

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA
DETERMINAÇÃO DE FERRO, COBRE E ZINCO EM
MICROEMULSÃO DE BIODIESEL POR
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM
CHAMA**

Dissertação de mestrado

GREICI ALVES ANTUNES

Porto Alegre, setembro de 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA
DETERMINAÇÃO DE FERRO, COBRE E ZINCO EM
MICROEMULSÃO DE BIODIESEL POR
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM
CHAMA**

Dissertação apresentada como requisito
parcial para a obtenção do grau de Mestre em
Química

Profa. Dra. Márcia Messias da Silva
Orientadora

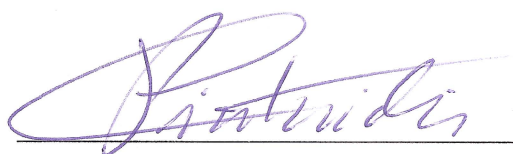
Porto Alegre, setembro de 2014

A presente dissertação foi realizada inteiramente pela autora, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre março de 2012 e março 2014, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação da professora Doutora Márcia Messias da Silva. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:



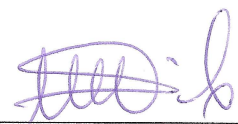
Profa. Dra. Mariana Vieira Antunes



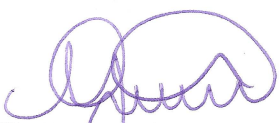
Profa. Dra. Clarisse Maria Sartori Piatnicki



Profa. Dra. Marcia Martinelli



Profa. Dra. Márcia Messias da Silva



Greici Alves Antunes

DEDICATÓRIA

À minha família.

“O mundo é como um espelho que devolve a cada pessoa o reflexo de seus próprios pensamentos. A maneira como você encara a vida é que faz toda a diferença.”

(Luís Fernando Veríssimo)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço À Deus pelas graças recebidas em minha vida.

Aos meus amados pais, que com muito amor, carinho e apoio financeiro sempre me proporcionaram educação e incentivos aos estudos, portanto, devo vocês a profissional que me tornei hoje.

Ao meu irmão Guilherme Antunes, que sempre foi meu amigo, companheiro e muitas vezes um motivador nos momentos de escolhas e decisões importantes ao longo da minha caminhada.

Ao meu querido noivo Adriano Larroque, por sempre admirar a minha dedicação, pelo seu amor, paciência e compreensão durante minhas ausências nos momentos de construção deste trabalho.

Um agradecimento especial a minha compreensível orientadora Dra. Márcia Messias da Silva pela oportunidade, confiança, motivação que proporcionou ao longo desta jornada e por todos os aprendizados, ensinamentos, conselhos, chamadas de atenção e amizade.

Tenho certeza que com sua dedicação me tornei uma profissional muito mais rica e madura desde que iniciei.

À professora Dra. Maria Goreti Rodrigues Vale pelos ensinamentos, conhecimentos e exigência, pois foi a minha admiração ao seu trabalho que me levou a nunca desistir e perceber a minha capacidade.

Ao meu amigo e colega Alexandre de Jesus, pela calorosa recepção ao laboratório, pelos treinamentos, ensinamentos, paciência, carinho e poder contar sempre contigo, agradeço muito por ter o teu afeto.

A Clarice Caldeira Leite, por não ter conquistado apenas a tua amizade, mas por ter ganhado uma irmã e uma companheira para todas as horas, uma confidente que sempre estava comigo nos momentos de alegria e de sofrimento, agradeço as palavras de incentivo e carinho nos momentos difíceis.

Ao Marcus Vinícius e a Cláudia Brito pela parceria nas aulas, corredores, risadas, almoços e lanches no campus do Vale da UFRGS, sem vocês meus dias não teriam sido os mesmos.

Aos colegas do laboratório D-217 que serem compartilharam bons momentos e boas discussões analíticas no laboratório.

Aos colegas do grupo de pesquisa pela convivência e parceria nos congressos e seminários.

Aos alunos de iniciação científica que de alguma forma contribuíram e muito no andamento deste trabalho.

Aos colegas do CECOM que tive o prazer de conhecer me recebendo com carinho e gentileza no laboratório e pelas trocas de experiências e amostras fornecidas para esta pesquisa.

À TECNOPUC pelas amostras concedidas com muita satisfação.

À Escola Luterana São Marcos, e ao meu Coordenador Prof. Caruzo Justo Paulo por sempre compreender as minhas ausências e por acreditar e confiar no meu potencial.

À todos os amigos e colegas de mestrado da UFRGS.

À todos os professores do PPGQ pelos ensinamentos e dedicação.

À Prof.^a Clarisse M. S. Piatnicki e a Yara Patrícia pelas contribuições cedidas para enriquecer este trabalho.

À UFRGS e ao PPGQ pelo apoio e pela oportunidade de fazer parte deste universo científico e acadêmico.

Ao CNPq pelo apoio financeiro e pela bolsa cedida.

Enfim, para todas aquelas pessoas que de alguma forma contribuíram para que este sonho e este trabalho se tornassem realidade.

SUMÁRIO

	Pág.
PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	iv
ABREVIATURAS E SIGLAS.....	v
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	06
2.1 BIODIESEL.....	07
2.1.1 Situação Atual das Fontes Energéticas.....	07
2.1.2 Breve Histórico	13
2.1.3 Obtenção de Biodiesel.....	17
2.1.4 Origem e presença de metais no biodiesel.....	19
2.2 TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS NA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM BIODIESEL.....	21
2.2.1 Espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS).....	22
2.2.2 Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS).....	23
2.2.3 Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS).....	24
2.2.4 Espectrometria de emissão atômica com chama (F AES).....	25
2.2.5 Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).....	26
2.3 MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA.....	27
2.4 DETERMINAÇÃO DE METAIS EM BIODIESEL.....	37
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	43
3.1 INSTRUMENTAÇÃO.....	44
3.2 REAGENTES, SOLUÇÕES E AMOSTRAS.....	46
3.3 PROCEDIMENTO.....	48
3.3.1 Preparo das microemulsões.....	48

3.3.2 Preparo das amostras e padrões orgânicos baseado na norma ABNT NBR 15556.....	49
3.3.3 Preparo das amostras por decomposição ácida.....	50
3.3.4 Determinações das viscosidades cinemáticas.....	50
3.4 TESTES DE RECUPERAÇÃO.....	52
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	53
4.1 FORMAÇÃO DA MICROEMULSÃO.....	55
4.2 DETERMINAÇÃO DAS VISCOSIDADES CINEMÁTICAS.....	59
4.3 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS INSTRUMENTAIS.....	61
4.4 ESTUDOS DE ESTABILIDADE.....	62
4.4.1 Estabilidade dos analitos no método com diluição em solvente orgânico.....	63
4.4.2 Estabilidade dos analitos na microemulsão.....	66
4.5 PARÂMETROS DE MÉRITO.....	68
4.6 TESTES DE RECUPERAÇÃO.....	73
4.7 DETERMINAÇÃO DE METAIS EM BIODIESEL POR F AAS.....	74
5. CONCLUSÕES	78
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81

PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA POR ESTE TRABALHO

Trabalhos resumidos apresentados em eventos

1. 11th Rio Symposium on Atomic Spectrometry

Título: Determination of iron in biodiesel samples by F AAS using three components solution as sample preparation

Autoria: Greici A. Antunes, Alexandre de Jesus, Ariane V. Zmozinski, Yara P. da Silva, Clarisse M. S. Piatnicki, Márcia M. Silva

Sessão: Pôster

Local: Mar del Plata – Argentina

Data: 24 a 29 de Outubro de 2010

2. IV Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel

Título: Determinação de Ferro em biodiesel por espectrometria de absorção atômica com chama utilizando microemulsões

Autoria: Greici A. Antunes, Alexandre de Jesus, Ariane V. Zmozinski, Yara P. da Silva, Clarisse M. S. Piatnicki, Márcia M. Silva

Sessão: Pôster

Local: Belo Horizonte - MG

Data: 05 a 08 de Outubro de 2010

3. Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXVII

Título: The use of microemulsion as sample preparation medium for the determination of iron in biodiesel samples by F AAS

Autoria: Greici A. Antunes, Alexandre de Jesus, Ariane V. Zmozinski, Clarice C. Leite, Yara P. da Silva, Clarisse M. S. Piatnicki, Márcia M. Silva

Sessão: Pôster

Local: Búzios – Rio de Janeiro

Data: 28 de agosto a 2 de setembro de 2011.

4. 5º Congresso Iberoamericano de Química Analítica e 2º Congresso Uruguayo de Química Analítica

Título: Determinação de cobre e zinco em biodiesel por espectrometria de absorção atômica com chama utilizando microemulsão como preparo de amostra

Autoria: Greici A. Antunes, Alexandre de Jesus, Clarice C. Leite, Yara P. da Silva, Clarisse M. S. Piatnicki, Márcia M. Silva

Sessão: Pôster

Local: Montevideo - Uruguai

Data: 07 a 10 de Outubro de 2012

5. 6º Simpósio Nacional de Biocombustíveis – BIOCOM

Título: Determinação de ferro e cobre em biodiesel por espectrometria de absorção atômica com chama utilizando microemulsão como preparo de amostra

Autoria: Greici A. Antunes, Alexandre de Jesus, Ariane V. Zmozinski, Yara P. da Silva, Clarisse M. S. Piatnicki, Márcia M. Silva

Sessão: II Salão de Jovens Pesquisadores em Biocombustíveis – Prêmio destaque – 3º Lugar.

Local: Canoas - Brasil

Data: 24 a 26 de Abril de 2013.

Artigo completo para publicação em periódico

Antunes, G.A.; Santos, H. S. dos; Silva, Y. P.; Pires, S.; Silva, M.M; Piatnicki, C. M.S.
Determination of iron, copper, zinc, chromium and aluminum in biodiesel microemulsion by flame atomic absorption spectrometry. Sendo redigido.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Produção de Petróleo no Brasil.....	12
Figura 2. Distribuição da Produção de Petróleo por Estado Brasileiro.....	13
Figura 3. Primeiro motor por combustão interna criado por Rudolph Diesel.....	14
Figura 4. Transesterificação de triglicerídeos, onde R_1 , R_2 e R_3 representam a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R' , a cadeia carbônica do álcool.....	18
Figura 5. Representação esquemática de microemulsão O/A e A/O.....	33
Figura 6. Representação de sistemas A, B e C: misturas heterogêneas, D: emulsão e E: microemulsão.....	34
Figura 7. Representação esquemática do Viscosímetro de Ostwald.....	52
Figura 8. Representação visual das microemulsões e emulsões testadas. A: propano-1-ol c/tensoativo, B: propan-2-ol c/tensoativo, C: butan-1-ol c/tensoativo, D: propan-1-ol s/tensoativo, E: propan-2-ol s/tensoativo e F: butan-2-ol s/tensoativo.....	56
Figura 9. Diagrama de fases pseudoternário de H_2O/HNO_3 , propan-1-ol e biodiesel misturados a 25°C. Os eixos representam os percentuais em massa de cada componente. Região I: Microemulsão. Região II: emulsão.....	58
Figura 10. Estudo da estabilidade dos analitos (Fe, Cu e Zn) em padrões lipossolúveis e em amostras de biodiesel diluídos em xileno (-■- padrão lipossolúvel, -□- amostra de biodiesel).....	65
Figura 11. Estudo da estabilidade dos analitos (Fe, Cu e Zn) em padrões inorgânicos e em amostras de biodiesel pelo método de microemulsão (-□- amostra de biodiesel, - ■ - padrão inorgânico).....	67

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela I. Parâmetros instrumentais utilizados para a determinação de Fe, Cu e Zn por F AAS.....	44
Tabela II. Vazões dos gases utilizados no equipamento.....	44
Tabela III. Valores otimizados da razão do gás combustível/gás oxidante e da taxa de aspiração para Fe, Cu e Zn em cada método.....	45
Tabela IV. Descrição das amostras de biodiesel.....	47
Tabela V. Estudo do uso do tensoativo Triton X-100 e do solvente orgânico para a formação da microemulsão.....	56
Tabela VI. Determinação das viscosidades pelos métodos por diluição em xileno e por microemulsão.....	60
Tabela VII. Regressão linear, coeficiente de correlação e concentração característica das curvas analíticas com os padrões de Fe, Cu e Zn em soluções aquosas.....	70
Tabela VIII. Regressão linear, coeficiente de correlação e concentração característica das curvas analíticas para determinação de Fe, Cu e Zn em amostras de biodiesel pelo método de diluição com xileno e de microemulsão.....	70
Tabela IX. Parâmetros de mérito para a determinação de Fe, Cu e Zn em biodiesel obtidos por F AAS usando os métodos por microemulsão (ME) e por diluição em xileno (DX) e decomposição ácida (DA).....	72
Tabela X: Teste de Recuperação para Fe realizado com diluição em xileno e microemulsão.....	73
Tabela XI: Teste de Recuperação para Cu realizado com diluição em xileno e microemulsão.....	73
Tabela XII: Teste de Recuperação para Zn realizado com diluição em xileno e microemulsão.....	74
Tabela XIII: Determinação de Fe em amostras de biodiesel por F AAS.....	75
Tabela XIV: Determinação de Cu em amostras de biodiesel por F AAS.....	76
Tabela XV: Determinação de Zn em amostras de biodiesel por F AAS.....	76

ABREVIATURAS E SIGLAS

A/O – Água em óleo

AAS – Espectrometria de absorção atômica (do inglês, *Atomic Absorption Spectrometry*)

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

B100 – Biodiesel 100%

B30 – Mistura de 70% diesel e 30% biodiesel

BP - *British Petroleum*

C/Ox – Combustível/oxidante

CCD – Dispositivo de carga acoplada

CEN - Comité Européen de Normalisation

CNPE – Conselho Nacional de Política Energética

C_o – Concentração característica

CRM – Material de Referência Certificado

DA – Decomposição ácida

DX – Diluição em xileno

DEMON – do inglês *double echelle monochromator*

DOU – Diário Oficial da União

ECO-92 – Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e Desenvolvimento

EDL – Lâmpada de descarga sem eletrodo

EN – Norma europeia (do inglês, *European Norm*)

EPE – Empresa de Pesquisa Energética

ET AAS – Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (do inglês, *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*)

F AAS – Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*)

F AES – Espectrometria de emissão atômica com chama (do inglês *Flame Atomic Emission Spectrometry*)

FI-CV-AFS – Espectrometria de fluorescência atômica com vapor frio por injeção em fluxo

FHC – Fernando Henrique Cardoso

GF AAS – Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (do inglês, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)

HCL – Lâmpada de cátodo oco

HR-CS AAS – Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (do inglês *High Resolution Continuous Source Atomic Absorption Spectrometry*)

ICP - MS – Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)

ICP OES – Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (do inglês, *Inductively Coupled Plasma Spectrometry*)

IEA – *Internacional Energy Agency*

INPI – Instituto Nacional de Propriedade Intelectual

INT – Instituto Nacional de Tecnologia

IPCC - *Intergovernmental Panel on Climate Change*

K – Unidade de temperature *Kelvin*

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

m/m – razão massa massa

m/z – razão massa carga

ME – Microemulsão

Mtep – mega toneladas equivalentes de petróleo

NBR – Norma Brasileira

NIST – National Institute of Standards and Technology

O/A – proporção óleo em água

OVEG - Programa de Óleos Vegetais

PNPB - Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel

ppb – partes por bilhão

ppt – partes por milhão

PROÁLCOOL - Programa Nacional do Álcool

PROBIODIESEL - Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel

PRO-ÓLEO - Programa Nacional de Produção de Óleos Vegetais para Fins Energéticos

R – Coeficiente de correlação linear

RSD – Desvio padrão relativo (do inglês, *Relative Standard Deviation*)

SD – Desvio padrão (do inglês *Standard Deviation*)

TMAH – Hidróxido de tetrametilamônio

UV – Ultravioleta

v/v – razão volume volume

WCED - *World Commission on Environment and Development*

RESUMO

ANTUNES, Greici Alves. **Desenvolvimento de método para determinação de ferro, cobre e zinco em microemulsão de biodiesel por espectrometria de absorção atômica com chama.** Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

Este trabalho propõe o desenvolvimento de método analítico para a determinação de Fe, Cu e Zn em amostras de biodiesel por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS), utilizando microemulsão como preparo de amostra. Neste trabalho buscou-se, para a formação da microemulsão, o uso de um solvente orgânico menos tóxico do que o solvente usado no método de referência (ABNT NBR 15556), o uso de padrões inorgânicos para a calibração e a ausência de um surfactante. A composição da microemulsão foi estudada através de um diagrama trifásico e a composição adotada foi de 1,7 g de biodiesel, 1,1 mL de H₂O/HNO₃ e volume completado com propan-1-ol até 10 mL. Foi utilizado ácido oleico e padrões inorgânicos no preparo das curvas analíticas. O método apresentou boa linearidade ($R > 0,99$) e desvios padrão menor do que 5%. Os LDs foram de 0,3, 0,1 e 0,07 mg kg⁻¹ para os metais Fe, Cu e Zn, respectivamente. Esses resultados foram melhores do que os obtidos pelo método de referência devido a melhor precisão nas medidas no método proposto. Os resultados dos testes de recuperação (95-102%) indicam a ausência de efeitos de matriz. Os parâmetros obtidos pelo método proposto estão de acordo com os encontrados com o método padrão, o que torna o seu uso viável para a determinação de elementos traço. Para avaliar a exatidão do método foram comparados os resultados de amostras reais com o método de referência e também com o método de decomposição ácida. A aplicação do teste estatístico “t” student, mostrou que não existe diferença significativa entre os resultados obtidos pelos três métodos. Portanto, o uso de microemulsões aliado à técnica F AAS apresentou uma estratégia simples, rápida e prática, além da possibilidade de se utilizar solventes não carcinogênicos. A presença de ácido no meio permite maior disponibilidade e mobilidade dos analitos, evitando a adsorção nas paredes do recipiente além do uso de padrões aquosos na calibração para avaliar a presença de metais no biodiesel.

Palavras-chave: Biodiesel, metais, microemulsão, F AAS.

ABSTRACT

ANTUNES, Greici Alves. **Development of method for determination of iron, copper and zinc in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry using microemulsion as sample preparation.** Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

This work proposes the development of an analytical method for the determination of Fe, Cu and Zn in biodiesel samples by flame atomic absorption spectrometry (F AAS) using microemulsion as sample preparation. The formation of the microemulsion using a less toxic organic solvent instead of the solvent used in the reference method (ABNT NBR 15556), inorganic standards for calibration and the absence of a surfactant was sought. The composition of the microemulsion was investigated through a three phase diagram and the composition adopted was 1.7 g of biodiesel, 1.1 ml of H₂O/HNO₃ and completed with propan-1-ol to 10 mL volume. Oleic acid and inorganic standards were used to prepare the calibration curves. The method showed good linearity ($R > 0.99$) and less than 5% standard deviation. The Limits of Detection obtained were 0.3, 0.1 and 0.07 mg kg⁻¹ for Fe, Cu and Zn, respectively. These results were better than those obtained by the reference method due to lower fluctuation in the measurements in the proposed method. The spike recoveries obtained (95-102%) indicate the absence of matrix effects. The parameters obtained for the proposed method are in agreement with those found for the standard method, which makes feasible its use for the determination of trace elements. In order to evaluate the accuracy of the method the results of real samples were compared with the reference method and also with the method of acid decomposition. The application of the statistic test "t" student showed no significant difference between the results obtained by the three test methods. Therefore, the use of the microemulsions combined with F AAS technique showed a simple, fast and practical strategy, besides the possibility of using non-carcinogenic solvents. The presence of acid in the medium allows greater freedom of analytes, preventing adsorption onto the walls of the container and the use of aqueous standards for evaluating the presence of metals in biodiesel.

Keywords: Biodiesel, metals, microemulsion, F AAS.

1. INTRODUÇÃO

Ao longo da história da civilização, a base do desenvolvimento de um povo ou de uma nação desde os primórdios até os dias de hoje é a constante busca por fontes energéticas. Atualmente, esses recursos energéticos são cada vez mais importantes devido as crescentes necessidades do mundo contemporâneo como: produção de alimentos, indústrias, serviços, bens de consumo, lazer, conforto e ainda alavancar o desenvolvimento social, econômico e cultural de uma nação. Portanto, é evidente a importância da energia para suprir as necessidades básicas, desde países em crescente desenvolvimento àqueles já industrializados.

A maior parte da energia gerada e consumida mundialmente provém de fontes ou jazidas de carvão, petróleo e gás natural. Entretanto, existem especulações de que tais fontes estão com os dias contados, isto é, existem previsões de um futuro esgotamento, o que provoca certa preocupação e procura por novas alternativas energéticas para manter o padrão básico exigido pelas sociedades de hoje. Além disso, o uso dessas fontes de energia está associado a inúmeros problemas ambientais como: impactos ambientais, poluição do ar o que acarreta no surgimento de doenças respiratórias e cardiovasculares nos indivíduos, mudanças climáticas devido ao aumento das emissões de carbono, levando ao aquecimento global e tornando esse agravante em uma ameaça à vida no planeta Terra¹.

Em meados de 1987 já se ouvia falar no termo sustentabilidade. Em um relatório fornecido pelo *World Commission on Environment and Development (WCED)*, também chamado de *Our Common Future* foi relatado que o desenvolvimento sustentável é aquele com capacidade de suprir e atender as necessidades básicas da população atual sem comprometer as necessidades para as futuras gerações nos próximos anos².

De fato, há quase duas décadas já se realizavam pesquisas e avaliações em relação à incompatibilidade do uso das fontes de energia derivadas de combustíveis fósseis e a atual preocupação com um mundo sustentável. Portanto, o futuro do desenvolvimento das civilizações depende da capacidade do homem em explorar e obter fontes alternativas de combustíveis que se tornem adequadas a essa nova proposta mundial que exige que nos preocupemos em como deixar o nosso planeta para as próximas gerações³.

Os sinais de alerta e a conscientização da sociedade para as alternativas energéticas tem sido crescentes. As energias renováveis tem ganhado espaço dentro deste cenário econômico e ambiental. Com isso, muitos países vêm investindo em

energias alternativas como a eólica, a solar e a biomassa, com o objetivo de minimizar os problemas ambientais e diversificar a matriz energética^{2,3}.

O Brasil, um país com uma perspectiva notável em fontes de energia renováveis devido a sua extensão e prospecção territorial, apresenta certa dependência fundamental, principalmente no setor de transporte, de fontes originárias do petróleo como o óleo diesel, um combustível tradicionalmente utilizado para movimentar veículos de carga, já que o Brasil é um país adepto ao uso rodoviário de transporte por todo território nacional³.

O óleo diesel brasileiro é considerado de baixa qualidade e extremamente poluente quando comparado a outros combustíveis internacionais, pois apresenta teores altos de enxofre em sua composição. Além disso, o Brasil não é um país autossuficiente na produção deste combustível para atender à demanda interna e termina sendo dependente do mercado internacional⁴.

Neste contexto, os óleos vegetais apareceram como uma alternativa para a substituição ao óleo diesel em motores de ignição por compressão (motores Diesel), sendo o seu uso já testado e produzindo resultados satisfatórios. Com o passar dos anos, o motor diesel sofreu várias transformações e evoluções e atualmente se tem conhecimento que a aplicação direta de óleos vegetais está limitada em relação a algumas dificuldades como: viscosidade, propriedades físicas, baixa volatilidade, combustão incompleta, etc.

Para solucionar tais dificuldades foram realizadas várias pesquisas e testadas várias opções como reação de transesterificação, diluição, craqueamento catalítico, entre outras. Mas, a transesterificação tem sido a alternativa mais rentável e viável, pois se trata de um processo extremamente simples. Neste contexto surge um novo conceito de combustível alternativo, eficiente e sustentável, denominado de biodiesel. O biodiesel é obtido em geral, via reação de transesterificação que consiste na conversão de óleos ou gorduras em ésteres etílicos ou metílicos de ácidos graxos, gerando um combustível que apresenta propriedades semelhantes ao óleo diesel⁴.

O uso do biodiesel como um substituto parcial ou até mesmo total do óleo diesel já é uma realidade no Brasil e em alguns países. Esse fato requer uma atenção considerável das políticas energéticas e ambientais, pois o biodiesel apresenta a vantagem de apresentar isenção de enxofre em sua composição, na maioria dos casos, além de permitir a mistura com o óleo diesel mineral sem a necessidade de alterações e

adaptações nos motores automotivos e ainda ajuda na redução da emissão de poluentes para a atmosfera⁵⁻⁶.

O uso de biodiesel no país não é algo novo, pois juntamente com o programa Proálcool, considerado o maior programa de combustível alternativo no mundo, o Brasil desenvolveu em meados da década de 70 e 80 alguns projetos voltados para pesquisar a viabilidade de uma alternativa para o óleo diesel surgindo então outros programas como o Pro-óleo, Dendiesel e outros. Entretanto, por mais que se tenha encontrado uma alternativa para o biodiesel, o custo e as altas taxas fiscais com a produção em relação ao óleo diesel, impediu a sua utilização em escala comercial. Assim, por volta da década de 90, infelizmente esses programas foram abandonados e engavetados pelo governo federal⁷.

Diante deste problema e da situação atual, em que a nossa sociedade exige cada vez mais uma preocupação com um mundo sustentável, várias pesquisas e estudos vêm sendo realizados a fim de aperfeiçoar a síntese do biodiesel com a finalidade de aprimorar esse processo e torná-lo competitivo e viável através da busca de catalisadores alternativos e oleaginosas mais baratas, visando à redução dos custos de produção e de incentivos fiscais nos programas governamentais.

Para sua utilização adequada, o biodiesel deve seguir a rígidas especificações e um controle de qualidade rigoroso devido ao processo de transesterificação, que exige a utilização de catalisadores. Além disso, normalmente, os produtos da reação encontram-se contaminados com outros compostos.

Dentre os metais, Na e K são os que têm sido especialmente controlados, pois seus hidróxidos são empregados como catalisadores do processo e podem trazer como consequências o entupimento de várias partes da mecânica de veículos automotores, por se apresentarem na forma de sabões insolúveis ou de abrasivos sólidos⁸.

