

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO  
PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM BIODIESEL  
E ÓLEO VEGETAL POR ESPECTROMETRIA DE  
ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA**

Dissertação de mestrado

**ALEXANDRE DE JESUS**

Porto Alegre, agosto de 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ALEXANDRE DE JESUS**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO  
PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM BIODIESEL  
E ÓLEO VEGETAL POR ESPECTROMETRIA DE  
ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA**

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

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Messias da Silva  
Orientadora**

Porto Alegre, agosto de 2008

A presente dissertação foi realizada inteiramente por Alexandre de Jesus, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre agosto de 2006 e agosto de 2008, 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:**



Prof. Dr. Reinaldo Calixto Campos



Prof. Dra. Márcia Martinelli



Prof. Dra. Maria Goreti Rodrigues Vale



Prof. Dra. Márcia Messias da Silva  
Orientadora

**Alexandre de Jesus**

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais.

“O motor Diesel pode ser alimentado com óleos vegetais e poderá ajudar consideravelmente o desenvolvimento da agricultura nos países onde ele funcionar. Isto parece um sonho do futuro, mas eu posso predizer com inteira convicção que esse modo de emprego do motor Diesel pode, num tempo dado, adquirir uma grande importância”

Rudolf Diesel  
(1858-1913)

## SINCEROS AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Márcia Messias da Silva, por toda orientação, compreensão e amizade.

À Professora Dra. Maria Goreti Rodrigues Vale, por todo apoio e incentivo.

À minha família, que sempre me apoiou nas minhas decisões.

À Vera Maria da Costa Dias, pela ajuda nos estudos iniciais e a todo pessoal da CIENTEC.

Ao Professor Dr. Reinaldo Calixto Campos, pelo fornecimento de várias amostras de biodiesel.

À Professora Dra. Márcia Martinelli, pela ajuda na obtenção de amostras de biodiesel, no início do trabalho.

À Professora Dra. Elina Bastos Caramão, pelas amostras fornecidas por seu grupo de pesquisa.

Aos demais professores do Instituto de Química, que forneceram amostras para o trabalho.

Ao Eder Jose dos Santos, da TECPAR, por me enviar algumas amostras de seu laboratório.

Às bolsistas que muito me ajudaram Mariana, Tamara e Alessandra.

Aos colegas do grupo de pesquisa, Isabel, Nédio e Morgana, sempre dispostos a ajudar.

Às minhas colegas de laboratório, Fabrina e Fernanda, pela amizade e cooperação.

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

Aos Professores da Pós-Graduação do Instituto de Química da UFRGS.

A todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho.

## **PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA POR ESTE TRABALHO**

### **Trabalhos resumidos apresentados em eventos**

#### **1. 9th Rio Symposium on Atomic Spectrometry**

**Título:** The use of microemulsion for potassium determination in biodiesel samples by F AAS

**Autoria:** Alexandre de Jesus, Márcia M. Silva e Maria Goreti R. Vale

**Sessão:** Apresentação Oral

**Local:** Barquisimeto – Venezuela

**Data:** 5 a 10 de novembro de 2006

#### **2. Colloquium Analytische Atomspektroskopie CANAS 07**

**Título:** Determination of residual catalyst in biodiesel samples through microemulsion and detection by F AAS

**Autoria:** Alexandre de Jesus, Mariana S. Assis, Márcia M. Silva e Maria Goreti R. Vale

**Sessão:** Pôster

**Local:** Konstanz - Alemanha

**Data:** 18 a 21 de março de 2007

#### **3. 14º Encontro Nacional de Química Analítica**

**Título:** Determinação de sódio e potássio em amostras de biodiesel e óleos vegetais através do uso de microemulsões e detecção por F AAS

**Autoria:** Alexandre de Jesus, Mariana S. Assis, Tamara S. Castilhos, Márcia M. Silva, Maria Goreti R. Vale

**Sessão:** Apresentação Oral e Pôster

**Local:** João Pessoa – PB

**Data:** 7 a 11 de outubro de 2007

#### **4. XIX Salão de Iniciação Científica**

**Título:** Determinação de sódio e potássio em amostras de biodiesel e óleos vegetais através do uso de microemulsões e detecção por F AAS

**Autoria:** Mariana S. Assis, Alexandre de Jesus, Márcia M. Silva e Maria Goreti R. Vale

**Sessão:** Apresentação Oral e Pôster

**Local:** UFRGS, Porto Alegre, RS

**Data:** 22 a 26 de outubro de 2007

#### **5. 10th Rio Symposium on Atomic Spectrometry**

**Título:** Determination of alkaline earth metals in biodiesel samples by F AAS: application of microemulsified systems as sample preparation

**Autoria:** Alexandre de Jesus, Tamara S. Castilhos, Alessandra Q. Costa, Márcia M. Silva e Maria Goreti R. Vale

**Sessão:** Pôster

**Local:** Salvador - Bahia

**Data:** 7 a 12 de agosto de 2008

#### **6. XX Salão de Iniciação Científica**

**Título:** Determinação de magnésio e cálcio em biodiesel e óleos vegetais na forma de microemulsões por espectrometria de absorção atômica com chama

**Autoria:** Alessandra Q. Costa, Alexandre de Jesus, Tamara S. Castilhos, Márcia M. Silva e Maria Goreti R. Vale

**Sessão:** Apresentação Oral e Pôster

**Local:** UFRGS, Porto Alegre, RS

**Data:** 20 a 24 de outubro de 2008



**Artigo completo publicado em periódico**

**The use of microemulsion for determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry**

**Autoria:** Alexandre de Jesus, Márcia M. Silva, Maria Goreti R. Vale

Talanta, **2008**, 74, 1378-1384

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	i
LISTA DE TABELAS.....	ii
LISTA DE ABREVIATURAS .....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 BIODIESEL .....	4
2.1.1 Definição .....	4
2.1.2 Obtenção do biodiesel .....	4
2.2 ÓLEOS VEGETAIS.....	6
2.3 DETERMINAÇÃO DE METAIS EM COMBUSTÍVEIS.....	7
2.3.1 Origem dos metais nos combustíveis.....	7
2.3.2 Presença de metais no biodiesel.....	8
2.3.3 Técnicas analíticas .....	9
2.3.4 Métodos de preparação de amostra.....	11
2.3.5 Determinação de metais em biodiesel.....	16
2.3.6 Determinação de metais em óleos vegetais.....	19
3. PARTE EXPERIMENTAL .....	21
3.1 INSTRUMENTAÇÃO .....	21
3.2 REAGENTES E SOLUÇÕES .....	22
3.3 ARMAZENAMENTO DE SOLUÇÕES E LIMPEZA DO MATERIAL .....	22
3.4 AMOSTRAS .....	23
3.5 PROCEDIMENTO.....	24
3.5.1 Preparo das microemulsões .....	24
3.5.2 Preparo dos padrões e amostras para determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio segundo as normas EN 14108, EN 14109 e ABNT NBR 15556.....	24
3.5.3 Testes de recuperação.....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	26
4.1 FORMAÇÃO DAS MICROEMULSÕES.....	26
4.2 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS INSTRUMENTAIS .....	28

4.3 ESTUDOS DE ESTABILIDADE .....	29
4.3.1 Estabilidade em xileno .....	29
4.3.2 Estabilidade em microemulsão .....	30
4.4 PARÂMETROS DE MÉRITO .....	31
4.5 DETERMINAÇÃO DE SÓDIO, POTÁSSIO, MAGNÉSIO E CÁLCIO EM BIODIESEL E ÓLEO VEGETAL .....	35
4.6 TESTES DE RECUPERAÇÃO .....	38
5. CONCLUSÕES.....	42
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44

## LISTA DE FIGURAS

	<i><b>Pg.</b></i>
<b>Figura 1.</b> Reação de transesterificação de triglicerídeos.....	5
<b>Figura 2.</b> Mecanismo de catálise alcalina empregado na transesterificação de triglicerídeos.....	6
<b>Figura 3.</b> Potencialidade de produção de oleaginosas no Brasil.....	7
<b>Figura 4.</b> Reação genérica de saponificação.....	9
<b>Figura 5.</b> Representação esquemática de gotículas das microemulsões W/O e O/W.....	14
<b>Figura 6.</b> Diagrama de fases para biodiesel, água, Triton X-100 e co-surfactante, misturados a 25° C.....	27
<b>Figura 7.</b> Estudo da estabilidade dos analitos (Na, K, Ca e Mg) de padrões orgânicos e de amostras de biodiesel diluídos em xileno.....	30
<b>Figura 8.</b> Estudo da estabilidade dos analitos (Na, K, Ca e Mg) de padrões inorgânicos e de amostras de biodiesel em microemulsões.....	31

## LISTA DE TABELAS

	<i>Pg.</i>
<b>Tabela I.</b> Aplicação de diferentes técnicas associadas ao uso de emulsões ou microemulsões para determinação de metais em combustíveis automotivos.....	15
<b>Tabela II.</b> Parâmetros instrumentais utilizados para as determinações.....	21
<b>Tabela III.</b> Amostras de biodiesel analisadas neste trabalho e os respectivos materiais de partida utilizados para obtenção das mesmas.....	23
<b>Tabela IV.</b> Parâmetros das curvas de calibração obtidos com padrões aquosos.....	32
<b>Tabela V.</b> Curvas de calibração e concentrações características obtidas para ambos os métodos.....	33
<b>Tabela VI.</b> Parâmetros de mérito para a determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio nas amostras de biodiesel obtidos por F AAS usando microemulsões e diluição com xileno.....	35
<b>Tabela VII.</b> Determinação de sódio em amostras de biodiesel por F AAS.....	36
<b>Tabela VIII.</b> Determinação de potássio em amostras de biodiesel por F AAS.....	37
<b>Tabela IX.</b> Determinação de magnésio em amostras de biodiesel por F AAS.....	37
<b>Tabela X.</b> Determinação de cálcio em amostras de biodiesel por F AAS.....	38
<b>Tabela XI.</b> Testes de recuperação para sódio realizados com diluição com xileno e microemulsões.....	39
<b>Tabela XII.</b> Testes de recuperação para potássio realizados com diluição com xileno e microemulsões.....	40
<b>Tabela XIII.</b> Testes de recuperação para magnésio realizados com diluição com xileno e microemulsões.....	40
<b>Tabela XIV.</b> Testes de recuperação para cálcio realizados com diluição com xileno e microemulsões.....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ABNT / NBR - Associação Brasileira de Normas Técnicas / Norma Brasileira
- C<sub>o</sub> – Concentração característica
- CV AAS - Espectrometria de absorção atômica com vapor frio (do inglês *Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry*)
- EN – Norma européia (do inglês *European Norm*)
- 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*)
- GF AAS – Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)
- HR CS AAS – Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (do inglês, *High-Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry*)
- ICP-MS – Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)
- ICP OES – Espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (do inglês *Inductively Coupled Plasma Spectrometry*)
- LOD – Limite de detecção (do inglês *Limit of Detection*)
- LOQ – Limite de quantificação (do inglês *Limit of Quantification*)
- ME - Microemulsão
- O/W– Microemulsão óleo-em-água (do inglês *Oil-in-water microemulsion*)
- R – Fator de correlação
- RSD – Desvio padrão relativo (do inglês *Relative Standard Deviation*)
- SD – Desvio padrão (do inglês *Standard Deviation*)
- SS-GF AAS - Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (do inglês *Solid Sampling Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)
- W/O– Microemulsão água-em-óleo (do inglês *Water-in-oil microemulsion*)

