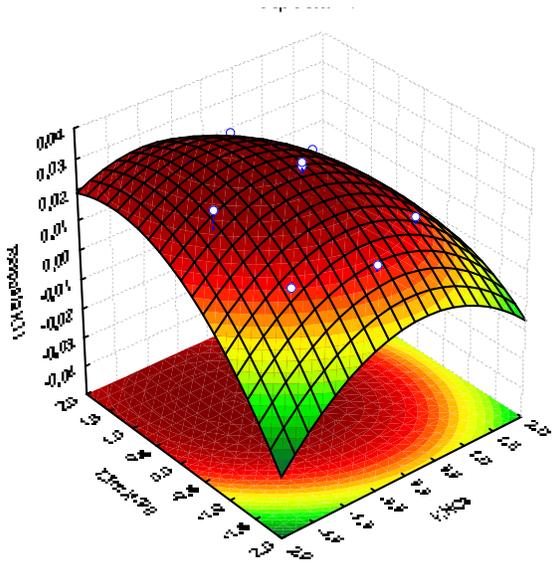
Analisando as Tabela 4.6 e 4.7 e as Figuras 4.9 a 4.12, pode-se constatar que as variáveis quantidades de Triton X-100 e de HNO₃ afetam significativamente o sinal analítico do íon potássio em todas as amostras de biodiesel analisadas.

A análise dos efeitos padronizados para a variável quantidade de HNO₃ permite concluir que esta possui um efeito negativo na variável de resposta, ou seja, uma diminuição na quantidade de HNO₃ acarretaria em um aumento no sinal analítico do íon potássio. No modelo linear observa-se um efeito positivo da variável quantidade de Triton X-100 sobre o sinal analítico K/Li para as amostras de soja, algodão e girassol. Em geral, os resultados mostram que os melhores sinais analíticos pra o íon potássio serão obtidos com a diminuição da quantidade de HNO₃ e com o aumento da quantidade de Triton X-100.

Tabela 4.5: Sinal analítico da razão K/Li para cada amostra de biodiesel avaliada

Ensaio	HNO ₃ (mL)	Triton X-100 (g)	HNO ₃	T-100	Sinal K/Li			
	Valores decodificados		Valores codificados		Soja	Algodão	Girassol	Mistura
1	0,3	0,6	-1	-1	0,011	0,014	-0,010	0,029
2	0,7	0,6	1	-1	0,016	0,028	0,0078	0,008
3	0,3	1,0	-1	1	0,027	0,041	0,020	0,036
4	0,7	1,0	1	1	0,018	0,042	0,017	0,0092
5	0,2	0,8	-1,41	0	0,029	0,049	0,020	0,027
6	0,8	0,8	1,41	0	0,009	0,024	0,015	0,032
7	0,5	0,5	0	-1,41	0,014	0,025	0,0018	0,015
8	0,5	1,1	0	1,41	0,028	0,055	0,030	0,012
9	0,5	0,8	0	0	0,026	0,045	0,041	0,042
10	0,5	0,8	0	0	0,031	0,046	0,038	0,043
11	0,5	0,8	0	0	0,032	0,048	0,037	0,041

a)



b)

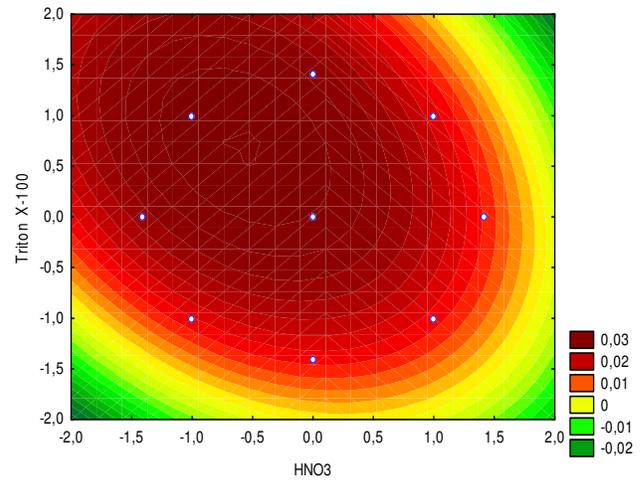
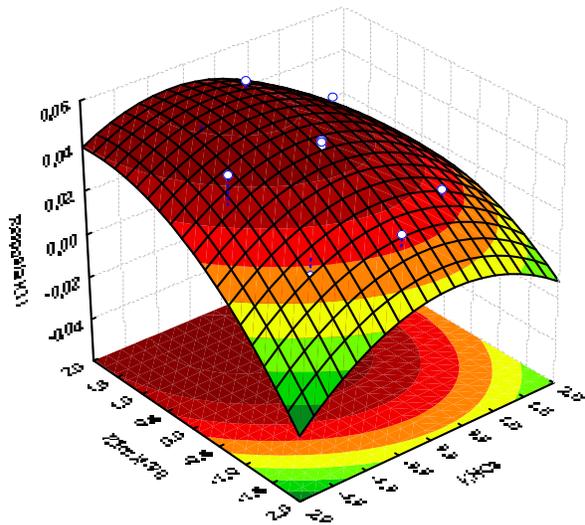


Figura 4.9: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão K/Li para amostra de biodiesel de soja.

a)



b)

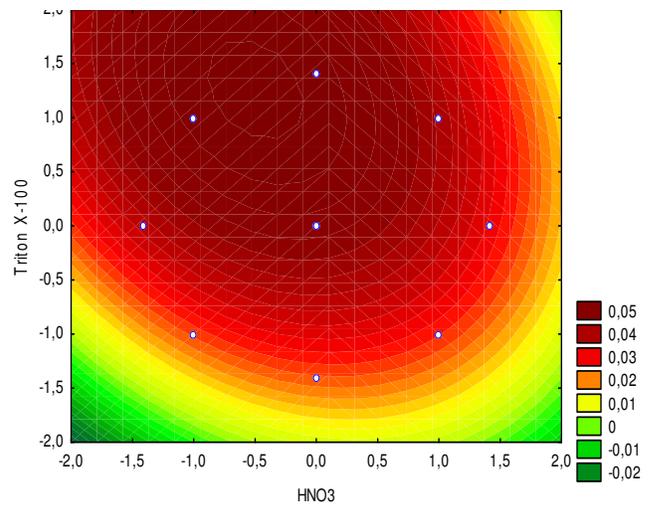


Figura 4.10: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão K/Li para amostra de biodiesel de algodão.

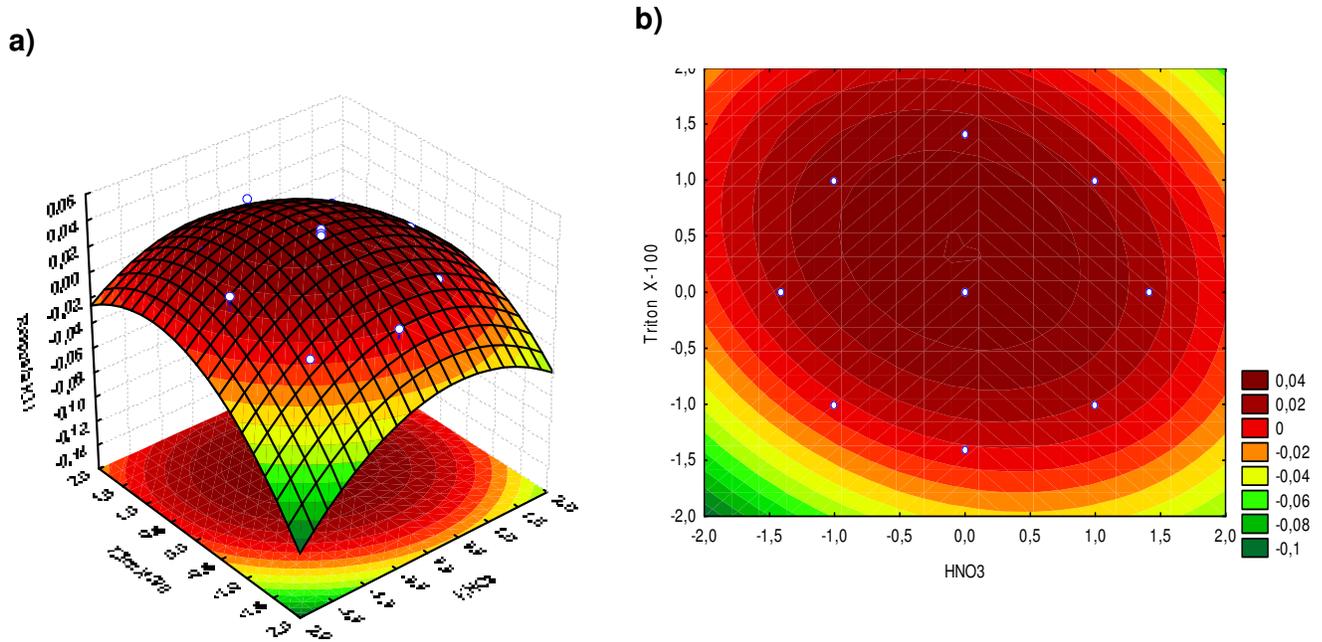


Figura 4.11: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão K/Li para amostra de biodiesel de girassol.

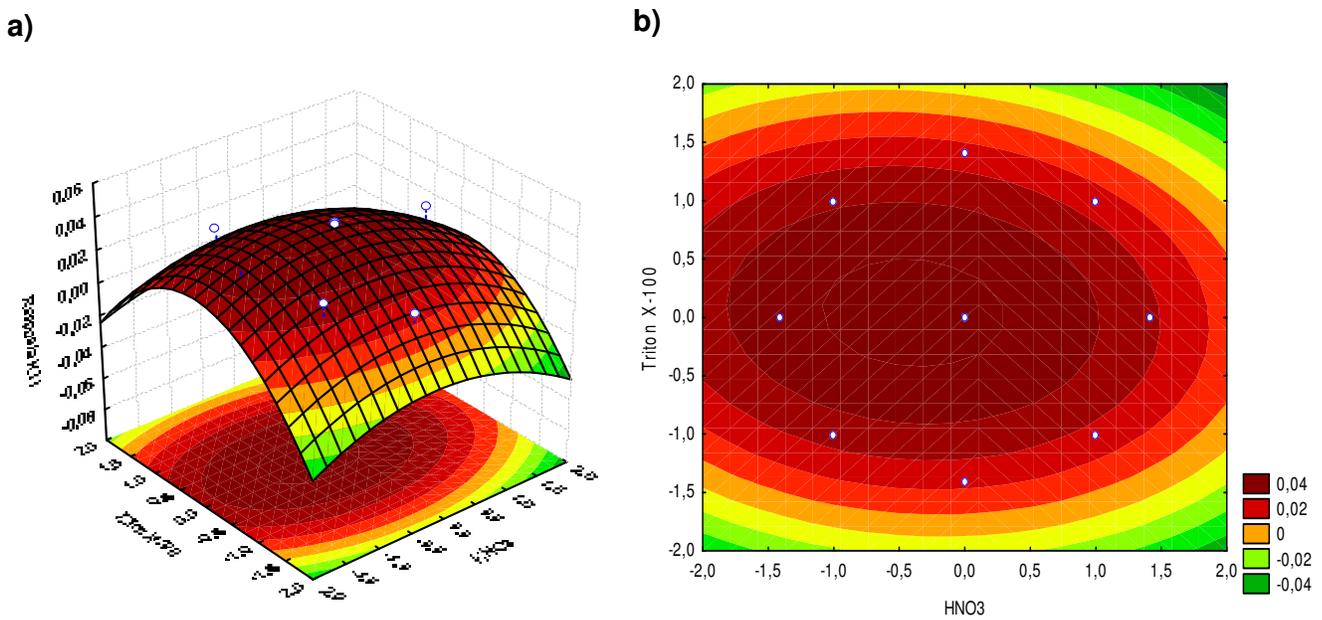


Figura 4.12: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão K/Li para amostra de mistura de biodiesel.