Entretanto, muitos outros elementos contaminantes inorgânicos como: Cu, Fe, Zn, Pb, Ni e outros podem estar presentes, através da absorção destes metais pela própria planta ou podem ser incorporados ao longo do processo de produção, armazenagem e transporte.

Portanto, um monitoramento quantitativo destes elementos é fundamental em termos de avaliar e manter a qualidade do biodiesel, evitando problemas futuros como manutenção em peças e bicos mecânicos, bem como o desempenho energético deste

Biocombustível, e até mesmo do controle da qualidade do ar nas emissões de gases poluentes⁹.

Desta maneira, é extremamente importante desenvolver métodos e procedimentos para a determinação de metais em amostras de biodiesel, bem como aprimorar outras formas eficientes de preparo de amostra.

Assim, o objetivo deste trabalho foi de desenvolver um método analítico para a determinação dos metais ferro, cobre e zinco por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS), utilizando a microemulsão como preparo de amostra.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIODIESEL

2.1.1 Situação Atual das Fontes Energéticas

Com as constantes especulações de que um dia as reservas mundiais de petróleo possam chegar ao fim, a incontável dependência de seus subprodutos e que este mercado movimentava centenas de milhões de dólares no mundo, obviamente que este cenário preocupa em encontrar substitutos para suprir as necessidades tanto da indústria química como da sociedade^{10,11}.

Sob o aspecto ambiental, poluentes atmosféricos como: emissões de gases associado ao aquecimento global como o CO e CO₂; materiais particulados e; gases ou compostos a base de enxofre, têm crescido e elevado as taxas de poluição constantemente. O setor de transporte é um dos principais responsáveis por este aumento, dado que o Brasil possui um alto potencial de crescimento na frota rodoviária, quando comparada a outros países, por exibir uma alta relação habitante/veículo¹²⁻¹⁴.

Conforme dados fornecidos pela *Internacional Energy Agency* (IEA) em 2011, o cenário energético mundial apresenta uma dependência do petróleo, carvão mineral e gás natural em um valor de aproximadamente 80,9% da oferta primária de energia do mundo e é com base nesta estatística que se pode prever um esgotamento destas fontes energéticas, baseado na produção e extração fornecido pelas reservas naturais¹⁵⁻¹⁷.

Em razão da grande preocupação baseado nestes dados, por isso são realizados constantes estudos prevendo o tempo destas reservas com base nas taxas de consumo mundiais juntamente com as reservas que ainda não tenham sido descobertas e exploradas. Entretanto, existe a questão destas novas reservas serem específicas e regionais, o que causaria dependência de certos países ocasionando um desnível na balança comercial mundial ou até mesmo disputas políticas¹⁴.

Segundo alguns estudos e dados estatísticos do *British Petroleum* (BP), em 2010 foi estimado o tempo que essas reservas de matéria-prima energética primária ainda estariam ativas e chegaram as seguintes informações: as reservas de carvão mineral teriam capacidade de produzir por mais 118 anos, as de gás natural por mais 60 anos e as reservas de petróleo em torno de 45 anos¹⁸.

Mas, como foi relatado anteriormente, a preocupação é com as regiões em que estarão estas reservas, devido à desigualdade se sua distribuição ao redor de todo o planeta como, por exemplo, em zonas que apresentam conflitos de guerra constantemente, regiões de difícil acesso geologicamente, reservas muito profundas, etc.

Enfim, há inúmeras dificuldades envolvendo política, meio ambiente e tecnologias muito avançadas, o que acarreta num custo elevado para manter esta necessidade¹⁹. A grande dificuldade dessas fontes energéticas não está só no futuro esgotamento, mas sim nos difíceis acordos políticos que são inconstantes e, principalmente, nas grandes alterações e impactos ambientais que podem causar danos climáticos irreversíveis no globo terrestre^{2,19}.

Com base nessas dificuldades e preocupações, as autoridades que representam as nações no mundo têm organizado várias conferências e encontros políticos para discutir acordos e medidas que possam solucionar esses problemas que são de suma importância, já que existem muitos estudos científicos que descrevem os efeitos do aquecimento global se for tomadas medidas urgentes relacionados principalmente com as emissões poluentes na atmosfera²⁰.

Um breve histórico dessas medidas foi iniciado em 1992 no estado do Rio de Janeiro a chamada ECO-92 ou Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e Desenvolvimento, onde participaram em torno de 160 líderes de Estado que assinaram um dos primeiros acordos sobre mudanças climáticas, dando início a esse marco histórico sobre sustentabilidade. Em 1997 no Japão, foi assinado o famoso Protocolo de Kyoto, um tratado que firmava compromisso junto aos países mais desenvolvidos (países do hemisfério norte) para a redução da emissão dos gases que contribuem para o efeito estufa, este protocolo teve como meta inicial atingir uma redução média desses gases num valor em torno de 5,2% comparado a década de 90²¹.

Muitos pesquisadores afirmam que para que a temperatura média do planeta Terra não exceda um aumento de 2 °C nas próximas décadas, essas medidas, acordos e tratados devem ser exigidos, cobrados e avaliados para que se consiga obter uma redução em torno de quase 50% da emissão até meados de 2050²¹⁻²⁴.

De acordo com o *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) já é comprovada a existência com certo grau de certeza científica que o aquecimento global foi provocado pelo homem e que está principalmente relacionado às liberações de carbono na atmosfera, causando um desequilíbrio. O IPCC também comprova que esse

problema deriva basicamente da queima excedente de combustíveis fósseis para a geração de energia na sociedade²²⁻²⁵.

A realidade brasileira não é muito diferente do resto do mundo, com a elevação da taxa do barril do petróleo e com as inúmeras preocupações ambientais, o uso de uma fonte energética provinda de biomassa tem se destacado como uma solução²⁰.

Para discutir a situação econômica atual do Brasil é preciso retomar alguns fatores e providencias que foram tomadas pelas autoridades em tempos atrás.

A indústria do petróleo brasileiro teve seu início tardio comparado a outros países, isto é em meados da década de 30 o país cogitou concretamente a exploração de jazidas nacionais e só foi dar início à exploração de forma efetiva no final da década de 40 com a formação do Centro de Estudos do Petróleo e junto com ele, surge a famosa campanha com influência política “*O Petróleo é Nosso*”. Antes deste período todo o petróleo era importado, o que proporcionava um custo econômico muito alto para o país, levando à dívida externa^{7,26}.

Com isso, autoridades governamentais tomaram como objetivo principal tornar o país autossuficiente em petróleo e demais fontes energéticas. Logo, houve um crescimento e investimento em pesquisa, exploração, produção, refino, transporte e comercialização do petróleo e seus derivados por parte do governo federal com a criação da estatal Petrobrás (Petróleo Brasileiro S.A.)³⁰ em meados de 1953.

Em 1973, o governo brasileiro lançou o Programa Nacional do Álcool, o Proálcool, cujo objetivo é a substituição da gasolina usada como combustível pelos veículos automotivos a álcool etílico. Na verdade, desde 1925, os brasileiros já tinham o conhecimento da utilização do álcool como combustível, porém a gasolina era abundante, barata e consumida em pequena escala, não havendo interesse na exploração do etanol²⁵⁻²⁷.

No entanto, durante a segunda Guerra Mundial, o álcool ajudou o país a conviver com a escassez de gasolina, pois ele era misturado ou usado isoladamente em motores convertidos para tal fim²⁶⁻²⁸.

Nos anos entre 1977 e 1979, a produção de cana-de-açúcar teve uma expansão na produção e este foi o vegetal escolhido para a produção de álcool combustível no Brasil. Muitos fatores foram determinantes para essa escolha como a grande extensão territorial do país, o clima propício para a cultura da cana e o domínio da tecnologia da fabricação do álcool^{7,25-30}.

A implantação deste programa passou por duas fases: a primeira visava a produção de etanol com a finalidade de adicionar à gasolina e a segunda visava a produzir como combustível de veículos movidos a álcool hidratado, que passaram a ser produzidos em grande escala diante da queda nas vendas de veículos a gasolina²⁶.

Porém, os veículos movidos a álcool trouxeram muitos problemas como: dificuldade de partida a frio e corrosão de peças e bicos motores, aumento da manutenção e principalmente de boatos de que a produção nacional não seria suficiente para abastecer todo o mercado interno^{7,26-30}. Para resolver tais problemas, o governo investiu no sentido de aumentar as vendas e criou algumas facilidades como maior prazo de financiamento, redução de taxas, incentivos fiscais e abastecimento aos sábados (naquela época os postos fechavam nos finais de semana). Tais incentivos do governo levaram a muitos estudos para reduzir esses gargalos e aumentar a qualidade dos veículos e combustíveis^{29,30}. Com base neste programa, o álcool etílico ganhou espaço econômico, social e ambiental no mercado brasileiro.

A informação de uma pesquisa realizada no final de 2011, de que a produção de etanol no Brasil foi de 27,6 bilhões de litros a partir da cana-de-açúcar, em relação aos 580,1 milhões de litros de etanol em 1975, (Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, 2012) confirma a solidez do mercado deste combustível no país²⁷⁻³⁰.

Entretanto, apesar do sucesso deste programa, este tem trazido muitas desvantagens, críticas e preocupações à sua implantação. Tais desvantagens se baseiam no fato do aumento repentino das áreas de cultivo de cana-de-açúcar com a finalidade de abastecer tal necessidade energética, em relação às áreas de cultivo como fonte de alimento que praticamente se mantiveram inalteradas^{7,25,26}. Além deste, há mais um agravante: o ciclo da cana-de-açúcar leva em torno de 180 dias, e muitas vezes entra no período da entressafra, ocorrendo redução na produtividade. Então, muitos trabalhadores rurais ficam ociosos e com trabalho reduzido durante o ano o que leva a problemas sociais e, conseqüentemente, ao aumento do custo do combustível²⁶.

Em consequência, houve um crescimento gradativo do desenvolvimento industrial levando a exigências de investimento em termos de mobilidade, isto é, construção de rodovias, pontes interligando os estados brasileiros para a distribuição e aumento do consumo do petróleo e seus derivados³⁰.

Devido à queda no valor do barril do petróleo no final da década de 60 e uma variação na balança comercial mundial, o petróleo estrangeiro se tornou mais barato do que o nacional e a produção sofre queda. Neste período se percebe o quanto o Brasil e o

mundo se tornam dependentes do petróleo e a mudança nas relações internacionais, dividindo os países em duas categorias, a dos produtores de petróleo e a dos consumidores^{7,25,30}.

Por volta de 1973, o controle do preço do barril do petróleo pertence as grandes companhias energéticas e acaba gerando um desequilíbrio na balança comercial internacional, levando à primeira crise mundial do petróleo. Portanto este acaba se tornando uma arma política e estratégia e o preço do barril praticamente quadruplica forçando o governo brasileiro a buscar soluções³⁰. Mas o poder do petróleo ganha cada vez mais força política e a necessidade mundial de tal fonte energética se torna essencial, do modo, que em 1978 eclode uma segunda crise. Conseqüentemente, a Petrobrás volta a investir na procura de novas jazidas petrolíferas, a fim de diminuir essa dependência e em 1984, a produção nacional se iguala à importação²⁸⁻³⁰.

Devido às eficientes estratégias do governo brasileiro, a boa atuação e a flexibilização do monopólio estatal da Petrobrás, na década de 90 o petróleo brasileiro se consolidou e neste mesmo período o governo Collor abriu o mercado interno para as privatizações de outros setores subsidiário a Petrobrás^{26,27,30}.

Com base nas mudanças políticas e administrativas, uma forma de tomar precauções e evitar problemas futuros que possam comprometer a estatal, foi criado um órgão nacional regulamentador dentro do setor petrolífero para controlar o monopólio estatal e foram criadas a Lei do Petróleo juntamente com a Agência Nacional do Petróleo (ANP) e o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE)³⁰.

Já no século XXI aumenta a especulação do esgotamento das reservas fósseis e em 2004, o crescimento da produção de petróleo estaciona levando o governo e as autoridades brasileiras a procurarem novas alternativas e soluções.

A situação atual no país a respeito da produção de fontes energéticas como petróleo e gás natural no ano de 2013, baseada no boletim da produção de petróleo e gás natural divulgada pela ANP teve um crescimento gradativo no período de março de 2013 até março de 2014 e se manteve um equilíbrio na quantidade de barris produzidos por dia como é demonstrado na Figura 1³¹.

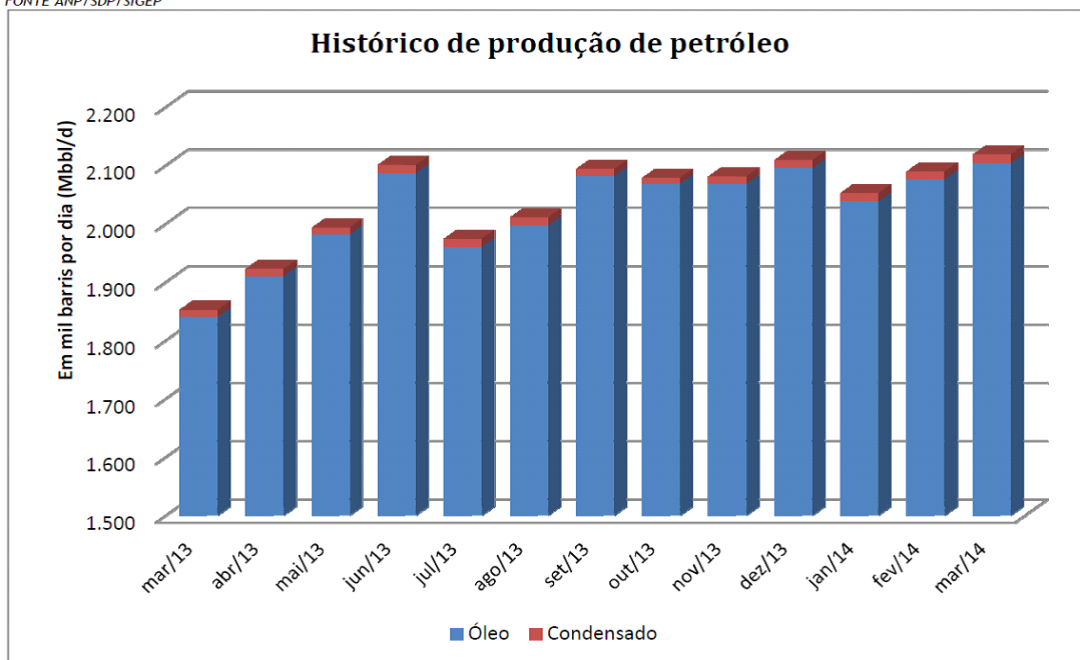


Figura 1: Produção de Petróleo no Brasil³¹.

Portanto, a produção nacional é alta, mas percebe-se no período de março a junho de 2013 um crescimento gradativo e depois uma oscilação, mas praticamente a produção se manteve estável até março de 2014, conforme os dados extraídos do boletim mensal da ANP³¹⁻³³.

Na Figura 2 é possível avaliar a distribuição da produção de petróleo nos estados brasileiros e concluir que, depois das últimas descobertas de novas jazidas, juntamente com a mais nova fonte chamada de pré-sal, o estado do Rio de Janeiro é o mais produtivo e responsável por quase 70% da totalidade da produção nacional. Em segundo lugar no ranking da liderança aparece o estado do Espírito Santo com 15,1% da produção e os outros 15,5% representam a soma da produção dos demais estados brasileiros que apresentam exploração e produção de petróleo³¹⁻³³.

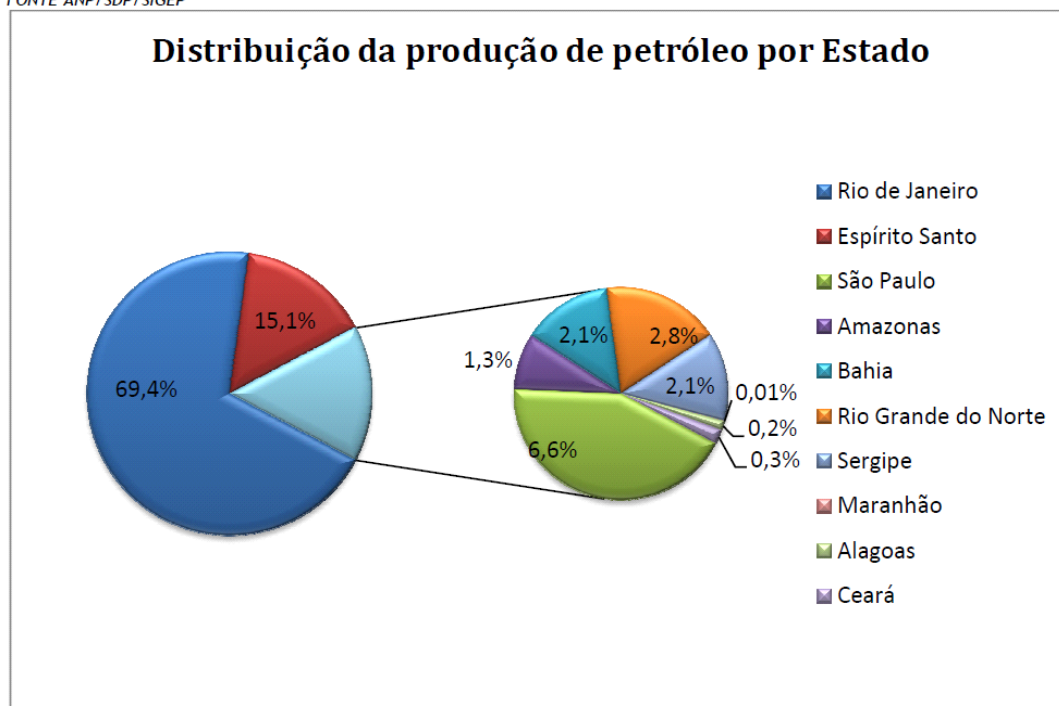


Figura 2: Distribuição da Produção de Petróleo por Estado Brasileiro³¹.

Já no século XXI aumenta a especulação do esgotamento das reservas fósseis e em 2004, o crescimento da produção de petróleo estaciona levando o governo e as autoridades brasileiras a procurarem novas alternativas e soluções.

Assim, o biodiesel ganhou espaço comercial como uma alternativa, devido a algumas características, servindo como instrumento para uma transformação econômica, política, ambiental e social^{12,20,31}.

2.1.2 Breve Histórico

Mesmo que o interesse, o desenvolvimento e a pesquisa de um combustível de origem vegetal ou animal só tenham ganhado espaço devido à crise do petróleo no final da década de 70 e com o levantamento das questões ambientais na década 90, o biocombustível não é algo novo^{7,32}.

Conforme a literatura, a história do biodiesel já vem de longa data e teve início em uma exposição na cidade de Augsburg na Alemanha através do engenheiro

mecânico Rudolf Christian Karl Diesel em 1893. Ele fez uso de um motor de combustão interna que utiliza alguns pistões, os quais aproveitavam controladamente a energia gerada através de uma reação química, surgindo um dos grandes inventos feitos pelo homem, o motor diesel, conforme demonstrado na Figura 3^{7,32-35}.



Figura 3: Primeiro motor por combustão interna inventado por Rudolph Diesel^{33,34}.

A ideia de Rudolf Diesel era produzir um motor térmico que fosse mais eficiente frente aos veículos movidos a vapor, cuja à eficiência alcançada pela conversão do poder energético era de aproximadamente míseros 10%^{7,33,34}.

Mas foi em 1890, durante uma exposição em Paris, sob a iniciativa do governo Francês e apoio de Rudolf Diesel, que foi apresentado ao público local, um pequeno motor por compressão, abastecido por óleo vegetal de amendoim, que havia sido projetado para funcionar com petróleo filtrado e que acabou por operar sem modificações no equipamento. Mas, infelizmente por razões econômicas esse projeto acabou sendo abandonado^{7,35-37}.

Dez anos mais tarde, Rudolf Diesel afirmou em uma frase considerada um tanto ousada para a época: *“O motor diesel, pode ser alimentado por óleos vegetais e ajudará no desenvolvimento agrário dos países que vierem a utilizá-lo. O uso de óleos vegetais*

como combustível pode parecer insignificante nos dias de hoje, mas com o tempo tornar-se-á importante, tanto quanto o petróleo e o carvão são atualmente”^{20,32-37}.

O que Rudolf Diesel quis realmente dizer com esta famosa frase foi que, embora o uso de óleos vegetais fosse ignorado naquele momento, que este tipo de combustível poderia ser uma alternativa energética para décadas futuras^{33,36,37}.

Há relatos de estudos do uso de óleos vegetais como combustível no Brasil, por volta da década de 20. Foi em uma conferência no clube de engenharia do Rio de Janeiro onde Joaquim Bertino de Moraes Carvalho apresentou o uso de óleo de carnaúba como combustível. Em 1925, Lumet declarou que a partir de estudos e ensaios realizados até então, os óleos de origem vegetal poderiam ser queimados em motores a combustão como fonte energética³⁹.

Entretanto, o uso desses óleos vegetais acabou sendo suspenso em meados de 1937, devido a alguns problemas identificados na época e que dificultavam o seu crescimento³⁹. Alguns testes, realizados pela Mercedes-Benz com os óleos de amendoim, palma, soja e girassol apontaram alguns gargalos como: perturbações devido à alta viscosidade, a pulverização dos óleos não era eficiente, o que necessitava alterações na bomba de injeção e a necessidade de um pré-aquecimento devido seu ponto de ignição ser mais elevado que o próprio óleo mineral^{39,40}.

Outros problemas acabaram por serem questionados por alguns estudiosos da época, como a oxidação do óleo que era injetado nas paredes do cilindro e a umidade do local acabava auxiliando na formação de depósitos e gomas nas peças e bicos motores e o alto índice de resíduos de carbono dos óleos vegetais. Para solucionar esses problemas seriam necessárias mudanças de engenharia nos motores, o que levaria a custos altos tornando o processo inviável⁴⁰.

Conforme alguns boletins técnicos do próprio Instituto Nacional de Tecnologia (INT), desde a década de 20 até os dias atuais existem muitos estudos e publicações no país sobre o êxito e bons resultados da utilização de óleos vegetais como combustível, mas é a partir do final da década de 70, com a crise do petróleo, que o interesse nos óleos vegetais e de origem animal, começa a ganhar espaço nas discussões político-econômicas como uma solução para o fim da dependência dos combustíveis de origem fóssil³⁶⁻⁴⁰. Em 1970, o governo brasileiro lança o Plano de Produção de Óleos Vegetais para Fins Energéticos (Pro-óleo)^{33,38}.

Surgiram então vários questionamentos técnicos quanto às melhores maneiras de usar os óleos vegetais para fins energéticos e se iniciaram-se alternativas que

viabilizassem esta nova alternativa, associando transformações e modificações no motor Diesel, uma ideia corriqueira de se transformar os óleos vegetais em óleo diesel através de processos químicos e por fim o uso de óleo vegetal craqueado e não mais *in natura* ou saponificados⁴⁰⁻⁴².

Apesar de haverem estudos de craqueamento desde a década de 40, foi a partir do início da década de 80 que os óleos vegetais começam a passar por transformações e processos catalíticos como esterificação, alcoólise, acidólise e interesterificação³³.

No entanto, a transesterificação foi um dos processos que mais se adequou às novas necessidades, devido sua simplicidade por não exigir grandes investimentos, uma vez que suas características físico-químicas estão mais próximas às do óleo diesel do que do óleo vegetal puro^{41,42}.

Além disso, os ésteres apresentam características combustíveis mais independentes da espécie vegetal e este fator foi crucial. Além disso, permitia a utilização de ésteres oriundos de diversos tipos de óleos vegetais, possibilitando também a sua utilização tanto pura quanto misturada em diversas proporções ao óleo diesel, obtendo assim uma fonte energética eficiente⁴⁰⁻⁴².

A Universidade Federal do Ceará em 1980, fez o pedido da primeira patente brasileira com o termo “biodiesel” (PI-8007957) e a querosene vegetal de aviação, graças à contribuição do professor e pesquisador Expedito José de Sá Parente (1940-2011), considerado o “pai do biodiesel”. Somente em 1983, através do Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI) o registro foi oficialmente efetuado^{26,33,40-42}.

Em 1980, o governo brasileiro através da resolução Nº 7, do Conselho Nacional de Energia transfere o pro-óleo em Programa Nacional de Óleos Vegetais. O objetivo principal desta resolução era o uso do biodiesel puro (B100) e a promoção da substituição do óleo diesel em até 30% (B30), bem como incentivar a produção de amendoim, colza, girassol, mamona e, principalmente, a de soja no país^{43,44}.

Infelizmente, devido aos altos custos de refino dos óleos vegetais e produção do biodiesel em relação ao óleo diesel, o programa acabou sendo esquecido e abandonado por causa da inviabilidade econômica em alta escala, quando comparado aos preços do petróleo, que nesse período sofreram uma queda⁴³.

Este panorama só voltou a acontecer no final da década de 90 com os fortes rumores de uma crise energética mundial, e durante o governo de FHC em 2002, se chegou a pensar em reativar o programa Pro-óleo, mas devido a mudanças políticas naquele período, mais uma vez o projeto foi abandonado^{33,37,41}.

Somente em 2005, o atual governo lançou o Pro-Biodiesel, o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) através da lei 11.097 que autorizou a adição de biodiesel à matriz energética brasileira⁴³⁻⁴⁶. Esta lei (PNPB) fixou os percentuais mínimos e obrigatórios com prazos e períodos a serem cumpridos como um acréscimo de 2,0% de biodiesel ao óleo diesel no período de 2008 a 2012 e de um aumento para 5,0% até 2013 em todo o óleo diesel comercializado no país^{6,43-45}. As perspectivas levantadas são de alcançar percentuais de misturas por volta de 10% até 2015 e de 20% de mistura até 2020, o que já é previsto em alguns países europeus⁴⁸⁻⁵⁰.

O que se deve ressaltar é que a produção de biodiesel só se tornou uma realidade através dos incentivos fiscais do governo brasileiro, porque, infelizmente, a produção de biodiesel ainda apresenta um custo de produção maior do que a do diesel. O objetivo é que o biodiesel se torne competitivo no mercado^{44,45}.