## RESUMO

Os metais sódio, potássio, magnésio e cálcio podem danificar a estabilidade do biodiesel, pois tendem a reagir com ésteres e produzir sabão. Neste trabalho foi desenvolvido um método para a determinação desses metais em amostras de biodiesel e óleo vegetal, através da microemulsificação das amostras e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS). Amostras de biodiesel obtidas de diferentes fontes e de óleo vegetal foram analisadas. Foram obtidas microemulsões do tipo óleo-em-água pela mistura de biodiesel ou óleo vegetal, um surfactante, água e um co-surfactante. Na fase aquosa das microemulsões, foram adicionados  $\text{HNO}_3$  diluído e padrões inorgânicos dos metais para calibração. Vantagens em relação ao método de diluição com solvente, que é o método oficial adotado para as determinações (método de referência) foram observadas, tais como: maior estabilidade dos analitos no meio microemulsificado, possibilidade de calibração usando padrões aquosos nas microemulsões, limites de quantificação melhores e não utilização de solventes orgânicos carcinogênicos. Os resultados obtidos pelo método proposto foram concordantes com os resultados obtidos pelo método de referência, tornando assim o novo método uma eficiente alternativa para a determinação de metais em biodiesel, além de suprir as deficiências apresentadas pelo método de diluição com solvente.

## ABSTRACT

The metals sodium, potassium, magnesium and calcium can damage biodiesel stability because these metals tend to react with esters and produce soap. In this work a method was developed for the determination of these metals in biodiesel and vegetable oil samples, through microemulsification of the samples and determination by flame atomic absorption spectrometry (F AAS). Biodiesel samples obtained from different sources and vegetable oil samples were analyzed. The water-in-oil microemulsion systems were obtained mixing biodiesel, a surfactant, water and a co-surfactant. Inorganic standards were added within the water portion to prepare the microemulsions used for calibration and nitric acid. The proposed method was compared with the method adopted by Brazilian's regulations of dilution with organic solvent (reference method) for these determinations and some advantages were observed, as: higher stability of analytes in the microemulsions, feasibility of calibration using aqueous standards in the microemulsions, better limits of quantification and no use carcinogenic solvents. The results obtained by the new proposed method were a good agreement with the results obtained by the reference method. The new proposed method was an efficient alternative for the determination of metals in biodiesel, and overcome some deficiencies presented by the dilution method.



# 1. INTRODUÇÃO

Os combustíveis derivados do petróleo ocupam lugar de destaque na obtenção de energia por nossa sociedade. Durante anos eles têm promovido o desenvolvimento das nações, junto com o carvão e o gás natural.

Com a diminuição das reservas de petróleo e a busca por fontes renováveis de energia, a utilização de combustíveis alternativos aos combustíveis derivados do petróleo tem se tornado uma realidade. Combustíveis provenientes de fontes renováveis, ou seja, provenientes de biomassa, estão entre as alternativas para substituir os combustíveis derivados de petróleo.

O Brasil, devido a sua grande extensão territorial, associada às excelentes condições climáticas, é um dos países mais propícios para produção de biomassa para fins energéticos. O país é pioneiro na produção e utilização em larga escala de etanol como biocombustível. Com o Programa Nacional do Alcool – PROALCOOL, implementado na década de 70, passou-se a utilizar etanol, de forma extensiva, em veículos movidos normalmente à gasolina. Entre erros e acertos, esse programa apresentou um saldo positivo, pois as metas foram atingidas e superadas, demonstrando, sobretudo, a potencialidade brasileira para produção de biomassa para geração de energia.

Na década de 70, a Universidade Federal do Ceará desenvolveu pesquisas com o intuito de encontrar fontes alternativas de energia. As experiências acabaram por revelar um novo combustível originário de óleos vegetais e com propriedades semelhantes ao óleo diesel convencional, o biodiesel<sup>1</sup>. A primeira patente de produção de biodiesel foi obtida por esta instituição. O novo combustível foi obtido através da reação de óleos vegetais com alcoóis de cadeia curta na presença de catalisador. Embora tenham sido realizados vários testes com o novo combustível, que constataram a viabilidade técnica da utilização do biodiesel como combustível, os elevados custos de produção em relação ao diesel convencional, impediram seu uso em escala comercial.

Enquanto no Brasil o novo combustível não tenha recebido destaque, devido aos elevados custos de produção, governos de países europeus e dos Estados Unidos passaram a desenvolver e testar diferentes biocombustíveis, entre eles o biodiesel. Nos últimos anos, com a elevação constante do preço do barril de petróleo e o interesse do Governo Federal em reduzir sua importação, a utilização de biodiesel passou a ser vista com interesse. O Ministério de Ciência e Tecnologia, em outubro de 2002, lançou o Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico do Biodiesel – PROBIODIESEL. Esse programa tem os objetivos de desenvolver as tecnologias de produção e o mercado de consumo de biocombustíveis. O PROBIODIESEL

também visa desenvolver e homologar as especificações do novo combustível e atestar a viabilidade e a competitividade técnica, econômica, social e ambiental, a partir de testes de laboratório, bancada e campo.

O governo brasileiro, seguindo o exemplo de alguns países europeus, pretende tornar o biodiesel uma fonte viável de energia através da isenção de tributos na cadeia produtiva de obtenção de biodiesel, como ocorreu na Alemanha.

As grandes motivações para a produção de biodiesel atualmente são os benefícios econômicos, sociais e ambientais que esse novo combustível pode trazer. O benefício econômico é decorrente da redução ou eliminação da importação de petróleo, podendo tornar o país auto-suficiente na obtenção de combustíveis.

O cultivo das diferentes oleaginosas pode promover a inclusão social e o desenvolvimento regional, especialmente via geração de emprego e renda. A produção de oleaginosas em lavouras familiares faz com que o biodiesel seja uma alternativa importante para diminuir a miséria no país, pela possibilidade de ocupação de enormes contingentes de pessoas.

O país apresenta cerca de 140 milhões de hectares agriculturáveis, o que o torna praticamente o país com a maior capacidade do mundo de expansão de sua produção de oleaginosas para produção de biodiesel. Algumas espécies de oleaginosas que possuem potencial para serem utilizadas como matéria-prima na produção de biodiesel já são cultivadas no país, tais como a soja, o girassol e o dendê. Embora o óleo de soja seja a matéria-prima com maior potencial para atender a demanda por biodiesel, a matriz de produção desse combustível renovável deve considerar a aptidão física e as necessidades de desenvolvimento de cada região brasileira. Várias outras espécies de oleaginosas podem ser utilizadas tais como mamona, algodão, palma, coco, babaçu, entre muitas outras.

Além das oleaginosas, para produção de biodiesel podem ainda ser utilizados resíduos da indústria agropecuária e aviária, tais como sebo bovino e óleo de frango. A utilização de óleo de fritura usado também pode ser uma alternativa.

Benefícios ambientais também são relatados na utilização do biodiesel, isso porque o CO<sub>2</sub> liberado na queima do biodiesel será absorvido quando as oleaginosas estão crescendo, criando assim um ciclo fechado de carbono, o que não ocorre com os combustíveis derivados do petróleo. A presença de CO<sub>2</sub> na atmosfera leva ao agravamento do efeito estufa, com efeitos danosos para o planeta. Ainda, se pode relatar a diminuição de gases como monóxido de carbono, hidrocarbonetos, compostos poliaromáticos e óxidos de enxofre<sup>2</sup>.

A realização de vários testes em todo o mundo com várias formas de biodiesel comprovou que há viabilidade técnica para o uso em motores diesel convencionais, mas

deve-se salientar que qualquer alteração no combustível ou mesmo a adoção de combustíveis alternativos, diferentes do óleo diesel, podem exigir adaptações no motor<sup>3</sup>. Contudo, se forem utilizadas pequenas proporções de biodiesel misturado ao diesel não há necessidade de modificação do motor. Assim, não seriam necessárias alterações na regulagem e na tecnologia de peças e componentes. Seria necessário apenas que o biodiesel apresentasse um padrão de qualidade, bem definido<sup>4</sup>.

Várias análises são necessárias para a determinação da qualidade do biodiesel, entre elas a determinação do ponto de fulgor, da viscosidade, do número de cetano, da massa específica e a determinação de alguns elementos<sup>5</sup>. A determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio no biodiesel é importante, por esses elementos terem a capacidade de reagir com ésteres ou ácidos graxos livres e formarem sabões insolúveis, sendo que esses sabões podem causar entupimento de filtro, com conseqüente danos no avanço a injeção, desvio do início da injeção ou na quantidade injetada e ainda formação de depósitos em bicos injetores e peças fixas<sup>6</sup>. Além destes elementos, também é necessária a determinação de fósforo, devido à presença deste elemento dificultar a purificação do biodiesel e poder levar a formação de incrustações de fosfatos no motor<sup>7</sup>. Métodos rápidos, simples e exatos para a quantificação desses elementos devem ser então aplicados, tanto para as amostras de biodiesel assim como para a matéria-prima de sua fabricação.

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de método analítico para a determinação de elementos metálicos de interesse (sódio, potássio, magnésio e cálcio) em amostras de biodiesel, utilizando-se microemulsões como método de preparação das amostras e quantificação por F AAS. A utilização do mesmo método, para a determinação dos mesmos metais em amostras de óleo vegetal utilizados como matéria-prima para produção de biodiesel, foi também investigada.