Tabela 4.6: Influência da quantidade de Triton X-100 e de HNO₃ sobre o sinal analítico da razão K/Li nas amostras de biodiesel

	Soja	Algodão	Girassol	Mistura
Triton X-100	+	+	+	+
HNO ₃	+	+	+	+

(+) influência significativa; (-) sem influência significativa.

Tabela 4.7: Estimativa dos efeitos principais e de interação sobre sinal analítico da razão K/Li para cada amostra de biodiesel e os parâmetros R^2 e erro puro

Fator	Efeito \pm erro padrão			
	Soja	Algodão	Girassol	Mistura
Média	0,0299 \pm 0,0018	0,04628 \pm 0,00087	0,0385 \pm 0,0013	0,04218 \pm 0,00050
HNO ₃ (L)	-0,0082 \pm 0,0022	-0,0048 \pm 0,0011	0,0020 \pm 0,0015	-0,01019 \pm 0,00061
HNO ₃ (Q)	-0,0118 \pm 0,0026	-0,0134 \pm 0,0013	-0,0250 \pm 0,0018	-0,01304 \pm 0,00073
Triton X-100 (L)	0,0095 \pm 0,0022	0,0209 \pm 0,0011	0,0198 \pm 0,0015	0,00095 \pm 0,00061
Triton X-100 (Q)	-0,0098 \pm 0,0026	-0,0096 \pm 0,0013	-0,0268 \pm 0,0018	-0,02911 \pm 0,00073
Interação	-0,0073 \pm 0,0030	-0,0068 \pm 0,0015	-0,0106 \pm 0,0022	-0,00305 \pm 0,00087
R^2	0,8646	0,7581	0,9243	0,7830
Erro puro	9,2E-06	2,2E-06	4,8E-06	8E-07

L: modelo linear, Q: modelo quadrático e R^2 : coeficiente de determinação. Valores em negrito são significativos a 95% de confiança.

As equações dos modelos codificados, que descrevem as curvas de contorno e superfícies de resposta mostradas nas Figuras 4.9 a 4.12 são a que se seguem:

$$\text{Sinal K/Li} = 0,30 - 0,059*(\text{HNO}_3)^2 - 0,0047*T-100 \text{ (biodiesel de soja)}$$

$$\text{Sinal K/Li} = 0,046 - 0,0024*\text{HNO}_3 - 0,0067*(\text{HNO}_3)^2 + 0,010*T-100 - 0,0048*(T-100)^2 - 0,0034 * \text{HNO}_3*T-100 \text{ (biodiesel de algodão)}$$

$$\text{Sinal K/Li} = 0,039 - 0,0013*(\text{HNO}_3)^2 + 0,010*T-100 - 0,013*(T-100)^2 - 0,0053 * \text{HNO}_3*T-100 \text{ (biodiesel de girassol)}$$

$$\text{Sinal K/Li} = 0,042 - 0,0051*\text{HNO}_3 - 0,0065*(\text{HNO}_3)^2 - 0,015*(T-100)^2 \text{ (mistura de biodiesel)}$$

▪ Sinal analítico do íon cálcio

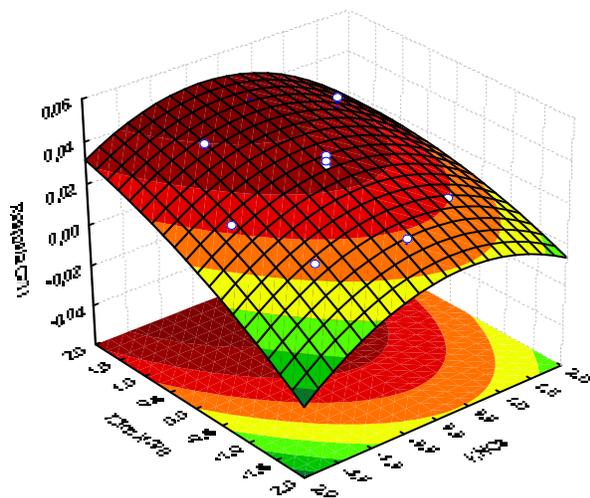
Das amostras analisadas somente o biodiesel de girassol apresentou sinal analítico detectável para o íon cálcio. Dessa forma somente essa amostra foi avaliada para o planejamento composto central. A Tabela 4.8 apresenta o sinal analítico da razão Ca/Li para amostra de biodiesel de girassol. A partir desses dados foram obtidas as curvas de nível e superfícies de resposta (Figura 4.13).

De acordo com a Figura 4.13 os fatores estudados (volume de HNO_3 e quantidade de Triton X-100) influenciam significativamente nas respostas obtidas para a razão Ca/Li. A Tabela 4.9 mostra os efeitos padronizados (efeitos principais e de interação) e os parâmetros R^2 e erro puro resultantes desse planejamento.

Tabela 4.8: Sinal analítico da razão Ca/Li para amostra de biodiesel de girassol

Ensaio	HNO ₃ (mL)	Triton X-100 (g)	HNO ₃	T-100	Sinal Ca/Li
	Valores decodificados		Valores codificados		
1	0,3	0,6	-1	-1	0,013
2	0,7	0,6	1	-1	0,021
3	0,3	1,0	-1	1	0,041
4	0,7	1,0	1	1	0,041
5	0,2	0,8	-1,41	0	0,022
6	0,8	0,8	1,41	0	0,021
7	0,5	0,5	0	-1,41	0,019
8	0,5	1,1	0	1,41	0,041
9	0,5	0,8	0	0	0,032
10	0,5	0,8	0	0	0,038
11	0,5	0,8	0	0	0,035

a)



b)

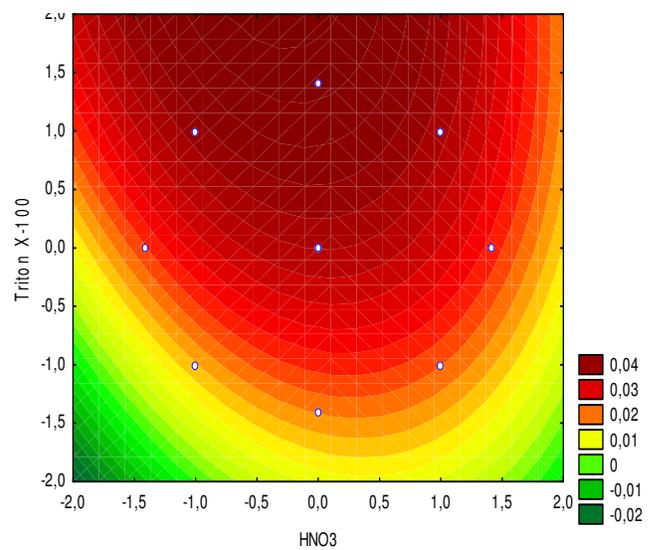


Figura 4.13: Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para o sinal analítico da razão Ca/Li para amostra de biodiesel de girassol.

Tabela 4.9: Estimativa dos efeitos principais e de interação sobre o sinal analítico da razão Ca/Li para amostra de biodiesel de girassol e os parâmetros R^2 e erro puro

Fator	Efeito ± erro padrão
Média	0,0352 ±0,0016
HNO₃ (L)	0,0013 ±0,0020
HNO₃ (Q)	-0,0120 ±0,0024
Triton X-100 (L)	0,0200 ±0,0020
Triton X-100 (Q)	-0,0034 ±0,0024
Interação	-0,0042 ±0,0028
R^2	0,9304
Erro puro	7,8E-06

De acordo com a Tabela 4.9 os resultados mostram que os melhores sinais analíticos pra o íon cálcio foram obtidos com a diminuição da quantidade de HNO₃ e com o aumento da quantidade de Triton X-100. O R^2 de 93,0% para o modelo ajustado demonstra que os dados estão bem explicados pelo modelo proposto.

A equação do modelo codificado que descreve as curvas de contorno e superfícies de resposta mostradas na Figura 4.13 para amostra de girassol é a que se segue:

$$\text{Sinal Ca/Li} = 0,35 - 0,0060 * (\text{HNO}_3)^2 - 0,010 * \text{T-100}$$

▪ **Condição ótima para análise simultânea dos íons sódio, potássio e cálcio por FAES**

A análise dos resultados dos planejamentos permitiu localizar uma região de condição ótima experimental. Essa região é definida por pontos críticos que mostram os valores otimizados para análise. Os valores críticos foram caracterizados como pontos de máximo a partir dos valores codificados gerados pela análise de superfície de resposta. Os valores reais (experimentais) são decodificados a partir da equação abaixo:

$$X_{cod} = (X_{real} - PC)/(\Delta X/2) \quad [72]$$

onde, ΔX = nível alto (+1) – nível baixo (-1); PC = ponto central.

Na Tabela 4.10 estão dispostos os valores codificados assim como os valores reais das quantidades de HNO_3 e Triton X-100. Esses valores são definidos como as condições ótimas experimentais para análise dos sinais analíticos dos íons sódio, potássio e cálcio em diferentes amostras de biodiesel.

Com base nos dados da Tabela 4.10, as condições ótimas para o volume de HNO_3 variaram de 0,4 mL (íon potássio e cálcio) a 0,5 mL (íon sódio) e para quantidade de Triton X-100 variaram de 0,8 g a 1,4 g.

Para a determinação simultânea de Na, K e Ca em FAES foi definida uma condição ótima experimental que atenda a todos os elementos sem prejudicar as magnitudes dos sinais analíticos. Como verificado, os íons potássio e cálcio se apresentam em menor proporção nas amostras de biodiesel comparados com o íon sódio. Desse modo foi definida uma condição de ótimo próximo aos valores reais encontrados para os analitos K e Ca nas amostras de soja, algodão, girassol e mistura soja/sebo, como mostrado na Tabela 4.11.

Tabela 4.10: Valores críticos das quantidades de HNO₃ e Triton X-100 para análise dos sinais analíticos dos íons sódio, potássio e cálcio em amostras de biodiesel.

Valores críticos				
Amostras	HNO₃ (mL)		Triton X-100 (g)	
	Valor codificado	Valor real	Valor codificado	Valor real
Sinal analítico do íon sódio				
Soja	-0,1688	0,47	-0,01440	0,80
Algodão	-0,01763	0,50	-0,1787	0,76
Girassol	0,1146	0,52	Variável não	
Mistura	-0,03893	0,49	significativa	-
Sinal analítico do íon potássio				
Soja	-0,5621	0,39	0,6955	0,94
Algodão	-0,5002	0,40	1,2620	1,05
Girassol	-0,03989	0,49	0,3775	0,88
Mistura	-0,3949	0,42	0,03707	0,81
Sinal analítico do íon cálcio				
Girassol	-0,5031	0,40	3,2170	1,44

Tabela 4.11: Condição ótima definida no preparo das emulsões para análise dos íons sódio, potássio e cálcio por FAES com detector de emissão contínua.