Portanto, há boas perspectivas quanto ao uso do biodiesel nos próximos anos, porque além de ter ocupado seu espaço como uma fonte energética eficiente e um substituto do petróleo, existem outros aspectos que podem favorecer ainda mais o seu crescimento na produção mundial, pelo simples fato de estar ligado às crescentes preocupações com os impactos ambientais causados pelo aquecimento global e uma conscientização com o termo sustentabilidade^{47,48,52,53}.

2.1.3 Obtenção de Biodiesel

O B100 (100% de biodiesel) é obtido através de uma transformação química, comumente conhecida como reação de transesterificação, a partir de óleos vegetais ou gordura animal, com certa quantidade de álcool de cadeia curta, geralmente metanol ou etanol na presença de um catalisador ácido ou básico^{7,54}.

Quimicamente falando, o biodiesel é definido como um éster monoalquílico de ácidos graxos de cadeia longa obtido por uma reação de transesterificação, essa reação química procede pela transformação de um álcool com triglicerídeo qualquer (óleo ou gordura) obtendo-se um éster^{7,12,44,53}.

Na Figura 1 é apresentada a reação de transesterificação do triacilgliceróis, onde R1, R2 e R3 representam a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R', a cadeia carbônica do álcool reagente, obtendo como produtos éster e glicerina^{7,53}.

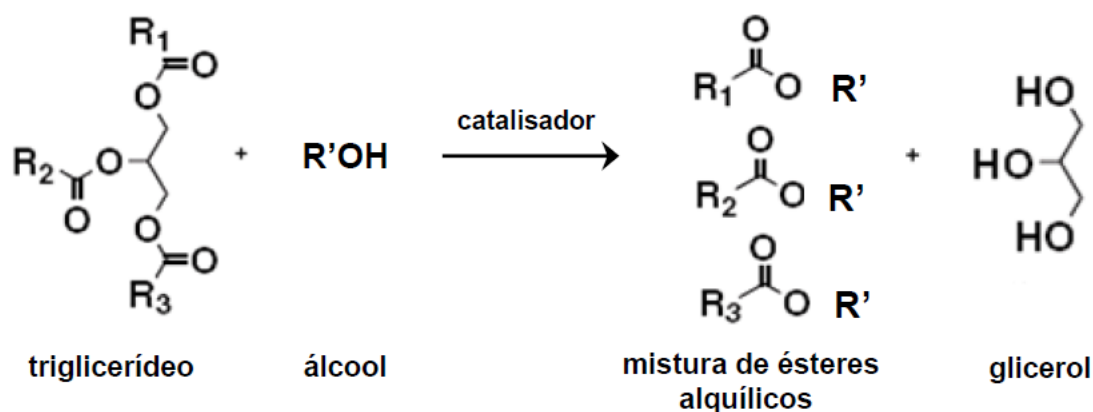


Figura 4: Transesterificação de triglicerídeos, onde R₁, R₂ e R₃ representam a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R', a cadeia carbônica do álcool⁷.

Na obtenção, geralmente a transformação é realizada sobre agitação mecânica ou até mesmo sobre refluxo contínuo num período de tempo otimizado por cada processo que vai depender principalmente pelo tipo de reagentes e catalisadores empregados no processo^{14,54}.

Os tipos de álcoois mais utilizados no processo de transesterificação são álcoois de cadeia curta como o metanol e o etanol por apresentarem propriedades físico-químicas apropriadas para um melhor rendimento no processo^{7,54-55}.

Outros parâmetros importantes para um bom rendimento da reação é a natureza do catalisador empregado que pode ser realizado tanto por meio ácido ou básico e até mesmo por meio enzimático. Sabe-se que através de estudos que a reação apresenta um melhor rendimento e maior seletividade quando são adotados catalisadores básicos^{14,55}.

Os catalisadores ácidos também podem ser usados, mas acabam exigindo um tempo muito maior na reação de transesterificação, condições mais extremas de pressão e temperatura, além de precisar de álcool em excesso no meio reacional e por fim de materiais mais resistentes à corrosão o que acaba ocasionando um custo de produção muito maior que os catalisadores básicos^{7,9,14}.

Portanto, os catalisadores empregados e mencionados em alguns trabalhos publicados são os que derivam de hidróxidos de metais alcalinos, alcalinos terrosos, carbonatos e alcóxidos de metais alcalinos, mas os catalisadores básicos mais utilizados são as bases fortes como NaOH e KOH devido seu custo ser baixo^{7,41}.

Após o tempo de reação, os produtos (mistura) são colocados em um período de repouso para que ocorra a decantação e posteriormente a separação das fases, onde a fase inferior é composta pelo glicerol formado, juntamente com resquícios de reagentes, como o próprio álcool e catalisador. Já a fase superior é composta pelo éster formado (biodiesel) que após ser separado é seguido por alguns processos de purificação e lavagem para a eliminação de excessos de reagentes e de impurezas^{7,14,56,57}.

Na sequência o produto formado e purificado passa por inúmeros testes de qualidade e análises para a verificação se está dentro dos padrões especificados por lei, antes de ser transportado para comercialização⁵⁷.

2.1.4 Origem e a presença de metais no biodiesel

Difícilmente qualquer reação química, incluindo a reação de transesterificação do biodiesel, consegue ser completa e obter 100% de rendimento. Assim, normalmente os produtos da reação (ésteres alquílicos) encontram-se ligados com outros compostos ou até mesmo com metais ou substâncias metálicas⁵⁸⁻⁶⁰. Logo, estes procedimentos exigem algumas etapas de purificação, por exemplo, as etapas de lavagens que são usadas para separar produtos de reação ou para retirar excesso de reagentes e catalisadores, mas mesmo assim os produtos podem conter contaminantes.

É indesejável que o biodiesel contenha metais presentes na sua composição, pois este pode provocar vários problemas como: promover a oxidação e decomposição do biodiesel, desvios de qualidade, provocar a corrosão em bicos e partes mecânica dos veículos automotores, exigindo futuramente custo em manutenção⁵⁹⁻⁶⁴.

Entre os metais, os que têm sido especialmente controlados são o Na e o potássio K, pois seus hidróxidos são os mais empregados no processo de transesterificação, como catalisadores de reação. Estes elementos podem gerar abrasivos sólidos ou sabões insolúveis e podem entupir várias partes da mecânica dos veículos motores^{59,60,63}.

Outros metais que se tem dado atenção principalmente são o Ca e o Mg, porque são oriundos da etapa de lavagem do processo^{62,65}. Assim como Na e K, o Ca e Mg também podem promover a formação de sabão, levando a constituição de goma que conseqüentemente pode levar a formação de depósitos em bombas, filtros, bicos

injetores, pistões e outros, levando ao mau funcionamento da mecânica dos veículos⁶²⁻⁶⁵.

Outros elementos metálicos também podem ser incorporados no biodiesel durante as etapas de processamento, através do contato com os equipamentos utilizados durante o refino, produção, armazenagem e transporte fazendo parte da composição final do biodiesel⁶⁴. Contaminantes, tais como Fe, Cu, Pb, Cd, Zn, Ni, entre outros podem migrar para o biodiesel através da absorção desses metais tanto pelo solo, quanto pela própria planta, na qual servirá de matéria-prima⁶⁶⁻⁶⁹.

A maioria dos metais que são absorvidos pelas plantas está presente no solo e isso está diretamente relacionado à semente, pois a maior parte da extração dos óleos vegetais tem origem na semente das plantas. Portanto, a composição química da semente vai depender da oferta de substâncias minerais presentes no solo que muitas vezes são contaminados com pesticidas e fertilizantes que podem ser outra fonte de metais^{70,71}.

O acompanhamento quantitativo desses elementos metálicos em amostras de biocombustíveis tem importância relevante na qualidade do produto final em termos econômicos, tanto para a indústria, comércio e serviços. Uma das aplicações importantes é a determinação da concentração total ou o monitoramento da variação da concentração ao longo do tempo desses elementos metálicos^{59,70,71}.

Um dos fatores relevantes é o desgaste dos componentes metálicos e o fenômeno da corrosão que ocorre na câmara de combustão de veículos automotivos, que é provocada pelas altas temperaturas e pelos próprios combustíveis, produzindo gases tóxicos que serão liberados para a atmosfera com a presença de substâncias metálicas indesejáveis, podem ocasionar uma redução na qualidade do ar^{7,48,49}.

Através de um monitoramento analítico dos teores de aditivos inorgânicos incidentais ou acidentais, existe uma possibilidade de acompanhar, desde a produção até os pontos de distribuição, a qualidade do biodiesel^{19,21,71}.

No entanto, o biodiesel de diferentes origens já está sendo usado em veículos automotores, com poucos trabalhos publicados na literatura e ausência de uma legislação ou normatização em vigor para o controle de qualidade de metais como Fe, Cu, Pb, Ni, Cd, entre outros para o B100^{66,67,73}. Logo, se torna importante o desenvolvimento de métodos analíticos para o monitoramento destes metais em amostras de biodiesel de diversas origens^{73,74}.

A presença de metais tais como Fe, Cu, Ni, Cr e Zn no biodiesel podem estar relacionados à composição química dos tanques onde são realizados tanto o processo de transesterificação, assim como os tanques de armazenagem, estocagem e de transporte que são feitos por ligas metálicas^{68,76}.

Portanto, a importância de se realizar um monitoramento e estudos sobre a indesejável presença de metais no biocombustível pode levar a uma instabilidade oxidativa do biodiesel e, conseqüentemente, diminuir o seu tempo de armazenamento até seu destino final^{54, 55, 63-65, 75}.

Atualmente, a ANP exige apenas o controle da concentração apenas de Na, K, Ca e Mg na composição do biodiesel, através da resolução N° 7, de 19 de março de 2008⁴⁴. Essa resolução estabelece que a soma das concentrações de Na + K e de Ca + Mg não ultrapasse o valor de 5,0 mg kg⁻¹. Para os outros elementos metálicos ainda não existe controle ou especificação por norma brasileira⁵⁶. Além desses metais a EN 14214⁷⁹ recomenda um valor máximo admissível de ferro no biodiesel de 20,0 µg g⁻¹.

Portanto, esses limites estabelecidos por lei devem ser cumpridos para que se obtenha um biocombustível dentro dos parâmetros e de boa qualidade para o comércio e o consumidor final. Além disso, é importante que investigações dos teores e efeitos de outros elementos no biodiesel continuem a ser realizadas, com o intuito de fornecer subsídios para a se estabelecer limites para outros elementos.

2.2 TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS NA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM BIODIESEL

Como o biodiesel apresenta uma matriz orgânica complexa, este apresenta vários problemas associados a sua análise. Conforme Monteiro *et al.*⁵⁵ existem vários trabalhos na literatura que empregam técnicas analíticas fundamentadas na espectrometria atômica para a determinação de metais em amostras de biodiesel⁵⁶.

Conforme Korn *et al.*⁹, as faixas de concentração de metais no biodiesel são relativamente baixas, por isso sugere o uso de técnicas mais sensíveis e exatas.

As principais técnicas para a determinação de metais de interesse no biodiesel e em óleos vegetais são a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS), a espectrometria

de absorção atômica de alta resolução (HR-CS AAS), a espectrometria de emissão atômica com chama (F AES), a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)^{9,56}.

Conforme Lepri *et al.*⁵⁶ alguns trabalhos empregam a potenciometria, voltametria e eletroforese capilar como alternativas para a determinação de metais em matrizes complexas como o biodiesel, por serem técnicas consolidadas e que apresentam sensibilidade adequada, mas muitas vezes não suficientes para a determinação de elementos traço, e por isso acabam sendo pouco utilizadas.

2.2.1 Espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS)

A espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) é umas das técnicas mais citadas na literatura devido por ser a técnica adotada pela resolução N° 7 na especificação da ANP que limita as concentrações de alguns metais comentados anteriormente^{44,64}. Isto é, é a técnica citada na norma NBR 15556.

A espectrometria de absorção atômica (AAS) é uma técnica empregada na determinação de metais em amostras orgânicas que geralmente apresentam certa complexidade na matriz, portanto a F AAS tem sido a técnica usada na determinação de Na, K, Ca e Mg no biodiesel, como relatado nos estudos de Jesus *et al.*^{60,65}, assim como também para alguns óleos lubrificantes conforme o trabalho de Zmozinski *et al.*⁸¹.

A técnica se baseia no princípio de que, com o auxílio de um atomizador (chama), são gerados átomos livres que se encontra no estado fundamental, onde são capazes de absorver radiação de um comprimento de onda específico, que é emitida por uma fonte primária, uma lâmpada de cátodo oco constituída pelo mesmo metal de interesse^{82,83}. A amostra deve ser uma solução líquida que é aspirada para um nebulizador, que tem o objetivo de converter a solução e formar várias gotículas ou aerossol, que na sequência são introduzidas em um queimador com uma chama, que pode ser de ar/acetileno ou óxido nitroso/acetileno. Neste processo físico-químico ocorre a dessolvatação da amostra e os sólidos remanescentes se atomizam e por fim ocorre o fenômeno da absorção^{82,83}.

Essa técnica monoelementar apresenta sensibilidade adequada e alta seletividade e geralmente não apresenta muitas interferências, pelo simples fato de usar fontes de

radiação específica para cada elemento. Ela tem sido muito empregada devido a sua simplicidade, efetividade e rapidez nos resultados⁸².

As fontes de radiação primária utilizadas são a lâmpada de cátodo oco (HCL) ou as lâmpadas de descarga sem eletrodo (EDL), mas a HCL é a lâmpada mais requisitada devido seu custo ser mais baixo que a EDL. A HCL consiste em um ânodo que geralmente é constituído por tungstênio e um cátodo de aparência cilíndrica e fixa dentro de um tubo de vidro que é preenchido por um gás inerte, geralmente argônio ou neônio sob uma pressão adequada. A composição do cátodo é do mesmo metal do analito de interesse⁸³.

Jesus *et al* utilizaram a técnica de F AAS na determinação de Na e K e Ca e Mg em amostras de biodiesel usando microemulsão como preparo de amostra.^{60,65} Os limites de detecção encontrados nesses trabalhos estão na faixa de $\mu\text{g kg}^{-1}$. Já, Lyra e colaboradores, propuseram um método para a determinação de Na, K, Ca e Mg em biodiesel por microemulsão utilizando supressores de ionização para evitar interferências e encontraram limites de detecção baixos e próximos ao trabalho citado anteriormente^{60, 63, 65}.

Apesar da F AAS ser uma técnica muito empregada, esta por sua vez apresenta algumas desvantagens como: baixa sensibilidade devido o curto tempo de residência dos átomos no percurso ótico e a baixa eficiência de amostragem, e exige grande volume de amostra⁸³. Essa técnica pode sofrer efeitos de matriz, levando a possíveis interferências principalmente no transporte da amostra, podendo levar a erros nas medidas. No entanto, com um desenvolvimento de método adequado, a F AAS permite a sua utilização para a determinação de metais traços em combustíveis e biocombustíveis na faixa de mg kg^{-1} ⁸².

2.2.2. Espectrometria de emissão atômica com chama (F AES)

Esta técnica é um pouco limitada é a F AES, que se baseia em um método simples e de custo relativamente baixo e é muito utilizado na determinação de metais alcalinos e alcalinos terrosos, principalmente. A dificuldade de se determinar outros elementos é devida às interferências espectrais e os efeitos de temperatura, logo não é vantajosa, além de exigir o uso de amostras na forma líquida ou digeridas.

Nowka *et al.*⁸⁹, desenvolveram um método para a determinação de Na e K em amostras de biodiesel diluído em querosene e, após, compararam os resultados encontrados com o método por F AES usando digestão ácida como preparo de amostra obtendo-se resultados concordantes e satisfatórios.

Já o grupo de pesquisa de Chaves *et al.*⁸, apresentou um método para a determinação de Na e K por F AES em amostra de biodiesel sob a forma de microemulsão e compararam os resultados com a introdução discreta das amostras obtendo limites de detecção semelhantes na faixa de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$.

Oliveira *et al.*⁹⁰, fizeram a determinação de Na em biodiesel por F AES através de um procedimento de decomposição por mufla e a exatidão do método foi avaliada por teste de recuperação.

2.2.3. Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES)

Uma técnica multielementar e capaz de determinar metais e até não metais em amostras de biodiesel é a espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), que geralmente apresenta baixos limites de detecção, se tornando ideal para a determinação de elementos traço^{55,56,61}.

O ICP OES mede a energia emitida em diferentes matrizes, isto é baseia-se na medida da intensidade da radiação quando essa energia é transferida para um átomo através de mecanismo de colisões provocados por um plasma de gás argônio formado por um aquecimento induzido por um campo eletromagnético de alta frequência^{61,64,69}.

Essa técnica é bastante utilizada para a determinação de metais traço em uma variedade de amostras, pois apresenta características como capacidade de análises multielementar, alta capacidade de detecção, resultados muito precisos e tempo curto nas medidas^{61,64,69,72}.

Essa técnica possui um plasma que é gerado a partir de elétrons livres e de um gás ionizado que são concebidos por uma descarga elétrica em uma bobina de radiofrequência produzindo um campo eletromagnético podendo atingir altíssimas temperaturas que variam entre 5000 a 10000 K no ambiente do plasma^{64,66,69}.

Santos *et al.*⁶² propuseram um método simples e rápido para a determinação de Na, K, Ca, P e Mg em análise simultânea em biodiesel por ICP OES, usando diluição em etanol como preparo de amostra e a calibração realizada com padrão interno.

Outro trabalho que explorou essa técnica foi os estudos de Souza *et al.*⁹¹, que quantificaram os elementos Ca, Mg, Fe, Mn, Na e P em biodiesel e a amostra tratada por emulsão óleo em água O/A.

Os limites de detecção dessa técnica são valores intermediários encontrados entre a F AAS e a GF AAS para boa parte dos metais.

2.2.4 Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS)

Outra técnica muito empregada é a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) que atualmente pode ser utilizada na determinação de elementos traços em amostras complexas como petróleo, derivados, biocombustíveis e óleos⁷².

Esta técnica monoelementar, baseia-se no mesmo princípio citado anteriormente, mas difere por apresentar um forno de grafite, a amostra, que pode ser sólida, líquida ou gasosa, é introduzida através de um orifício com o auxílio de um amostrador ou uma micropipeta. Essa amostra é submetida a um programa de temperatura que tem como etapas principais a secagem, pirólise e a atomização^{83, 84}.

Para obterem resultados satisfatórios e precisos deve-se realizar um estudo de otimização das etapas, levando em conta o tipo de amostra, a natureza da espécie a ser determinada e as suas propriedades, buscando a eliminação da matriz e a eficiência na formação de um vapor atômico⁸²⁻⁸⁵. Além das três etapas principais, são necessárias duas etapas complementares: como a etapa de limpeza, onde são eliminados todos os resíduos, tanto do analito como da matriz, que possam estar presentes na superfície do forno e evitam efeitos de memória e a etapa de resfriamento, para certificar que o tubo ou a plataforma estejam em condições de receber uma nova amostra^{56,64,84}.

A GF AAS apresenta algumas vantagens significativas como: alta sensibilidade, que muitas vezes pode ser em até três ordens de magnitude em relação a F AAS, o tempo de residência dos átomos no percurso ótico é maior do que na chama, requer introdução de volumes pequenos de amostra na ordem de 5 a 50 uL, que é introduzida no atomizador, enquanto que na F AAS apenas 5% da amostra chega ao atomizador, e algumas vezes não exige grandes modificações no preparo, pois muitas vezes permite o uso de amostras com alto conteúdo orgânico, suspensões e outras, já que a técnica permite a separação da amostra da matriz que é eliminada antes da atomização⁸³⁻⁸⁵.

Alguns trabalhos tem utilizado esta técnica para a quantificação de metais em biodiesel. Lobo *et al.*⁵⁸ determinaram Cu, Pb, Ni e Cd em amostras de biodiesel e óleos vegetais, através de dois procedimentos diferentes de preparo de amostra, o primeiro por microemulsão e o segundo por digestão ácida por micro-ondas. Reyes e colaboradores⁸⁶ determinaram Cu e Ni em óleo vegetal, por análise direta de amostra encontrando limites de detecção na ordem de partes por bilhão (ppb).

Portanto, a GF AAS pode ser utilizada na determinação de metais em amostras de biodiesel, pois ela é uma ótima alternativa para a análise de elementos traço em combustíveis e biocombustíveis.

2.2.5. Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS)

A técnica de AAS já é conhecida e consolidada há mais de meio século, e só tem ganhado atualizações e novas adaptações conforme o desenvolvimento de novas tecnologias e necessidades.

Devido a algumas limitações da AAS como o uso de uma lâmpada de cátodo oco para cada elemento e as dificuldades de se resolver certas interferências mais complexas, houve a necessidade de se desenvolver uma técnica que suprisse esses gargalos, surgindo assim à espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS)^{68,76,82}.

Essa técnica é baseada em uma redefinição da AAS, isto é, ocorreram mudanças instrumentais. A primeira delas foi à fonte de radiação primária, a lâmpada (HCL) foi substituída por uma única lâmpada de arco curto xenônio, operando em alta pressão (hot spot), que emite uma radiação de alta intensidade tanto na região do ultravioleta quanto na região do visível, permitindo a determinação de quase todos os elementos com capacidade de determinações multielementares⁸²⁻⁸⁸.

Outro fator relevante foi o desenvolvimento de monocromadores duplos de alta resolução chamados de DEMON (double echelle monochromator) que são compostos por uma rede de difração echelle em arranjo *Littrow* e um prisma. Esse prisma tem a função de pré-dispensor, que separa o comprimento de onda de interesse, na verdade um faixa espectral, e o monocromador desempenha alta resolução^{82,86-88}.

O detector é formado por um arranjo linear de dispositivos de carga acoplada conhecida por CCD, que apresenta 512 detectores independentes⁸².

Quadros *et al.*⁶⁸, realizou a determinação de Al, Cu, Fe e Mn em biodiesel, através de um procedimento simples e rápido por HR-CS ET AAS, usando a diluição com solvente orgânico (etanol).

Portanto, a partir dessas mudanças e adaptações tecnológicas a HR-CS AAS se apresenta vantajosa frente a outras técnicas espectroanalíticas, pois permite a visualização do espectro tridimensional, fornece uma melhoria na relação sinal/ruído por causa da altíssima intensidade fornecida pela lâmpada, melhor desempenho analítico nas determinações em amostras mais complexas e a correção de interferentes é feita simultaneamente com as determinações^{68,82,86-88}.

2.3 MÉTODOS DE PREPARO DA AMOSTRA

A escolha de um método para o preparo de uma amostra exige estudo e conhecimento sobre a natureza, o comportamento e as propriedades da mesma e do analito, pois é necessário avaliar inúmeros parâmetros e variáveis e principalmente o tipo de técnica que se será empregado posteriormente⁹³.

Por isso, para a determinação de metais em biocombustíveis, combustíveis e demais derivados de petróleo, a amostra poderá passar ou não por algumas etapas de pré-tratamento antes da análise.

Este estágio exige muita cautela, atenção e paciência, pois é um ponto crítico de um método analítico, e muitas vezes é a etapa em que mais ocorrem perdas e erros sistemáticos que acabam consumindo tempo e gerando custos para a análise⁹.

O biodiesel exige uma preparação compatível com os instrumentos a serem empregados na análise, permitindo a possibilidade de uma calibração simples e eficaz.

A escolha de um procedimento para tratar as amostras de biodiesel vai depender da técnica adotada, portanto, toda a metodologia estudada deve ser criteriosa para o sucesso do processo empregado. Assim, muitos fatores como: custo, tempo de preparação, simplicidade, fator de diluição, contaminação, natureza do analito, estabilidade da amostra e do analito, entre outros, devem ser considerados e avaliados^{55,56}.

Muitos procedimentos diferentes têm sido estudados como: análise direta, diluição direta em solvente orgânico, decomposição ácida, emulsificação e microemulsão. Algumas vezes, a alta complexidade orgânica das amostras afeta a análise direta por F AAS, mas esta dificuldade pode ser resolvida através da diluição com algum solvente orgânico adequado, embora esta conduta apresente algumas desvantagens.

Uma alternativa é mineralizar a amostra com ácidos inorgânicos, mas este processo exige tempo, custo e muitas vezes é um meio de contaminação ou até mesmo perda do analito.

Atualmente, os procedimentos têm procurado outros caminhos para lidar com esses gargalos e a emulsificação e a microemulsificação tem sido uma alternativa, apesar da emulsão não apresentar estabilidade termodinâmica e necessitam de leitura imediata⁵⁶.

Logo após o seu preparo, o biodiesel apresenta características, como viscosidade considerável, e apesar de uma variabilidade de técnicas analíticas, a espectrometria atômica tem sido a mais recomendada na determinação de metais, ela requer certa atenção especial com relação aos métodos de preparo e introdução da amostra. Portanto, esta etapa é de suma importância para o sucesso da análise⁶⁴.

Neste cenário, serão mostrados abaixo os procedimentos mais usuais em pré-tratamento e introdução da amostra de biodiesel para as técnicas de espectrometria atômica e de massas.

O método por introdução direta de amostra na espectrometria atômica normalmente apresenta problemas conforme citados acima, como viscosidade e caráter orgânico. Se a instrumentação utilizada for por F AAS ou F AES, podem causar certos contratempos como: variação na taxa de aspiração e dificuldades na nebulização, formação de uma chama com um ambiente rico em combustível o que ocasiona uma instabilidade na chama e conseqüentemente levando a variações nas medidas e prejudicando a precisão^{9,55,56,64}.

Já por GF AAS pode ocorrer um espalhamento excessivo de amostra no forno ou na plataforma o que prejudica a eficiência da atomização. Nos instrumentos ICP OES e ICP-MS podem ocorrer à deposição de sedimento de carbono na tocha e muitas vezes ocorre à desestabilização ou até mesmo a extinção do plasma e especificamente no ICP-MS pode formar espécies poliatômicas a base de carbono levando a algumas interferências^{9,55,56,64}.

Em suma, esses problemas relacionados a cada técnica também podem contribuir para uma futura avaria e diminuir a vida útil de peças importantes no equipamento exigindo muito mais manutenção e custo.