Esse objetivo foi alcançado por meio dos seguintes objetivos específicos:

- Estudos de formação de microemulsões de biodiesel.
- Estudos da estabilidade de microemulsões e de analitos em microemulsões.
- Verificação da exatidão do novo método proposto através da comparação dos resultados obtidos com os resultados obtidos com as normas européias para determinação desses metais.
- Aplicação de microemulsões para análise de óleo vegetal.
- Avaliação dos efeitos de matriz, através de testes de recuperação.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 BIODIESEL**

#### **2.1.1 Definição**

A definição para biodiesel, segundo a Lei nº 11.097, de 13 de setembro de 2005 é: “Biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil”<sup>8</sup>. Entre as fontes para sua produção estão os óleos vegetais, gorduras animais e óleos residuais de fritura. Assim como o diesel de petróleo, o biodiesel opera em motores de ignição por compressão e, essencialmente, requer poucas ou nenhuma modificações nos motores, porque ele apresenta propriedades similares ao diesel mineral. Ele pode ser estocado como diesel mineral e não necessita infra-estrutura separada<sup>5</sup>.

A mistura biodiesel/diesel é designada como sendo "BX", onde X refere-se à percentagem em volume do biodiesel que é misturado ao diesel do petróleo, assim, B2, B5, B20 e B100 referem-se, respectivamente às misturas de biodiesel/diesel contendo 2, 5, 20 e 100% de biodiesel.

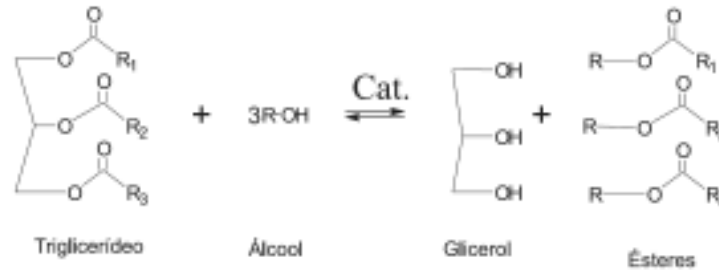
O governo brasileiro optou inicialmente pela adição de 2% de biodiesel ao diesel de petróleo (B2), em vigor a partir de 2008, e posteriormente, aumentar este percentual para 5% de biodiesel (B5) até o final de 2013. Com a elevação gradativa do percentual de biodiesel adicionado ao diesel haverá tempo para aumentar a capacidade de produção de matéria-prima para obtenção de biodiesel.

#### **2.1.2 Obtenção do biodiesel**

O processo de obtenção do biodiesel é composto pelas seguintes etapas: preparação da matéria-prima, reação de transesterificação, separação das fases, recuperação e desidratação do álcool, destilação da glicerina e purificação do biodiesel<sup>9</sup>.

O biodiesel é obtido através da reação de transesterificação (figura 1), que consiste na reação de um triglicerídeo (óleo vegetal ou gordura animal) com um álcool (metanol ou etanol)

na presença de um catalisador, sendo os produtos formados, os ésteres e glicerol (ou glicerina)<sup>10</sup>. O termo transesterificação é devido a transformação de um éster em outro, ou seja, a transformação do triglicerídeo, que pode-se chamar de um “tri-éster” em três ésteres menores.

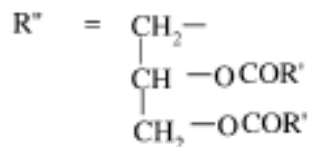
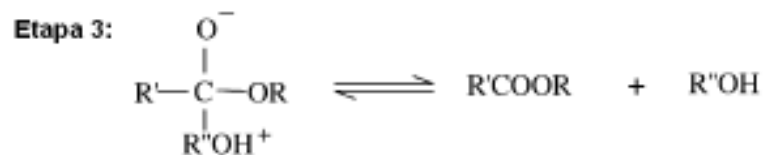
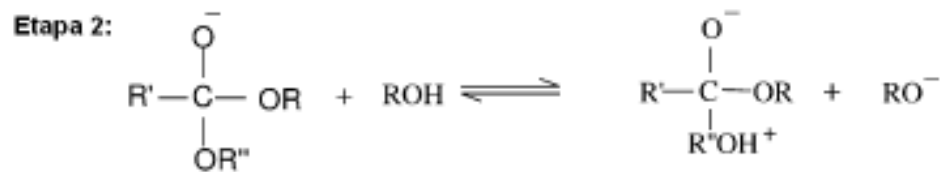
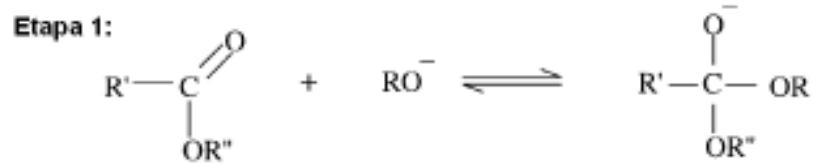
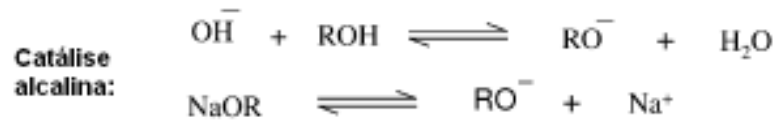


**Figura 1.** Reação de transesterificação de triglicerídeos.

A reação de transesterificação pode ser catalisada por catalisadores ácidos ou básicos, utilizando tanto processos catalíticos homogêneos quanto heterogêneos<sup>11</sup>. A transesterificação alcalina é mais rápida do que a ácida, e os catalisadores básicos são relativamente mais baratos e mais eficientes<sup>12</sup>.

Os catalisadores normalmente utilizados na produção de biodiesel são KOH, NaOH, CH<sub>3</sub>OK e CH<sub>3</sub>ONa<sup>13</sup>, ou seja, catálise alcalina. Existe ainda a possibilidade da utilização de outros catalisadores básicos, como metais alcalinos terrosos; esses, porém, normalmente são utilizados em catálise heterogênea<sup>14</sup>. A catálise heterogênea apresenta algumas vantagens frente à catálise homogênea tais como, a mais fácil separação e a possibilidade de reutilização do catalisador após a reação. Além disso, o uso de catalisadores heterogêneos não produz sabão através da neutralização dos ácidos graxos livres ou saponificação dos triglicerídeos. Entretanto, esta via de catálise é ainda desfavorável comparada à catálise homogênea<sup>15</sup>. A utilização de enzimas também é relatada na literatura, porém em geral o custo de produção é significativamente maior do que a utilização dos catalisadores básicos convencionais.

O mecanismo de catálise alcalina está descrito na figura 2. Através do mecanismo percebe-se a função do catalisador atuando diretamente na ativação da molécula de álcool. A molécula de álcool desprotonada reage com a carbonila do triglicerídeo, levando à liberação do primeiro éster, e assim sucessivamente em mais duas etapas, ocorre a liberação de mais dois ésteres e como subproduto da reação tem-se a formação de glicerina<sup>16</sup>.



**Figura 2.** Mecanismo de catálise alcalina empregado na transesterificação de triglicerídeos<sup>5</sup>.

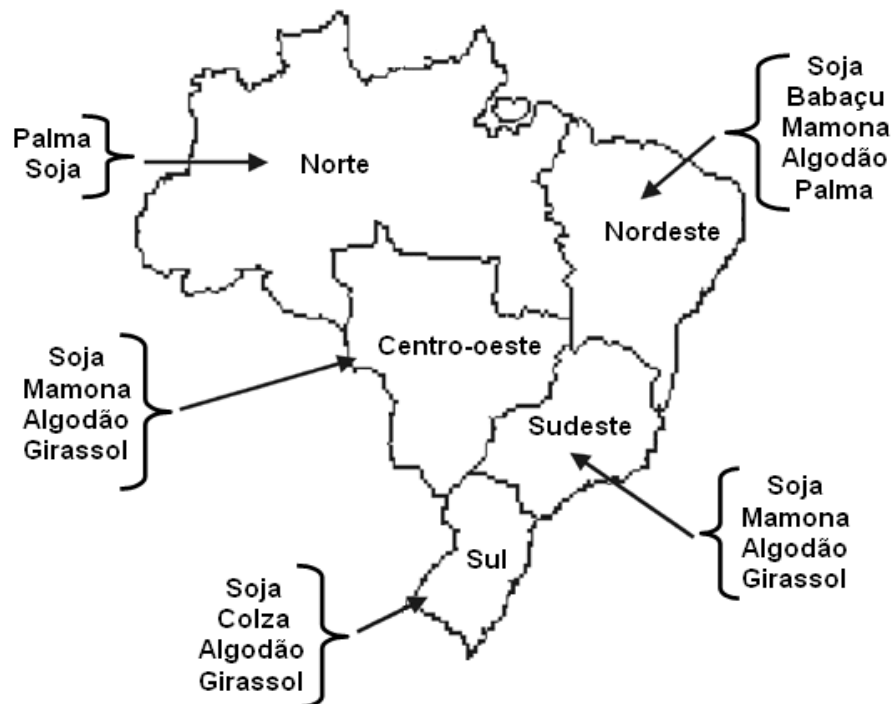
R': Cadeia carbônica de ácido graxo; R'': Grupo alquil do álcool.

## 2.2 ÓLEOS VEGETAIS

Os óleos vegetais podem ser definidos como sendo produtos naturais da condensação da glicerina com ácidos graxos, cujas cadeias laterais de ácidos graxos têm número de carbonos variando entre dezesseis e vinte, com valor médio de dezoito para os óleos mais abundantes. Os óleos vegetais podem ser definidos como sendo triésteres da glicerina<sup>16</sup>.

De acordo com a Portaria nº 795, de 15 de dezembro de 1993 do Ministério da Agricultura, do Abastecimento e Reforma Agrária, um óleo vegetal pode ser definido como o produto obtido por prensagem mecânica e/ou extração por solvente, dos grãos de oleaginosas, isento de misturas de outros óleos, gorduras ou matérias estranhas ao produto<sup>17</sup>.

Os óleos vegetais são a principal matéria-prima para a produção de biodiesel. O Brasil apresenta um grande número de oleaginosas que podem ser utilizadas para produzir óleo vegetal, com potencialidades de emprego na obtenção de biodiesel. Cada região do país apresenta características distintas umas das outras, logo, a escolha da oleaginosa que será cultivada em cada região deve levar em consideração essas características. Na figura 3 estão representadas as regiões do Brasil com as principais oleaginosas que podem ser utilizadas na produção de biodiesel.



**Figura 3.** Potencialidade de produção de oleaginosas no Brasil.

Fonte: Associação Brasileira das indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE), adaptado pelo Departamento Econômico da FAPESP.