Variável	Condição ótima
Acido nítrico (mL)	0,4
Triton X-100 (g)	1,0

As proporções ótimas de 4% v/v de HNO₃ e 10% m/v de Triton X-100 nas emulsões com as amostras de biodiesel foram confirmadas experimentalmente, apresentando soluções homogêneas e estáveis.

Souza e colaboradores [23] propuseram a formação de emulsões utilizando 1,0 g de biodiesel, 0,2 mL de HNO₃ e 0,6 g de Triton X-100. Foi preciso uma agitação vigorosa em vortex por 2 minutos para obter uma emulsão homogênea. Os sinais analíticos dos elementos analisados (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, and P) foram estáveis em menos de 12 horas a partir do preparo das emulsões.

4.3. Estudo de estabilidade das emulsões

Em um procedimento de rotina é importante que as amostras e soluções de calibração permaneçam estáveis por pelo menos algumas horas para que a análise possa ser realizada com boa precisão e exatidão.

Após a definição das condições ótimas do preparo das emulsões, a estabilidade dos sinais analíticos de Na, K e Ca foi verificada por um período de sete horas em amostras de biodiesel de soja (Na e K), algodão (Na e K) e girassol (Na e Ca).

Para fins de comparação, foram monitoradas as intensidades desses sinais analíticos em soluções com padrões inorgânicos nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg kg⁻¹ para Na; 0,2 e 1,0 mg kg⁻¹ para K e 2,5 mg kg⁻¹ para Ca. Essas soluções foram preparadas no mesmo meio que as amostras, porém com adição de óleo mineral base.

As leituras foram realizadas de hora em hora com agitação manual prévia das emulsões, e os sinais analíticos foram monitorados utilizando Li como padrão interno. As Figuras 4.14 a 4.18 mostram as estabilidades dos sinais analíticos da razão Na/Li, K/Li e Ca/Li nas emulsões de biodiesel e nos padrões em função do tempo.

De maneira geral, as emulsões de biodiesel apresentaram boa estabilidade para os analitos durante o intervalo de tempo avaliado, dentro da margem do desvio padrão das medidas. As soluções com padrões inorgânicos foram suficientemente estáveis, porém observa-se uma queda no sinal de cálcio (Figura 4.18) após 6 horas do preparo da solução.

Assim, a preparação da amostra é apropriada para aplicação em trabalhos de rotina e as soluções padrões de calibração devem ser preparadas diariamente.

Estudos realizados por Chaves et al. [19] avaliaram a estabilidade dos sinais analíticos de Na e K em microemulsões com biodiesel por FAES. Os sinais analíticos foram monitorados por um período de 250 minutos em intervalos de 30 minutos. Os resultados mostraram que os sinais de Na e K são estáveis durante o intervalo de tempo avaliado.

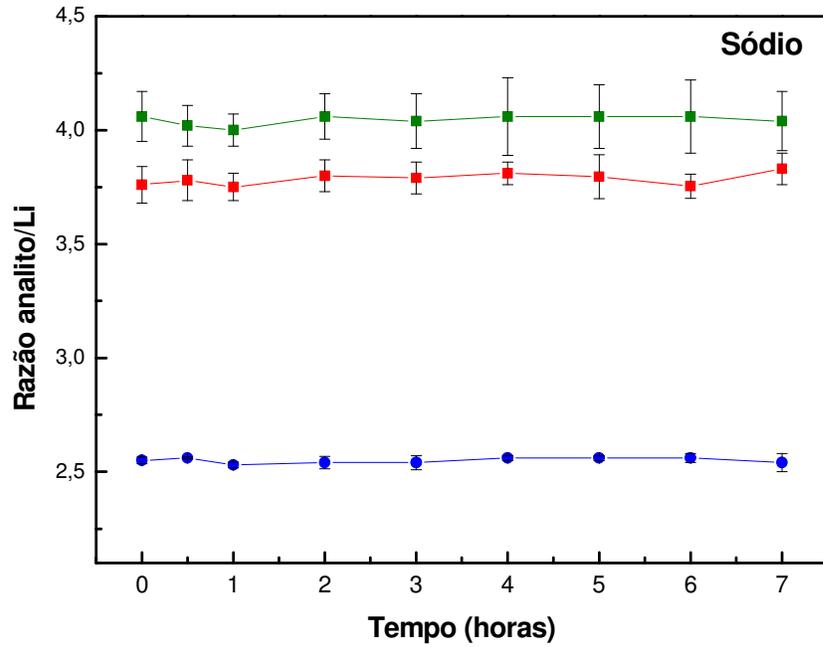


Figura 4.14: Estabilidade para sódio em: emulsão com biodiesel de soja (—■—) e de girassol (—■—), padrão contendo (—●—) 1,0 mg kg⁻¹ de Na. Barras representam desvio padrão (n=3).

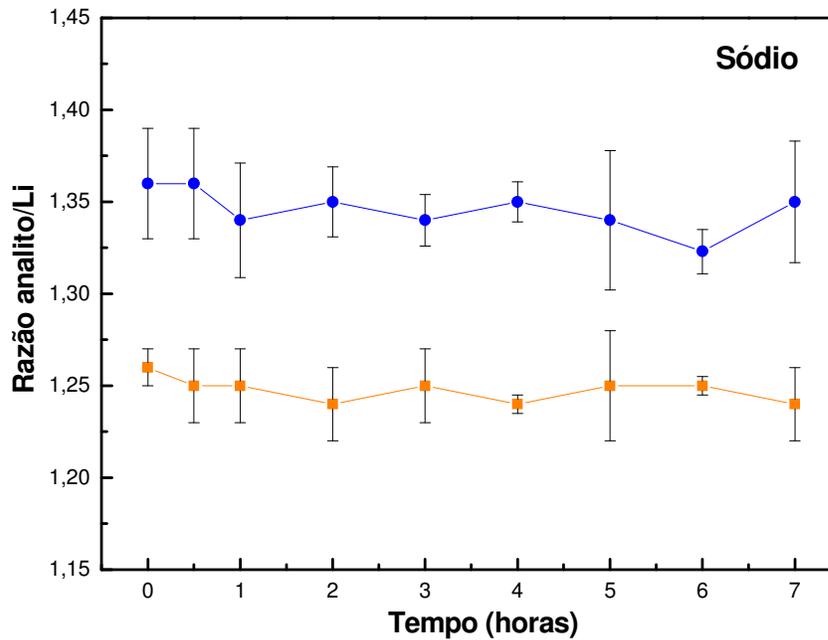


Figura 4.15: Estabilidade para sódio em: emulsão com biodiesel de algodão (—■—), padrão contendo (—●—) 0,5 mg Kg⁻¹ de Na. Desvio padrão (n=3).

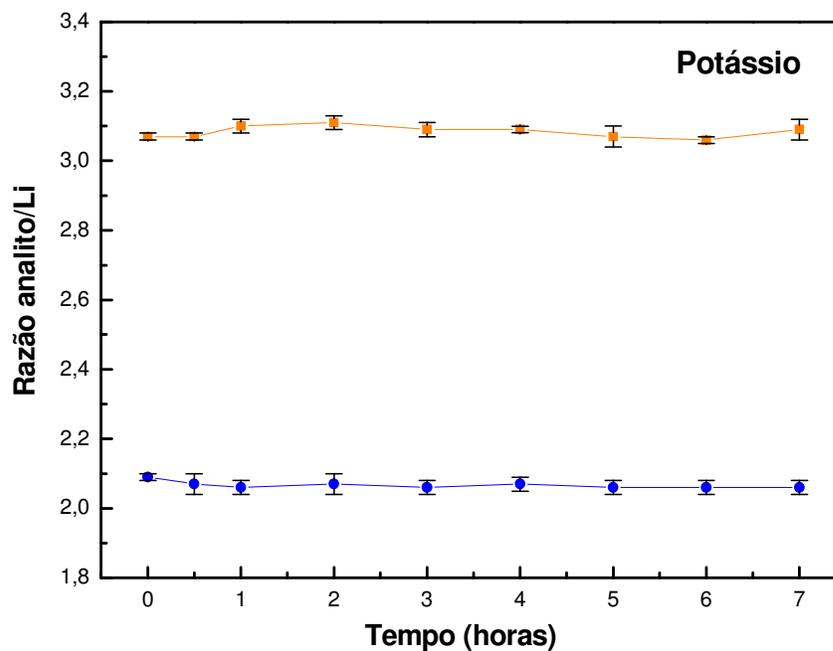


Figura 4.16: Estabilidade para potássio em: emulsão com biodiesel de algodão (—■—), padrão aquoso (—●—) $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de K. Desvio padrão (n=3).

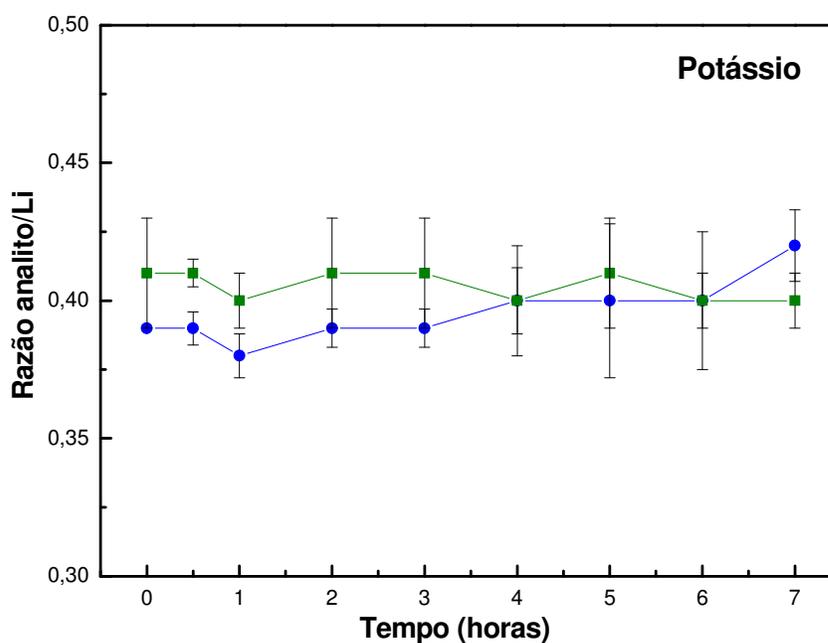


Figura 4.17: Estabilidade para potássio em: emulsão com biodiesel de soja (—■—), padrão contendo (—●—) $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ de K. Desvio padrão (n=3).