Lyra e colaboradores⁶³ propuseram análise direta para a determinação de P em biodiesel por GF AAS utilizando um acessório para amostragem sólida automática. Neste trabalho, foi realizado um estudo sobre as temperaturas para as etapas de pirólise e atomização e sobre a massa de modificador foram avaliados. As condições determinadas foram de aproximadamente 1300°C para a etapa de pirólise e de 2700°C para a atomização e de 30 µg de paládio como modificador químico e a calibração do método foi realizada através de soluções aquosas. Os resultados foram comparados com os obtidos pelo método da norma EN 14107⁹⁴ e a avaliação da exatidão do método realizada com material de referência certificada. Na sequência, aplicaram o teste estatístico ANOVA e não foi observado diferença significativa entre os resultados.

A decomposição ácida em amostras orgânicas tem como objetivo eliminar totalmente ou parcialmente a matriz da amostra e solubilizar o analito antes de sua determinação. Isto é, converte as espécies presentes em íons metálicos. Este procedimento requer o uso de ácidos fortes concentrados e de alta pureza para evitar a contaminação ao longo do processo. Este método envolve muitas vezes aquecimento em sistema aberto ou fechado, várias etapas e um longo período de tempo^{9,92}.

A vantagem da decomposição ácida é que a solução final obtida no método é compatível com a maioria das técnicas analíticas e a calibração pode ser realizada simplesmente com soluções aquosas^{9,92}. Este método apresenta flexibilidade e adaptação no procedimento, pois muitas vezes é possível a realização por via seca, assistida ou não por um ambiente rico em oxigênio, em sistema aberto ou fechado e aquecidas por micro-ondas ou por radiação UV⁹². A desvantagem desta técnica são as várias etapas que o procedimento exige um longo período de tempo, o risco de perdas por volatilização e contaminação da amostra grande consome de ácidos inorgânicos e uma quantidade significativa de amostra o que acabam dificultando o uso deste método de preparo⁹².

Oliveira e colaboradores⁹⁰ introduziram um método para a determinação de Na em amostras de biodiesel por F AES. Foram pesados 0,5 g de amostra e aquecidos por uma hora em 250°C em mufla e em seguida aumentada a temperatura para 600°C por mais 4 horas. Após, os resíduos foram avolumados e dissolvidos até 100 mL com água acidificada em 1% e a calibração realizada com solução aquosa. O método foi avaliado

por adição de padrão e os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) encontrados foram de 1,3 e 4,3 mg kg⁻¹.

Outro método de preparação bem simples, rápido e muito utilizado é a diluição com solvente orgânico. Este método baseia-se no uso de solventes orgânicos como tolueno, xileno, querosene, hexano, diclorometano, propanol, etanol entre outros para diluir a amostra. A diluição da amostra é vantajosa, pois diminui consideravelmente a viscosidade do biodiesel, facilitando a sua introdução nos equipamentos analíticos que requerem nebulização da amostra, e não requer muitas etapas no preparo^{9,56}.

Entretanto, este método apresenta algumas desvantagens como algumas interferências no processo instrumental que devem ser consideradas, as calibrações são realizadas geralmente com padrões de sais orgânicos solúveis, mas um problema que se deve dar atenção é a forma do analito presente na amostra e nos padrões que podem ser diferentes, causando diferenças na sensibilidade em algumas técnicas. Outra desvantagem são os limites de detecção e a precisão que sofrem elevadas variações e a instabilidade dos analitos em meio orgânico.^{55,60}

Alguns problemas e dificuldades podem ser observados quando esse método é aplicado no F AAS e ICP são as variações da viscosidade entre as amostras e também entre os padrões levando há erros sistemáticos nos resultados e prejudicando a precisão das medidas^{55,56,64}.

Quando o instrumento é o ICP se devem levar em conta alguns ajustes como configurações especiais nos nebulizadores, tochas, fluxo de gás (argônio) por causa da volatilidade do solvente orgânico empregado.

Outros problemas mencionados na literatura são que as chamas produzidas nas técnicas de F AAS e F AES podem ficar muito ricas em combustível causando certa instabilidade e oscilações, apesar de que este problema pode ser amenizado com uma otimização na taxa de combustível/oxidante (C/Ox)⁶⁰.

No GF AAS podem ocorrer dificuldade na introdução da amostra devido à baixa tensão superficial e viscosidade que prejudicam a formação de uma gota homogênea nas paredes do tubo ou plataforma ou até mesmo um espalhamento excessivo da amostra.

Já para o ICP pode ocorrer à formação de resíduos de carbono sobre os componentes da tocha, causando a desestabilização ou até mesmo a extinção do plasma e especificamente para ICP-MS podem ocorrer interferências devido à formação de espécies poliatômicas devido à presença de carbono^{95,96}.

Portanto, muitos são as desvantagens deste método como os elevados custos dos padrões orgânicos, a leitura imediata após o preparo da amostra, devido à baixa estabilidade do analito nos padrões e nas amostras e o uso de solventes com potencial ação carcinogênica^{56,60,63,96}.

Entretanto, devido à simplicidade desse método, são muitos os trabalhos citados utilizando este tipo de método de pré-tratamento. De acordo com normas oficiais brasileiras, americanas e europeias a recomendação é o uso da diluição com xileno como solvente orgânico para a determinação de Na, K, Mg, Ca e P em biodiesel por ICP OES e de Na e K por F AAS na norma americana e europeia. Já a norma NBR 15556:2008⁷⁸ recomenda o uso de F AAS para a determinação de Ca e Mg também para o biodiesel^{77-79,97-100}.

Essas normas são baseadas na diluição com xileno e o uso de padrões organometálicos e a presença de óleo mineral base para simular o biodiesel nas soluções padrões para a calibração do método. Este método é recomendado pelas normas por ser simples, rápido e apresentar limites de detecção suficientes para atender as especificações atuais do biodiesel⁵⁶.

Alguns elementos como Ca, K, Mg, Na e P foram determinados por ICP OES em amostras de biodiesel conforme o trabalho proposto por Edlund *et al.*¹⁰¹, que fizeram o uso da diluição do biodiesel em querosene em uma proporção de 1:4 (m/m), a calibração foi realizado com o óleo base diluído em querosene e padrões organometálicos. Esses autores avaliaram a exatidão do método através de amostras de biodiesel providas de um teste comparativo, no qual observaram concordância entre os resultados.

Outra alternativa interessante no preparo de amostra é a utilização da emulsão, que tem sido aplicada em muitas amostras de petróleo e derivados, conforme algumas revisões^{55,56,64,96}.

A emulsão é definida como uma dispersão, isto é um sistema heterogêneo com duas fases líquidas e imiscíveis e com a adição de um surfactante seguido de agitação mecânica constante (manual ou tipo vórtex). Devido à redução na tensão interfacial e a melhor interação entre as fases, ocorre à formação de um sistema aparentemente homogêneo com aspecto leitoso e turvo, mas que apresenta baixa estabilidade, pois com o decorrer do tempo após o preparo pode ocorrer à separação entre as fases, pois não apresenta uma estabilidade termodinâmica^{9,56,89,93,96}.

A composição da emulsão pode ser de gotículas óleo em água (O/A) ou de gotículas de água em óleo (A/O). No caso do biodiesel, geralmente a emulsão é de O/A, onde o combustível está disperso em uma fase aquosa e ocorre a formação de microgotas que na presença de um tensoativo são estabilizadas através de um arranjo de micelas^{56,64,102-104}.

Essa formação de uma solução emulsificada é considerada compatível para a introdução da amostra em equipamentos analíticos e permite o uso de calibrações mais simples como os padrões inorgânicos. Outra vantagem é a minimização de interferências em relação à variabilidade de viscosidade entre as amostras e as medidas, obtendo melhora na precisão do método e conseqüentemente melhora significativa nos limites de detecção¹⁰⁴⁻¹⁰⁸.

Souza *et al.*⁹¹, propuseram um estudo para determinar Ca, Cu, Mg, Fe, Mn, Na e P em biodiesel por ICP OES utilizando emulsões que foram preparadas através da mistura em o óleo com adição de HNO₃ concentrado e a adição de um tensoativo como o Triton X-100 e avolumado com água e na sequênciã a mistura foi agitada por 2 min com o auxílio de um vórtex.

Um trabalho interessante foi de Aranda e colaboradores¹⁰⁹ que determinaram mercúrio total e inorgânico em emulsão em biodiesel utilizando a técnica de vapor frio por injeção em fluxo acoplada à espectrometria de fluorescência atômica (FI-CV-AFS). A emulsão após preparada foi submetida à radiação de UV para decompor mercúrio orgânico presente (MeHg⁺, PhHg⁺, etc). O método de adição de analito foi usado como técnica de calibração e a exatidão averiguada por testes de recuperação e comparada com resultados obtidos por decomposição assistida por micro-ondas.

Um dos métodos que tem ganhado crescente espaço nas técnicas de pré-tratamento de amostra é a microemulsificação.

Conforme, Pellizetti e Pramauro¹⁰³, emulsões e microemulsões são como agregados que geralmente contém água, uma fase oleosa, um tensoativo e um co-tensoativo, que preferencialmente é um álcool devido apresentar um parte polar e outra apolar.

A microemulsão apresenta a mesma composição de uma emulsão, ou seja, uma fase oleosa, outra aquosa e a presença ou não de um surfactante. Porém existe um diferencial em relação à emulsão, a adição de co-surfactante, geralmente um álcool (etanol, propanol, butanol, etc.) que auxilia na estabilização do sistema, que acaba se formando espontaneamente e se tornando estável termodinamicamente e possui

aparência visual de uma solução homogênea, límpida, transparente e estável muitas vezes por tempo indeterminado e exige uma simples agitação mecânica^{56,60,107,108}.

As microemulsões também apresentam dois tipos de sistemas como as emulsões, sistema A/O e O/A conforme demonstrado na figura 5. Elas são denominadas de microemulsões devido ao tamanho das partículas, que apresentam diâmetro na ordem de 1 a 100 nm, dispersas em uma fase contínua, que na verdade formam um sistema micro heterogêneo se avaliado microscopicamente, pois apresenta uma baixa tensão superficial e grande área de interface entre as fases.

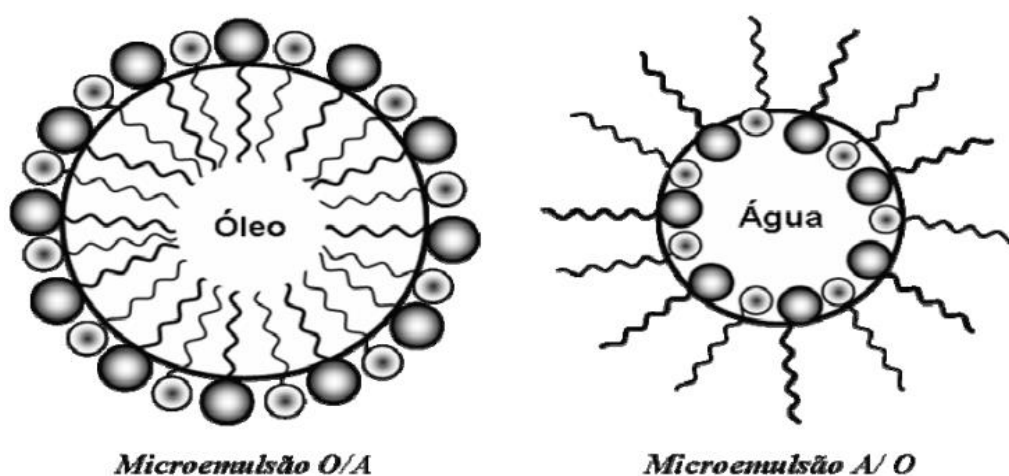


Figura 5: Representação esquemática de microemulsão O/A e A/O¹⁰³.

A estrutura de um tensoativo pode ser expressa como R-X, onde R é a cadeia de hidrocarbonetos que varia entre 8 até 18 átomos de carbono e X é o grupo cabeça (polar ou iônico). Dependendo da natureza de X, os tensoativos podem ser classificados como não-iônicos, catiônicos, aniônicos ou anfóteros^{56,96,107,108}.

A função de um surfactante é de neutralizar o efeito repulsivo na área interfacial e permitindo a formação de uma membrana entre a micela e a fase contínua (Figura 5), impedindo um aumento na viscosidade, já o co-surfactante auxilia na solubilidade entre as fases aquosa e oleosa.

Muitos trabalhos têm relatado as vantagens deste tipo de sistemas, principalmente pela a estabilidade do analito na solução, pois como permite a presença de ácidos inorgânicos na solução que proporciona para os elementos traço certa

estabilidade evitando a adsorção dos mesmos nas paredes dos frascos e recipientes em que são preparados e armazenados^{60,63-65,73,76,93,102}.

Além disso, apresenta outras vantagens como o uso de padrões inorgânicos na calibração tornando-a mais simples e eficaz, não necessita o uso de solvente carcinogênico como no método por diluição, viscosidade entre o padrão e a amostra são semelhantes, apresenta uma viscosidade adequada para a introdução de amostras em instrumentos analíticos como F AAS, F AES, ICP OES e outros^{60,63-65,73,76,93,102}.

A aplicação deste sistema tem sido crescente e vasta para diversos tipos de matrizes e áreas afins como a indústria farmacêutica, cosméticos, alimentos, têxtil, extração de petróleo, extração de metais nobres em minérios, óleos lubrificantes, efluentes e etc. As técnicas analíticas que mais tem feito uso deste método são as espectroscópicas como F AAS, F AES, GF AAS e ICP OES^{60,63-65,73,76,93,102}.

Na figura 6, é apresentado à diferença visual entre as amostras, e apesar de todas elas serem sistemas heterogêneos, as amostras A, B e C são misturas de líquidos imiscíveis e na amostra D, é representado uma emulsão que apresenta um aspecto turvo e leitoso e aparentemente homogêneo e por fim a amostra E, demonstra uma microemulsão que como relatado anteriormente apresenta um aspecto homogêneo, transparente, límpido e estável e muitas vezes é confundida com uma simples solução que só é permitido definir a diferença entre elas através do tamanho da partícula¹¹⁰.

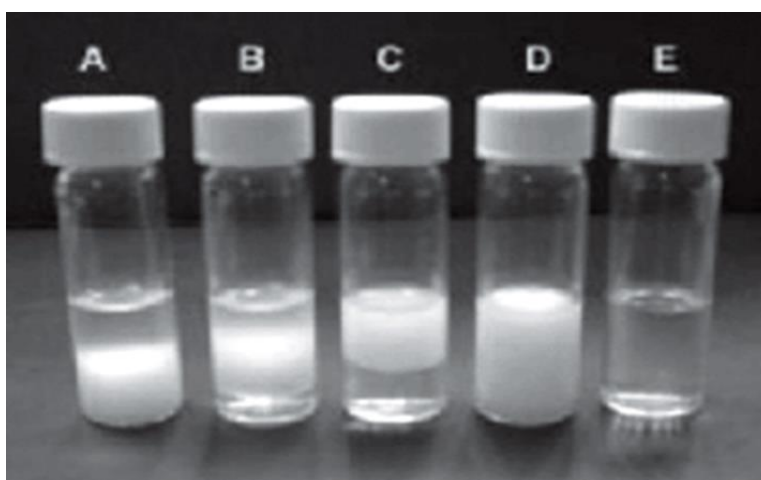


Figura 6: Representação de sistemas: A, B e C: misturas heterogêneas, D: emulsão e E: microemulsão¹¹⁰.

Conforme esses aspectos, a microemulsão apresenta características que a tornam vantajosa e atrativa como meio de preparo de amostra para a determinação de metais, como a possibilidade de usar ácido, o que permite maior liberdade e estabilidade dos analito no meio, o uso de padrões inorgânicos para calibração, que resulta em menor custo e maior validade frente aos padrões orgânicos, a utilização de solvente orgânico não carcinogênico e maior estabilidade entre as medidas^{103,107,108,110}.

Devido essas características, a microemulsão vem ganhando um crescente destaque em pesquisas e desenvolvimento de métodos analíticos com inúmeras aplicações como petróleo, combustíveis, óleos e biocombustíveis.

Jesus *et al*⁶⁰, definiram um método para determinar Na e K em biodiesel e óleo vegetal por F AAS fazendo o uso de microemulsão. A amostra foi preparada através da formação de uma microemulsão água em óleo, acrescida de Triton X-100 como surfactante e avolumada com butan-1-ol. Os autores declararam que as soluções padrão preparadas através do método de diluição de xileno na presença de óleo mineral base com padrões organometálicos, como recomenda algumas normas, não são estáveis. Eles realizaram um estudo de estabilidade do analito, em soluções de xileno e em microemulsão, durante 3 dias, e perceberam que havia perda de analito logo nas primeiras horas após o preparo para o método por diluição e para a microemulsão houve um tempo de estabilidade maior em torno de 2 dias. A precisão do método foi avaliada pela comparação dos dois métodos e foi aplicado um teste “t” pareado que não apresentou diferença significativa entre os resultados.

Em outro trabalho, os mesmos autores determinaram Ca e Mg em biodiesel e óleos vegetais utilizando um sistema semelhante de microemulsão. As amostras foram preparadas utilizando um sistema de água em óleo, através de uma massa considerável de amostra misturada com $1,4 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$, Triton X-100 e o volume completado com butan-1-ol e pentan-1-ol. Eles observaram uma estabilidade da microemulsão por até 5 dias e a calibração foi realizada com padrões inorgânicos em sistemas emulsificados com óleo base para simular a matriz. A exatidão do método foi avaliada através de teste de recuperação e por comparação com os resultados obtidos pelo método recomendado pela norma brasileira NBR 15556:2008⁷⁸ que apresentou concordância entre os resultados⁶⁵.

Chaves e colaboradores⁸ também desenvolveram um método usando microemulsão para determinar Na e K em biodiesel por F AES. O método baseia-se na mistura de aproximadamente 0,5 g de biodiesel, 0,4 mL de uma solução de 5% de m/v

de HCl e volume completado com n-propanol e não foi necessário o uso de um surfactante. A calibração foi preparada através de soluções padrão com óleo base e padrões inorgânicos e obtendo sinais analíticos estáveis por 250 min e a exatidão do método foi aferida através de recuperação e comparação de resultados com os obtidos por ICP OES. Os resultados encontrados foram considerados satisfatórios com LDs de $0,08 \mu\text{g g}^{-1}$ para Na e $0,09 \mu\text{g g}^{-1}$ para K.

Outro estudo interessante foi à determinação de Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti e Zn em amostras de biodiesel por ICP-MS usando microemulsão proposto por Amais *et al*¹¹¹. A mistura foi formada através de biodiesel, Triton X-100, HNO₃ 20% (v/v) e n-propanol e na sequência agitação manual. Foi definida uma mistura de gases argônio e oxigênio que foi otimizada para amenizar o alto conteúdo de carbono presente no sistema microemulsionado. A calibração foi realizada com padrões inorgânicos e óleo mineral para simular a matriz.

Silva *et al*¹¹², usaram microemulsão em amostras de biodiesel por GF AAS para determinar Cd, Pb e Tl para avaliar diferentes técnicas de calibração e modificadores. A microemulsão foi preparada através de 2,0 g de amostra, 1 mL de solução de HNO₃ 10% (v/v) e n-propanol. Realizou-se um estudo de calibração, a primeira foi realizada com padrões aquosos que não evitou as interferências não espectrais e depois foi realizado uma calibração com simulação de matriz e obteve-se resultados aceitáveis.

Lobo *et al.*⁵⁸, realizaram um estudo comparando dois métodos de preparo de amostra, entre a microemulsão e a decomposição ácida para determinar Cu, Pb, Ni e Cd em biodiesel por GF AAS. A microemulsão foi composta por biodiesel, tensoativo (Triton X-100), HNO₃ 1 % (v/v) e no segundo método as amostras foram digeridas com HNO₃ concentrado, H₂O₂ e V₂O₅ como catalisador; posteriormente a amostra foi deixada em repouso por 24 horas e após passou por um sistema de micro-ondas. Os resultados obtidos foram comparados e os resultados foram compatíveis para Cu e Pb.

Lyra *et al*⁶³, determinaram Na, K, Ca e Mg usando microemulsão em biodiesel por F AAS. A microemulsão foi composta por biodiesel, HNO₃ concentrado, n-propanol e uma solução contendo supressor iônico. Foi realizada calibração com padrões organometálicos em microemulsão e realizado um estudo de estabilidade dos analito, que apresentaram resposta estável por um período 15 dias e a exatidão do método foi avaliada comparando os resultados com o método da norma brasileira NBR 15556:2008⁷⁸.

2.4. DETERMINAÇÃO DE METAIS EM BIODIESEL

Atualmente, os metais de maior interesse em monitoramento e controle de qualidade são Na, K, Ca e Mg por causa da exigência de normas brasileiras, americanas e europeias, de controle para esses metais.

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) adota as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e do Comitée Européen de Normalisation (CEN) que recomenda técnicas espectroscópicas para a determinação de Na, K, Ca, Mg e P em biodiesel.

As concentrações de Ca, Na, Mg, K e P são determinadas segundo a norma NBR 15553⁹⁴ que recomenda o uso de ICP OES e pela norma NBR 15556⁷⁸ que recomenda o uso da AAS. Na e K são determinados pela normas NBR 15554⁹⁹ e 15555¹⁰⁰ por F AAS. Já a União Europeia (EN) através da norma EN 14107⁹⁴ recomenda a determinação de P e a EN 14538⁷⁷ determina Ca, Na, K e Mg em biodiesel por ICP OES. As normas EN 14108⁹⁷ e EN 14109⁹⁸ utiliza a AAS para a determinação de Na e K em biodiesel.

Tanto as normas europeias como as brasileiras utilizam a diluição em xileno como preparo de amostra, com exceção de uma norma europeia que recomenda o uso de querosene, mas todas as normas adotaram o uso de padrões organometálicos para calibração.

Devido à recomendação dessas normas, a espectrometria atômica tem conquistado espaço dentro das técnicas analíticas para garantir a qualidade do biodiesel, portanto especificamente a F AAS e a F AES tem se destacado em inúmeras publicações por serem simples e baixo custo.

Lepri *et al.*⁵⁶ realizaram uma revisão bibliográfica a respeito de trabalhos baseados na determinação de elementos traço em biodiesel e óleos vegetais com o uso de técnicas espectrométricas como AAS, ICP OES e ICP-MS. Neste estudo são citadas as dificuldades encontradas no preparo das amostras e a procura de um método adequado para a introdução, calibração e determinação de metais e quais as estratégias mais utilizadas e as últimas tendências de métodos que são mais aplicadas.

Nowka e colaboradores fizeram o uso da diluição com querosene por F AES para determinar K e Na em biodiesel com aplicação de um fluxo em atmosfera oxidante e observaram a eliminação do sinal de fundo para os sinais analíticos para K,

eliminando os interferentes. O trabalho chamou maior atenção ao tempo relativamente curto desde a preparação das amostras até as medidas em torno de 15 minutos e comparou o tempo se estivesse usado ICP OES e concluiu que seria muito maior devido o tempo necessário para a estabilização do plasma⁸⁹.

Outro trabalho onde foi utilizada ICP OES para determinar também K, Na, Ca e Mg em amostras de biodiesel através da diluição com solvente orgânico, neste caso foi adotado o querosene, foi Edlund *et al*¹⁰¹. Os autores usaram uma proporção de oxigênio-argônio para o plasma que permitiu medir concentração na ordem de $\mu\text{g kg}^{-1}$ para os metais Na e K, pois houve uma estabilização e redução de resíduos de carbono, e isto foi refletido na diminuição do sinal de fundo, pois se evitou a formação de compostos de carbono. Já para Ca e Mg não foi exigida nenhuma condição especial.

A determinação direta de 29 elementos em amostras de biodiesel por ICP-MS diluídas em solvente orgânico por meio de uma de reação e o uso do sistema octopolo (ORS) foi realizado por Woods e Fryer⁶¹. As amostras foram preparadas através da diluição com querosene e a calibração foi realizada com padrões organometálicos e o uso de padrão interno. Os LDs obtidos foram na ordem de $\mu\text{g kg}^{-1}$ para quase todos os analitos e mg kg^{-1} somente para o S. Este sistema octopolo foi eficaz na remoção de interferências espectrais.

Santos *et al.*⁶² fez uso do etanol para diluir as amostras de biodiesel para determinar P, Ca, MG, K e Na por ICP OES e utilizou padrões aquosos para a calibração, a técnica necessitou de fluxo oxigênio para a redução do sinal de fundo causado pelo excesso de carbono presente no ambiente do plasma e de ítrio como padrão interno e o método foi verificado por meio de teste de recuperação entre 82 a 114% para todos os metais.

A determinação de Fe, Co, Cu, Mn, Ni e V em diesel e biodiesel por ETV-ICP-MS usando emulsão como preparo da amostra foi definida por Chaves *et al*⁶⁶. As amostras emulsificadas foram preparadas através da mistura de aproximadamente 1,0 g de diesel ou biodiesel e adicionado 2,0 mL de 5% de Triton X-100 (m/v) e 0,5 mL de HNO_3 concentrado. As determinações foram feitas com padrões inorgânicos para a calibração e o uso de padrão interno. Os resultados encontrados para os LDs foram de 0,5; 1,5; 3; 0,3; 0,5 e 1 ng g^{-1} para Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V, respectivamente e a exatidão do método foi avaliada por análise de óleo combustível residual de referência NIST 1634-c, e comparação dos resultados com aqueles obtidos por GF AAS e também por teste de recuperação.

Os mesmos autores também propuseram um método para determinar Na e K em amostras de biodiesel por F AES através da microemulsão. Foram usados nas calibrações padrões inorgânicos, as microemulsões foram preparadas por meio da mistura de biodiesel, propano-1-ol e água acidificada e não foi necessária a presença de um surfactante. Foi realizada uma comparação entre a introdução discreta de amostra com a aspiração contínua e ambas mostraram LDs similares na ordem de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$, tanto para K como para Na, e a estabilidade dos analitos em torno de pelo menos 250 minutos. A exatidão do método foi estimada por testes de recuperação que foram obtidos entre 83 e 120% e também por comparação dos resultados obtidos com ICP OES⁸.