## 2.3 DETERMINAÇÃO DE METAIS EM COMBUSTÍVEIS

### 2.3.1 Origem dos metais nos combustíveis

A presença de metais nos combustíveis automotivos pode ter diferentes origens<sup>18</sup>. Metais como níquel e vanádio são constituintes naturais do petróleo, e, conseqüentemente, podem ser encontrados em todos os seus produtos derivados, mesmo que em concentrações

muito baixas. Ferro e zinco são os principais materiais de construção para tanques de combustíveis, e, desta forma, eles podem ser transferidos para o combustível durante o transporte ou estocagem. Cobre pode ser introduzido durante os processos de destilação e refino. Outras espécies metálicas podem ser introduzidas nos combustíveis automotivos como aditivos para melhorar características específicas. Aditivos combustíveis derivados de petróleo podem conter metais como alumínio, cálcio, cério, cromo, cobalto, cobre, lantânio, chumbo, lítio, magnésio, manganês, molibdênio, níquel, prata, tálio, estanho, tungstênio, vanádio, zinco e zircônio.

### **2.3.2 Presença de metais no biodiesel**

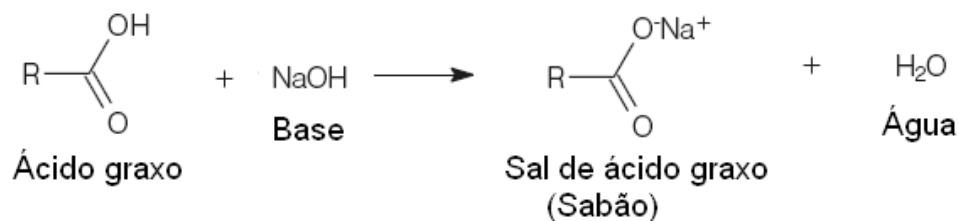
A presença dos metais alcalinos (sódio e potássio) e alcalino-terrosos (magnésio e cálcio) no biodiesel pode ser proveniente das seguintes fontes:

- dos catalisadores básicos utilizados no processo de obtenção;
- do desgaste das resinas que são utilizadas para purificação, pois essas resinas normalmente apresentam óxidos de Ca e Mg em sua composição<sup>19</sup>;
- possuir origem no próprio óleo vegetal utilizado, pois esses metais podem ser encontrados como macronutrientes das oleaginosas<sup>20</sup>.

Os catalisadores básicos utilizados no processo de fabricação do biodiesel devem ser removidos no final da reação. A remoção pode ser realizada através de sucessivas lavagens do biodiesel com água ou purificação com resinas<sup>4</sup>. A presença dos íons alcalinos e alcalinos terrosos no produto final é responsável na presença de ácidos graxos livres ou triglicerídeos, pela formação de sabões, que podem vir a causar entupimento do filtro com conseqüente dano no avanço de injeção, desvio do início da injeção ou na quantidade de combustível injetada e ainda depósitos em bicos e peças fixas.

A reação de saponificação, que consiste na reação dos íons alcalinos ou alcalinos terrosos com moléculas de ácidos graxos está mostrada na figura 4.





**Figura 4.** Reação genérica de saponificação. Onde R: Cadeia carbônica.

Percebe-se, então, a importância da remoção desses íons do produto final, garantindo assim os parâmetros de qualidade do biodiesel produzido. Segundo a Resolução da Agência Nacional de Petróleo (ANP) nº07/2008, as concentrações de potássio mais sódio e magnésio mais cálcio não devem ultrapassar  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  no biodiesel, para evitar a formação de sabão que irá gerar os inconvenientes já citados nos motores.

### 2.3.3 Técnicas analíticas

As técnicas empregadas para determinação de metais em combustíveis e biocombustíveis normalmente são técnicas espectroanalíticas. Entre essas técnicas as principais utilizadas são: Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS), Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite (GF AAS), Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES) e Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-MS).

Essas técnicas podem ser utilizadas para a quantificação de vários metais, cada técnica de quantificação apresentando suas características distintas:

- Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS): técnica monoelementar na qual a chama é utilizada como fonte de atomização dos analitos na amostra. A solução da amostra é aspirada por um nebulizador e introduzida na chama de ar/acetileno ou  $\text{N}_2\text{O}$ /acetileno onde se evapora o solvente, e os sólidos remanescentes se separam em átomos. A F AAS é uma técnica na qual podem ocorrer efeitos de matriz, como consequência podem ocorrer interferências. As interferências de transporte podem ocorrer devido a variações na viscosidade ou tensão superficial da solução, o que influencia na eficiência de seu transporte para a chama e, portanto, na quantidade de analito na chama. A F AAS é provavelmente a técnica mais amplamente utilizada para a análise de metais em combustíveis devido, à sua simplicidade, alta velocidade analítica e o custo relativamente baixo de sua instrumentação e operação. Permite a

determinação da maioria dos elementos traço em combustíveis na faixa de  $\text{mg kg}^{-1}$  e limites de detecção na faixa de  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

- Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite (GF AAS): o desenvolvimento de atomizadores de grafite melhorou o LOD de 2 a 3 ordens de grandeza em comparação com a chama. A solução da amostra é introduzida, por um pipetador automático, dentro de um tubo de grafite, o qual é aquecido em etapas, até produzir vapor o atômico do analito. Requer uma otimização cuidadosa de todos os parâmetros do aquecimento para obter resultados reprodutíveis e exatos. A precisão típica para a determinação da maioria dos elementos traço por GF AAS está na faixa de 0,5-5 %. A GF AAS é menos susceptível a interferências físicas do que FAAS, na introdução da amostra, mas sua velocidade analítica é muito menor. Esta é uma desvantagem importante quando é necessário determinar um grande número de elementos de forma rotineira. É também mais susceptível a interferências espectrais, embora os corretores de fundo atuais sejam eficientes em muitos casos.

- Espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES): é uma técnica multielementar ao contrário das técnicas de AAS, que são monoelementares. Baseia-se na medida da intensidade de radiação de uma linha espectral emitida por átomos ou íons excitados, em um plasma de argônio gerado por aquecimento indutivo em um campo eletromagnético de alta frequência. O plasma alcança uma temperatura de 5500-10000 K. Isto leva a uma vaporização completa do analito e uma alta eficiência de atomização e excitação. A solução da amostra é introduzida via nebulizador para o plasma, utilizando como carreador argônio. Utilizam-se vários tipos de nebulizadores para gerar aerossóis a partir de amostras líquidas. Os LODs dessa técnica são intermediários aos da F AAS e GF AAS, para a maioria dos elementos.

- Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS): a ICP-MS é uma técnica analítica relativamente nova se comparada com os métodos já descritos, e tem se posicionado como uma técnica bastante versátil para a determinação de traços nas mais diferentes amostras. O desenvolvimento da ICP-MS se produziu com o objetivo de combinar a capacidade multielementar e ampla faixa linear de trabalho da ICP OES com os baixos limites de detecções da GF AAS. O plasma acoplado indutivamente se gera tal como se descreve anteriormente para ICP OES. Os íons produzidos no plasma são extraídos para o analisador de massa. A forma mais comum de introduzir a amostra é a injeção direta de soluções utilizando um nebulizador pneumático e uma câmara “spray”.

As técnicas nas quais se utilizam plasma como fonte de excitação apresentam uma grande desvantagem que é alto consumo de argônio, tornando o custo operacional bastante

elevado. Além de também poderem sofrer interferências físicas devido às amostras serem aspiradas para um sistema de nebulização.

A espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR CS AAS)<sup>21</sup> é uma técnica que ainda não foi utilizada para análise de combustíveis, apesar de já ter sido utilizada para análise de petróleo<sup>22,37</sup>. Esta técnica provavelmente em um curto período de tempo deve se tornar bastante utilizada para a determinação de metais em combustíveis; devido principalmente as suas características como a utilização de uma única fonte de radiação para todos os elementos, cuja determinação é possível por AAS, capacidade de realização de determinações multielementares, melhoria na relação sinal/ruído, melhor desempenho analítico na determinação de elementos traço em amostras complexas, além de outras vantagens<sup>23</sup>.

### 2.3.4 Métodos de preparação de amostra

Vários métodos de preparação de amostra podem ser utilizados para determinar metais em combustíveis. A escolha do método de preparação deve considerar fatores, como, técnica analítica instrumental que será utilizada, o número de amostras, precisão e exatidão requerida, disponibilidade de equipamentos e tempo de preparação<sup>24</sup>. Como exemplos de métodos de preparação de amostra para combustíveis podem-se citar a digestão ácida ou mineralização, diluição com solvente orgânico e preparação de emulsão/microemulsão<sup>25</sup>.

Métodos baseados em digestão ácida consistem na digestão da amostra com ácidos inorgânicos, geralmente sob aquecimento, que pode ser realizado em chapas ou blocos de aquecimento em frasco aberto ou fechado. Um aspecto positivo deste método é que a solução final obtida é compatível com várias técnicas analíticas e com a calibração com soluções aquosas. Existe ainda a possibilidade do uso de radiação de microondas para prover o aquecimento em frascos abertos ou fechados, aumentando a velocidade analítica, diminuindo as chances de contaminação, no caso de sistemas fechados e reduzindo a quantidade de reagentes utilizados para preparação da amostra<sup>26,27</sup>. Entretanto, Wondimu *et al.*<sup>28</sup> estudaram a digestão em forno de microondas para amostras de óleo combustível residual, e concluíram que a digestão em microondas em frasco fechado apresentou um teor de carbono orgânico total muito maior do que no frasco aberto. Os autores relataram ser necessário um estudo de otimização da quantidade de amostra utilizada, assim como do volume e composição dos reagentes utilizados. A presença de matéria orgânica residual pode causar dificuldades, especialmente se os analitos estiverem presentes como espécies organometálicas<sup>29</sup>. Como desvantagens da digestão ácida são relatados o tempo relativamente longo de digestão das amostras, principalmente quando realizadas em chapas de aquecimento convencional, risco de perda dos analitos por volatilização

(por exemplo, Hg, haletos de As, Se, V e Pb) e contaminação quando se trabalha com frascos abertos<sup>30,31</sup>.