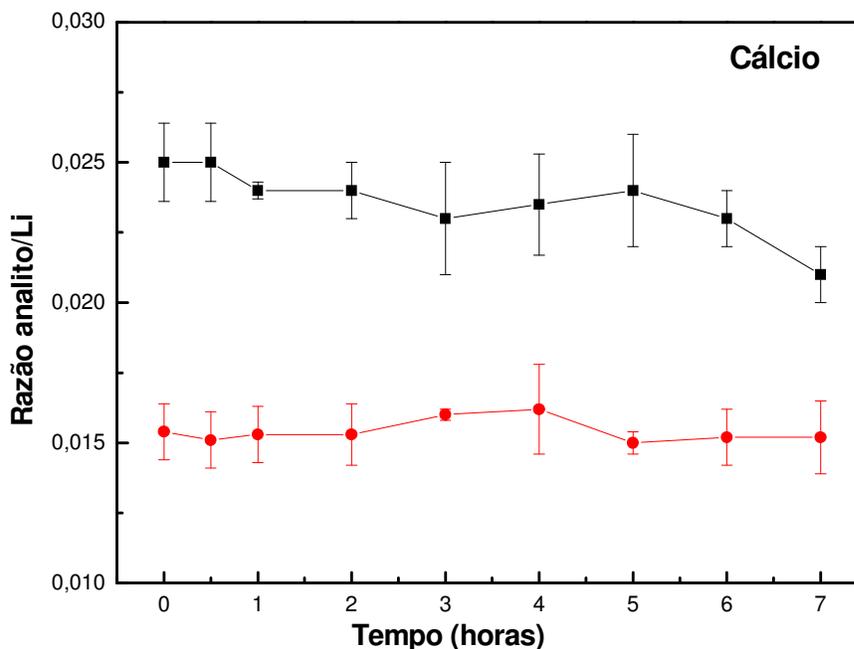


Figura 4.18: Estabilidade para cálcio em: emulsão com biodiesel de girassol (—●—), padrão contendo (—■—) 2,5 mg kg⁻¹ de Ca. Desvio padrão (n=3).

4.4. Validação da Metodologia

4.4.1. Faixa linear de trabalho e seletividade

Medidas quantitativas demandam um conjunto de padrões preparados cuidadosamente para calibração. Como mencionado anteriormente, estes padrões devem, na medida do possível, ter sua composição e propriedades físicas bem próximas das amostras a serem analisadas.

Foram construídas curvas analíticas com padronização interna (Li 1,0 mg kg⁻¹) em diferentes meios (solução aquosa, emulsão de óleo mineral base (10% m/m e soluções com Triton X-100) para definição da faixa linear de trabalho para os analitos Na, K e Ca. As soluções com Triton X-100 foram preparadas nas condições experimentais otimizadas (10% v/v de butanol, 4% v/v de HNO₃ e 10% m/m de Triton X-100) da mesma forma para as soluções com óleo mineral base

emulsificado, porém com adição de 10% m/m de óleo mineral para simular a matriz de biodiesel.

As Figuras 4.19, 4.20 e 4.21 mostram as curvas de calibração externa com padronização interna nos meios: solução aquosa, soluções com Triton X-100 e emulsão de óleo mineral base, respectivamente.

As curvas analíticas para os analitos sódio, potássio e cálcio apresentaram coeficiente de correlação (R) acima de 0,999 e faixa linear de trabalho de 0,01 a 2,0 mg kg⁻¹ para sódio e potássio e 0,25 a 10,0 mg kg⁻¹ para cálcio. As faixas de trabalho definidas para esses analitos cobrem a faixa de aplicação da análise desses elementos em biodiesel, considerando um fator de diluição de 10 vezes das amostras nas emulsões.

Comparando as inclinações das curvas analíticas, observa-se um efeito de matriz significativo das curvas aquosas sobre as curvas com Triton X-100 e óleo base emulsificado (Figura 4.22) para o analito cálcio. Porém, não foram observadas diferenças significativas entre as inclinações das curvas em meio com Triton X-100 com e sem o uso de óleo mineral base para todos os analitos.

Esses resultados mostram que soluções com Triton X-100 e óleo base emulsificado contendo padrões inorgânicos podem ser utilizadas para calibração, uma vez que a solução padrão é similar as características das amostras. Esta conclusão não pode ser aplicada para as curvas aquosas devido ao comportamento diferenciado dos coeficientes angulares, mostrando que este meio de preparo não é apropriado para análise das amostras de biodiesel.

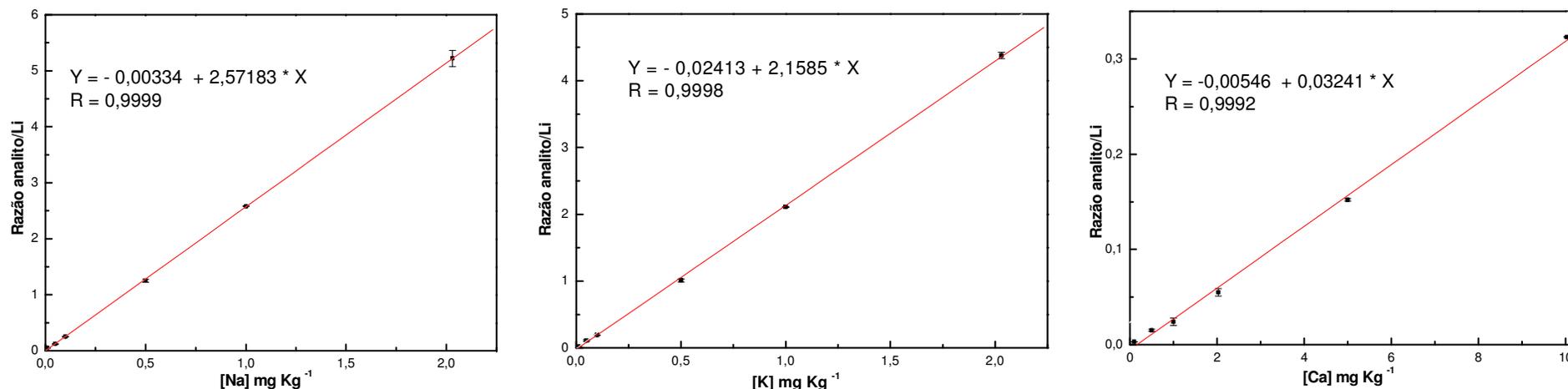


Figura 4.19: Curvas analíticas (n=3) para Na, K e Ca em solução aquosa com padronização interna.

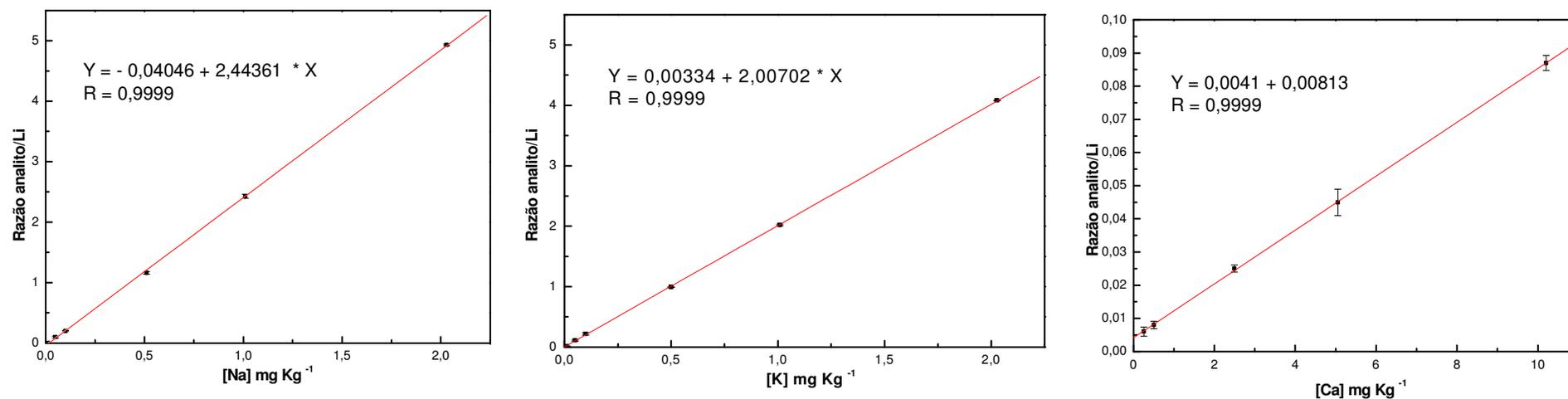


Figura 4.20: Curvas analíticas (n=3) para Na, K e Ca em solução com Triton X-100 com padronização interna.

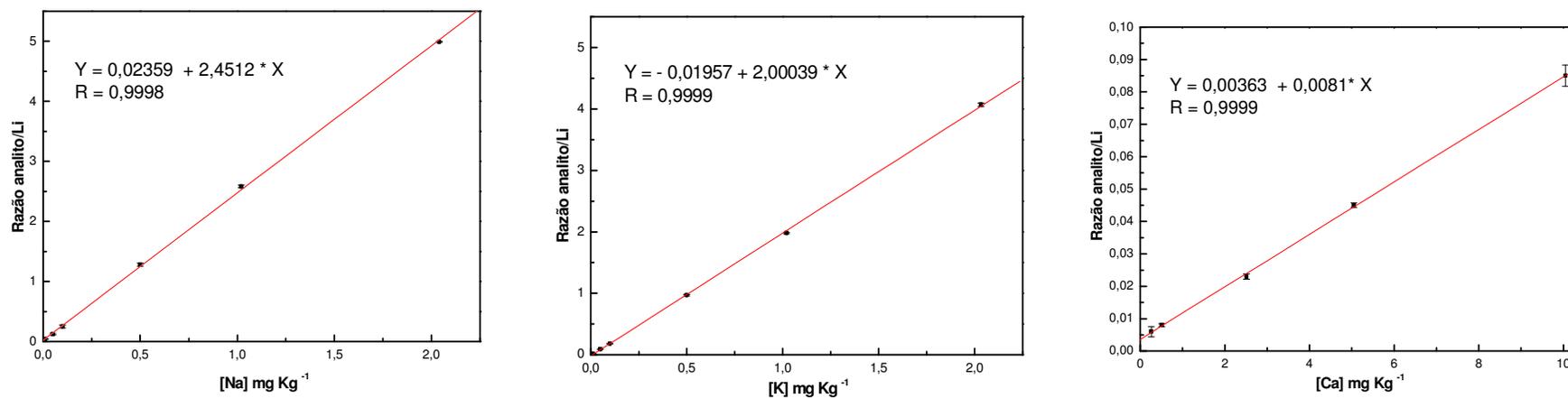


Figura 4.21: Curvas analíticas ($n=3$) para Na, K e Ca em óleo base emulsificado com padronização interna.