Outro trabalho que fez o uso da microemulsão como preparo de amostra em biodiesel e óleos vegetais foi Jesus *et al.*^{60,65}, que determinaram Na, K Ca e Mg por F AAS. As microemulsões foram preparadas com a presença de surfactante, e foram usados padrões aquosos microemulsionados para calibração. Os LDs obtidos foram $0,1$ e $0,06 \mu\text{g g}^{-1}$ para Na e K e $0,04$ e $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ para Ca e Mg respectivamente. Para averiguar a exatidão do método, a determinação dos analitos foi feita também de acordo com as Normas Europeias EN 14108⁹⁷ (Na), EN 14109⁹⁸ (K) e NBR 15556⁷⁸ (Ca e Mg), além de testes de recuperação.

A F AES também foi utilizada por Oliveira *et al.*⁹⁰, sugeriram um método para a determinação de Na em amostras de biodiesel por F AES usando o sistema de tratamento por decomposição seca da amostra. Para esta preparação foi pesada em torno de $0,5 \text{ g}$ e após, aquecida numa de temperatura de 250°C por uma hora em mufla e na sequência a temperatura foi aumentada para 600°C por mais 4 horas. Os resíduos foram dissolvidos em HNO_3 1% (v/v) até um volume final de 100 mL . O LD obtido foi de $1,3 \mu\text{g g}^{-1}$ e a exatidão do método foi averiguada por testes de recuperação e os resultados foram semelhantes.

Lobo *et al.*⁵⁸ realizaram a determinação de Cu, Pb, Ni e Cd através de comparação de métodos univariados e multivariados na otimização de condições experimentais por GF AAS em amostras de biodiesel. Eles usaram dois procedimentos de preparo da amostra: a microemulsão e decomposição ácida seguida em forno micro-ondas. No primeiro método, as amostras foram preparadas através da mistura do óleo, HNO_3 1% (v/v) e na presença de um tensoativo e a decomposição ácida em micro-ondas foi realizada com HNO_3 concentrado, H_2O_2 e V_2O_5 como catalisador. Os modificadores químicos usados foram Pd + Mg e W e os resultados achados para Cu e Pb apontaram

que as variáveis de preparo da amostra para a decomposição ácida foram muito importante para ambos os analitos.

Os mesmos pesquisadores publicaram um ano depois outro trabalho, onde se sugere um método para determinar Ni e Cd em de biodiesel por GF AAS usando microemulsão no tratamento das amostras. O modificador químico permanente definido foi o W e as microemulsões foram feitas por uma mistura por volta de 0,5 g de óleo e adição de 5,0 g de surfactante (Triton X-100) e completado com HNO₃ 1% (v/v) até completar o volume. Os resultados obtidos para os LDs para Ni e Cd foram de aproximadamente 0,9 e 0,1 µg L⁻¹, respectivamente e a exatidão foi verificada por testes de recuperação. Esse método apresentou como vantagens a rápida e fácil preparação das amostras e o uso de padrões aquosos para a calibração das mesmas¹¹⁴.

Lyra *et al.*⁶³, definiram uma estratégia para a determinação de Na, K, Ca e Mg através do uso da microemulsão biodiesel por F AAS. A microemulsão foi obtida pela mistura de biodiesel, HNO₃, uma solução supressora de ionização, n-propanol e não foi necessária a presença de um tensoativo. As curvas de calibração foram realizadas com soluções de padrões organometálicos e os limites de detecção obtidos para Na, K, Ca e Mg, foram de 0,1; 0,01; 0,04 e 0,004 µg g⁻¹, respectivamente. A exatidão do método foi avaliada através da comparação dos resultados obtidos pela norma NBR 15556⁷⁸ e por testes de recuperação.

Amais e colaboradores¹¹¹ apresentaram uma estratégia analítica para a determinação de Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti e Zn em amostras de biodiesel por ICP-MS através da microemulsão. A amostra foi preparada por volta de aproximadamente 0,25 mL de Triton X-100 como surfactante, 0,25 mL de HNO₃ 20% v/v, 0,50 mL de óleo e de n-propanol até completar um volume final de 5 mL. A calibração foi realizada através de óleo base para simular a matriz do biodiesel e tratadas com o mesmo procedimento descrito acima. Para reparar alguns efeitos de matriz causados pelos produtos formados pela presença de carbono foi necessário o uso de uma proporção de oxigênio e argônio no plasma. Os resultados obtidos de LDs foram à ordem de µg L⁻¹ para todos os analito e a acura cidade do método foi confirmada por testes de recuperação.

Silva e colaboradores¹¹² sugeriram um método usando GF AAS para determinar Cd, Pb e Tl em biodiesel usando microemulsão como preparação da amostra. Foi avaliado diferentes técnicas de calibração e de modificadores químicos como relatados na seção 2.2.2. As amostras foram realizadas por meio e uma pela mistura de 0, 2 g de

amostra, 1 mL de solução aquosa acidificada com 10% de HNO₃ (v/v) e n-propanol até completar o volume final. O modificador químico permanente à base de Pa foi usado para os metais Cd, Tl e Rutênio para o Pb. Foi relatado no trabalho que a calibração aquosa realizada não conseguiu corrigir interferências não espectrais, porém a calibração com simulação de matriz no caso óleo base produziu resultados mais precisos. Os LDs encontrados para Cd, Pb e Tl foram de 0,5; 6 e 1 ng g⁻¹, respectivamente. Os resultados obtidos tanto a calibração por adição de analito e por simulação de matriz foram condesscentes e a exatidão do método e padrões organometálicos não foram necessários.

Ghisi *et al.*¹¹⁴, apresentaram um método simples para determinar Cu e Fe em biodiesel por ET AAS usando um pré-tratamento de amostra com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH). O método procede em uma alíquota da amostra juntamente com o TMAH e aquecidos por 5 minutos em uma temperatura de 90°C e a calibração do método foi realizado com padrões aquosos e TMAH adicionados. Os LDs encontrados foram de menores que 15 ng g⁻¹ e 24 ng g⁻¹, para Cu e Fe respectivamente. A exatidão do método foi apurada através de testes de recuperação que ficaram em torno de 105 – 120% e a precisão adquirida foram menores que 3% para Cu e de 7% para Fe.

Outras técnicas analíticas também são citadas na literatura para a determinação de elementos traço em biodiesel. Rapta *et al.*¹¹⁵, apresentaram um método descrito através de um eletrodo de íon seletivo para a determinação de K. Os pesquisadores desenvolveram um processo baseada em células com dois compartimentos e separados por uma membrana semipermeável de celofane, que apenas consente a passagem de íons K⁺ da amostra para outro compartimento com água. O procedimento visa monitorar a eficiência dos estágios de purificação do biodiesel por meio do K residual provindo do catalisador. A calibração do método foi realizada usando amostras de biodiesel padrão com concentrações de K conhecidas anteriormente. Os resultados encontrados foram similares conforme os obtidos pela EN 14109⁹⁸.

Castilho e Stradiotto¹¹⁶ propuseram a determinação de íons K em biodiesel usando um eletrodo modificado de hexacianoferrato de Ni (II) por potenciometria. Neste método, foi necessária uma pré-etaapa de extração líquido-líquido com ácido clorídrico para retirar o K do óleo. O eletrodo modificado mostrou uma linearidade na faixa de concentração de 0,0004 a 0,01 mol L⁻¹, com LD de aproximadamente 0,00019 mol L⁻¹. O método proposto foi comparado com fotometria de chama e a concentração de K encontrada no biodiesel mostrou que o método do eletrodo modificado apresentou

resultados similares àqueles obtidos por fotometria de chama. Os pesquisadores relataram que o método apresentou uma seletividade aceitável, devido à presença do eletrodo modificado.

A voltametria foi uma técnica usada por Martiniano *et al*¹¹⁷, que apresentou um método procedimento usando a voltametria de redissolução anódica juntamente com um eletrodo de carbono vítreo com a presença de uma espécie de filme de mercúrio que foi previamente preparado *in situ* para determinação de Pb^{+2} através de microemulsão em gasolina e determinação simultânea *in situ* de Pb^{+2} e Cu^{+2} por microemulsão em biodiesel. Foi obtido LD de $2,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ para Pb^{+2} e na presença do filme foram determinadas concentrações de Pb^{+2} na faixa de $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ em microemulsões de gasolina. O LD para Pb^{+2} foi de $3,7 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e de $4,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para Cu^{+2} e as concentrações encontradas de Pb^{+2} e Cu^{+2} foram na faixa de 10^{-7} e $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente, quando se usa o eletrodo de filme de mercúrio *in situ* em microemulsões tanto de gasolina como para o biodiesel. A voltametria foi adotada por apresentar baixo custo, alta sensibilidade e seletividade.

Frazão e colaboradores¹¹⁸ também utilizaram a voltametria de redissolução anódica para desenvolver um método de determinação simultânea de Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+} em biodiesel. As amostras preparadas através da diluição de uma mistura de $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ ácido acético e metanol. Foram escolhidos os modos pulso diferencial e onda quadrada, usando eletrodos de filme de mercúrio, preparados no modo *ex-situ* e *in-situ*. Os resultados encontrados mostraram que esta técnica no modo onda quadrada apresentou resultados com maior sensibilidade do que os resultados obtidos no modo de pulso diferencial. Os limites de detecção foram de $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ nas análises no modo de pulso diferencial e de $10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ para o modo onda quadrada. O Cd^{2+} não foi detectado em nenhuma das amostras determinadas. E foi realizado teste de recuperação para averiguar a exatidão do procedimento.

Nos últimos anos, mais especificamente de 2008 para os dias atuais obteve-se um crescente aumento no número de publicações na área de determinação de metais em biodiesel, o que significa dizer que há uma preocupação em controlar a quantidade dessas espécies para garantir a qualidade do biodiesel, assim como o bom desempenho dos veículos automotores e manter a qualidade do ar atmosférico.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Para a realização deste trabalho, as medidas foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica com chama (F AAS) modelo AAS 6 Vario (Analytik Jena AG, Jena, Alemanha). O equipamento foi conectado a um computador com o programa “WINAAS”, em ambiente operacional Windows®.

Foi utilizada como fonte de radiação primária para as medidas dos sinais analíticos, lâmpadas de cátodo oco para Fe, Cu e Zn (Photon, Austrália) operando em corrente específica para cada elemento, conforme instrução do fabricante. Também foram selecionadas as linhas de ressonância primárias para cada elemento de interesse e as fendas espectrais de acordo com o manual do equipamento.

Os parâmetros instrumentais utilizados estão apresentados na tabela I.

Tabela I. Parâmetros instrumentais utilizados para a determinação de Fe, Cu e Zn por F AAS.

Analito	Comprimento de onda (nm)	Corrente da lâmpada (mA)	Fenda espectral (nm)
Ferro	248,3	6,0	0,2
Cobre	324,8	3,0	0,8
Zinco	213,9	4,0	0,2

Os gases utilizados foram o gás acetileno para absorção atômica (White Martins, Brasil) como gás combustível e ar comprimido de um compressor de ar modelo FIAC CDS 8/50 (Araraquara, São Paulo, Brasil) como gás oxidante, cuja às vazões estão descritas na tabela II abaixo.

Tabela II. Vazões dos gases utilizados no equipamento.

Analito	Microemulsão		Diluição em Xileno		Decomposição ácida	
	C ₂ H ₂ (L h ⁻¹)	ar (L h ⁻¹)	C ₂ H ₂ (L h ⁻¹)	ar (L h ⁻¹)	C ₂ H ₂ (L h ⁻¹)	ar (L h ⁻¹)
Ferro	45	680	55	680	60	620
Cobre	45	550	45	550	55	640
Zinco	45	638	55	638	65	640

*C₂H₂: gás acetileno, ar: ar comprimido.

Para as determinações de Fe, Cu e Zn através do método de diluição com solvente orgânico (DX), método proposto utilizando microemulsão (ME) e decomposição ácida (DA), foram realizados estudos de otimização para os seguintes parâmetros instrumentais: razão de gás combustível/oxidante (C₂H₂/ar), altura do queimador e estudo da taxa de aspiração que estão descritos na tabela III.

Tabela III. Valores otimizados da razão do gás combustível/gás oxidante e da taxa de aspiração para Fe, Cu e Zn em cada método.

Analito	Razão			Taxa de aspiração			Altura do queimador		
	C ₂ H ₂ /ar			(mL min ⁻¹)			(mm)		
	DX ^a	ME ^b	DA ^c	DX	ME	DA	DX	ME	DA
Ferro	0,066	0,081	0,096	2,7	3,0	3,1	6	6	6
Cobre	0,082	0,082	0,085	2,8	3,0	3,2	7	7	7
Zinco	0,086	0,070	0,078	2,6	3,0	3,2	7	7	7

^a: DX: Diluição com xileno. ^b: ME: microemulsão. ^c: DA: decomposição ácida.

Toda a vez que ocorria a troca do meio (ME ou DX) era realizada a limpeza da câmara de nebulização e do sistema de drenagem do equipamento (sifão) para melhorar o funcionamento da câmara de nebulização e diminuir algum fator de erro nas medições.

Para a realização da decomposição das amostras de biodiesel foi usado um aparelho digestor através do método *Rapid Digestion System*, Bloco Digestor (Marconi, Piracicaba, Brasil), juntamente com 12 tubos de vidro de borossilicato. Todos os tubos passaram por um procedimento de limpeza e descontaminação conforme descrito anteriormente, para garantir que não ocorra a contaminação de espécies metálicas nas amostras e reagentes inseridos no processo de mineralização.

Para a realização de todas as pesagens das amostras de biodiesel foi utilizada uma balança analítica Europe (Gibertini, Itália), com precisão de 0,0001 g.

Na determinação das viscosidades das amostras envolvidas neste trabalho foi utilizado um viscosímetro de Ostwald, um banho termoestabilizado e um cronômetro para anotar o período de escoamento dos líquidos.

Também foram usadas micropipetas automáticas (Eppendorf Research, EUA), de vários volumes (fixos e variáveis) e tubos Falcon descartáveis de polietileno (Corning, EUA).

3.2 REAGENTES, SOLUÇÕES E AMOSTRAS

Todas as soluções analíticas, amostras e padrões foram preparados com água purificada através do sistema *Milli-Q* (Millipore, Bedford, MA, USA) com resistividade específica 18,2 M Ω cm a 25 °C, acoplado a um destilador de água de vidro (Fisatom, Brasil) e com reagente de grau analítico.

O HNO₃ (65% v/v Synth, Diadema-SP, Brasil) foi utilizado após o processo de purificação por destilação abaixo do ponto de ebulição (sub-boiling), através de um destilador de quartzo (Kürner Analysentechnik, Rosenheim, Alemanha), propan-1-ol com grau de pureza analítico (P.A.) (Merck, Darmstadt, Alemanha), óleo mineral base (High Purity Standards, EUA) e ácido oleico P.A. (Synth, Diadema-SP, Brasil) e xileno (FMAia, Cotia-SP, Brasil).

O óleo mineral base foi utilizado no método por diluição com solvente orgânico, usando xileno e o ácido oleico foi utilizado no método proposto por microemulsão, para simular a matriz do biodiesel na preparação dos padrões para a construção da curva analítica. Também foi empregado no método por decomposição ácida, o uso de soluções de padrão aquosas na aferição.

Foi preparada uma solução padrão aquosa de 100 mg L⁻¹ de Fe, Cu e Zn a partir de soluções padrão estoque de 1000 mg L⁻¹, ultrapuros (Specsol, Quimlab, Jacareí-SP, Brasil) e após se acidificou com HNO₃ 1% (0,014 mol L⁻¹).

Foram preparadas no mesmo dia das medidas os padrões orgânicos em óleo de mineral de 100 mg L⁻¹ de Fe, Cu e Zn, a partir de soluções padrão estoque de 1000 mg L⁻¹, que consiste de uma solução do metal referido em óleo mineral (Specsol, Quimlab, Jacareí-SP, Brasil). Estas soluções não puderam ser armazenadas para uso posterior, devido à baixa estabilidade dos analitos na solução.

Para os estudos da formação da microemulsão foi usado como surfactante o Triton X-100 (Acros, New Jersey, EUA) e os solventes orgânicos propan-1-ol e butan-1-ol (Merck, Darmstadt, Alemanha).

No preparo da amostra via decomposição ácida, além do HNO₃ descrito anteriormente, utilizou-se peróxido de hidrogênio, H₂O₂ (29-32%, Synth, Diadema-SP, Brasil) que foi utilizado para ajudar na completa mineralização das amostras.

As amostras de biodiesel utilizadas, foram obtidas de diferentes fontes e provenientes de óleo vegetal ou de fritura. A maior parte das amostras foram fornecidas pelo Centro de Combustíveis (CECOM) da Universidade Federal do Rio Grande Do Sul (UFRGS), Centro de tecnologia e pesquisa (TECNOPUC) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) e algumas cedidas de pequenos laboratórios de pesquisa da própria universidade.

Conforme informações dos fornecedores do biodiesel, todas as amostras foram obtidas através do processo da reação de transesterificação, preparadas por rota metílica ou etílica e utilizados catalisadores básicos. Todas as amostras são do tipo B100 (100% biodiesel) e infelizmente não foram fornecidas informações adicionais.

As características, o óleo de origem das amostras e suas respectivas denominações estão demonstradas na Tabela IV.

Tabela IV: Descrição das amostras de biodiesel.

Amostra	Origem	Rota
BS1, BS2	Soja	etílica
P1, P2	Soja	etílica
BD1	Soja/comercial	etílica
BDA, BSA	Soja	etílica
ASE1, ASE2, ASE3	Soja	etílica
E1, E2, E3	Soja	etílica
FR01, FR02, FR03, FR04	Fritura/soja	etílica
BSC	Canola	metílica
GZE	não disponível	metílica

Para garantir que toda a vidraria, frascos de armazenamento e demais materiais necessários à realização dos experimentos estivessem limpos e isento de contaminações que pudessem futuramente interferir na leitura das medidas foi utilizado um procedimento de limpeza conforme descrito a seguir.

Todos os materiais foram previamente lavados com detergente *Extran*[®] e enxaguados com água destilada e colocados em banho de ácido nítrico 3 mol L⁻¹ por um período mínimo de 24 horas para a descontaminação e retirada das impurezas.

Posteriormente foram enxaguados com água purificada no mínimo três vezes para garantir a retirada do ácido residual e assim postos para secagem. Após a realização de todo o procedimento, as vidrarias e os materiais foram armazenados em local fechado^{119,120}.

Todas as soluções foram armazenadas em frascos de vidro ou plástico descontaminados e sob refrigeração.

3.3 PROCEDIMENTOS

Primeiramente, foram realizados alguns testes preliminares de preparo das amostras para formação das microemulsões, onde foram testados diferentes tipos de solventes orgânicos. A seguir se estudou a quantidade de reagentes no meio até a formação de um sistema estável e homogêneo.

Já o método onde as amostras foram diluídas em solvente orgânico apenas seguiu os procedimentos da norma brasileira⁷⁸. Para as amostras por decomposição ácida com aquecimento térmico foram investigadas diferentes quantidades de reagentes e temperatura.

E por fim foi necessário determinar as viscosidades das amostras e padrões para a realização de um estudo comparativo e avaliar a viabilidade do uso do ácido oleico no preparo dos padrões frente ao óleo mineral, que é utilizado nos padrões do método da norma ABNT NBR 15556⁷⁸, além da comparação das viscosidades amostra x padrão.

3.3.1 Preparo das microemulsões

A microemulsão desenvolvida neste trabalho foi baseada nos trabalhos de *Meeravali e Kumar*¹²¹ e de *Villafranca*¹²². Houve a preocupação em se preparar um sistema estável através de um processo rápido, prático e que não exigisse inúmeras etapas.

Para o preparo das microemulsões, a amostra de biodiesel foi inicialmente pesada diretamente no frasco de preparo e na sequência misturada com água acidificada ($0,014 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3) e avolumado com propan-1-ol e em seguida, agitada mecanicamente (manual) por alguns segundos até a formação de uma solução límpida, transparente e estável. Este procedimento foi realizado em temperatura controlada do próprio laboratório em torno de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Através das diferentes proporções dos reagentes misturados, foi construído um diagrama de fases pseudo-ternário, que será apresentado posteriormente. A composição adotada para o preparo da microemulsão foi de aproximadamente 1,7 g de biodiesel acrescida de 1,1 mL de água/ HNO_3 e completado o volume com propan-1-ol para uma quantidade suficiente para 10 mL. Essas microemulsões foram preparadas em tubos Falcon de polipropileno (Corning, EUA) de 15 mL.

Para a construção da curva de analítica foram preparadas microemulsões da mesma maneira que as amostras, utilizando ácido oleico para simular a matriz do biodiesel nas soluções padrão da curva analítica.

Portanto, as soluções padrão foram preparadas a partir da solução padrão estoque de ferro, cobre e zinco de 100 mg L^{-1} , das quais foram transferidas alíquotas para a fase aquosa, resultando nas seguintes faixas de concentração: 0,0-7,0 mg L^{-1} para ferro, 0,0-6,0 mg L^{-1} para cobre e de 0,0-0,7 mg L^{-1} para zinco.

3.3.2 Preparo das amostras e padrões orgânicos baseado na norma ABNT NBR 15556⁷⁸

Para avaliação do sistema proposto, foi utilizado o método baseado na norma brasileira ABNT NBR 15556⁷⁸, para determinar Na, K, Ca e Mg em amostras de biodiesel. O método consiste em diluir aproximadamente 1,0 g de biodiesel em solvente orgânico (xileno ou cicloexano) para um volume final de 10 mL e a quantificação é realizada pela técnica por F AAS⁷⁸.

Esse método foi adaptado para a determinação de Fe, Cu e Zn em amostras de biodiesel, sendo que esses metais ainda não possuem uma portaria regulamentadora que limita as suas concentrações, portanto, também não há uma especificação para a determinação dos mesmos.

As soluções padrão foram utilizadas a partir de um padrão orgânico lipossolúvel de 100 mg L^{-1} de Fe, Cu e Zn dos quais foram pipetadas alíquotas, resultando nas faixas

de concentração de 0,0-7,0 mg L⁻¹ para o Fe, 0,0-6,0 mg L⁻¹ para Cu e de 0,0-0,7 mg L⁻¹ para Zn e adicionado 1,0 g de óleo mineral base para simular a matriz do biodiesel na curva analítica e a seguir o volume foi completado com xileno para quantidade suficiente de 10 mL.

As amostras foram medidas imediatamente após a diluição com xileno, devido à instabilidade dos analitos no meio orgânico, evitando a perda de sinal analítico nas leituras das absorvâncias após o tempo de preparo.

3.3.3 Preparo das amostras por decomposição ácida

As amostras de biodiesel foram decompostas em um sistema aberto, com base em alguns trabalhos, como o procedimento utilizado por Betinelli^{123,124} para fins de comparação dos resultados.

Foram pesados aproximadamente 1,0 g de amostra de biodiesel e colocados em tubos digestores de vidro de borossilicato e a seguir foram aquecidos gradativamente de 20 em 20 °C, permanecendo um tempo 20 min, até atingir uma temperatura final de 120 °C, permanecendo nessa temperatura até um período total de 16 horas em um bloco digestor. O sistema foi preparado dentro de uma capela com exaustão para a eliminação dos gases tóxicos formados na decomposição das amostras. Posteriormente, foi desligado o aquecimento e aguardou-se o resfriamento dos tubos até atingir a temperatura ambiente e se adicionou 2,5 mL de H₂O₂ (30% v/v) e se aqueceu as amostras novamente em uma temperatura de aproximadamente entre 35 e 40 °C por 10 minutos e após desligou-se o sistema de aquecimento e as amostras ficaram em repouso por um período de 6 horas.

A seguir, foram retirados os dedos frios que auxiliam no refluxo do sistema e as amostras foram transferidas para frascos e avolumadas com água purificada até 20 mL e armazenadas.

3.3.4 Determinação das viscosidades cinemáticas

Neste trabalho foram medidas as viscosidades da amostra de biodiesel e do padrão, preparados pelo método das microemulsões e pela diluição em xileno, assim

como o ácido oleico e óleo mineral. Foi utilizado o propano-1-ol e o xileno como líquido padrão no estudo.

Foi utilizado um Viscosímetro de Ostwald, que é um tipo de instrumento largamente empregado para medida de viscosidade, que se trata basicamente de uma coluna de vidro curva em “U” em que um dos braços é um tubo capilar. Esta possui dois bulbos, um em cada lado, sendo que um deles encontra-se acima do tubo, em um dos lados da coluna. Duas marcas permanentes encontram-se antes e depois do bulbo acima do capilar¹²⁵⁻¹²⁷.

No viscosímetro de Ostwald é medido o tempo de escoamento de um líquido contido num bulbo, escoando por um capilar, sob a ação da gravidade. Esta é uma medida relativa da viscosidade, de modo que as dimensões do capilar e volume do bulbo não precisam ser conhecidas¹²⁵⁻¹²⁷.

Neste método é preciso o uso de outro líquido como padrão. A viscosidade desconhecida é calculada pela equação abaixo:

$$\eta_2 = \rho_2 t_2 \eta_1 / \rho_1 t_1 \quad \text{Equação 1}$$

Onde, η é a viscosidade dos líquidos, ρ é a densidade dos líquidos, t é o tempo de escoamento e o número 1 representa o líquido utilizado como padrão (propano-1-ol) e o 2 representa o líquido de estudo¹²⁵.

Este experimento foi realizado em triplicata através das medidas dos tempos de escoamento dos líquidos e determinado à média dos cálculos.

Foram utilizados aproximadamente 10 mL de cada amostra, e colocadas no viscosímetro e imersas em um banho com temperatura de 40 °C.

O líquido foi succionado, com o auxílio de uma seringa, até o bulbo superior do aparelho, e o período de escoamento anotado na passagem do líquido pelas marcas (menisco) superior e inferior do viscosímetro conforme é representado na figura 7 abaixo.

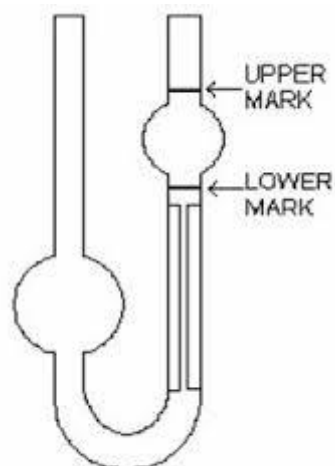


Figura 7: Representação esquemática do viscosímetro de Ostwald¹²⁸.