A diluição com solvente é um método de preparação bastante simples e rápido, que consiste simplesmente na diluição da amostra com um solvente apropriado. Alguns exemplos de solventes utilizados são xileno, isobutilmetilcetona, dimetilbenzeno, 1,2-dimetilbenzeno, 4-metil-2-pentanona, querosene, pentano, hexano, heptano entre outros<sup>24</sup>. Solventes orgânicos usados em ICP podem requerer configurações especiais das tochas, nebulizadores e modificações no fluxo de argônio devido a natureza volátil dos solventes orgânicos, ao contrário dos solventes aquosos. Um inconveniente para aplicações em FAAS e ICP é a possibilidade de variação da viscosidade entre as amostras, causando erros nos resultados<sup>32</sup>. Outros inconvenientes também são reportados<sup>33</sup>: i) os solventes orgânicos podem produzir chamas muito ricas em combustível e instáveis para F AAS, um problema que eventualmente pode ser resolvido com simples redução do fluxo de acetileno ou aumento do fluxo de ar; ii) dificuldade de introdução de amostra em ET AAS devido à baixa viscosidade e tensão superficial; iii) espalhamento excessivo de amostra após a injeção da amostra no forno, devido à sua baixa viscosidade, quando a introdução é feita sobre a parede do tubo; iv) deposição de resíduos de carbono nos componentes do espectrômetro e desestabilização ou extinção do plasma nas técnicas que usam ICP; v) interferências devido a espécies poliatômicas contendo carbono em ICP-MS. As desvantagens do método de diluição com solventes, que afeta de forma geral qualquer técnica utilizada na detecção, são: a baixa estabilidade do analito nos padrões orgânicos diluídos para calibração<sup>34,35,36,37</sup>, custo elevado dos padrões orgânicos em relação aos padrões inorgânicos e uso de solventes com ação conhecida carcinogênica. Apesar das dificuldades citadas, o método da diluição com solvente é proposto em algumas normas técnicas para determinação de metais em combustíveis<sup>38,39,40</sup>.

A utilização de emulsões ou microemulsões como método de preparo de amostras tem sido aplicada para petróleo e seus derivados como combustíveis automotivos, como relatado em várias revisões<sup>24,30,41</sup>. Uma emulsão é um sistema heterogêneo de duas fases líquidas imiscíveis ao qual é adicionado um surfactante. Estes sistemas são formados pela agitação mecânica dos componentes e resulta em sistemas que apresentam aspecto turvo-leitoso e de baixa estabilidade, pois após algum tempo ocorre novamente a separação entre as fases<sup>42</sup>. As microemulsões são formadas pelos mesmos componentes de uma emulsão, porém normalmente é adicionado um álcool, como co-surfactante, que promove a estabilização do sistema<sup>43</sup>. Microemulsões são sistemas termodinamicamente estáveis, opticamente transparentes e estáveis por um período de tempo relativamente longo<sup>44</sup>. As microemulsões apresentam

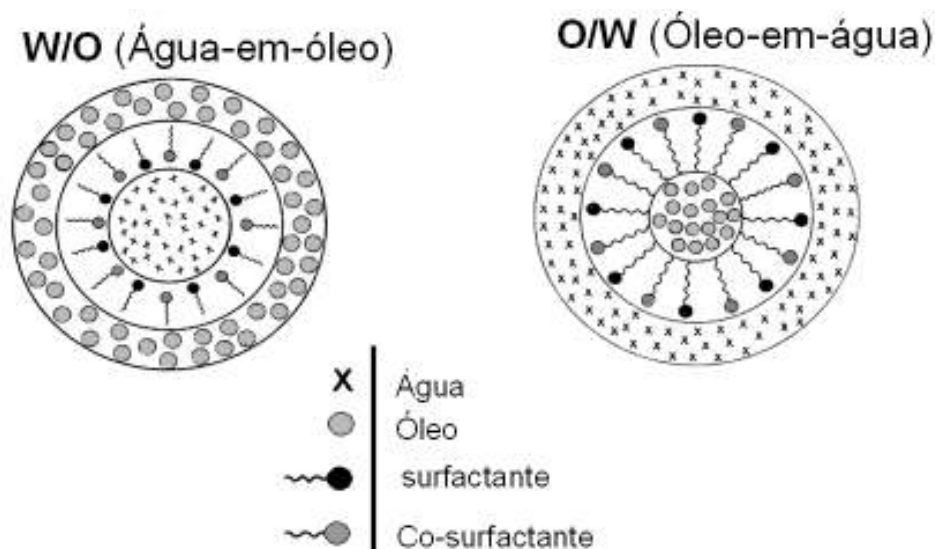
partículas com diâmetro da ordem de 1 a 100 nm dispersas em uma fase contínua; elas são na verdade sistemas micro-heterogêneos<sup>45</sup>.

Desde a descoberta das microemulsões, seu uso tanto em pesquisa básica quanto na indústria vem aumentando, devido as suas propriedades únicas, como tensão superficial muito baixa, grande área interfacial, estabilidade termodinâmica e capacidade de solubilizar outros líquidos imiscíveis.

Os usos e aplicações das microemulsões tem sido numerosos em muitas áreas<sup>46</sup>:

- a) Microemulsões preparadas com componentes biocompatíveis apresentam aplicações na indústria farmacêutica e de cosméticos. É possível a utilização de microemulsões como sistemas de liberação de drogas no organismo;
- b) Extração de petróleo, baseada na baixa tensão interfacial e boa propriedade emoliente das microemulsões, que aumenta consideravelmente a mobilização das gotículas de óleo aprisionadas nos poros dos reservatórios;
- c) Extração de metais nobres de minérios com baixo conteúdo de metais, por extração líquido-líquido e extração em 2 fases, com extratores orgânicos dissolvidos na microemulsão.
- d) Pesquisa de poluentes ambientais em amostras de solo e efluentes, por extração com microemulsões;
- e) Emprego como aditivo em lubrificantes e óleos de corte, inibindo a corrosão e elevando a capacidade térmica sem alterar a estabilidade termodinâmica do meio, devido ao incremento do conteúdo de água proporcionado pelas microemulsões;
- f) Emprego em processos de limpeza de tecidos ou superfícies sólidas, em função da baixa tensão superficial permitir ótimos resultados na remoção de contaminantes e a melhoria na qualidade dos processos de tingimento e acabamento têxtil, devido à economia de corante e de energia, por permitir operar em temperaturas mais baixas;
- g) Produção de nanopartículas de materiais como metais, semicondutores, supercondutores, materiais magnéticos e fotográficos, látex, entre outros, utilizando microemulsões como nanoreatores.

Os dois tipos principais de microemulsões são microemulsões do tipo W/O (water-in-oil, do inglês: água-em-óleo) ou microemulsões do tipo O/W (oil-in-water, do inglês: óleo-em-água)<sup>47</sup>. Na figura 5 estão representadas as estruturas das gotículas de microemulsão, e nelas percebe-se a distinção entre os dois tipos, baseado no constituinte em maior quantidade, ou água ou óleo.



**Figura 5.** Representação esquemática de gotículas de microemulsões W/O e O/W.

Outra importante aplicação das emulsões ou microemulsões, como comentado anteriormente, é a sua utilização como método de preparação de amostras. A aplicação de microemulsões na determinação de metais em combustíveis têm sido utilizada com as principais técnicas espectroscópicas atômicas, tais como F AAS, GF AAS, ICP OES e ICP-MS. Na tabela I são expostos exemplos de trabalhos nos quais foi utilizada a emulsificação/microemulsificação das amostras para determinação de metais em combustíveis.

Entre as vantagens da utilização de microemulsões como método de preparação de amostra em relação à digestão ácida, pode-se citar o tempo reduzido de preparo das amostras, utilização de apenas uma pequena proporção de ácido, o suficiente para prover maior estabilidade aos analitos nas microemulsões, além de menor risco de contaminação e perdas de elementos voláteis. Como vantagens em relação à diluição com solvente pode-se citar a possibilidade de calibração com microemulsões nas quais se podem utilizar padrões inorgânicos aquosos, ao invés dos padrões orgânicos, maior estabilidade dos analitos nas microemulsões e não utilização de solventes orgânicos carcinogênicos.

Tabela I. Aplicação de diferentes técnicas associadas ao uso de emulsões ou microemulsões para determinação de metais em combustíveis automotivos.

<b>Técnica</b>	<b>Preparo da amostra</b>	<b>Amostra</b>	<b>Analitos</b>	<b>Referências</b>
FAES	Microemulsão	Biodiesel	Na e K	48
F AAS	Emulsão	Gasolina	Mn	49
		Diesel	Ni	50
	Microemulsão	Gasolina	Cr	51
GF AAS	Emulsão	Diesel	Mo e V	52
		Diesel e gasolina	V	53
	Microemulsão	Gasolina	Cu, Fe, P e Ni	54
		Gasolina e Querosene	Sb, As e Se	55
		Diesel	V	56
		Diesel e gasolina	Ni e Pb	57
		Produtos petrolíferos	Hg	58
		Diesel e gasolina	As	31
CV AAS	Microemulsão	Gasolina	Hg	59
ICP OES	Emulsão	Gasolina	Cd, Cu, Fe e Ti	60
		Gasolina	Pb	61
		Diesel e gasolina	Mo, Cr e V	62
	Microemulsão	Diesel	Fe e Ni	63
ICP-MS	Emulsão	Gasolina	Cu, Mn, Ni e Sn	64
	Microemulsão	Diesel	Pb, Cu, Cd, Zn, Fe e Co	65
Espectrofotometria de Absorção Molecular	Microemulsão	Gasolina	Ni	66

Exemplos de trabalhos com o uso de microemulsões na determinação de metais em petróleo e derivados são relatados na literatura. Reyes *et al.*<sup>57</sup> determinaram Ni e Pb em amostras de diesel e gasolina; foram preparadas microemulsões de três componentes com as amostras, utilizando-se propanol e ácido nítrico diluído. Uma maior estabilidade dos analitos nas microemulsões foi relatada devido a utilização de ácido nítrico. Aucélio *et al.*<sup>67</sup> prepararam microemulsões de óleo lubrificante para determinação de Sb e Sn, utilizando Triton X-100 como surfactante e determinação por ET AAS, seus resultados foram concordantes quando comparados aos valores dos materiais de referência certificados. Santos *et al.*<sup>68</sup> prepararam microemulsões sem surfactante, para a determinação de cobre em condensado de petróleo por GF AAS. As microemulsões foram preparadas misturando-se condensado de petróleo, propanol, e solução de HNO<sub>3</sub>. Os resultados obtidos foram comparados com os resultados obtidos por análise direta em GF AAS, sendo concordantes. Burguera *et al.*<sup>41</sup> determinaram cromo em amostras de resíduo de óleo combustível e óleo lubrificante, através de microemulsões utilizando lauril sulfato de sódio, água e sec-butanol. ET AAS acoplado a um sistema de injeção em fluxo foi utilizado para detecção. Du *et al.*<sup>51</sup> utilizaram microemulsões para a determinação de naftalato de cromo em gasolina por F AAS e naftalato de níquel em gasolina por espectrofotometria de absorção molecular no UV-Vis<sup>66</sup>. Estes autores relataram que as microemulsões apresentam uma grande capacidade de solubilização de compostos orgânicos e inorgânicos, uma alta eficiência de nebulização e uma combustão bastante estável da chama quando as microemulsões foram analisadas. Al-Swaidan<sup>69</sup> utilizou microemulsões para determinação de Pb, Ni e V em petróleo, utilizando Tetralin como co-solvente e Triton X-100 como surfactante. Este autor relatou que seus resultados foram bastante reprodutíveis e comentou a possibilidade de aplicar microemulsões na determinação de outros elementos-traços. Outros autores também utilizaram Tetralin e Triton X-100 no preparo das microemulsões em amostras de óleo combustível<sup>70</sup> e petróleo<sup>71,72,73</sup>.