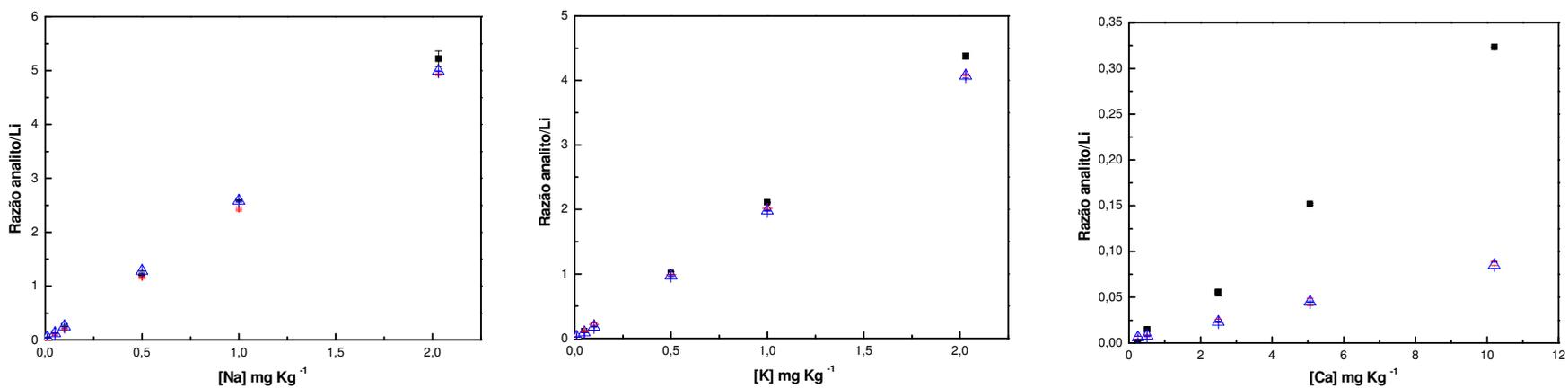


Figura 4.22: Curvas de analíticas para Na, K e Ca em solução aquosa (■), com Triton X-100 (+) e óleo base emulsificado (△) com padronização interna.

Como as amostras de biodiesel neste trabalho são derivadas de matérias primas diferentes, foi realizado um estudo de seletividade para avaliar as melhores condições de preparo das curvas de calibração. Foram comparadas as curvas analíticas de adição de analito com as curvas com Triton X-100 e óleo base emulsificado na faixa linear de trabalho estabelecida. Para isso, foram adicionados padrões inorgânicos para cada nível de concentração nas amostras de biodiesel de soja, sebo, girassol, algodão e mistura de biodiesel. Foram também comparadas as curvas analíticas de calibração externa em meio com Triton X-100, mas utilizando padrões organometálicos.

Na avaliação da seletividade dos analitos sódio e potássio nas amostras de biodiesel foi adotada a faixa linear de trabalho de 0,01 a 2,0 mg kg⁻¹ com níveis de concentração de 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0; 2,0; mg kg⁻¹. Foram aplicados testes estatísticos (teste F e teste t-Student) para comparar as inclinações das curvas analíticas. O número de observações (*n*) para cada curva foi estabelecido em relação ao número de níveis de concentração (6), uma vez que o desvio padrão dos parâmetros, coeficiente angular e linear, foram obtidos com base nesses pontos.

Nas Tabelas 4.12 e 4.13 estão dispostos os resultados obtidos para os elementos sódio e potássio.

De acordo com a Tabela 4.12 as curvas de adição de analito utilizando as amostras de biodiesel de sebo, girassol, mistura e soja apresentaram interferências da matriz quando comparadas com a curva de calibração externa com Triton X-100. Já para as curvas contendo o analito potássio (Tabela 4.13) foram observados efeito de matriz para as amostras de sebo e girassol.

Tabela 4.12: Comparação dos parâmetros das curvas analíticas obtidas para sódio

Curva analítica	Coeficiente angular $\pm s$	Coeficiente linear $\pm s$	<i>R</i>	<i>t_{calc}</i>	<i>t_{calc}</i>
				Triton X-100	óleo emulsão
Curva em Triton X-100	2,444 \pm 0,015	- 0,040 \pm 0,014	0,9999	-	0,69
Curva em óleo base emulsificado	2,451 \pm 0,022	0,024 \pm 0,021	0,9998	0,69	-
Curva com padrões organometálicos em Triton X-100	2,444 \pm 0,033	0,021 \pm 0,032	0,9996	0,06	0,41
Adição de padrão biodiesel de Sebo	2,496 \pm 0,011	0,002 \pm 0,011	0,9999	6,70	4,34
Adição de padrão biodiesel de Girassol	2,465 \pm 0,011	0,0686 \pm 0,0096	0,9999	2,76	1,33
Adição de padrão Mistura de biodiesel	2,4720 \pm 0,0073	- 0,0043 \pm 0,0070	0,9999	4,11	2,16 ¹
Adição de padrão biodiesel de Algodão	2,4599 \pm 0,0096	0,0130 \pm 0,0091	0,9999	2,22	0,88
Adição de padrão biodiesel de Soja	2,473 \pm 0,012	0,025 \pm 0,011	0,9999	3,66	2,07

Valores em negrito são significativos a 95% de confiança. $F_{tab,95\%}$ para (5,5) graus de liberdade= 5,05; t_{tab} para 10 graus de liberdade= 2,23 ($F_{tab} > F_{calc}$),¹ $t_{tab,95\%}$ para 6 graus de liberdade = 2,45 ($F_{tab} < F_{calc}$).

Melhores resultados foram observados quando comparou-se as curvas de adição de analito com as curvas de calibração externa com óleo base emulsificado contendo os analitos sódio e potássio. Para todas as amostras de biodiesel, com exceção do biodiesel de sebo, as interferências de matriz foram devidamente corrigidas permitindo o uso das soluções com óleo base emulsificado como padrões de calibração para determinação de sódio e potássio.

Na avaliação da seletividade do analito cálcio nas amostras de biodiesel foi adotada a faixa linear de trabalho de 0,25 a 10,0 mg kg⁻¹ com níveis de concentração de 0,25; 0,5; 2,5; 5,0; 10,0 mg kg⁻¹. Foram aplicados testes estatísticos (teste F e teste t de Student) para comparar as inclinações das curvas analíticas. O número de observções (*n*) para cada curva foi estabelecido em relação ao número de níveis de concentração (5), uma vez que o desvio padrão dos parâmetros, coeficiente angular e linear, foram obtidos com base nesses pontos. Na Tabela 4.14 estão apresentados os resultados obtidos para o elemento cálcio.

Tabela 4.13: Comparação dos parâmetros das curvas analíticas obtidas para potássio

Curva analítica	Coeficiente angular $\pm s$	Coeficiente linear $\pm s$	<i>R</i>	<i>t_{calc}</i>	<i>t_{calc}</i>
				Triton X-100	óleo emulsão
Curva em Triton X-100	2,0070 \pm 0,0079	0,0033 \pm 0,0074	0,9999	-	0,97
Curva em óleo base emulsificado	2,000 \pm 0,015	- 0,019 \pm 0,014	0,9999	0,97	-
Curva com padrões organometálicos em Triton X-100	1,993 \pm 0,037	- 0,024 \pm 0,036	0,9993	0,91 ¹	0,45 ²
Adição de padrão biodiesel de Sebo	1,970 \pm 0,021	- 0,026 \pm 0,019	0,9998	4,15²	2,97
Adição de padrão biodiesel de Girassol	1,985 \pm 0,012	-0,016 \pm 0,011	0,9999	3,84	2,00
Adição de padrão Mistura de biodiesel	1,980 \pm 0,030	- 0,045 \pm 0,031	0,9997	2,11 ¹	1,47
Adição de padrão biodiesel de Algodão	1,988 \pm 0,020	- 0,028 \pm 0,019	0,9998	2,14 ²	1,20
Adição de padrão biodiesel de Soja	2,008 \pm 0,011	0,015 \pm 0,010	0,9999	0,21	1,03

Valores em negrito são significativos a 95% de confiança. $F_{tab,95\%}$ para (5,5) graus de liberdade= 5,05; t_{tab} para 10 graus de liberdade= 2,23 ($F_{tab} > F_{calc}$),¹ $t_{tab, 95\%}$ para 6 graus de liberdade = 2,45 e ² $t_{tab, 95\%}$ para 7 graus de liberdade = 2,36 ($F_{tab} < F_{calc}$).

Tabela 4.14: Comparação dos parâmetros das curvas analíticas obtidas para cálcio

Curva analítica	Coeficiente angular $\pm s$	Coeficiente linear $\pm s$	<i>R</i>	t_{calc}	t_{calc}
				Triton X-100	óleo emulsão
Curva em Triton X-100	$8,13 E^{-3} \pm 5,00E^{-5}$	$4,10 E^{-3} \pm 2,61E^{-4}$	0,9999	-	0,71 ($t_{tab,} = 2,31$)
Curva em óleo base emulsificado	$8,13 E^{-3} \pm 8,03E^{-5}$	$3,63 E^{-3} \pm 4,14E^{-4}$	0,9999	0,71	-
Curva com padrões organometalicos em Triton X-100	$8,48 E^{-3} \pm 3,14E^{-4}$	$0,0256 \pm 0,0016$	0,9986	$2,36^2$	$2,46^2$
Adição de padrão biodiesel de Sebo	$8,38 E^{-3} \pm 1,53E^{-4}$	$7,37 E^{-3} \pm 8,04E^{-4}$	0,9995	3,46¹	3,62
Adição de padrão biodiesel de Girassol	$8,12 E^{-3} \pm 1,66E^{-4}$	$5,05 E^{-3} \pm 8,70E^{-4}$	0,9994	$0,13^1$	0,24
Adição de padrão Mistura de biodiesel	$8,02 E^{-3} \pm 1,46E^{-4}$	$3,90 E^{-3} \pm 7,60E^{-4}$	0,9995	$1,59^1$	1,07
Adição de padrão biodiesel de Algodão	$8,02 E^{-3} \pm 6,61E^{-5}$	$3,19 E^{-3} \pm 3,42E^{-4}$	0,9999	2,97	1,72
Adição de padrão biodiesel de Soja	$8,01 E^{-3} \pm 1,12E^{-4}$	$3,82 E^{-3} \pm 5,82E^{-4}$	0,9997	2,18	1,46

Valores em negrito são significativos a 95% de confiança. $F_{tab,95\%}$ para (4,4) graus de liberdade= 6,39; t_{tab} para 8 graus de liberdade= 2,31 ($F_{tab} > F_{calc}$),¹ $t_{tab, 95\%}$ para 5 graus de liberdade = 2,57 e ² $t_{tab, 95\%}$ para 4 graus de liberdade = 2,78 ($F_{tab} < F_{calc}$).

Os resultados para o cálcio mostraram que as matrizes de biodiesel de sebo e algodão apresentaram efeito estatisticamente significativo sobre a curva em Triton X-100, enquanto que para a curva com óleo base emulsificado somente a amostra de biodiesel de sebo não foi seletiva para essa técnica de calibração.

Comparando-se as inclinações das curvas de calibração externa utilizando padrões inorgânicos (curvas com Triton X-100 e óleo base emulsificado) e padrões organometálicos (curva com Triton X-100), observou-se que o tipo de padrão não afeta o comportamento analítico do sódio, potássio e cálcio nas curvas. Esses resultados são importantes, pois demonstram que não há necessidade de utilizar padrões organometálicos para as curvas de calibração, uma vez que esses padrões apresentam como desvantagem o fato de serem caros, relativamente instáveis e voláteis.

Analisando a tendência geral dos dados, conclui-se que a técnica de calibração externa com padronização interna utilizando padrões inorgânicos pode ser utilizada com sucesso para quantificação de Na, K e Ca nas emulsões de amostras de biodiesel.