3.4 TESTES DE RECUPERAÇÃO

A maneira ideal de analisar uma amostra é poder determinar o analito diretamente na mesma, mas muitas vezes essa operação é difícil, pois o estado físico e a forma molecular do analito, bem como os demais componentes da amostra podem interferir na seletividade e na resposta à quantificação¹¹⁹.

Neste trabalho foram realizados testes de recuperação para investigar efeitos da matriz do biodiesel e também como uma maneira de avaliar a exatidão do procedimento apresentado em relação ao método estabelecido pela norma brasileira.

Assim sendo, foram adicionados padrões inorgânicos com concentrações conhecidas nas amostras de biodiesel, durante o preparo das amostras de microemulsão.

As faixas de concentração adicionadas foram: 2,0, 4,0 e 5,0 mg L⁻¹ para ferro, 3,0, 4,0, e 5,0 mg L⁻¹ para cobre e de 0,3 e 0,4 mgL⁻¹ para zinco. Também foram investigados os efeitos de matriz no método por diluição com xileno, onde foram adicionados padrões orgânicos em amostras de biodiesel e o critério de adição do padrão foi o mesmo utilizado para as microemulsões.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O presente capítulo abrange a apresentação, a avaliação e a discussão dos resultados obtidos experimentalmente relativos à determinação de Fe, Cu e Zn em amostras de biodiesel preparadas forma de microemulsão, diluição com xileno e por decomposição ácida.

Na primeira etapa deste trabalho, foram investigados os constituintes e a composição da microemulsão através do estudo dos reagentes e da construção do diagrama de fases pseudoternário com o objetivo de determinar as regiões e as proporções dos componentes da microemulsão água em óleo (A/O).

A próxima etapa foi a investigação e a determinação da viscosidade tanto nas amostras e nos padrões com microemulsão, assim como, para as de diluição em solvente orgânico, através do método: viscosímetro de Oswaldt, com o objetivo de demonstrar a efetividade do ácido oleico como substituinte do óleo mineral nos padrões analíticos.

Uma vez selecionado o melhor solvente orgânico e o melhor sistema, foi investigada a estabilidade da microemulsão formada. Também foi verificada a estabilidade dos analitos através do monitoramento do sinal analítico na amostra microemulsificada e, a seguir foi avaliada a aplicabilidade da microemulsão como método de preparo de amostra para a determinação de Fe, Cu e Zn em amostras de biodiesel.

Na sequência foi realizado um estudo comparativo entre o método fundamentado na norma brasileira ABNT NBR 15556⁷⁸ e o método proposto, a partir da qual serão apresentados os resultados e discutidas as vantagens e a viabilidade da utilização do método sugerido, baseado na formação da microemulsão, para a determinação dos elementos estudados.

Na ausência de um material de referência certificado para os metais citados, ao longo do trabalho foram realizados testes de recuperação para avaliar os efeitos de matriz.

E para avaliar a exatidão do método proposto, além de comparar os resultados obtidos com o procedimento baseado na norma, também se realizou um estudo comparativo, através do método por decomposição ácida.

4.1 FORMAÇÃO DA MICROEMULSÃO

A maior parte das publicações apresentadas na literatura, em relação ao preparo de sistemas de emulsão/microemulsão para combustíveis, utilizam Triton X-100 como surfactante e ácido nítrico para a estabilização do sistema formado^{60,86}.

As microemulsões foram estudadas e adaptadas conforme *Meeravali e Kumar*, 2001¹²¹. Esses autores utilizaram 4,0 mL de amostra de biodiesel, transferido para um balão de 10 mL, onde se acrescentaram 2,0 mL de Triton X -100 e em seguida completou-se o volume com HNO₃ 1,0 % (v/v). Já segundo Villafranca¹²², as microemulsões foram preparadas pesando-se 0,5 g de biodiesel em tubos descartáveis de 50,0 mL, adicionando-se aproximadamente 5 g de Triton X-100 e completado o volume com HNO₃ 1,0 % (v/v), seguida de agitação da mistura usando um agitador magnético, por volta de 20 minutos.

Neste trabalho, foram feitas investigações e realizados vários testes até a descoberta e obtenção de uma solução límpida, transparente, homogênea e estável (microemulsão), a qual foi usada como meio analítico para a determinação de elementos-traço em amostras de biodiesel. Houve uma preocupação em se obter a formação de um sistema imediato, para que esta metodologia proposta fosse rápida e prática, com o objetivo de ser vantajosa e viável frente ao método por diluição com solvente orgânico.

Buscou-se investigar e testar vários tipos de solventes que se adaptassem a metodologia e favorecessem a formação da mistura homogênea como: o propan-1-ol, o propan-2-ol e o butan-1-ol. Também foi estudada a necessidade de adicionar um surfactante (Triton X-100) em proporções variadas, juntamente com a presença de água acidificada com HNO₃ 0,014 mol L⁻¹ e biodiesel. Os resultados obtidos foram avaliados inicialmente através da observação visual e na obtenção de um líquido límpido e homogêneo que estão demonstrados conforme a tabela V.

Conforme os resultados apresentados, se observou que para todos os solventes orgânicos testados ocorreu à formação de um sistema límpido e homogêneo juntamente com a presença de um tensoativo e provavelmente a formação da microemulsão.

Após este estudo, houve a curiosidade de investigar se era necessária a presença de um surfactante no meio analítico, portanto a mistura foi realizada sem a adição de Triton X-100 e os resultados requeridos também estão representados na tabela V.

Tabela V. Estudo do uso do tensoativo Triton X-100 e do solvente orgânico para a formação da microemulsão de biodiesel.

Solvente Orgânico	Solubilidade em água (g/100 g de H ₂ O em 25°C)*	Tipo de Sistema Formado	
		Presença de Tensoativo (Triton X-100)	
		Sim	Não
Propan-1-ol	Infinita	Microemulsão (A)	Microemulsão (D)
Propan-2-ol	Infinita	Microemulsão (B)	Emulsão (E)
Butan-1-ol	8,3	Microemulsão (C)	Emulsão (F)

* Handbook of chemistry and Physics, 91st edition.

Avaliando visualmente as respectivas amostras se observa que nos meios contendo o solvente propan-1-ol não houve a necessidade da presença de um surfactante para a formação da microemulsão, pois a solução se mantinha límpida, transparente e estável (figura 8). Portanto, se resolveu eliminar este constituinte do sistema, favorecendo ainda mais a metodologia proposta e evitando mais uma etapa de preparo e custo de reagente.

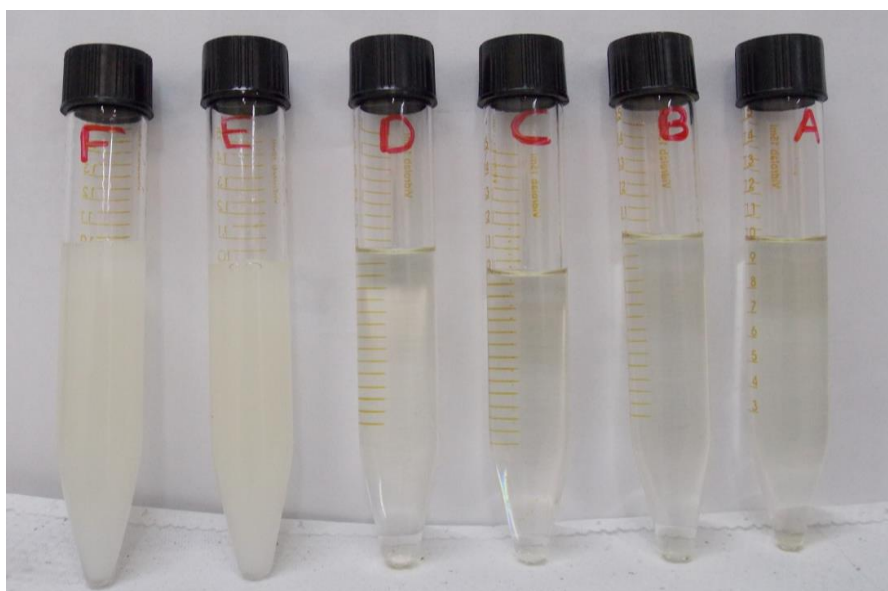


Figura 8: Representação visual das microemulsões e emulsões testadas. A: propano-1-ol, B: propan-2-ol e C: butan-1-ol, todas com tensoativo, D: propan-1-ol, E: propan-2-ol e F: butan-2-ol, todas sem tensoativo.

Conforme a figura 8, nas outras duas amostras contendo o propan-2-ol e o butan-1-ol ocorreu a formação de sistema emulsificado, isto é com aspecto visual de um líquido turvo e leitoso que após poucos minutos de preparo da mistura houve a separação das fases aquosa e orgânica.

Portanto, o propan-1-ol (tubo D) foi o solvente orgânico escolhido devido a sua alta solubilidade em água e por, ao mesmo tempo, atuar como um cotensoativo na microemulsão e proporcionar uma interação significativa na região de interface da solução sem a necessidade de um surfactante, tornando-a estável, homogênea e transparente, possibilitando o uso de padrões inorgânicos.

Desta forma, a composição do sistema escolhido foi: óleo (biodiesel), água/ácido e propan-1-ol, e significa um sistema água em óleo (A/O).

Nesta investigação tentou-se utilizar o máximo de água possível no sistema, devido às soluções padrão utilizadas, serem de origem inorgânica aquosa e solúvel em propan-1-ol, favorecendo a estabilidade com a fase hidrofóbica do sistema, além das soluções finais exibirem uma maior compatibilidade com a instrumentação analítica para a determinação de metais.

Além disso, a presença de água permite o uso de ácido nas amostras e nas soluções de calibração, aumentando a estabilidade dos analitos na solução^{105,107}. Entretanto, não foi possível estabilizar esta fase quando se utilizava a água em maior quantidade, sem que ocorresse a formação de uma emulsão; portanto a opção escolhida foi aumentar o percentual do propan-1-ol e diminuir o percentual de água.

Depois de realizado o estudo e definidos os componentes da microemulsão, houve a necessidade de investigar a proporção ideal de cada constituinte. Para isso foi realizada a construção de um diagrama de fases pseudoternário, assim denominado por possuir na realidade quatro componentes em vez de três, e foi obtido com amostras de biodiesel. O objetivo foi investigar a região de formação da microemulsão entre os componentes (biodiesel, H₂O/HNO₃ e propan-1-ol), conforme apresentado na figura 9.

Os eixos representam os percentuais em massa de cada componente. Cada ponto deste diagrama apresenta a soma total dos percentuais de cada componente igual a 100%. Esse diagrama de fases foi construído mediante a aplicação das seguintes etapas: inicialmente se estabeleceu uma proporção (massa/massa) inicial de biodiesel, água/ácido e propan-1-ol, e a seguir foram realizadas e testadas várias proporções diferentes, variando as proporções de água acidificada e de solvente. A seguir, foram plotados os pontos no interior do diagrama da seguinte maneira: fixa-se a quantidade de

um componente e varia-se a dos outros dois (as variações foram de 5% para cada componente).

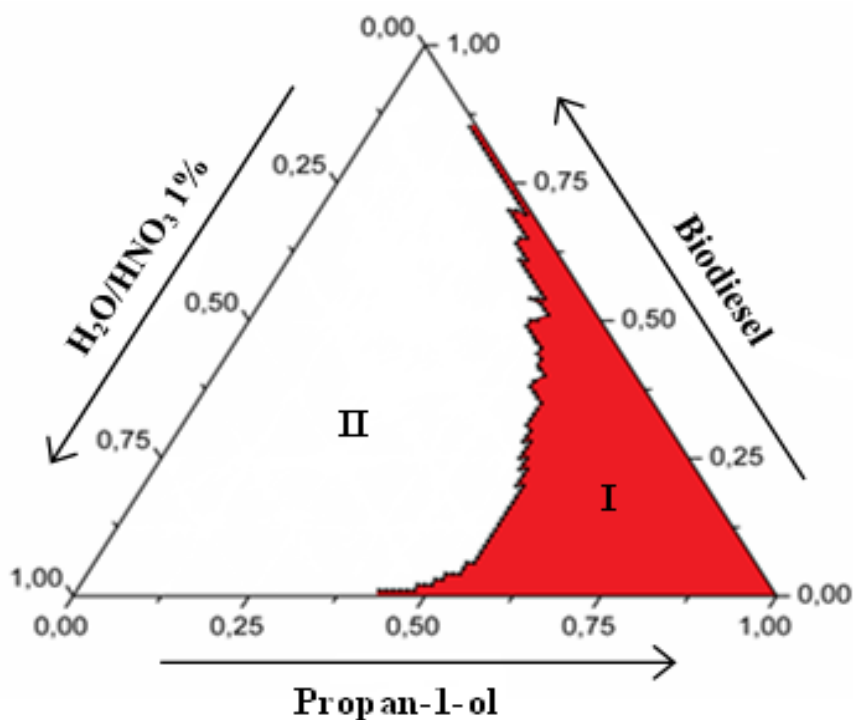


Figura 9. Diagrama de fases pseudoternário de H₂O/HNO₃, propan-1-ol e biodiesel, misturados a 25 °C. Os eixos representam os percentuais em massa de cada componente. Região I: Microemulsão. Região II: Emulsão.

Cada ponto plotado configura uma mistura. Por conseguinte, uma mistura emulsificada, exibe visualmente uma aparência turva e leitosa, enquanto, a microemulsão apresenta uma mistura límpida e homogênea, como mostrado na figura 8.

Na figura 9, é possível a visualização de duas regiões distintas: a região I, que representa uma solução homogênea e transparente é constatada e a região II, onde as misturas formam uma emulsão, isto é um aspecto leitoso e opaco. Portanto, o diagrama de fases pseudoternário foi obtido fixando em seus vértices: óleo, água/ácido e solvente.

A microemulsão adotada pode ser classificada do tipo água em óleo (A/O), porque o percentual hidrofóbico é maior do que o aquoso, pois as gotículas de água são solvatadas pelo solvente.

Nesta microemulsão foi possível adicionar até 12% de água acidificada, mas esta ficaria na zona limite entre a formação da emulsão e da microemulsão. Devido à

dificuldade de se pesar exatamente 1,7 g de amostra, foi escolhido o percentual de 11 % de água acidificada como uma margem de segurança na formação da microemulsão. Portanto a viabilidade de se aumentar a quantidade de biodiesel na composição acarretaria na diminuição da água acidificada ou no uso de um surfactante. Assim, a proporção ideal (m/m) adotada de cada componente foi de aproximadamente: 18% de biodiesel, 11% água acidificada e 71% de propan-1-ol para um volume final de 10 mL.

As microemulsões para as curvas analíticas foram preparadas da mesma forma que as amostras, entretanto, a diferença se encontra no uso do ácido oleico para simular o biodiesel na microemulsão, ao invés de óleo mineral, como em trabalhos anteriores^{60,65}. O uso do óleo mineral causou dificuldades na formação da microemulsão quando quantidades acima de 1 g desse constituinte eram utilizadas no preparo.

A escolha do ácido oleico foi feita devido a sua maior semelhança físico-química com a amostra, conforme será discutido no próximo item. Assim, para a microemulsão empregada nos padrões adotou-se a seguinte proporção de cada componente: 18% de ácido oleico, 11% de água acidificada (padrão inorgânico adicionado) e 71% de propan-1-ol em quantidade suficiente para um volume final de 10 mL.

Além da região da microemulsão, também foi obtida uma região onde se observou a formação de emulsões. Emulsões também têm sido utilizadas para a determinação de metais em biodiesel conforme alguns trabalhos como, Chaves *et al.*⁶⁶, onde através da emulsificação de diesel e biodiesel determinaram Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V.

Contudo, as misturas emulsificadas não são estáveis e acabam separando as fases mais rapidamente entre as hidrofóbicas e hidrofílicas em um curto período de tempo, necessitando de agitação para manter a homogeneidade do sistema durante a análise.

4.2 DETERMINAÇÃO DAS VISCOSIDADES CINEMÁTICAS

Conforme citado anteriormente, o ácido oléico foi escolhido para simular a matriz de biodiesel nos padrões, devido à dificuldade de formação da microemulsão usando o óleo mineral na mesma proporção da amostra e evitar também as

interferências de transporte. No entanto, com a substituição por ácido oleico foi possível à formação da microemulsão nas mesmas condições que o biodiesel, devido o ácido oleico apresentar características similares ao biodiesel, como composição e viscosidade.

Neste trabalho, foram medidas as viscosidades da amostra e do padrão, preparados pelo método das microemulsões e pela diluição em xileno. Essas medidas tem o objetivo de verificar se existe alguma diferença significativa entre o uso do ácido oleico e o óleo mineral presentes nos padrões utilizados nas curvas analíticas dos métodos da microemulsão e pela diluição em xileno, respectivamente.

A viscosidade cinemática a 40 °C do biodiesel pode variar de 3,5 – 5,0 mm² / s ou cSt e especificamente o biodiesel de soja apresenta uma média em torno de 4,4 cSt, o óleo mineral apresenta em média um valor de aproximadamente 14,0 cSt e o ácido oleico possui em média um valor 4,0 cSt conforme menciona a literatura⁷.

Foi observado que a viscosidade do ácido oleico é muito próximo ao biodiesel, o que torna o ácido oleico um substituinte adequado para simular a matriz do biodiesel nas amostras padrão na curva de calibração. Com base nestes dados, o estudo realizado neste trabalho tem o objetivo de comparar as viscosidades das amostras e dos padrões preparados através dos dois métodos (microemulsão e diluição) e verificar se existe diferença significativa entre padrão e amostra para cada método. As viscosidades cinemáticas determinadas para os diferentes sistemas são mostradas na tabela VI.

Tabela VI. Determinação das viscosidades cinemáticas para diferentes sistemas usando o método do viscosímetro de Ostwald.

Amostras	Viscosidade (mm² / s)
Biodiesel (soja)	3,37
Xileno	0,89
Propan-1-ol	0,78
Ácido oleico	3,09
Biodiesel em xileno	0,98
Óleo mineral base em xileno	1,51
Microemulsão de biodiesel	1,54
Microemulsão padrão (ácido oleico)	1,48

A tabela acima mostra que realmente existe uma diferença na viscosidade da amostra em relação ao padrão para o método de diluição com xileno. Entre os valores encontrados no método por diluição existe uma diferença significativa entre as amostras, o que não é observado no método por microemulsão utilizando o ácido oleico. Portanto, os resultados obtidos demonstram que o ácido oleico é um substituinte apropriado para o método por microemulsão.

4.3 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS INSTRUMENTAIS

Os parâmetros instrumentais do presente trabalho foram otimizados com o objetivo de definir uma melhor razão de combustível/oxidante (C/Ox) e de potencializar a taxa de aspiração para determinação dos elementos de interesse (Fe, Cu e Zn). Esses parâmetros foram otimizados tanto para o método proposto (microemulsão) como para o método comparativo, baseado na norma brasileira ABNT NBR 15556⁷⁸ (diluição com xileno).

Foram utilizados padrões inorgânicos para o método proposto por microemulsão e padrões lipossolúveis diluídos em óleo mineral para o método por diluição com xileno. Esses parâmetros foram otimizados com padrões de 3 mg L⁻¹ para Fe, de 5 mg L⁻¹ para Cu, nos dois métodos, e 0,4 mg L⁻¹ de Zn para o método com microemulsão e 0,7 mg L⁻¹ de Zn para o método com diluição em xileno.

No método proposto, adotou-se a razão de C/Ox de aproximadamente 0,082 para os elementos Fe e Cu e de 0,070 para Zn, na qual, se obteve uma excelente estabilidade de sinal analítico e melhor sensibilidade para o método. Para o método de referência as razões encontradas foram 0,066 para Fe, 0,082 para Cu e de 0,086 para Zn, onde se procurou estabelecer a menor flutuação da chama e a minimização da chama amarela, uma vez que a estabilidade e a precisão das medidas de absorção se tornam melhores nestas condições. Esses resultados estão apresentados na tabela III, na seção 3.1.

A seguir, foram otimizados as taxas de aspiração, para cada elemento nos dois métodos, para averiguar a vazão que apresentava melhor sinal analítico. Os valores encontrados foram de aproximadamente de 3,0 mL min⁻¹ para os três elementos para o método proposto e de 2,7, 2,8 e 2,6 mL min⁻¹ para ferro, cobre e zinco respectivamente, para o método de referência, no qual se procurou utilizar uma taxa de aspiração mínima

para reduzir e muitas vezes evitar as flutuações e oscilações constantes da chama no queimador e melhorar a estabilidade das medidas.

Neste trabalho, a diferença nas taxas de aspiração entre os dois métodos foram pequenas, ao contrário dos resultados obtidos em trabalhos anteriores. Jesus *et al*^{60,65} por exemplo, obtiveram valores de taxa de aspiração diferentes entre os dois métodos comparativos devido à microemulsão proposta pelo estudo ser mais viscosa que o método utilizado pela norma européia⁷⁷.

A diferença da microemulsão do presente trabalho está na ausência de surfactante, que é viscoso, e também na maior quantidade de água. De fato, a microemulsão estudada apresenta um aspecto de fluidez semelhante à da solução utilizada no método de diluição e isso pode ser comprovado através das determinações e comparações das viscosidades das amostras que estão relatadas na seção 4.2.

Deste modo, as condições otimizadas relatadas acima foram adotadas para todos os analitos nos estudos subsequentes.

4.4 ESTUDOS DE ESTABILIDADE

Quando se estuda a formação de microemulsão, a primeira questão fundamental está relacionada, principalmente, com seus mecanismos de formação e sua estabilidade termodinâmica, o que acaba sendo veículo comparativo com as emulsões¹²⁹.

Muitas vezes, a microemulsão pode exibir separação entre as fases aquosa e oleosa por apresentar baixa estabilidade termodinâmica, assim como as emulsões podem exibir uma alta estabilidade cinética em longo prazo. Esses fenômenos físicos ocorrem porque algumas vezes o sistema apresenta uma barreira energética entre as gotículas e as micelas formadas¹²⁹.

Portanto, o estudo da estabilização das microemulsões é de suma importância e abrange a busca de uma solubilização adequada de surfactante entre as fases aquosa e oleosa o que resulta na adsorção do tensoativo na interface O/A para promover uma diminuição na tensão interfacial.

O tempo de estabilidade de uma amostra ou de um padrão possui grande importância para um laboratório analítico de grande demanda rotineira, porque necessita de um planejamento e organização para que as análises sejam realizadas com

confiabilidade e praticidade. Portanto o que um analista geralmente espera ao preparar uma amostra, é que esta se mantenha estável por pelo menos algumas horas.

Dessa forma, o presente trabalho tem o objetivo de avaliar a estabilidade de formação da microemulsão e principalmente estimar o tempo de estabilização dos analitos no meio através de um monitoramento do sinal analítico em função do tempo.

Com este intuito, foram realizados estudos de estabilidade na formação da microemulsão e dos metais ferro, cobre e zinco presentes no meio, assim como também em amostras de biodiesel diluídas com solvente orgânico. Para estes estudos, um amostra de biodiesel foi enriquecida com padrões orgânicos desses elementos.

Também se investigou a estabilidade dos padrões orgânicos em xileno e de padrões inorgânicos nas microemulsões.

Para verificar a estabilidade e durabilidade da microemulsão, foi feito o monitoramento de algumas microemulsões preparadas no início desse trabalho, há cerca de 24 meses, e observou-se que as microemulsões ainda permanecem transparentes, límpidas, homogêneas e estáveis, sem apresentar separação entre fases, sob observação visual não houve distinção do seu aspecto.

Para verificar a estabilidade dos analitos foi feito um monitoramento do sinal analítico tanto para as amostras como para os padrões durante um período de 8 horas, que representa aproximadamente um intervalo de tempo de um dia típico de trabalho e depois, um acompanhamento em dias.

4.4.1 Estabilidade dos analitos no método com diluição em solvente orgânico (DX)

Inicialmente, foram efetuados os estudos de estabilidade dos analitos em padrões lipossolúveis e em amostras de biodiesel através do método por DX baseado na norma brasileira⁷⁸.

A figura 10 apresenta todo o monitoramento do sinal analítico dos três analitos estudados ao longo do tempo e foi controlado desde o momento de preparo das amostras, concomitantemente com os respectivos padrões até o final do período de oito horas.

No método baseado por DX, observa-se que os sinais de absorvância dos analitos foram decaindo ao longo do tempo, desde o início do seu preparo, tanto para os padrões, como para as amostras.

Esse resultado leva a concluir que o comportamento do analito neste tipo de meio não é muito estável e levanta várias hipóteses que possam ocasionar a desestabilização dessas espécies, como por exemplo, à adsorção dos analitos nas paredes dos frascos, ou até mesmo a formação de substâncias moleculares insolúveis, isto é, que os metais não estejam em sua forma livre no meio, entre outras.

O fato curioso que se observa neste estudo é que no caso do Fe, os sinais analíticos decaíram em torno de 60% nos primeiros 60 minutos iniciais, decorridos após o seu preparo, e que para os elementos Cu e Zn a queda nos sinais de absorvância foi de aproximadamente 12%, o que se pode predizer que a natureza e o comportamento da espécie também é um fator relevante a ser considerado. Como esperado, os padrões também apresentaram decaimento em sua resposta analítica, apresentando comportamentos semelhantes.

Portanto, estes resultados comprovam a grande instabilidade dos metais neste tipo de meio orgânico, devido provavelmente à sua adsorção nas paredes do recipiente usado para o preparo das amostras ou pelo fato da ausência de ácidos no meio, isso pode implicar no acondicionamento do B100 em tanques. Resultados similares já foram reportados em trabalhos anteriores^{8,60,63}.

Em suma, estes resultados atestam a necessidade de realizar a leitura imediata, isto é logo após a preparação, tanto dos padrões como das amostras após a diluição com xileno, como recomendado pelas normas brasileiras e europeias.