Através destes exemplos pode-se concluir que a utilização de microemulsões mostra-se uma alternativa atraente como método de preparação de amostras de petróleo e derivados, quando comparado as técnicas clássicas de digestão ácida ou a diluição com solventes, isso porque as desvantagens dos dois métodos são evitadas.

### **2.3.5 Determinação de metais em biodiesel**

Os metais normalmente monitorados no biodiesel são sódio, potássio, magnésio e cálcio, devido aos problemas já relatados. As determinações desses metais em amostras de ésteres



metílicos ou etílicos de ácidos graxos segundo as normas EN 14108<sup>38</sup>, EN 14.109<sup>39</sup> e ABNT NBR 15556<sup>74</sup> consistem na diluição da amostra com solventes orgânicos (xileno, ciclohexano ou éter de petróleo) e posterior determinação por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS). Para a realização das curvas de calibração são utilizados padrões orgânicos dos metais. A determinação de metais segundo estas normas apresenta as desvantagens já citadas anteriormente quanto à diluição com solventes orgânicos. Existe ainda a norma EN 14.538<sup>40</sup>, a qual também faz uso da diluição com solvente orgânico, no entanto, a determinação é realizada por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado.

Recentemente foram reportados alguns métodos para determinação de metais em amostras de biodiesel utilizando técnicas espectroanalíticas. Nowka<sup>75</sup> propôs o uso de espectrometria de emissão atômica com chama (FAES) para determinação de Na e K em amostras de biodiesel, após diluição com querosene. Com a aplicação de um fluxo de oxidante auxiliar (oxigênio atmosférico), foi possível eliminar o sinal de fundo observado na determinação de potássio, permitindo a determinação livre de interferentes de ambos os elementos em amostras de biodiesel. O autor destacou em seu trabalho o tempo relativamente curto das análises, não excedendo 15 minutos. Se as mesmas análises fossem realizadas por ICP OES, este tempo não seria nem mesmo suficiente para estabilizar o plasma. A utilização da técnica de ICP OES somente seria justificável se uma grande quantidade de elementos necessitasse ser determinada no biodiesel, o que na verdade não ocorre.

Chaves *et al.*<sup>48</sup> determinaram Na e K em biodiesel por F AES, através da microemulsificação das amostras. Foram combinadas as vantagens da F AES com a simplicidade da preparação da amostra por microemulsão e calibração com padrões aquosos. Foi comparada no trabalho a introdução discreta e aspiração contínua da amostra, ambas apresentando limites de detecção semelhantes, na ordem de 0,1  $\mu\text{g g}^{-1}$  para os dois analitos. Os analitos nas microemulsões apresentaram estabilidade de pelo menos 250 minutos. A exatidão do método foi avaliada através de testes de recuperação, com resultados entre 83% e 120%, e através da comparação dos resultados obtidos por ICP OES.

O uso de espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente foi proposto por Edlund *et al.*<sup>76</sup> para análise de amostras de biodiesel diluídas com querosene. A aplicação de um plasma frio de argônio-oxigênio permitiu a determinação de Na e K, em concentrações de  $\mu\text{g kg}^{-1}$  em amostras de biodiesel, devido à redução do sinal de fundo de carbono e compostos de carbono. Para a determinação de Ca e Mg não foi necessária a utilização de condições especiais. O uso de etanol como solvente para diluição das amostras de biodiesel foi proposto por Santos *et al.*<sup>68</sup> para determinação de Ca, P, Mg, K e Na por ICP OES.

Este solvente possibilitou o uso de padrões aquosos para calibração. Foi necessário um fluxo de oxigênio auxiliar para diminuir o sinal de fundo e ítrio foi utilizado como padrão interno, as recuperações obtidas ficaram entre 82% e 114% para todos os analitos analisados.

Woods e Fryer<sup>77</sup> determinaram 15 elementos em amostras de biodiesel após diluição com querosene, entre os elementos determinados estão Na, K, Ca, Mg, P, Cd, Pb, Hg entre outros. Foi utilizada a espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente, sendo utilizado um sistema de reação octopolo (ORS). Este sistema de reação removeu eficientemente as interferências espectrais baseadas na matriz e no plasma permitindo a medida de vários analitos, inclusive enxofre, à níveis abaixo dos níveis obtidos com ICP-OES.

A determinação de metais em biodiesel também foi proposta em outros trabalhos utilizando técnicas eletroanalíticas. Rapta *et al.*<sup>78</sup> descreveram o uso de um eletrodo de íon seletivo para determinação de potássio em ésteres metílicos de ácidos graxos. Os autores desenvolveram um procedimento baseado em células com dois compartimentos, separados por uma membrana celofane semipermeável, que permitia a passagem de íons  $K^+$  do biodiesel para o outro compartimento da célula, preenchido com água. O biodiesel não atravessou a membrana. Este aparato permitiu proteger o eletrodo de íon seletivo colocado na parte preenchida com água do sistema, aumentando assim o tempo de vida do eletrodo e a repetitividade das medidas eletroquímicas. O método visa ser utilizado para monitorar a eficiência das etapas de purificação do biodiesel, através da determinação de potássio residual proveniente do catalisador. A curva de calibração foi construída utilizando amostras de biodiesel com uma ampla faixa de concentração conhecida de potássio. Os resultados obtidos foram concordantes com os resultados obtidos segundo a Norma Européia 14109, que consiste na diluição das amostras com xileno e determinação por F AAS. Os autores relataram ainda a possibilidade de aplicação de um eletrodo de íon seletivo para a determinação de sódio em amostras de biodiesel.

Castillo *et al.*<sup>79</sup> realizaram a determinação de potássio em amostras de biodiesel por potenciometria utilizando um eletrodo modificado de hexacianoferrato de níquel (II)<sup>80</sup>. Para a realização das determinações foi necessária uma etapa prévia de extração líquido-líquido com HCl, para extrair o potássio do biodiesel. O método apresentou resultados similares aos resultados obtidos por fotometria de chama. Os autores relataram uma boa seletividade do método, devido à estrutura do hexacianoferrato de níquel, pois somente os íons potássio conseguem ocupar os sítios específicos na sua estrutura para garantir a neutralidade de cargas. Outros cátions presentes no biodiesel como cálcio e magnésio não conseguem esta interação

com o hexacianoferrato de níquel. Um inconveniente do método proposto foi a prévia etapa de extração com HCl, devido à possibilidade de extração incompleta do analito.

Durante a 31<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, foram expostos trabalhos referentes a determinação de outros metais em biodiesel utilizando-se microemulsões como preparação da amostra e quantificação por GF AAS ou ICP OES<sup>81</sup>. Foram estudados metais como arsênio, níquel, cádmio, cobre e outros. Esses metais normalmente não são monitorados em biodiesel, como ocorre com sódio, potássio, magnésio e cálcio; mas eles podem afetar o desempenho de motores, diminuir a estabilidade oxidativa do biodiesel, causar problemas de corrosão, envenenamento de catalisadores e indicar possíveis contaminações por transporte ou estocagem<sup>82,83</sup>. Devido aos inconvenientes que a presença desses metais podem causar no biodiesel é possível que, em curto período de tempo, outros metais passem a ser monitorados neste novo combustível.

### 2.3.6 Determinação de metais em óleos vegetais

A norma para determinação de metais em óleos vegetais consiste na digestão das amostras com ácidos inorgânicos e posterior determinação por F AAS ou ICP OES<sup>84</sup>. Várias técnicas são relatadas na literatura para determinação de metais em óleos vegetais, entre eles, a espectrofotometria de absorção molecular<sup>85,86</sup>, a voltametria<sup>85</sup>, a potenciometria<sup>87</sup>, a análise por injeção em fluxo<sup>88,89</sup>, a cromatografia<sup>90</sup>, a espectrometria de absorção atômica (AAS) com chama<sup>91,92,89</sup>, ou com atomização eletrotérmica<sup>93,94,95,96,97</sup> e ICP-MS<sup>98,99</sup>.

O uso das emulsões ou microemulsões também é reportado para análise de amostras de óleos vegetais. Johna *et al.*<sup>100</sup> estudaram a formação de emulsões de óleos vegetais usando surfactantes iônicos e não-iônicos e, após a sua avaliação, concluíram que as mesmas apresentaram boa estabilidade. Mendonça *et al.*<sup>44</sup> desenvolveram métodos para preparação de microemulsões de óleo de soja-em-água como um meio para medidas eletroanalíticas. Foi utilizado como surfactante dodecil sulfato de sódio e alguns álcoois foram testados como co-surfactantes, entre eles os alcoóis etílico, amílico, iso-amílico, isobutílico e hexílico. Os co-surfactantes que apresentaram microemulsões mais estáveis foram os alcoóis amílico e isoamílico, e razões entre 1:3 e 1:4 de surfactante/ co-surfactante também apresentaram maior estabilidade. Castillo *et al.*<sup>98</sup> utilizaram a nebulização direta de emulsões óleo-em-água para a determinação semiquantitativa de metais em óleo de oliva por ICP-MS. Foram estudados diferentes surfactantes e o que resultou emulsões mais estáveis foi o Triton X-100. Em suas determinações, foram utilizadas 2,0 g de amostra misturados com 1,5 g de surfactante, que

foram inicialmente agitados mecanicamente até formação de uma solução homogênea. Em seguida, o volume do frasco foi levado para 50 mL com solução aquosa. Foi verificado que um aumento na quantidade do surfactante utilizado de 0,5 g para 1,5 g aumentou de uma hora para 24 horas a estabilidade das emulsões, e quantidades maiores do que 1,5 g não aumentaram a estabilidade. Os resultados obtidos apresentaram valores muito próximos aos valores encontrados na literatura para o teor de diferentes metais em óleo de oliva.

Mitra *et al.*<sup>101</sup> realizaram estudos físico-químicos sobre a formação de microemulsões de óleo de eucalipto. Foram estudados diferentes tipos de surfactantes e utilização de butanol como co-surfactante. Fora realizados estudos de formação de microemulsões com misturas dos surfactantes Bis(2-etilhexil) sulfosuccinato sódico (AOT) e dodecanol (Brij-35). O efeito da temperatura na região de formação das microemulsões foi estudado; foram realizados ensaios nas temperaturas de 303, 313 e 323 K. Neste intervalo de temperatura, não foram encontradas diferenças significativas nas regiões de formação das microemulsões.