A melhor condição de preparo desses padrões foi realizada na forma de emulsão, da mesma maneira que as amostras, porém utilizando óleo mineral base. Isso torna o procedimento prático e acessível para as indústrias e laboratórios que trabalham com análise de biodiesel, não necessitando de estudos prévios para encontrar a matriz componente adequada para introduzir nos padrões.

Para quantificação de sódio, potássio e cálcio nas amostras de biodiesel apresentadas neste trabalho, foram utilizadas as curvas analíticas em óleo base emulsificado, conforme apresentado na Tabela 4.15. Por comparação também são apresentados os parâmetros de mérito obtidos por FAES utilizando fotômetro de

chama comercial para determinação de Na e K em amostras de biodiesel sob forma de emulsão. Também foi utilizado o método da curva analítica em óleo base emulsificado, porém sem o uso de padrão interno, uma vez que as medidas são realizadas um elemento por vez e o equipamento não possuía filtro ótico para o elemento lítio. Foi adotada a faixa linear de trabalho de 0,02 a 2,0 mg kg⁻¹ para sódio e potássio.

Tabela 4.15: Equações de calibração para quantificação de Na, K e Ca nas amostras de biodiesel utilizando emulsões.

Técnica	Analito	Equação	R
		$Y = a + b * X$	
FAES detector de emissão contínua	Na	$Y = 0,024 + 2,451 * X$	0,9998
	K	$Y = -0,019 + 2,000 * X$	0,9999
	Ca	$Y = 0,0036 + 0,0081 * X$	0,9999
Fotômetro de chama comercial	Na	$Y = 1,065 + 40,5318 * X$	0,9999
	K	$Y = 0,7746 + 49,0506 * X$	0,9996

Todas as curvas analíticas apresentaram coeficiente de correlação acima de 0,999 apresentando uma linearidade satisfatória na faixa linear de trabalho.

4.4.2. Precisão, limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção (*LD*) e quantificação (*LQ*) e a repetitividade foram analisados pelo método proposto como descrito no item 3.6.2. e os valores obtidos são apresentados na Tabela 4.16. Por comparação também são apresentados os parâmetros de mérito obtidos por FAES utilizando fotômetro de chama comercial

para determinação de Na e K e pela técnica ICP OES a partir da norma NBR 15553 (determinação de Na, K e Ca).

Das técnicas avaliadas, os métodos por FAES obteve menores *LDs* e *LQs* para os analitos sódio e potássio e boa precisão, com *DPRs* menores que 5 %, mostrando alta sensibilidade e seletividade do método para quantificação desses elementos em emulsão de biodiesel. Esses valores estão de acordo com o método proposto por Chaves e colaboradores [19] que desenvolveram uma metodologia para determinação de Na e K em biodiesel por FAES com introdução da amostra por aspiração discreta (*AD*) e aspiração contínua (*AC*) sob a forma de microemulsão. Nessa metodologia, o *DPR* foi menor que 7% os menores *LDs* determinados foram de 0,10 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Na e 0,06 $\mu\text{g g}^{-1}$ para K.

Para o analito cálcio melhores *LDs* e *LQs* foram obtidos pela técnica por ICP OES. Esses resultados já eram esperados uma vez que a alta temperatura e a atmosfera inerte do argônio no plasma minimizam as interferências não espectrais, melhorando a sensibilidade de metais como cálcio e magnésio. O método proposto apresentou limites de detecção e quantificação altos para cálcio, de tal forma que só foi possível realizar a quantificação em uma amostra de biodiesel. Estes resultados mostram a baixa sensibilidade do método para determinação de cálcio em amostras de biodiesel por emulsão. Isso pode ser devido principalmente a composição (ar/GLP) e a baixa temperatura da chama que diminui a eficiência da atomização e excitação. Estudos realizados por Lyra e colaboradores [15] determinaram cálcio em amostras de biodiesel, sob a forma de microemulsão, por FAAS com chama de óxido nitroso/acetileno obtendo baixo limite de detecção (0,04 $\mu\text{g g}^{-1}$).

Tabela 4.16: Limites de detecção (*LD*), limite de quantificação (*LQ*) e precisão (%) pra determinação de Na, K, e Ca em amostras de biodiesel por diferentes técnicas.

Técnica	LD/ mg kg ⁻¹ (n=10)			LQ/ mg kg ⁻¹ (n=10)			DPR/ % (n=5)		
	Na	K	Ca	Na	K	Ca	Na	K	Ca
FAES emissão									
contínua	0,09	0,05	3,2	0,32	0,16	10,8	0,95 - 5,1	1,0- 4,8	2,6
FAES comercial									
	0,18	0,17	-	0,58	0,55	-	0,84 - 4,9	4,2- 4,9	-
ICP OES									
	0,40	0,49	0,06	1,3	1,6	0,21	1,7 - 5,1	3,2 - 3,9	1,9 - 7,3

LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação; RSD: desvio padrão relativo.

4.4.3. Exatidão

Ensaio de adição e recuperação foram realizados para avaliação do método, empregando FAES com detector de emissão contínua para determinação de Na, K e Ca em emulsão de biodiesel. Os resultados obtidos mostraram que a exatidão do método foi adequada (Tabela 4.17). As faixas de recuperações variaram de 94 a 108% para Na, de 95 a 99% para K e de 89 a 103 % para Ca.

Tabela 4.17: Testes de recuperação de Na, K e Ca (em %, média \pm intervalo de confiança (95%), $n=5$) em amostras de biodiesel enriquecidas com padrões inorgânicos contendo 1,0 mg kg⁻¹ de Na e K e 5,0 mg kg⁻¹ de Ca.

Amostras	Recuperação (%)		
	Na	K	Ca
C - 01	97,4 \pm 1,8	96,7 \pm 3,3	89,0 \pm 2,4
Se - 02	93,9 \pm 3,0	95,1 \pm 0,27	92,7 \pm 2,8
OI - 01	98,7 \pm 0,70	96,0 \pm 0,46	102,4 \pm 3,4
G - 02	107,8 \pm 3,1	98,5 \pm 1,0	98,3 \pm 2,2
B - 01	97,6 \pm 2,7	98,7 \pm 1,8	103,1 \pm 4,9
B - 02	103,5 \pm 2,0	97,3 \pm 1,2	96,9 \pm 5,2
S - 03	101,6 \pm 2,4	97,7 \pm 0,89	94,7 \pm 3,0
M - 01	101,7 \pm 2,4	98,5 \pm 2,0	103,1 \pm 4,2
Ma - 02	97,9 \pm 2,5	98,2 \pm 1,6	103,4 \pm 0,47

A limitação deste procedimento é a de que o analito adicionado não está necessariamente na mesma forma que o analito presente na amostra. A presença de analitos adicionados em uma forma mais facilmente detectável pode ocasionar avaliações excessivamente otimistas da recuperação [74].

Desse modo, a exatidão do método proposto também foi avaliada pela comparação dos resultados de Na, K e Ca, obtidos em diferentes amostras de biodiesel por FAES sob a forma de emulsão, com os resultados obtidos pelo método de referência (NBR 15553) utilizando diluição direta com querosene e leitura no ICP OES. Também foram comparados os resultados de Na e K obtidos pelo fotômetro de chama comercial. Os resultados são mostrados na Tabela 4.18.

Os resultados obtidos para o sódio pelos métodos por FAES foram estatisticamente concordantes, considerando o teste t pareado (95% de confiança), com os obtidos pelo método de referência, não havendo diferença significativa entre os métodos. Somente na amostra de sebo bovino (Se-02) não houve concordância dos resultados apesar dessa amostra apresentar boa taxa de recuperação (94 %). Este resultado mostra que a matriz de sebo bovino afeta significativamente no comportamento analítico do sódio sendo necessária a quantificação deste analito através da calibração por adição de padrão para esse tipo de biodiesel.

Os resultados obtidos para o analito cálcio na amostra de girassol (G-01) e para o analito potássio nas amostras de algodão e soja (A-01 e S-02) foram concordantes a um nível de 95 % de confiança com os obtidos pela norma brasileira.

O método proposto utilizando detector de emissão contínua permitiu quantificar baixos níveis dos analitos Na e K nas amostras de biodiesel em relação ao método de referência. Porém para o analito cálcio, o método normalizado mostrou maior sensibilidade.

Tabela 4.18: Resultados para sódio, potássio e cálcio (em mg kg⁻¹, média ± intervalo de confiança (95%), n=5), em amostras de biodiesel, obtidos pelo método de referência e pelos métodos por FAES

Amostras	Na concentração (mg kg ⁻¹)			K concentração (mg kg ⁻¹)			Ca concentração (mg kg ⁻¹)	
	NBR15553	FAES emissão contínua	FAES comercial	NBR15553	FAES emissão contínua	FAES comercial	NBR15553	FAES emissão contínua
S - 01	< 1,3	0,775 ± 0,026	< 0,58	< 1,6	0,220 ± 0,013	< 0,55	0,582 ± 0,053	< 10,8
Se - 01	< 1,3	< 0,32	< 0,58	< 1,6	0,390 ± 0,016	< 0,55	0,509 ± 0,044	< 10,8
C - 01	3,84 ± 0,18	3,663 ± 0,070	3,76 ± 0,16	< 1,6	0,363 ± 0,016	< 0,55	1,337 ± 0,028	< 10,8
G - 01	14,15 ± 0,45	12,77 ± 0,25	12,37 ± 0,38	< 1,6	0,215 ± 0,004	< 0,55	13,26 ± 0,31	13,07 ± 0,42
Se - 02	1,91 ± 0,11	< 0,32	< 0,58	< 1,6	0,244 ± 0,009	< 0,55	0,390 ± 0,022	< 10,8
OI - 01	1,699 ± 0,070	1,664 ± 0,020	1,697 ± 0,018	< 1,6	0,286 ± 0,017	< 0,55	0,919 ± 0,044	< 10,8
G - 02	13,86 ± 0,30	15,74 ± 0,35	13,57 ± 0,70	< 1,6	0,380 ± 0,005	< 0,55	0,051 ± 1,711	< 10,8
B - 01	4,32 ± 0,12	4,36 ± 0,18	4,01 ± 0,18	< 1,6	0,450 ± 0,012	< 0,55	4,25 ± 0,16	< 10,8
A - 01	5,09 ± 0,22	4,77 ± 0,30	4,76 ± 0,24	12,27 ± 0,59	12,40 ± 0,16	12,54 ± 0,76	0,872 ± 0,028	< 10,8
S - 02	12,95 ± 0,37	13,31 ± 0,63	13,09 ± 0,18	2,044 ± 0,082	2,04 ± 0,12	1,96 ± 0,10	0,683 ± 0,032	< 10,8
B - 02	4,28 ± 0,14	4,14 ± 0,11	4,23 ± 0,21	< 1,6	0,296 ± 0,014	< 0,55	0,289 ± 0,023	< 10,8
S - 03	< 1,3	< 0,32	< 0,58	< 1,6	< 0,16	< 0,55	< 0,21	< 10,8
M - 01	2,818 ± 0,080	2,782 ± 0,044	2,73 ± 0,11	< 1,6	< 0,16	< 0,55	< 0,21	< 10,8
Ma - 02	1,858 ± 0,090	1,938 ± 0,067	1,993 ± 0,021	< 1,6	< 0,16	< 0,55	0,241 ± 0,018	< 10,8
EI - 01	2,526 ± 0,064	2,48 ± 0,12	2,43 ± 0,15	< 1,6	< 0,16	< 0,55	2,67 ± 0,11	< 10,8
EI - 02	5,82 ± 0,37	5,30 ± 0,12	5,23 ± 0,11	< 1,6	< 0,16	< 0,55	4,94 ± 0,23	< 10,8

As amostras de biodiesel de girassol (G-01, G-02), algodão (A-01), soja (S-02) e do ensaio interlaboratorial (EI-02) apresentaram concentrações de Na + K acima dos limites estabelecidos pela legislação brasileira [8], que é de 5 mg kg^{-1} para Na + K. Foram observados maiores teores de sódio em relação ao potássio nas amostras de biodiesel com destaque nas amostras de girassol (G-01, G-02) e soja (S-02). Esses tipos de oleaginosas também apresentaram elevadas quantidades de sódio em outro trabalho da literatura [20]. As demais amostras apresentaram concentrações de Na e K abaixo dos limites estabelecidos, mostrando uma boa remoção dos catalisadores durante o processo de obtenção do biodiesel. A amostra de biodiesel de girassol G-01 apresentou concentração de cálcio elevada provavelmente devido a eventuais contaminações da água de lavagem durante o processo de produção do biodiesel.