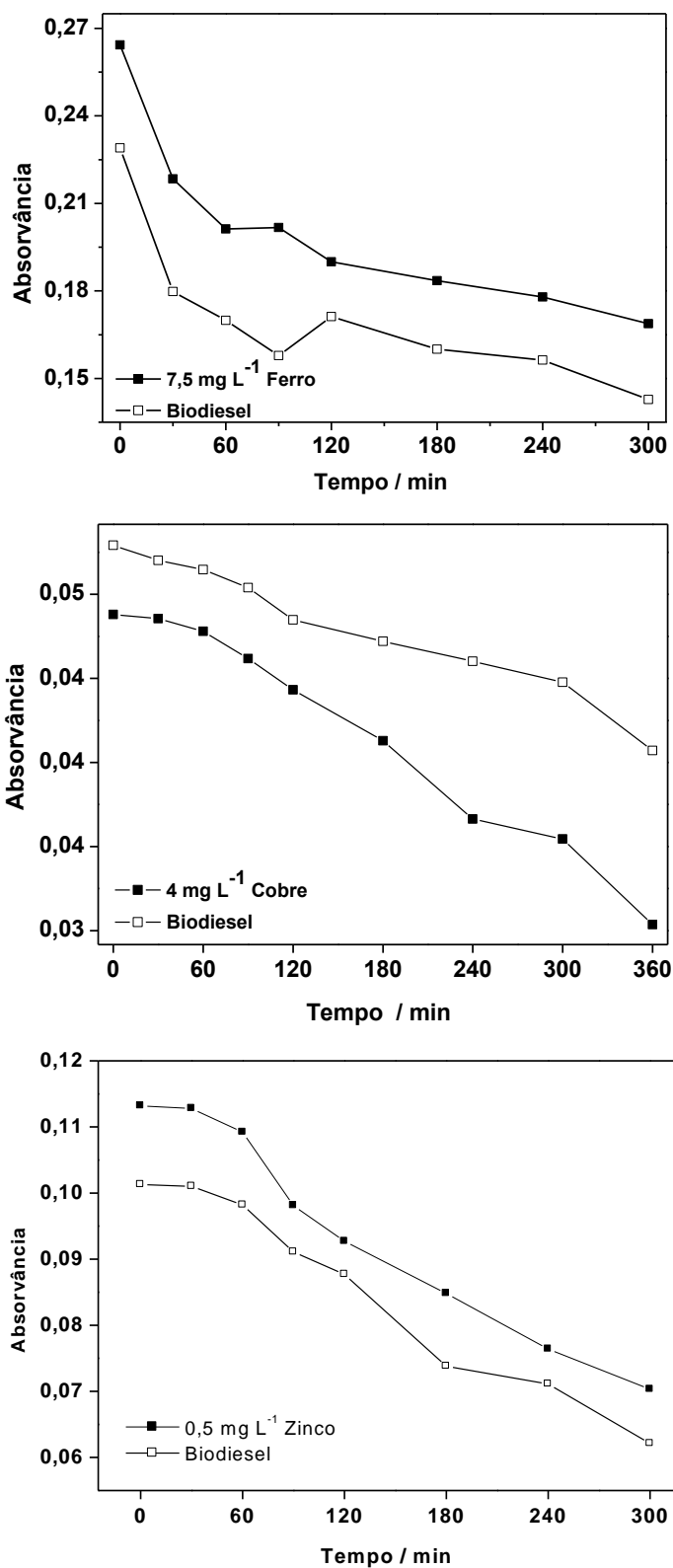


Figura 10. Estudo da estabilidade dos analitos (Fe, Cu e Zn) em padrões lipossolúveis e em amostras de biodiesel diluídos em xileno (-■- padrão lipossolúvel, -□- amostra de biodiesel).

4.4.2 Estabilidade dos analitos na microemulsão (ME)

Inicialmente foram executados testes de estabilidade através do monitoramento da resposta analítica nas microemulsões em um período de oito horas e verificou que o sinal analítico se manteve estável por mais de oito horas para os três elementos. Dessa maneira, prosseguiu-se o estudo de estabilidade, acompanhando o sinal analítico em dias.

Os estudos de estabilidade das três espécies tanto para os padrões inorgânicos microemulsificados quanto para as amostras de biodiesel utilizando o método proposto por microemulsão é apresentado na figura 11.

Observa-se que o sinal de absorvância dos metais estudados em padrões aquosos e nas amostras de biodiesel, se apresentaram estáveis por um período mais longo do que o método por diluição e não exibiram variação significativa por três dias para o ferro e cobre e em dois dias para o zinco. Este fato sugere que padrões inorgânicos na microemulsão podem ser utilizados para calibração por um período de tempo bem maior que o método por diluição em xileno.

O fato que explica esse comportamento dos analitos apresentarem uma maior estabilidade do analito neste método por microemulsão está relacionado a fatores como à presença do ácido nítrico no sistema, pois como já foi citado em trabalhos anteriores, o meio ácido proporciona aos metais maior disponibilidade no meio e assim evita o fenômeno da adsorção nas paredes do recipiente.

Somado a este diferencial, também podemos citar o uso de padrões inorgânicos aquosos na elaboração da curva de calibração. Conclui-se que o método proposto pode ser adequado e vantajoso em relação ao método de referência.

Portanto, este estudo comprova a viabilidade do método empregando microemulsão A/O, devido ao tempo de estabilidade dos analitos ser relativamente maior, sendo uma alternativa para um dia típico de trabalho, que exige tempo de análise e confiabilidade para as aplicações ao qual se destina, ou até mesmo, possibilitar o preparo em um dia e realização das medidas no dia seguinte, como geralmente é feito em métodos por digestão ácida.

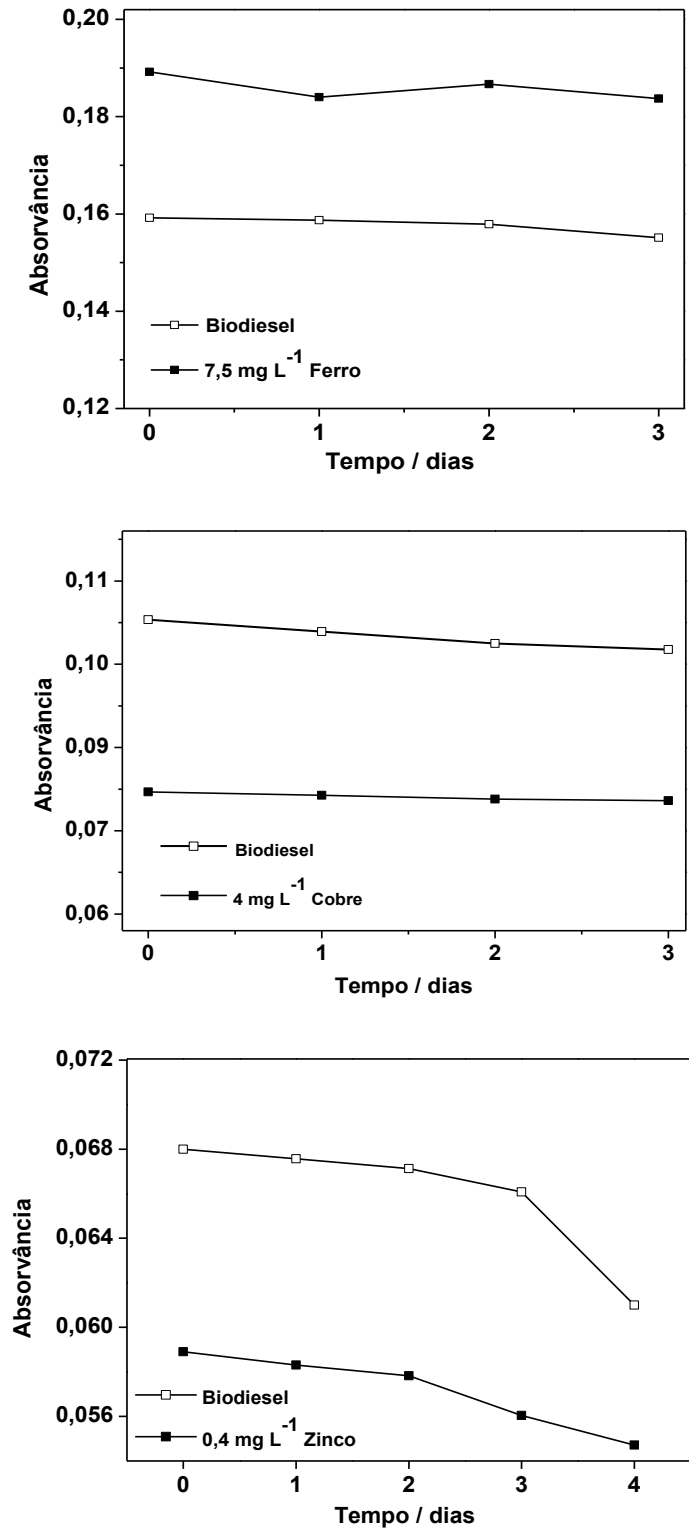


Figura 11. Estudo da estabilidade dos analitos (Fe, Cu e Zn) em padrões inorgânicos e em amostras de biodiesel pelo método de microemulsão (-□- amostra de biodiesel, -■ - padrão inorgânico).

4.5 PARÂMETROS DE MÉRITO

Ao propor a realização de um procedimento analítico, este pode ser dividido entre o processo de validação do método e sua aplicabilidade. Logo, o objetivo de uma determinação é que o método analítico a ser estudado complete os requisitos como gerar dados e resultados interpretáveis, exatos e confiáveis^{120,130}.

O estudo e validação da metodologia analítica proposta para determinar Fe, Cu e Zn em biodiesel foi realizada através do estabelecimento dos seguintes parâmetros de mérito: linearidade (R), limites de detecção (LD), limites de quantificação (LQ), precisão e concentração característica (C_0)^{119,120}.

A definição da C_0 se baseia na concentração do analito que corresponde a uma absorvância igual a 0,0044, que equivale a 1% de absorção. A C_0 foi calculada proporcionalmente, utilizando um dos padrões da curva analítica de cada elemento^{119,120,127,130}.

A linearidade é a capacidade de um método analítico de certificar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um determinado intervalo. A relação matemática entre o sinal analítico e a concentração ou massa da espécie de interesse é chamada de curva analítica, também conhecida como curva de calibração, e é representada através de um gráfico que indica a resposta de um sinal analítico em função da quantidade conhecida do constituinte a ser medido^{92,119,130}. Portanto, a linearidade foi avaliada por meio de um coeficiente de correlação linear (R), resultante da regressão linear das diferentes concentrações individuais para Fe, Cu e Zn.

O limite de detecção é a mínima quantidade detectável, com uma dada certeza estatística. É a medida da massa ou concentração de um analito que, quando excedida, permite identificar com certo nível de confiabilidade, isto é, que a sua quantidade é distinguível do branco do próprio analito. O LD instrumental é aferido através de dez medidas do branco da amostra, segundo a equação:

$$LD = 3 * \sigma_{\text{branco}} / S \quad \text{Equação 2}$$

onde σ é o desvio padrão das dez leituras do branco (n=10) e S é o coeficiente angular ou inclinação da curva de calibração, também conhecido como sensibilidade^{119,120}. Para

se obter o LD do método, o LD instrumental foi multiplicado pelo volume final e dividido pela massa real utilizada no preparo da amostra^{92,126}.

O limite de quantificação é a menor concentração do analito que pode ser quantificada com uma exatidão e precisão aceitável. Ele é definido como a menor concentração ou massa de analito que se pode definir quantitativamente com um erro menor que 5%. O LQ instrumental é calculado pela seguinte equação:

$$LQ = 10 * \sigma_{\text{branco}} / S \quad \text{Equação 3}$$

onde σ é o desvio padrão das dez medidas da solução branco e S é o coeficiente angular da curva^{92,120,127}. Para se obter o LQ do método realizou-se o mesmo cálculo descrito anteriormente para o LD do método^{126,128}.

Depois de concluída a etapa de otimização e estabelecidas às condições instrumentais e operacionais do equipamento para cada analito, foram construídas as curvas analíticas para cada elemento utilizando o padrão lipossolúvel diluído em xileno e padrão inorgânico em microemulsões, para as quais foram determinadas as equações de regressão linear, concentrações características e coeficientes de correlação (R) obtidos para os dois métodos, para fins comparativos.

Os parâmetros de mérito para a determinação de Fe, Cu e Zn em amostras de biodiesel utilizando F AAS estão resumidos nas tabelas VII, VIII e IX. A tabela VII apresenta os parâmetros de mérito encontrados para as curvas analíticas obtidas com padrões aquosos, onde estes parâmetros foram usados no método por decomposição ácida.

Tabela VII. Regressão linear, coeficiente de correlação e concentração característica das curvas analíticas com os padrões de Fe, Cu e Zn em soluções aquosas.

Analito	Regressão Linear	R	C ₀ (mg L ⁻¹)
Fe	A = 0,0435c + 0,0018	0,9996	0,10
Cu	A = 0,0657c + 0,0020	0,9988	0,07
Zn	A = 0,1419c + 0,0055	0,9925	0,03

Através dos resultados apresentados nas tabelas VII e VIII é possível comparar os resultados de sensibilidade adquiridos através do coeficiente angular da equação de regressão linear, obtidos individualmente para cada espécie e para cada método, tanto para os padrões inorgânicos em solução aquosa e microemulsão, como para os padrões orgânicos no método por diluição em xileno.

Pode-se deduzir que, com exceção do ferro no método de microemulsão, não é viável utilizar padrões aquosos para a construção da curva analítica, devido aos valores de sensibilidades serem distintos, o que confere para a calibração desses dois métodos meios semelhantes entre os padrões da curva analítica e o meio das amostras.

Para o método baseado na norma, a faixa de trabalho se manteve linear até 1,2; 1,4 e 0,7 mg L⁻¹, e para a microemulsão os valores de concentração se mantiveram lineares até 1,5; 1,6 e 0,8 mg L⁻¹, para Fe, Cu e Zn, respectivamente.

Tabela VIII. Regressão linear, coeficiente de correlação e concentração característica das curvas analíticas para determinação de Fe, Cu e Zn em amostras de biodiesel pelo método de diluição com xileno e de microemulsão.

Analito	Método	Regressão Linear	R	C ₀ (mg L ⁻¹)
Fe	Diluição em xileno	A = 0,0380c + 0,0035	0,9985	0,12
	Microemulsão	A = 0,0428c + 0,0011	0,9998	0,10
Cu	Diluição em xileno	A = 0,0561c - 0,0020	0,9948	0,08
	Microemulsão	A = 0,0603c + 0,0159	0,9934	0,06
Zn	Diluição em xileno	A = 0,1939c + 0,0064	0,9983	0,03
	Microemulsão	A = 0,1946c + 0,0097	0,9971	0,02

Por meio da comparação das sensibilidades obtidas nos dois métodos de preparo de amostra (diluição com xileno e microemulsão) foi constatado que a microemulsão apresentou melhores sensibilidades para todos os analitos em relação ao método de referência. Entretanto os dois métodos apresentaram valores de sensibilidades próximos, o que pode ser comprovado pelas suas concentrações características, viabilizando o uso da validação entre o método proposto com o método de referência.

Para todos os analitos investigados foi observado que os valores de coeficientes de correlação foram maiores que 0,99, ou seja, evidenciando uma boa linearidade (correlação linear), entre absorvância e concentração.

Embora os valores de C_0 obtidos para métodos diferentes sejam próximos, segundo as tabelas VII e VIII, os valores de LD e LQ obtidos com as microemulsões, apresentados na tabela IX, foram melhores do que os valores encontrados pelo método de referência para os três analitos investigados.

Para o cálculo dos limites de quantificação e detecção foi utilizada no preparo do branco da microemulsão, uma massa de aproximadamente 1,7 g de ácido oleico para simular o biodiesel e 1,1 mL de água acidificada para um volume final de 10,0 mL de propan-1-ol e para o método de referência. O branco foi preparado com uma massa de 1,0 g de óleo mineral base para um volume final de 10,0 mL de xileno, para todos os analitos. Foram calculados os limites de detecção e quantificação instrumentais, de acordo com as equações 2 e 3.

Para o cálculo dos limites de quantificação e detecção do método foram consideradas as massas das amostras utilizadas no preparo (1,7 g p/ a microemulsão e 1,0 g p/ a diluição com xileno) e o volume total da amostra (10 mL em ambos os métodos).

Para o ferro, os valores de LD e LQ do método encontrados para a microemulsão, foram cerca de três vezes melhores e para cobre e zinco os resultados foram na ordem de cinco vezes melhores do que o método fundamentado na norma brasileira.

Os fatores que levaram os melhores resultados para o método proposto são a presença de maior proporção de amostra empregada na preparação da microemulsão, o que acarreta melhor sensibilidade, e a diminuição das flutuações da chama, levando a menores oscilações nas medidas dos sinais analíticos (absorvância), o que melhora significativamente a precisão do método, diminuindo o desvio padrão relativo (RSD), como de fato é apresentado na tabela IX.

Tabela IX. Parâmetros de mérito para a determinação de Fe, Cu e Zn em biodiesel obtidos por F AAS usando os métodos por microemulsão (ME) e por diluição em xileno (DX) e decomposição ácida (DA).

Analito	Método	LD (n=10)		LQ (n=10)		RSD (n=10) %	
		(mg L ⁻¹) ^a	(mg kg ⁻¹) ^b	(mg L ⁻¹) ^a	(mg kg ⁻¹) ^b	Padrão	Amostra ^c
Fe	DX	0,1	1,1	0,3	3,7	2,4	2,9
	ME	0,05	0,3	0,2	1,0	1,6	2,0
	DA	0,02	0,1	0,04	1,3	0,9	1,1
Cu	DX	0,06	0,5	0,2	1,7	1,0	2,4
	ME	0,02	0,1	0,06	0,3	0,8	1,6
	DA	0,01	0,09	0,06	0,3	0,8	1,6
Zn	DX	0,04	0,4	0,1	1,3	1,3	2,0
	ME	0,02	0,07	0,05	0,2	0,6	0,6
	DA	0,02	0,1	0,08	0,3	0,7	0,4

^a LD/LQ instrumental. ^b LD/LQ do método. ^c BDA: amostra de biodiesel de soja.

O LD encontrado neste trabalho para a determinação de ferro (0,3 mg kg⁻¹) e cobre (0,1 mg kg⁻¹) utilizando a microemulsão, foram maiores que o encontrado por Ghisi *et al.*¹¹⁴ por ET AAS, que foi de 0,02 mg kg⁻¹ para ferro e de 0,01 mg kg⁻¹ para cobre. Amais *et al.*¹¹¹ encontraram um LD de 4,22 x 10⁻³ mg L⁻¹ para zinco utilizando microemulsão com quantificação por ICP-MS, que também foram menores que o encontrado no presente trabalho. A diferença dos valores deve-se às melhores sensibilidades das técnicas utilizadas nesses trabalhos (ET AAS e ICP-MS)⁸³.

Recentemente, o Instituto Nacional de Padrões e Tecnologias (NIST) inseriu dois materiais de referência certificados para biodiesel (NIST 2772 e NIST 2773). Entretanto, as concentrações de Fe, Cu e Zn não são certificados e os valores informados estão abaixo dos limites de detecção (NIST, 2011) obtidos neste trabalho.

Como estes materiais não podem ser utilizados para a verificação da exatidão do método proposto, esta foi avaliada por teste de recuperação também através da comparação entre os resultados obtidos para amostras analisadas pelo método proposto e o de referência (diluição com xileno) e por decomposição ácida.

4.6 TESTES DE RECUPERAÇÃO

Com a finalidade de verificar a exatidão do método proposto e avaliar os possíveis efeitos de matriz, além da comparação dos resultados obtidos para os métodos proposto e de referência, foram realizados testes de recuperação em algumas amostras de biodiesel obtidas de diferentes fontes (soja, fritura e canola).

Esses testes foram realizados através da adição dos analitos em diferentes níveis de concentração, sendo estes 2,0, 4,0 e 5,0 mg L⁻¹ para ferro, 3,0, 4,0 e 5,0 mg L⁻¹ para cobre e de 0,3 e 0,4 mg L⁻¹ para zinco, como descrito anteriormente na seção 3.5.

Nas tabelas X, XI e XII são apresentados os resultados dos testes de recuperação para, Fe, Cu e Zn, respectivamente nas amostras de biodiesel para os dois métodos por F AAS. As amostras utilizadas para estes estudos foram descritas anteriormente na tabela IV, seção 3.2.

Tabela X Teste de Recuperação para Fe com diluição em xileno e microemulsão

Amostra	Diluição em xileno		Microemulsão	
	Adicionado (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adicionado (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
BS1	4,0	104 ± 2,2	4,0	97 ± 1,0
BS2	4,0	103 ± 0,8	4,0	98 ± 1,1
FR03	5,0	96 ± 1,7	5,0	98 ± 0,8
FR04	2,0	95 ± 2,0	2,0	97 ± 1,0

Tabela XI: Teste de Recuperação para Cu com diluição em xileno e microemulsão

Amostra	Diluição em xileno		Microemulsão	
	Adicionado (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adicionado (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
BSC	4,0	96 ± 1,0	4,0	102 ± 0,6
FR02	3,0	92 ± 1,2	3,0	95 ± 0,9
BD1	5,0	94 ± 1,3	5,0	98 ± 0,5

Tabela XII: Teste de Recuperação para Zn com diluição em xileno e microemulsão

Amostra	Diluição em xileno		Microemulsão	
	Adicionado (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adicionado (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
BSC	0,4	92 ± 2,6	0,4	98 ± 1,6
FR01	0,4	91 ± 1,8	0,4	96 ± 1,1
GZE	0,3	94 ± 2,0	0,3	97 ± 1,2

Os resultados obtidos confirmam a exatidão do método proposto para todos os analitos, considerando que as recuperações ficaram na faixa de 97 – 98% para Fe, 95 – 102% para Cu e de 96 – 98% para Zn. Observa-se que para o método de diluição com xileno, mesmo com as diferenças de viscosidades observadas, os resultados de recuperação obtidos (entre 91 e 104%), podem ser considerados adequados. Sem as adições, as concentrações determinadas dos analitos nas amostras de biodiesel utilizadas nesse estudo, foram menores do que seus limites de quantificação (LQ).

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^{83,92,119}.

4.7 DETERMINAÇÃO DE FERRO, COBRE E ZINCO EM AMOSTRAS DE BIODIESEL

Como materiais de referências ainda não estão sendo comercializados especificamente para estes metais citados no trabalho para o biodiesel, como comentado anteriormente, a avaliação da exatidão do método proposto foi realizada através da comparação dos resultados obtidos entre o método proposto e o método baseado na norma brasileira e pelo método por decomposição ácida.

O método por decomposição ácida foi realizado para poucas amostras, devido à dificuldade e disponibilidade significativa de amostra para as determinações e pela dificuldade experimental.

Os resultados obtidos para as amostras de biodiesel provenientes de diferentes fontes estão demonstrados nas tabelas XIII (Fe), XIV (Cu) e XV (Zn). As amostras foram preparadas em triplicata e os resultados representam a média das triplicatas. Deve ser salientado que as amostras ASE, BS, P, E e GZE foram recebidas de grupos de pesquisa que estão trabalhando no desenvolvimento de novos métodos de produção de biodiesel, i.e., não são amostras comerciais de biodiesel. Já as amostras BSC e BD1 são amostras comerciais de biodiesel (B100).

Para verificar a eficiência do método proposto foi aplicado o teste t Student pareado, aos dados das tabelas XIII, XIV e XV. Primeiramente foram comparados os resultados obtidos entre o método por diluição em xileno com o método proposto por microemulsão e posteriormente foi aplicado o teste estatístico entre os resultados encontrados pelo método por microemulsão e por decomposição ácida.

Os resultados dos testes não apresentaram para ambos os métodos diferença significativa a um nível de confiança de 95%.

Tabela XIII: Determinação de Fe em amostras de biodiesel por F AAS.

Amostra	Concentração de Fe / mg kg ⁻¹		
	(média ± SD, n=3)		
	Diluição em xileno	Microemulsão	Decomposição ácida
P01	28,0 ± 1,1	30,7 ± 0,8	-
P02	30,4 ± 1,4	31,2 ± 0,7	-
S01	35,0 ± 0,9	36,7 ± 0,8	-
ASE01	6,5 ± 0,8	6,6 ± 0,4	-
ASE02	10,2 ± 0,7	10,8 ± 0,5	10,6 ± 0,9
ASE03	8,0 ± 0,9	9,3 ± 0,5	-
BSA	23,5 ± 1,0	24,1 ± 0,6	24,4 ± 0,9
FR01	27,3 ± 0,6	27,4 ± 0,5	28,1 ± 0,7
FR02	19,7 ± 0,5	20,2 ± 0,9	-
GZE	9,6 ± 1,5	9,9 ± 1,1	-
BS1, BS2	<LD	<LD	-
FR03, FR04	<LD	<LD	-

Tabela XIV: Determinação de Cu em amostras de biodiesel por F AAS.

Amostra	Concentração de Cu / mg kg ⁻¹		
	(média ± SD, n=3)		
	Diluição em xileno	Microemulsão	Decomposição ácida
FR02	<LD	<LD	-
FR03	12,5 ± 1,2	12,0 ± 1,0	-
BS2	16,5 ± 0,8	17,2 ± 0,9	-
E147	39,2 ± 1,1	31,0 ± 0,5	-
E148	29,5 ± 0,6	30,2 ± 0,4	30,0 ± 1,1
E149	30,0 ± 0,4	31,0 ± 0,5	31,3 ± 1,0
ASE01	30,0 ± 0,4	31,0 ± 0,5	-
ASE02	29,5 ± 0,6	30,2 ± 0,4	-
ASE03	39,2 ± 1,1	40,3 ± 0,5	-
BSC	<LD	<LD	-
BD1	<LD	<LD	-

Tabela XV: Determinação de Zn em amostras de biodiesel por F AAS.

Amostra	Concentração de Zn / mg kg ⁻¹ (média ± SD, n=3)		
	Diluição em xileno	Microemulsão	Decomposição ácida
BD1	7,2 ± 0,7	7,5 ± 0,5	-
BSC	<LD	<LD	-
E147	11,4 ± 0,9	12,1 ± 0,9	-
E148	6,2 ± 1,2	6,7 ± 0,4	-
E149	11,4 ± 0,9	13,0 ± 0,7	12,6 ± 0,5
FR01	<LD	<LD	-
GZE	<LD	<LD	-

Em geral, os resultados mostram que o método empregando F AAS para determinação de Fe, Cu e Zn em biodiesel por microemulsão garante boa exatidão e pode ser utilizado com sucesso em análises de rotina.