Sistemas de microemulsão foram obtidos com óleos vegetais (soja, palma e mamona) e diesel por Dantas *et al.*<sup>102</sup>. Os principais parâmetros que influenciaram a região de formação das microemulsões foram a natureza do surfactante e co-surfactante, a razão entre co-surfactante e surfactante e composição da fase oléica. Os resultados indicaram a possibilidade de obtenção de sistemas de microemulsão com diferentes composições de fase oléica (misturas de óleos vegetais e óleo diesel), indicando a possibilidade destes sistemas serem aplicados como combustíveis automotivos alternativos.

Através dos exemplos citados, pode-se evidenciar a possibilidade de determinação de metais em óleos vegetais utilizando-se emulsões ou microemulsões. Em relação aos óleos que dão origem ao biodiesel, esta análise pode fornecer importantes informações sobre a presença de metais na matéria-prima, ou seja, principalmente os óleos vegetais. Isso porque alguns metais são macronutrientes das oleaginosas.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Para a realização das medidas foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica AAS 6 Vario (Analytik Jena AG, Jena, Alemanha). Foram utilizadas como fonte de radiação lâmpadas de cátodo oco de sódio, potássio, magnésio e cálcio (Photron, Austrália). Foram utilizadas as linhas de ressonância primárias dos quatro analitos estudados. Os parâmetros instrumentais de cada elemento estão apresentados na Tabela II. Acetileno (White Martins, Brasil) foi utilizado como combustível. Os gases oxidantes foram: ar comprimido, obtido através de um compressor de ar FIAC CDS 8/50 (São Paulo, Brasil) para determinação de sódio, potássio e magnésio, numa vazão de 682 L h<sup>-1</sup> para diluição com xileno e 436 L h<sup>-1</sup> para as microemulsões; e óxido nítrico (White Martins, Brasil) para a determinação de cálcio, numa vazão de 527 L h<sup>-1</sup> para diluição com xileno e 351 L h<sup>-1</sup> para as microemulsões. O tempo de integração utilizado nas medidas foi de 5 segundos e as medidas foram realizadas em triplicata.

A vazão de acetileno e a altura do queimador foram ajustadas para se obter a melhor relação sinal/ruído. A taxa de aspiração também foi otimizada. Os valores da razão combustível/oxidante otimizados estão apresentados na tabela II.

Tabela II. Parâmetros instrumentais utilizados para as medidas.

Analito	Comprimento de onda (nm)	Corrente da lâmpada (mA)	Fenda espectral (nm)	Razão Combustível / Oxidante*	
				Diluição	Microemulsão
Sódio	589,0	10,0	0,8	0,059	0,161
Potássio	766,5	10,0	0,8	0,059	0,161
Magnésio	285,2	4,0	1,2	0,059	0,206
Cálcio	422,7	4,0	1,2	0,380	0,613

\*Combustível: Acetileno; Oxidantes: Ar comprimido (Sódio, Potássio, Magnésio) e Óxido Nítrico (Cálcio)

Com o objetivo melhorar o funcionamento da câmara de nebulização e evitar grandes variações nas leituras, realizou-se a limpeza da câmara de nebulização e do sistema de drenagem sempre que ocorreu troca do meio empregado (xileno ou microemulsão). Para pesagem das amostras e reagentes foi utilizada uma balança Europe (Gibertini, Itália), com precisão de 0,0001 g.

### 3.2 REAGENTES E SOLUÇÕES

Reagentes de grau analítico foram utilizados para a preparação das soluções e microemulsões e foi utilizada água desionizada (18,2 MΩcm), purificada por um sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA).

O ácido nítrico (Merck, Alemanha) utilizado nas microemulsões foi purificado por destilação sub-boiling em um destilador de quartzo (Kürner Analysentechnik, Rosenheim, Alemanha). O surfactante Triton X-100 (Acros, New Jersey, EUA) e os alcoóis *n*-butanol e *n*-pentanol (Merck, Darmstadt, Alemanha) foram utilizados na preparação das microemulsões. Óleo mineral (High Purity Standards, Charleston, EUA) foi utilizado nas microemulsões e na técnica de diluição com solvente, para simular a fase oléica nos padrões para calibração. Foram preparadas soluções estoque aquosas de 1000 mg L<sup>-1</sup> de sódio (NaCl, Acros, New Jersey, EUA), potássio (KCl, Acros, New Jersey, EUA), magnésio (MgCl<sub>2</sub>, Merck, Darmstadt, Alemanha) e cálcio (Ca(OH)<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, Merck, Darmstadt, Alemanha). As soluções estoque aquosas foram acidificadas com ácido nítrico (0,014 mol L<sup>-1</sup>). Xileno (Nuclear, Brasil) foi utilizado como solvente para as amostras e padrões orgânicos. Sais dissolvidos em óleo mineral de ciclohexanobutirato de sódio (1,000 mg g<sup>-1</sup> ± 0,008), ciclohexanobutirato de potássio (1,001 mg g<sup>-1</sup> ± 0,003), 2-etil hexanobutirato de magnésio (0,997 mg g<sup>-1</sup> ± 0,003) e ciclohexanobutirato de cálcio (1,000 mg g<sup>-1</sup> ± 0,008) da Specsol (São Paulo, Brasil) foram os padrões orgânicos utilizados para a determinação segundo as normas EN 14108, EN 14109 e ABNT NBR 15556.

### 3.3 ARMAZENAMENTO DE SOLUÇÕES E LIMPEZA DO MATERIAL

Todas as soluções foram armazenadas em frascos previamente descontaminados e secos. Para a descontaminação, uma solução de HNO<sub>3</sub> 3 mol L<sup>-1</sup> foi introduzida nos frascos, ficando em contato por pelo menos 24 horas. Em seguida, a solução ácida foi retirada e o frasco lavado no mínimo três vezes, com água destilada e desionizada. A vidraria utilizada nos ensaios foi descontaminada, utilizando-se o mesmo procedimento, sendo, porém deixada em um banho de HNO<sub>3</sub>.

### 3.4 AMOSTRAS

Neste trabalho foram analisados diferentes tipos de biodiesel e óleo vegetal. Na tabela III são apresentados os materiais de partida utilizados para obtenção das amostras de biodiesel. Algumas amostras são comerciais como S-01, S-02, P-05 e a série B. Outras amostras são provenientes de grupos de pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e do centro de pesquisa CIENTEC (Porto alegre, RS, Brasil), que estão desenvolvendo pesquisas sobre a produção de biodiesel. A amostra H-23 fornecida pela PETROBRAS (Rio de Janeiro, Brasil) também foi analisada, é uma amostra de HBio, combustível ainda em desenvolvimento pela PETROBRAS, que é obtido pela hidrogenólise (decomposição por hidrogênio) ocorrida através do coprocessamento de triglicerídeos, como óleo vegetal e gordura animal, em unidades de hidrotratamento de óleo diesel<sup>103</sup>. Alguns óleos vegetais (soja, girassol e canola) obtidos nos mercados locais também foram analisados.

**Tabela III.** Amostras de biodiesel analisadas neste trabalho e os respectivos materiais de partida utilizados para obtenção das mesmas.

Amostra	Óleo	Catalisador	Álcool
R-02	Soja	KOH	Etanol
S-01, P-05	Gordura Animal	KOH	Etanol
S-02, FS-01	Gordura Animal	KOH	Metanol
L-01	Linhaça	NaOH	Metanol
E-01, C-32, B-92, B-116	Soja	NaOH	Etanol
B-09, B-13, B-14, B-15, B-40, B-87, B-88	Mamona	KOH / NaOH	Metanol
B-48, B-147	Girassol	NaOH	Metanol
C-01, C-04, D-01, I-01, J-02	Soja	KOH	Metanol
B-128, B-178, B-179,	Soja / Mamona	KOH / NaOH	Etanol
B15, C-57, C-64, C-74, B-200	Soja	NaOH	Metanol

### 3.5 PROCEDIMENTO

#### 3.5.1 Preparo das microemulsões

Para o preparo das microemulsões, a amostra de biodiesel ou óleo vegetal foi inicialmente misturada com o surfactante (Triton X-100), a fase aquosa (padrão aquoso do analito e/ou  $1,4 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ ) e sendo posteriormente adicionado o co-surfactante (*n*-butanol ou *n*-pentanol). Foram misturadas diferentes proporções dos reagentes, sendo a formação da microemulsão evidenciada quando uma única fase transparente se formou. Com as diferentes proporções dos reagentes misturados, foi construído um diagrama pseudo-ternário, que será apresentado posteriormente, onde é possível a visualização da região de formação das microemulsões. A proporção mássica que foi adotada no preparo das microemulsões para as análises foi 20% de biodiesel ou óleo vegetal, 15% de Triton X-100, 57% de co-surfactante e 8% de água. As microemulsões foram preparadas em balões volumétricos de 5 ou 10 mL.

Para o preparo das microemulsões de calibração, 20% (m/m) de óleo mineral para simular o biodiesel ou óleo vegetal. Os padrões foram preparados a partir de soluções aquosas de NaCl, KCl,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ou  $\text{Ca(OH)}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  de  $100 \text{ mg kg}^{-1}$ , dos quais foram pipetadas alíquotas para a fase aquosa, para resultar na faixa de concentração de  $0,0 - 5,0 \text{ mg L}^{-1}$  em 5 mL.

#### 3.5.2 Preparo dos padrões e amostras para determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio segundo as normas EN 14108, EN 14109 e ABNT NBR 15556.

A exatidão do método proposto foi avaliada comparando-se os resultados obtidos com os resultados obtidos através das normas europeias EN 14108 (sódio) e EN 14109 (potássio), e com a norma nacional ABNT NBR 15556 (magnésio e cálcio). Estas normas são utilizadas para a determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio em amostras de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos ou B100. Estes métodos consistem na diluição da amostra com solvente orgânico (xileno, ciclohexano ou éter de petróleo) e determinação por F AAS. Neste trabalho, foi utilizado xileno como solvente orgânico para diluição das amostras e padrões orgânicos para calibração. Os padrões foram preparados a partir de uma solução estoque de



100 mg kg<sup>-1</sup>, pipetando-se os volumes adequados para se obter uma faixa de concentração de 0,0 – 2,0 mg L<sup>-1</sup> em balões volumétricos de 10 mL, e óleo mineral foi adicionado para ajuste da viscosidade. As amostras foram preparadas pesando-se 0,4 g para sódio e 1,0 g para potássio, magnésio e cálcio, em balões volumétricos de 10 mL, e então diluídos com xileno. Os padrões e amostras foram analisados imediatamente após a diluição.