Os resultados de Na + K e Ca obtidos pelo Programa de Comparação Interlaboratorial em Biodiesel da ANP (amostras EI-01 e EI-02, média \pm desvio padrão) e pelo Certificado de Qualidade de Biodiesel da Petrobrás (amostra B-02) também foram utilizados para comparação com os diferentes métodos. Esses resultados são apresentados na Tabela 4.19.

Os resultados certificados para as amostras EI-01, EI-02 e B-02 não apresentaram diferenças significativas a um nível de 95 % de confiança com os resultados obtidos pelos diferentes métodos.

Tabela 4.19: Resultados de Na + K e Ca para diferentes amostras de biodiesel certificadas.

Analito	Método	B02	EI - 01	EI - 02
	Valor Referência	4,38	2,56 ± 0,68	5,05 ± 1,17
Na + K	FAES emissão contínua	4,44 ± 0,12	2,48 ± 0,12	5,30 ± 0,12
	FAES comercial	4,23 ± 0,21	2,43 ± 0,15	5,23 ± 0,11
	NBR15553	4,28 ± 0,14	2,526 ± 0,064	5,82 ± 0,37
	Valor Referência	0,80*	2,40 ± 0,88	4,99 ± 0,87
Ca	FAES emissão contínua	< 10,8	< 10,8	< 10,8
	FAES comercial	-	-	-
	NBR15553	0,289 ± 0,023	2,67 ± 0,11	4,94 ± 0,23

* Cálcio + Magnésio, máx.

Em geral, os resultados mostram que o método empregando FAES com detector de emissão contínua para determinação de Na, K e Ca em biodiesel por emulsão garante boa exatidão e podem ser utilizado com sucesso em análises de rotina. O uso das emulsões também pode ser aplicado em um fotômetro de chama comercial com boa precisão e exatidão.

Essa técnica alternativa em contraste com a espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado por indução apresenta vantagens devido a simplicidade, baixos custos operacionais e alta sensibilidade para os elementos Na e K.

O uso de emulsões foi uma alternativa simples e adequada para as amostras de biodiesel, pois não requer a destruição da matéria orgânica e o uso de grandes quantidades de solventes. Além disso, possibilitou o uso de padrões inorgânicos, sendo uma grande vantagem em relação às diluições com solventes orgânicos, que necessitam de padrões organometálicos para calibração.

5. CONCLUSÕES

O uso de Li como padrão interno foi uma ferramenta simples e útil para corrigir as interferências não espectrais do método proposto.

A otimização do preparo das emulsões, através do planejamento composto central, indicou que 0,4 mL de HNO₃ concentrado e 1,0 g de Triton X-100 são as condições ótimas para determinação de Na, K e Ca em emulsões de biodiesel. As emulsões proporcionaram boa estabilidade dos analitos durante o intervalo de tempo analisado, tornando este preparo de amostra apropriado para trabalhos de rotina.

As interferências da matriz foram devidamente corrigidas utilizando óleo base emulsificado e padrões inorgânicos no preparo das curvas analíticas. Essa técnica de calibração pode ser utilizada com sucesso para quantificação de Na, K e Ca nas emulsões de amostras de biodiesel, com exceção para amostra de biodiesel de sebo bovino.

O método proporcionou boa linearidade no intervalo de 0,01 a 2,00 mg kg⁻¹ para Na e K e de 0,25 a 10,00 mg kg⁻¹ para Ca. Os limites de quantificação foram 0,32 e 0,16 mg kg⁻¹ para Na e K em biodiesel, respectivamente, mostrando alta sensibilidade do método para quantificação desses elementos em biodiesel por emulsão. O limite de quantificação de 10,8 mg kg⁻¹ para Ca, mostrou baixa sensibilidade do método proposto necessitando de maiores estudos para otimização dos parâmetros instrumentais de forma a diminuí-lo.

O método apresentou bons percentuais de recuperação e boa exatidão na análise de Na, K e Ca em amostras de biodiesel de diferentes oleaginosas, com precisões menores que 5%. O método pode ser aplicado tanto para análise simultânea quanto monoelementar em equipamentos comerciais.

Esse método proposto em contraste com a norma NBR15553 apresenta vantagens como a maior simplicidade, baixos custos operacionais e alta sensibilidade para os elementos Na e K, evitando o uso de solventes tóxicos e padrões organometálicos para calibração.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Meher, L.C.; Sagar, V.; Naik, S.N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **10**: 248–268, 2006.
- [2] <http://www.anp.gov.br/?id=470>. Acesso em 01/06/2010.
- [3] Agarwal, A. K. Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines. *Progress in Energy and Combustion Science* **33**: 233-271, 2007.
- [4] Pinto, A. C.; Guarieiro, L. L. N.; Rezende, M. J. C.; Ribeiro, N. M.; Torres, A. E.; Lopes, W. A.; Pereira, P. A. de P.; Andrade, de J. B. Biodiesel: An Overview. *J. Braz. Chem. Soc.* **16**: 1313-1330, 2005.
- [5] Ma, F.; Hanna, M. A. Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology* **70**: 1-15, 1999.
- [6] Geris, R.; Santos, dos N. A. C.; Amaral, B. A.; Maia, I. S.; Castro, V. D.; Carvalho, J.R.M. Biodiesel de soja – Reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. *Química Nova* **30**: 1369-1373, 2007.
- [7] Atadashi, I. M.; Aroua, M. K.; Aziz, A. A. High quality biodiesel and its diesel engine application: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **14**: 1999-2008, 2010.
- [8] Resolução ANP, Nº 7 de 19/03/2008 – DOU 20/03/2008. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 01/06/2010.
- [9] Resolução CNPE, Nº 6, de 16/09/2009 - DOU 26/10/2009. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 01/06/2010.

- [10] Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. *Boletim Mensal de Biodiesel*. Superintendência de Refino e Processamento de Gás Natural, maio 2010. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 01/06/2010.
- [11] Monyem, A.; Van Gerten J. H. The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions. *Biomass and Bioenergy* **20**: 317-325, 2001.
- [12] Peterson, C.L.; Hustrulid, T. Carbon cycle for rapeseed oil biodiesel fuels. *Biomass and Bioenergy* **14**: 91-101, 1998.
- [13] Korn M. das G. A.; dos Santos, D.S.S.; Welz, B.; Vale, M.G.R.; Teixeira, A.P.; Lima, D. de C.; Ferreira, S.L.C. Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels – A review. *Talanta* **73**: 1-11, 2007.
- [14] Jesus, de A.; Silva, M.M.; Vale, M.G.R. The use of microemulsion for determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* **74**: 1378-1384, 2008.
- [15] Lyra, F.H.; Carneiro, M.T.W.D.; Brandão, G.P.; Pessoa, H.M.; Castro, de E.V. Determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel samples by flame atomic absorption spectrometry (F AAS) using microemulsion as sample preparation. *Microchemical Journal* **96**: 180–185, 2010.
- [16] Souza, de R. M. *Determinação de elementos refratários em óleo lubrificante usado e em óleo combustível por ICP OES após emulsificação da amostra*. Rio de Janeiro, 2003. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.
- [17] Monteiro, M.R.; Ambrozín, A.R.P.; Lião, L.M.; Ferreira, A.G. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. *Talanta* **77**: 593–605, 2008.

- [18] R. Nowka, GTI Labor-Fachzeitschrift **47**: 518, 2003. *In*: Monteiro, M.R.; Ambrozin, A.R.P.; Lião, L.M.; Ferreira, A.G. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. *Talanta* **77**: 593–605, 2008.
- [19] Chaves, E. S.; Saint’Pierre, T.D.; Santos, dos E. J.; Tormen, L.; Bascuñan, V.A.F.; Curtius, A.J. Determination of Na and K in Biodiesel by Flame Atomic Spectrometry and Microemulsion Sample Preparation. *J. Braz Chem. Soc.* **19**: 856-861, 2008.
- [20] Oliveira, de A.P.; Villa, R.D.; Antunes, K.C.P.; Magalhães, de A.; Silva, E.C. Determination of sodium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry using dry decomposition for the sample preparation. *Fuel* **88**: 764–766, 2009.
- [21] Edlund, M.; Visser, H.; Heitland, P. Analysis of biodiesel by argon-oxygen mixed-gas inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* **17**: 232-235, 2002.
- [22] Santos, E.J. dos; Herrmann, A.B.; Chaves, E.S.; Vechiatto, W.W.D.; Schoemberger, A.C.; Frescura, V.L.A.; Curtis, A.J.. Simultaneous determination of Ca, P, Mg, K e Na in biodiesel by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* **22**: 1300-1303, 2007.
- [23] Souza, de R.M.; Leocádio, L.G.; Silveira, da C.L.P. ICP OES Simultaneous Determination of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, and P in Biodiesel by Axial and Radial Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry. *Analytical Letters* **41**: 1615–1622, 2008.
- [24] Souza, de R.M.; Mathias, B.M.; Silveira, da C.L.P; Aucélio, R.Q. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry for trace multi-element determination

in vegetable oils, margarine and butter after stabilization with propan-1-ol and water. *Spectrochimica Acta Part B* **60**: 711-715, 2005.

[25] Chaves, E.S.; Santos, E.J. dos; Araujo, R.G.O.; Oliveira, J.V.; Frescura, V.L.A.; Curtius, A.J. Metals and phosphorus determination in vegetable seeds used in the production of biodiesel by ICP OES and ICP-MS. *Microchemical Journal* **96**: 71–76, 2010.

[26] Amais, R.S.; Garcia, E.E.; Monteiro, M.R.; Nogueira, A.R.A.; Nóbrega, J.A. Direct analysis of biodiesel microemulsions using an inductively coupled plasma mass spectrometry. *Microchemical Journal* **96**: 146–150, 2010.

[27] Woods, G.D.; Fryer, F.I. Direct elemental analysis of biodiesel by inductively coupled plasma–mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **389**: 753-761, 2007.