O uso de microemulsão foi uma alternativa simples e adequada para as amostras de biodiesel, pois não requer a eliminação da matéria orgânica e o uso de grandes quantidades de solventes carcinogênicos. 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. CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos, a metodologia proposta para a determinação de Fe, Cu e Zn por F AAS em biodiesel mostrou-se bastante precisa, exata e confiável.

Percebeu-se que para a formação da microemulsão, o propan-1-ol foi o solvente mais adequado à proposta e apresentou boa estabilidade na formação da microemulsão. O tratamento das amostras de biodiesel com microemulsão é simples e eficiente possibilitando a calibração com padrões aquosos inorgânicos e em meio ácido, o que possibilita maior estabilidade dos analitos no meio.

O ácido oleico é um composto adequado e eficiente que pode substituir a matriz do biodiesel na construção da curva analítica, para a preparação dos padrões analíticos.

O estudo de estabilidade demonstrou que, realmente, a microemulsão apresenta estabilidade do sinal analítico por um intervalo de tempo muito maior do que o método de referência, o que traz mais segurança e confiabilidade para o método proposto.

O método desenvolvido apresentou bons limites de detecção, muitas vezes com resultados melhores quando comparados no método de referência e com resultados similares aos obtidos por decomposição ácida. As precisões dos métodos se apresentaram adequadas e aceitáveis para as determinações em biodiesel e isto pode ser observado nos resultados através do RSD.

Provavelmente, outros analitos podem ser quantificados por F AAS usando o método proposto em microemulsão como método de preparo de amostra, desde que se encontre dentro da faixa de trabalho da técnica.

Ao se avaliar as determinações, foi possível comprovar que, algumas amostras de biodiesel tem em sua composição quantidades significativas dos analitos em estudo. Portanto, não seria nenhuma novidade se futuramente novas normas regulamentadoras e novas especificações venham a surgir.

Durante os testes de recuperação não foi observada nenhuma influência significativa a considerar na matriz do biodiesel.

A microemulsão apresentou as seguintes vantagens em relação ao método referido pela norma: a utilização de padrões inorgânicos, ao contrário, de padrões lipossolúveis diluídos em óleo mineral, os quais apresentam uma baixa estabilidade; utilização do propan-1-ol ao invés do xileno que é um solvente orgânico tóxico e carcinogênico; menores limites de detecção e quantificação para os três elementos, devido à melhora significativa na precisão das medidas; e uma maior estabilidade dos analitos nas amostras e padrões.

E com comparação ao método por decomposição ácida, a microemulsão apresenta grande vantagem que é o tempo de preparo de amostra da microemulsão que é rápido e instantâneo, enquanto que na decomposição exige horas de preparo.

Portanto, todas essas vantagens tornam o método proposto por microemulsão viável, adequado e confiável podendo ser adotado em laboratórios de análises com grande demanda de rotina e até mesmo por normas regulamentadoras brasileiras e internacionais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Goldemberg, J.; Lucon, O. Energias renováveis: um futuro sustentável. *Revista USP*, nº 72, p.6-15, **2007**.
2. WCED (*World Commission on Environment and Development*), 1987. Our Common Future. Oxford and New York: Oxford University Press, **1987**.
3. Arccarini, J. H. Biodiesel no Brasil: estágio atual e perspectivas. *Bahia análises e dados*, Salvador, V. 16, n.1, jun, **2006**.
4. Gonçalves, B. R. L.; Perez, L.; Ângelo, A. C. D. Glicerol: Uma Inovadora Fonte de Energia Proveniente da Produção de Biodiesel. *2nd International Workshop - Advances in Cleaner Production*, p. 6, **2009**.
5. Parente, E. J. S. E.; Branco, P. T. C.; Análise comparativa entre o etanol e metanol visando a sua utilização como coadjuvante químico na produção de biodiesel. In: Holanda. Biodiesel e Inclusão social. Brasília: Câmara dos Deputados, *Série Cadernos de Altos Estudos*, nº1, **2004**.
6. PNPB (Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel) Biodiesel: o novo combustível do Brasil. Apresentação da ministra de minas e energia Dilma Rousseff no lançamento do PNPB. Ministério de Minas e Energia, **2005**.
7. Knothe, G.; Gerpen, J.; Krahl, J., Trad.; Ramos, L. P., *Manual do Biodiesel*, Ed. Blucher, São Paulo, **2006**.
8. Chaves, E. S.; Saint´Pierre, T. D.; Santos, E. J.; Tormen, L. V.;Bascunana, L. A. F.; Curtius, A. Determination of Na and K in biodiesel by flame atomic emission spectrometry and microemulsion sample preparation. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 19, n. 5, p. 856-861, **2008b**.
9. Korn, M. G. A.; Santos, D. S. S.; Welz, B.; Vale, M. G. R.; Teixeira, A. P.; Lima, D. C.; Ferreira, S. L. C. Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels: a review. *Talanta*, v. 73, p. 1-11, **2007**.
10. A profecia do esgotamento do petróleo e as possíveis implicações políticas da abundância do produto. Disponível em www.achegas.net, acessado em fevereiro de **2014**.
11. Schuchardt, U.; Ribeiro, M. L.; Gonçalves, A.R.; *Química Nova*, **2001**, 24, 247.
12. www.biodieselbr.com/biodiesel/economia acessado em dezembro de **2013**.
13. EPE (Empresa de Pesquisa Energética). Balanço Energético Nacional 2010 – Base 2010. Rio de Janeiro: EPE, **2011**.
14. 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**.

15. Grisoli, R.P.S.; Comparação das emissões de gases de efeito estufa no ciclo do etanol de cana-de-açúcar no Brasil e os critérios da Diretiva Europeia para Energias Renováveis. 110f. *Dissertação de Mestrado em Energia*, USP, **2011**.
16. Hoekman S. K.; Robbins, C.; Review of the effects of biodiesel on NOx emissions. *Fuel Processing Technology*, v. 96, p. 237-249, **2012**.
17. IEA (Internacional Energy Agency). *Key World Energy Statistic 2011*. Paris: OECD/IEA, **2011**.
18. BP (British Petroleum). *BP Statistical Review of World Energy*, June **2011**.
19. Goldemberg, J. *Energia, meio ambiente e desenvolvimento*. São Paulo, EDUSP, **1998**. 234p.
20. JetBio, História do Biodiesel. Disponível em http://www.jetbio.com.br/destaque_02. Acessado em março de **2014**.
21. Tsai, W. T.; Lin, C.; Yeh, C. An analysis of biodiesel fuel from waste edible oil in Taiwan. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 11, p. 838-857, **2007**.
22. IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*). IPCC Fourth Assessment Report: Climate Change 2007 (AR4). The AR4 Synthesis Report. Cambridge and New York: Cambridge University Press, **2007**.
23. IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*). IPCC Special Report on Renewable Energy Source and Climate Change Mitigation. Summary Policymarkes. Cambridge and New York: Cambridge University Press, **2011**.
24. Dermibas, A. Biodiesel: a realistic fuel alternative for diesel engines. London: *Springer-Verlang*, **2008**.
25. Neto, J. N.; A saga do álcool. São Paulo: *Novo Século*. Pág. 289, **2007**.
26. Fischetti, D.; Silva, O.; Etanol: a revolução verde e amarela. São Paulo: *Bizz Comunicação*, **2008**.
27. MME (Ministério de Minas e Energia). Disponível em http://www.mme.gov.br/menu/todas_publicacoes.html. Acessado em novembro de **2013**.
28. Parente, E. J. S. Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado. *Tecbio*, 68 p., **2003**.
29. Tolmasquim, M. T., Guerreiro, A., Gorini, R.; Matriz energética brasileira: uma nova perspectiva. *Novos estudos CEBRAP*, v. 79, p. 47-69, **2007**.
30. CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), Séries Históricas. Disponível em <http://conab.com.br>. Acesso em janeiro de **2014**.

31. ANP (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis) Dados estatísticos mensais. Boletim da Produção de Petróleo e Gás Natural – *Superintendência de Desenvolvimento e Produção* – SDP, Março de **2014**.
32. Abramovay, R.; Biocombustíveis: a energia da controvérsia. São Paulo: *Editora Senac*, **2009**.
33. BIODIESELBR, História e Biodiesel. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/biodiesel/historia/biodiesel-historia.htm>>. Acesso em 4 de março de **2010**.
34. Pahl, G. Biodiesel - Growing a new energy economy. 2^a. ed. [S.l.]: *Chelsea Green Publishing Company*, **2008**. 368 p.
35. Muniyappa, P. R.; Brammer, S. C.; Nouredini, H. Improved conversion of plant oils and animal fats into biodiesel and co-product. *Bioresource Technology*, v. 56, p. 19-24, **1996**.
36. Pereira, R. J. Biodiesel. Brasília: *Gráfica e Editora Ideal*, **2006**.
37. Santana, A.; Okamoto, P. T.; Barboza, L. C.; Santos, C. A.; Paula-Filho, J. F.; Alvim, P. C. R. C.; Ennes, M. W.; Ching, W. H.; Rodrigues, C. W. *Biodiesel*. Brasília: Serviço brasileiro de apoio às micros e pequenas empresas, **2009**. 67 p.
38. Câmara, G. M. D. S. Biodiesel Brasil - estado atual da arte. 13 de Setembro de **2006** Disponível em: <http://www.cib.org.br/pdf/biodiesel_brasil.pdf>. Acessado em Janeiro de 2014.
39. Carvalho, J. B. de M.; A Indústria de Óleos Vegetais e seus problemas, **1936**, pág. 85.
40. Sá Filho, H. L.; Rotenberg, B.; Albuquerque, S. F.; Mendonça, M. C. G.; Medeiros, P. R. S.; Diagnóstico da viabilidade técnica de utilização dos óleos vegetais brasileiros como combustíveis/lubrificantes. *Informativo do Instituto Nacional de Tecnologia (INT)*, Rio de Janeiro, **1979**, V.12, nº 22, 28-40 p.
41. Parente, E. J. S. Processo de produção de combustível a partir de frutos ou sementes oleaginosas. PI – 8007957-1, **1980**.
42. Parente, E. J. S. e Branco, P. T. C. Análise comparativa entre etanol e metanol visando sua utilização como coadjuvante químico na produção de biodiesel. In: Holanda, A. Biodiesel e Inclusão Social. *Câmara dos Deputados. Conselho de Altos Estudos e Avaliação Tecnológica*. Brasília, **2004**.
43. PNPB (Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel). Biodiesel, o novo combustível do Brasil. Apresentação da ministra de minas e energia Dilma Rousseff no lançamento do PNPB. *Ministério de Minas e Energia*, **2004**.
44. Resolução ANP, Nº 7 de 19/03/2008 – D.O.U. 20/03/2008. Disponível em: <http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: Fevereiro de **2014**.

45. ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis) Resolução nº 42, de 13 de setembro de **2004**. Regulamento Técnico nº04/2004. Brasília: *Diário Oficial da União (DOU)*, n. 236.
46. Brasil (2005a). Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira. *Diário Oficial da União (DOU)*, Brasília – DF, 14 de janeiro de **2005**, seção 1, p.125.
47. 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**.
48. Ma, F.; Hanna, M. A. Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology*, 70: 1-15, **1999**.
49. Peterson, C. L.; Hustrulid, T. Carbon cycle for rapeseed oil biodiesel fuels. *Biomass and Bioenergy*, 14: 91-101, **1998**.
50. Resolução CNPE, Nº 6, de 16/09/2009 – D.O.U.26/10/2009. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em fevereiro de **2014**.
51. Monyem, A.; Van Gerten, J. H. The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions. *Biomass and Bioenergy*, 20: p. 317-325, **2001**.
52. Associação Brasileira das Indústrias de óleos vegetais (ABIOVE) – **2011**. Disponível em: http://www.abiove.com.br/abiove_br.html>. Acesso em fevereiro de **2014**.
53. Costa, N.; Rossi, L. F. S.; Zagonel, G. F.; Ramos, L. P. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. *Química Nova*, V. 23, n. 4, p. 531-537, **2000**.
54. Knothe, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel processing Technology*, 86: p. 1059-1070, **2005**.
55. Monteiro, M.R.; Ambrozin, A.R.P.; Lião, L. M.; Ferreira, A. G. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. *Talanta* 77: p. 593-605, **2008**.
56. Lepri, G. F.; Chaves, E. S.; Vieira, M. A.; Ribeiro, A. S.; Curtius, A. J; Oliveira, L. C. C.; Campos, R. C.; Determination of trace elements in vegetable oils and biodiesel by atomic spectrometric techniques – A review; *Applied Spectroscopy Reviews*, 46: p. 175-206, **2011**.
57. Pahl, G.; Biodiesel: Growing a New Energy Economy. *Chelsea Green: White River Junction*, **2005**. p. 282.
58. 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 GF AAS. *Fuel*, 88: p. 1907-1914, **2009**.

59. Quadros, D. P. C.; Chaves, E. S.; Silva, J. S. A.; Teixeira, L. S. G.; Curtius, A. J.; Pereira, P. A. P. Contaminantes em Biodiesel e Controle de Qualidade. *Revista Virtual de Química*, 3, p. 376-384, **2011**.

60. 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: p. 1378-1384, **2008**.

61. Woods, G. D.; Fryer, F. I., Direct elemental analysis of biodiesel by inductively coupled plasma-mass spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389: p. 753-761, **2007**.

62. Santos, E. J.; Herrmann, A. B.; Chaves, E. S.; Vechiatto, W. W. D.; Schoemberger, A. C.; Frescura, V. L. A., Curtius, A. J., Simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 22: p. 1-4, **2007**.

63. Lyra, F. H.; Carneiro, M. T. W. D.; Brandão, G. P.; Pessoa, H. M.; Castro, 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: p. 180-185, **2010**.

64. Lôbo, I. P.; Ferreira, S. L. C.; Cruz, R. S. Biodiesel: Parâmetros de Qualidade e Métodos Analíticos. *Química Nova*, 32, 6: p. 1596-1608, **2009**.

65. Jesus, A.; Zmonzinski, A. V.; Barbará, J. A.; Vale, M. G. R.; Silva, M. M. Determination of Ca and Mg in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry using microemulsions as sample preparation. *Energy Fuels*, 24, 3: p. 2109-2112, **2010**.

66. Chaves, E. S.; Lepri, F. G.; Silva, J. S. A.; Quadros, D. P. C.; Pierre, T. D. S.; Curtius, A. J. Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS. *Journal of Environmental Monitoring*, 10: p. 1211-1216, **2008a**.

67. Ansari, R.; Kazi, T. G.; Jamali, M. K.; Arian, M. B.; Wagan, M. D.; Jalbani, N.; Afridi, H. I.; Shan, A. Q. Variation in accumulation of heavy metals in diferente verities of sunflower seed oil with the aid of multivariate technique. *Food Chemistry*, 115: p. 318-323, **2009**.

68. Quadros, D. P. C.; Rau, M.; Idrees, M.; Chaves, E. S.; Curtius, A. J.; Borges, D. L. G. A simple and fast procedure for the determination of Al, Cu, Fe and Mn in biodiesel using high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta, Part B*, 66: p. 373-377, **2011**.

69. Chaves, E. S.; Santos, E. J.; 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: p. 71-76, **2010a**.

70. Knothe, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. Review. *Fuel Processing Technology*, 88: p. 669-677, **2007**.

71. Tagliabue, S.; Gasparoli, A.; Della Bella, L.; Bondioli, P., Influenza della contaminazione metallica sulla stabilità ossidativa del biodiesel. *La Rivista Italiana*, 82: p. 93-96, **2005**.

72. Saint’Pierre, T. D.; Maranhão, T. A.; Frescura, V. L. A.; Curtius, A. J.; The development of a method for the determination of trace elements in fuel alcohol by electrothermal vaporization-inductively coupled plasma mass spectrometry using external calibration. *Spectrochimica Acta*, Part B, 60: p. 605-613, **2005**.

73. Amais, E. S.; Edivaldo, E. G.; Monteiro, M. R.; Nóbrega, J. A.; Determination of Ca, Mg and Zn in biodiesel microemulsions by F AAS using discrete nebulization. *Fuel*, 93: p. 167-171, **2012**.

74. Tagliabue, S.; Gasparoli, A.; Della Bella, L.; Bondioli, P., Influence of metal contamination on biodiesel thermo-oxidation stability. *Rivista Italiana Sostanze Grasse*, 87: p. 87-94, **2006**.

75. Fazal, M. A.; Haseeb, A. S. M. A.; Masjuki, H. H., Comparative corrosive characteristics of petroleum diesel and palm biodiesel for automotive materials. *Fuel Processing Technology*. 91: p. 1308-1315, **2010**.

76. Nunes, L. S.; Barbosa, J. T. P.; Fernandes, A. P.; Lemos, V. A.; Santos, W. N. L.; Korn, M. G. A. Teixeira, L. S. G.; Multi-element determination of Cu, Fe, Ni and Zn content in vegetable oils samples by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry and microemulsion sample preparation. *Food Chemistry*, 127: 780-783, **2011**.

77. BS EN 14538:2002. Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of calcium, sodium, potassium and magnesium content by optical emission spectral analysis with inductively coupled plasma. CEN, **2002**.

78. ABNT NBR 15556:2008. Produtos derivados de óleos e gorduras – Ésteres metálicos/etílicos de ácidos graxos – Determinação do teor de sódio, potássio, magnésio e cálcio por espectrometria de absorção atômica. ABNT, **2008**.

79. EN 14214 - “Automotive fuels – Fatty acid methyl esters for diesel engines – requirements and test methods”, CEN, European Committee for Standardization, Bélgica, **2002**.

80. Sarin, A.; Arora, R.; Singh, N. P.; Sharma, M.; Malhotra, R. K.; Influence of metal contaminants on oxidation stability of Jatropha biodiesel. *Energy Fuel*, 34: 1271-1275, **2009**.

81. Zmozinski, A. V.; Jesus, A.; Vale, M. G. R.; Silva, M. M.; Determination of calcium, magnesium and zinc in lubricating oils by flame atomic absorption spectrometry using a three-component solution. *Talanta*, 83: 637-643, **2010**.
82. Borges, D. L. G.; Curtius, A. J.; Welz, B.; Heitmann, U. Fundamentos da Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua. *Revista Analytica*, 18: 58-67, **2005**.
83. Welz, B.; Sperling, M. Atomic Absorption Spectrometry. 3rd ed. Weinheim: Wiley-VCH, **1999**.
84. Curtius, A. J. Espectrometria de Absorção Atômica. Parte I: Princípios da técnica por forno de grafite. *Revista de Química Industrial*, 685: 20-22, **1982**.
85. 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 GF AAS. *Fuel*, 88: 1907-1914, **2009**.
86. Reyes, M. N. M.; Campos, R. C.; Determination of copper and nickel in vegetable oils by direct sampling grafite furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 70: 929-932, **2006**.
87. Resano, M.; Rello, L.; Flórez, M.; Belarra, M. A.; On the possibilities of high-resolution continuum source grafite furnace atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple atomic lines. *Spectrochimica Acta*, Parte B, 66: 321-328, **2011**.
88. Welz, B.; High Resolution Continuum source AAS: the better way to perform atomic absorption spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 381: 753-761, **2005**.
89. Nowka, R.; GTI Labor-Fachzeitschrift, 47: 518, 2003. In: Monteiro, M. R.; Ambrozini, A. R. P.; Lião, L. M.; Ferreira, A. G.; Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. *Talanta*, 77: 593-605, **2008**.
90. Oliveira, 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**.
91. Souza, R. M.; Leocádio, L. G.; Silveira, 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**.
92. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A., Princípios de Análise Instrumental. Trad. Ignez Caracelli, et. al., *Bookman*, **2002**.

93. Korn, M.; Santos, D. S. S.; Welz, B.; Vale, M. G. R.; Teixeira, A. P.; Lima, D. 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**.
94. BS EN 14107:2003. Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of phosphorus content by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. CEN, **2003**.
95. Evans, E. H.; Giglio, J. J. Interferences inductively coupled plasma mass spectrometry, A review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 8: 1-18, **1993**.
96. Krug, F. J. Métodos de Preparo de Amostras. 4 ed, **2010**.
97. BS EN 14108:2003. Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of sodium content by atomic absorption spectrometry. CEN, **2003**.
98. BS EN 14109:2003. Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of potassium content by atomic absorption spectrometry. CEN, **2003**.
99. ABNT NBR 15554:2008. Produtos derivados de óleos e gorduras – Ésteres metálicos/etílicos de ácidos graxos – Determinação do teor de sódio por espectrometria de absorção atômica. ABNT, **2008**.
100. ABNT NBR 15555:2008. Produtos derivados de óleos e gorduras – Ésteres metálicos/etílicos de ácidos graxos – Determinação do teor de potássio por espectrometria de absorção atômica. ABNT, **2008**.
101. Edlund, M.; Visser, H.; Heitland, P.; Analysis of biodiesel by argon-oxygen mixed-gas inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 17, n. 3, p. 232-235, **2002**.
102. 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**.
103. Pelizzetti, E.; Pramauro, E. Analytical Applications of Organized Molecular Assemblies. *Analytica Chimica Acta*. 169: 1-29, **1985**.
104. Becher, P.; Emulsions: Theory and Practice. 2 ed. New York: Reinhold, **1965**.
105. 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**.
106. Tadros, T. F.; Emulsion Science and Technology. Weinheim: *Wiley-VCH*, **2009**.
107. Burguera, J. L. Burguera, M. Analytical applications of organized assemblies for on-line spectrometry determinations: present and future – review. *Talanta*. 64: 1099-1108, **2004**.

108. Burguera, J. L. Burguera, M. Analytical applications of emulsions and microemulsions. *Talanta*, 96: 11-20, **2012**.
109. Aranda, P. R.; Pacheco, p. h.; Olsina, R. A.; Martinez, L. D.; Gil, R. A.; Total and inorganic Mercury determination in biodiesel by emulsion sample introduction and FI-CV-AFS after multivariate optimization. *Journal. Analytical. Atomic*. 24: 1441-5, 2009.
110. Formariz, T. P.; Urban, M. C. C.; Silva, A. A. J.; Gremião, M. P. D.; Oliveira, A. G.; Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 41, **2005**.
111. Amais, R. S. Garcia, E. E.; Monteiro, M. R.; Nogueira, A. R. A.; Nóbrega, J. A. Direct analysis of biodiesel microemulsion using na inductively coupled plasma mass spectrometry. *Microchemical Journal*, 96: 146-150, **2010**.
112. Silva, J. S. A.; Chaves, E. S.; Santos, E. J.; Pierre, T. D. S.; Frescura, V. L. A.; Curtius, A. J. Calibration techniques and modifiers for the determination of Cd, Pb and Tl in biodiesel s microemulsion by grafite furnace atomic absorption spectrometry. *Jornal of the Brazilian Chemical Society*, 21: 620-626, **2010**.
113. Lobo, F. A.; Goveia, D.; Oliveira, A. P.; Romão, L. P. C.; Fraceto, L. F.; Dias, N. L. F.; Rosa, A. H.; Development of a method to determine Ni and Cd in biodiesel by grafite furnace atomic absorption spectrometry. *Fuel*, 90: 142-146, **2011**.
114. Ghisi, M. Chaves, E. S.; Quadros, D. P. C.; Marques, E. P.; Simple method for the determination of Cu and Fe electrothermal atomic absorption spectrometry in biodiesel treated with tetramethylammonium hydroxide. *Microchemical Journal*. 98: 62-65, **2011**.
115. Rapta, P.; Paligová, J. Hotheneder, H.; Cvangros, *Journal. Chemical Pap*. 61 (5): 337, **2009**.
116. Castilho, M. S.; Stradiotto, N. R. Determination of potassium íons in biodiesel using a nickel (II) hexacyanoferrate-modified electrode. *Talanta*. 74: 1630-1634, **2008**.
117. Martiniano, Lorena de Carvalho. Validação de um método para determinação de metais em microemulsões de combustíveis por voltametria de redissolução. João Pessoa, *Tese de Doutorado em Química*, **2009**.
118. Frazão, E. V. P.; Determinação simultânea de metais em biodiesel por voltametria de redissolução anódica usando eletrodo de filme de mercúrio em meio alcoólico. São Luís, *Dissertação de Mestrado em Química – Programa de Pós Graduação em Química*, Universidade Federal do Maranhão, **2010**.
119. Leite, F. Validação em Análise Química: Campinas: *Átomo*, **1996**.
120. INMETRO-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>.

121. Meeravali, N. N.; Kumar, S. J; The utility of a W-Ir permanent chemical modifier for the determination of Ni and V in emulsified fuel oils and naphtha by transverse. heated electrothermal atomic absorption spectrometer, *Journal Analytical Atom*, 16(5): 1552-1554, **2001**.
122. Villafranca, C. A. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brazil: **2004**.
123. Bettinelli, M.; Baffi, C.; Beone, G.M.; Spezia, S. Soil and sediment analysis by spectroscopic techniques. Part I: Determination of Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn. *Atomic Spectroscopy*, 21, 2: 50-59, **2000a**.
124. Bettinelli, M.; Beone, G.M.; Spezia, S.; Baffi, C. Determination of heavy metals in soils and sediments by microwave-assisted digestion and inductively coupled plasma optical emission spectrometry analysis. *Analytica Chimica Acta*, 424: 289-296, **2000c**.
125. Shaw, Duncan J., Introdução à Química dos Colóides e de Superfície, Ed. Edgar Blucher, pg. 121, **1975**.
126. Skoog, W, Holler, C., Fundamentos de Química Analítica, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, pg. 236-240, **2006**.
127. Vogel C., Análise Química Quantitativa, 6ª Edição, LTC- Ed. Rio de Janeiro-RJ, **2002**.
128. Harris, D. C., Análise Química Quantitativa , 6ª Edição, LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro-RJ, **2005**.
129. Rossi, C. G. F. T.; Dantas, T. N. de C.; Neto, A. A. D.; Maciel, M. A. M. Microemulsões: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. *Revista Universidade Rural: Série Ciências Exatas e da Terra*, Seropédica, RJ: EDUR, v. 26, n. 1-2, p. 45-66, jan-dez, **2007**.
130. Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, 27 (5): 771-780, **2004**.