[28] Castillo, J.R.; Jiménez, M.S.; Ebdon, L. Semiquantitative simultaneous determination of metals in olive oil using direct emulsion nebulization. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* **14**: 1515-1518, 1999.

[29] Castilho, M. de S.; Stradiotto, N.R. Determination of potassium ions in biodiesel using a nickel (II) hexacyanoferrate-modified electrode. *Talanta* **74**: 1630–1634, 2008.

[30] Piovezan, M.; Costa, A.C.O.; Jager, A.V.; Oliveira, de M.A.L.; Micke, G.A. Development of a fast capillary electrophoresis method to determine inorganic cations in biodiesel samples. *Analytica Chimica Acta* **673**: 200-205, 2010.

[31] Reyes, M.N.M.; Campos, R.C. Graphite furnace atomic absorption spectrometric determination of Ni and Pb in diesel and gasoline samples stabilized as microemulsion using conventional and permanent modifiers. *Spectrochimica Acta Part B* **60**: 615-624, 2005.

- [32] Lobo, F.A.; Goveia, D.; Oliveira, A.P. de; Pereira-Filho, E.R.; Fraceto, L.F.; Filho, N.L.D.; Rosa, A.H. Comparison of the univariate and multivariate methods in the optimization of experimental conditions for determining Cu, Pb, Ni and Cd in biodiesel by GFAAS. *Fuel* **88**: 1907-1914, 2009.
- [33] Reyes, M.N.M.; Campos, R.C. Determination of copper and nickel in vegetable oils by direct sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta* **70**: 929–932, 2006.
- [34] Sokolnikova, J.V.; Vasilyeva, I.E.; Menshikov, V.I. Determination of trace alkaline metals in quartz by flame atomic emission and atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* **58**: 387-391, 2003.
- [35] Okumura, F.; Cavalheiro, E.T.G.; Nóbrega, J.A. Experimentos simples usando fotometria de chama para ensino de princípios de Espectrometria atômica em cursos de química analítica. *Química Nova* **27**: 832-836, 2004.
- [36] Lajunen L.H.J. *Spectrochemical analysis by atomic absorption and Emission*. 2. ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2004.
- [37] Murillo, M.; Chirinos, J. Use of emulsion systems for the determination of sulfur, nickel and vanadium in heavy crude oil samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* **9**: 237-240, 1994.
- [38] Brenner, I. B.; Zander, A.; Kim, S.; Shkolnik, J. Direct determination of lead in gasoline using emulsification and argon and argon-oxygen inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* **11**: 91-97, 1996.

- [39] Murillo, M.; Benzo, Z.; Marcano, E.; Gomez, C.; Garaboto, A.; Marin, C. Determination of copper, iron and nickel in edible oils using emulsified solutions by ICP-AES. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* **14**: 815-820, 1999.
- [40] Zeiner, M.; Steffan, I.; Cindric, I.J. Determination of trace elements in olive oil by ICP-AES and ETA-AAS: A pilot study on the geographical characterization. *Microchemical Journal* **81**: 171-176, 2005.
- [41] Aucélio, R.Q.; Souza, R.M. de; Campos, R.C.; Miekeley, N.; Silveira, C.L.P. da. The determination of trace metals in lubricating oils by atomic spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* **62**: 952-961, 2007.
- [42] BS EN 14108:2003. *Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of sodium content by atomic absorption spectrometry*. CEN, 2003.
- [43] BS EN 14109:2003. *Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) - Determination of potassium content by atomic absorption spectrometry*. CEN, 2003.
- [44] ABNT NBR 15554: 2008. *Produtos derivados de óleos e gorduras — Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos — Determinação do teor de sódio por espectrometria de absorção atômica*. ABNT, 2008.
- [45] ABNT NBR 15555: 2008. *Produtos derivados de óleos e gorduras — Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos — Determinação do teor de potássio por espectrometria de absorção atômica*. ABNT, 2008.
- [46] ABNT NBR 15556: 2008. *Produtos derivados de óleos e gorduras — Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos — Determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio por espectrometria de absorção atômica*. ABNT, 2008.
- [47] prEN 14538:2002. *Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) - Determination of Ca, K, Mg and Na content by optical emission spectral analysis with inductively coupled plasma (ICP OES)*. CEN, 2002.

- [48] ABNT NBR 15553: 2008. *Produtos derivados de óleos e gorduras — Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos — Determinação dos teores de cálcio, magnésio, sódio, fósforo e potássio por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES)*. ABNT, 2008.
- [49] Souza, R.M. de; Meliande, A.L.S.; Silveira, da C.L.P.; Aucélio, R.Q. Determination of Mo, Cd, Ti, Ni, V, Fe, Mn, Cr and Co in crude oil using inductively coupled plasma optical emission spectrometry and sample introduction as detergentless microemulsions. *Microchemical Journal* **82**: 137-141, 2006.
- [50] Murillo, M.; Chirinos, J. Study of the effect of organic emulsified samples in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* **11**: 253-257, 1996.
- [51] Ansari, R.; Kazi, T.G.; Jamali, M.K.; Arain, M.B.; Wagan, M.D.; Jalbani, N.; Afridi, H.I.; Shah, A.Q. Variation in accumulation of heavy metals in different varieties of sunflower seed oil with the aid of multivariate technique. *Food Chemistry* **115**: 318–323, 2009.
- [52] Aucélio, R.; Curtius, A.J. Comparative study of electrothermal atomic absorption spectrometric methods for the determination of silver in used lubricating oils. *Analyst* **125**: 1673-1679, 2000.
- [53] Lord, C.J. Determination of Trace Metals in Crude Oil by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with Microemulsion Sample Introduction. *Analytical Chemistry* **63**: 1594-1599, 1991.
- [54] Danielsson, I.; Lindman, B. The definition of microemulsion. *Colloids and Surfaces* **3**: 391-392, 1981.

- [55] Smith, G.D.; Donelan, C.E.; Barden, R.E. Oil-Continuous Microemulsions Composed of Hexane, Water, and 2-Propanol. *Journal of Colloid and Interface Science* **60**: 488-495, 1977.
- [56] Pelizzetti, E.; Pramauro, E. Analytical Applications of Organized Molecular Assemblies. *Analytica Chimica Acta* **169**: 1-29, 1985.
- [57] Becher, Paul. *Emulsions: Theory and Practice*. 2. ed. New York: Reinhold, 1965.
- [58] Dantas, T.N.C.; Neto, A.A.D.; Moura, M.C.P.A., Neto, E.L.B.; Forte, K.R.; Leite, R.H.L. Heavy metals extraction by microemulsions. *Water Research* **37**: 2709-2717, 2003.
- [59] Mendonça, C.R.B. *Desenvolvimento de metodologias para análise direta de óleos vegetais empregando microemulsões de água em óleo e meios aquosos*. Porto Alegre, 2005. Tese de Doutorado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul
- [60] Tadros, T.F. (ed.). *Emulsion Science and Technology*. Weinheim: Wiley-VCH, 2009. Disponível em: <http://books.google.com/books>. Acesso em: 17/06/2010.
- [61] Aucélio, R.Q.; Curtius, A.J.; Welz, B. Sequential determination of Sb and Sn in used lubricating oil by electrothermal atomic absorption spectrometry using Ru as a permanent modifier and microemulsion sample introduction. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* **15**: 1389-1393, 2000.
- [62] Saint'Pierre, T. D.; Dias, L.F.; Pozebon, D.; Aucélio, R.Q.; Curtius, A.J.; Welz, B. Determination of Cu, Mn, Ni and Sn in gasoline by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, and emulsion sample introduction. *Spectrochimica Acta Part B* **57**: 1991-2001, 2002.
- [63] Goncalves I.M.; Murillo, M.; González, A.M. Determination of metals in used lubricating oils by AAS using emulsified samples. *Talanta* **47**: 1033-1042, 1998.

- [64] Salager, Jean Louis. *Formulacion HLB, PIT, R de Winsor*. 2. ed. Mérida: Universidad de Los Andes, 1998. (Cuaderno FIRP S210A)
- [65] Singh, H.N.; Prasad, Ch D.; Kumar, S. Water solubilization in microemulsions containing amines as cosurfactant. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **70**: 69-73, 1993.
- [66] Souza, de R.M.; Mathias, B.M.; Scarminio, I.S.; Silveira, da C.L.P.; Aucélio, R.Q. Comparison Between Two Sample Emulsification Procedures for the Determination of Mo, Cr, V and Ti in Diesel and Fuel Oil by ICP OES Along with Factorial Design. *Microchimica Acta* **153**: 219-225, 2006.
- [67] Santelli, R.E.; Bezerra, M.A.; Freire, A.S.; Oliveira, E.P.; Carvalho, M. de F.B. de. Non-volatile vanadium determination in petroleum condensate, diesel and gasoline prepared as detergent emulsions using GF AAS. *Fuel* **87**: 1617-1622, 2008.
- [68] Silva, J.S.A.; Chaves, E.S.; Santos, E.J. dos; Saint’Pierre, T.D.; Frescura, V.L.A.; Curtius, A.J. Calibration Techniques and Modifiers for the Determination of Cd, Pb and TI in Biodiesel as Microemulsion by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.* **21**: 620-626, 2010.
- [69] Santos, W.N.L. dos; Dias, F. de S.; Fernandes, M.S.; Rebouças, M.V.; Vale, M.G.R.; Welz, B.; Ferreira, S.L.C. Application of multivariate technique in method development for the direct determination of copper in petroleum condensate using graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* **20**: 127-129, 2005.
- [70] Box, G. E. P. and Wilson, K.B. On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the Royal Statistical Society* **13**: 1-45, 1951.
- [71] Barros Neto, B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E. *Planejamento e Otimização de Experimentos*. Campinas: Editora da Unicamp, 1995.

- [72] Teófilo, R.F.; Ferreira, M.M.C. Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. *Química Nova* **29**: 338-350, 2006.
- [73] Brandão, G.P.; Campos, R.C. de; Luna, A.S.; Castro, E.V.R. de; Jesus, H.C. de. Determination of arsenic in diesel, gasoline and naphtha by graphite furnace atomic absorption spectrometry using microemulsion medium for sample stabilization. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **385**: 1562-1569, 2006.
- [74] DOQ-CGCRE-008. *Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos*. Documento de caráter orientativo do INMETRO, revisão 02 – Junho 2007. Disponível em <http://www.inmetro.gov.br>.
- [75] Skoog, D.A.; Holler, F.J.; Nieman, T.A. *Princípios de Análise Instrumental*. Trad. Ignez Caracelli et. al. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- [76] Grotti, M.; Magi, E.; Leardi, R. Selection of internal standards in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry by principal component analysis. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* **18**: 274–28, 2003.
- [77] Pereira, J.G.; Okumura, F.; Ramos, L.A.; Cavalheiro, E.T.G.; Nóbrega, J.A. Termogravimetria: Um Novo Enfoque Para A Clássica Determinação De Cálcio Em Cascas De Ovos. *Química Nova* **32**: 1661-1666, 2009.
- [78] Aucélio, R.Q.; Curtius, A.J. Evaluation of electrothermal atomic absorption spectrometry for trace determination of Sb, As and Se in gasoline and kerosene using microemulsion sample introduction and two approaches for chemical modification. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* **17**: 242-247, 2002.