### **3.5.3 Testes de recuperação**

Para investigar efeitos de matriz, foram adicionados padrões inorgânicos em algumas amostras microemulsificadas de biodiesel ou óleo vegetal. Os padrões foram adicionados na fase aquosa das microemulsões. Foram utilizadas para este teste amostras de biodiesel obtidas de diferentes fontes e/ou amostras de diferentes concentrações. O critério para a adição dos padrões foi baseado na concentração determinada dos analitos na amostra: nas amostras de baixa concentração foi adicionada uma quantidade maior de analito e nas amostras de concentração maior, uma menor quantidade de analito.

Os efeitos de matriz também foram investigados para os métodos de diluição com xileno. Padrões orgânicos foram adicionados em amostras de biodiesel e óleo vegetal as quais foram então diluídas com xileno. Os critérios para a adição foram os mesmos utilizados para as microemulsões.

Adicionalmente algumas amostras de biodiesel foram previamente enriquecidas com padrões orgânicos e analisadas pelos dois métodos.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesta parte do trabalho serão apresentados os resultados obtidos relativos aos estudos de formação das microemulsões, estudo de sua estabilidade e a sua aplicação como método de preparo de amostras para a determinação dos metais sódio, potássio, magnésio e cálcio nas diferentes amostras de biodiesel e óleo vegetal. Serão apresentados também os resultados obtidos com o método de diluição com xileno, que foi o método de comparação empregado para avaliar a exatidão do novo método proposto. Serão discutidas as vantagens no uso das microemulsões para as determinações dos analitos estudados.

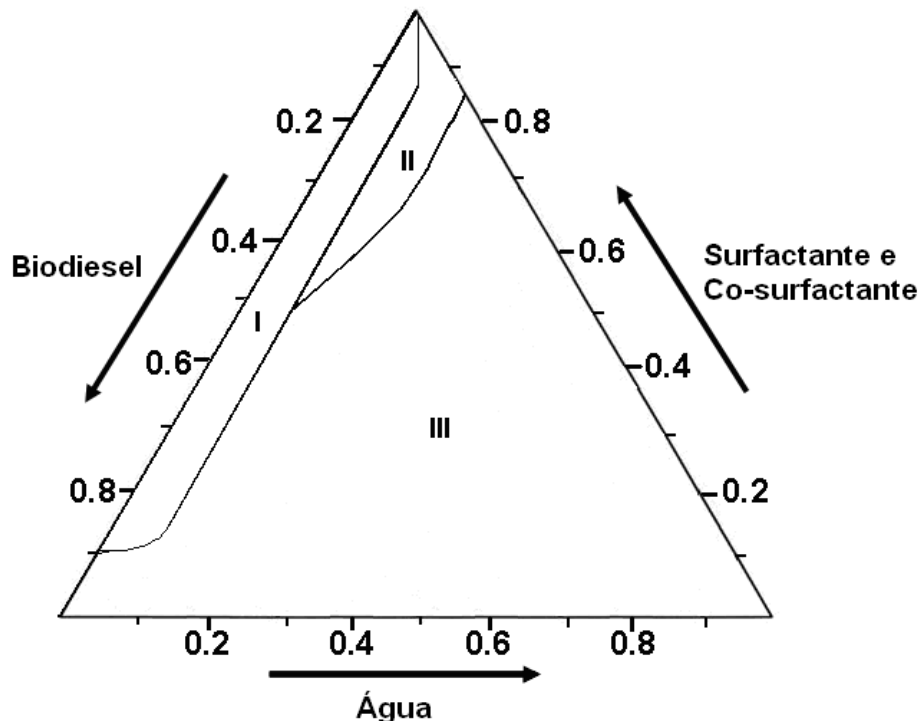
### 4.1 FORMAÇÃO DAS MICROEMULSÕES

Com a mistura de biodiesel, Triton X-100, água e co-surfactante em diferentes proporções foi obtido o diagrama pseudo-ternário apresentado na figura 6. A formação das microemulsões foi obtida tanto com *n*-butanol ou *n*-pentanol, como co-surfactante. No diagrama é possível a visualização da região de formação das microemulsões, obtidas com *n*-butanol ou *n*-pentanol. Diferentes razões da mistura surfactante/co-surfactante foram testadas, desde 1:1 até 1:8. A melhor razão obtida entre surfactante/co-surfactante para formação das microemulsões foi de 1:4. A utilização de grandes quantidades de co-surfactante para a estabilização da fase hidrofóbica é relatado na literatura<sup>104</sup>. O surfactante Triton X-100 foi o surfactante escolhido porque a maioria dos surfactantes iônicos freqüentemente apresentam contaminações por metais alcalinos.

Nos estudos iniciais tentou-se a formação das microemulsões com grande percentual do componente água, porém não foi possível estabilizar a fase hidrofóbica, ou seja, o biodiesel, mesmo com o seu percentual não ultrapassando 20% em massa. A alternativa foi um aumento no percentual dos componentes surfactante/co-surfactante e uma diminuição no percentual de água. A presença do componente água é importante devido à utilização de padrões aquosos nas microemulsões para a calibração e a presença de ácido para aumentar a estabilidade dos analitos nas microemulsões. Fora da região de formação das microemulsões se obteve a formação das emulsões. Emulsões também tem sido utilizadas para determinação de metais-traço em óleos vegetais e gorduras por técnicas baseadas em sistemas de nebulização para introdução da amostra<sup>98,99,105</sup>. Souza *et al.*<sup>106</sup> através da emulsificação de óleo lubrificante determinaram Ni, Mo, Cr, V e Ti; os limites de detecção obtidos com a emulsificação das amostras foram melhores do que os obtidos com a diluição das amostras com querosene. Porém emulsões são

instáveis e ocorre separação entre as fases em um curto período de tempo, requerendo agitação para manter a homogeneidade do sistema durante a análise.

Com relação ao biodiesel, foi possível estabilizar até 90% em massa de amostra. O uso de uma grande quantidade de amostra na microemulsão seria desejável para aumentar a sensibilidade da análise, porém ocorreria também um aumento da viscosidade, reduzindo a eficiência da nebulização. Então uma fração de amostra de 20% em massa foi adotada, que já é uma proporção de amostra maior do que as utilizadas nas normas adotadas para determinação de metais em biodiesel, após diluição com xileno. Assim, a proporção mássica adotada para o preparo das microemulsões neste trabalho foi de 20% biodiesel, 57% de *n*-butanol ou *n*-pentanol, 15% de Triton X-100 e 8% de água (padrão inorgânico do metal e/ou HNO<sub>3</sub> diluído). Com esta composição utilizada a microemulsão obtida pode ser classificada como sendo uma microemulsão do tipo w/o (água em óleo, do inglês: *water-in-oil*), pois o percentual hidrofóbico é maior que o aquoso. Esta composição foi utilizada também para a formação de microemulsões com óleos vegetais ou óleo mineral (substituindo o biodiesel nas soluções de calibração). As microemulsões formadas apresentaram uma estabilidade física de pelo menos 17 meses, ou seja, ou seja não ocorreu separação entre as fases neste período de tempo.



**Figura 6.** Diagrama de fases para biodiesel, água, Triton X-100 e co-surfactante, misturados a 25° C. Região I: Microemulsão com *n*-butanol ou *n*-pentanol; Região II: Microemulsão com *n*-butanol; Região III: Emulsão com *n*-butanol ou *n*-pentanol.

## 4.2 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS INSTRUMENTAIS

A otimização dos parâmetros instrumentais, razão combustível/oxidante e a taxa de aspiração, foi realizada com um padrão orgânico de potássio diluído em xileno e com um padrão inorgânico de potássio em microemulsão. Foi utilizada uma concentração de  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de potássio para ambos os meios. Quando soluções de xileno são aspiradas em chamas estequiométricas, observa-se uma chama muito amarela, característica de uma chama rica, devido ao aumento de combustível na chama. Essa chama gerou uma grande instabilidade no sinal de absorvância do potássio. Para a otimização com o padrão orgânico diluído em xileno a melhor sensibilidade e estabilidade de sinal analítico foram obtidas utilizando-se uma razão mínima de combustível/oxidante (0,061), sendo este o menor valor possível de aplicação no espectrômetro utilizado (AAS 6 Vario - Analytik Jena). Nesta condição ocorreu uma menor flutuação da chama e observou-se uma redução da chama amarela, aumentando a estabilidade das medidas de absorção.

Para as medidas com as microemulsões não foi observado esse efeito, de modo tão intenso e a maior sensibilidade foi obtida com uma razão combustível/oxidante de 0,161.

A taxa de aspiração que permitiu a uma melhor sensibilidade para diluição com xileno foi de  $2,8 \text{ mL min}^{-1}$  (o ajuste do nebulizador equivaleria a uma vazão de  $3,7 \text{ mL min}^{-1}$  de solvente aquoso); esta é a menor taxa de aspiração possível do equipamento utilizado. Para as microemulsões, que são muito mais viscosas que as soluções com xileno, a taxa de aspiração que levou a uma melhor sensibilidade foi de  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$  (equivalente a  $8,0 \text{ mL min}^{-1}$  de solvente aquoso).

Esta otimização foi realizada posteriormente para sódio em ambos os meios, sendo utilizada uma concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ; os resultados encontrados para sódio foram semelhantes aos resultados encontrados para potássio, em ambos os meios. Para o magnésio foi utilizado uma concentração de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  em ambos os meios, sendo os resultados obtidos com xileno iguais aos resultados obtidos com sódio e potássio em relação ao xileno; porém, valores maiores em relação às microemulsões (0,206). Para cálcio foi também utilizada uma concentração de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  para a otimização, sendo que as razões combustível/oxidante apresentaram os maiores valores (0,380 para xileno e 0,613 para as microemulsões). A otimização para cálcio em ambos os meios foi realizada com uma chama de acetileno/óxido nítrico, de temperatura maior do que a chama de acetileno/ar comprimido. As taxas de aspiração para cálcio foram iguais as utilizadas para os demais metais; porém, em relação ao

fluxos de oxidante, utilizados foram bem maiores ( $527 \text{ L h}^{-1}$  para diluição com xileno e  $351 \text{ L h}^{-1}$  para as microemulsões). Deve-se salientar que, para a diluição com xileno, foi utilizada uma vazão mínima de combustível e a menor taxa de aspiração possível, enquanto para as microemulsões tanto o fluxo de combustível quanto a taxa de aspiração não foram os valores mínimos.

Os parâmetros otimizados estão apresentados na tabela II na seção 3.1. Estas condições otimizadas foram utilizadas em todos os estudos posteriores.

### **4.3 ESTUDOS DE ESTABILIDADE**

Um importante aspecto em procedimentos de rotina é que as amostras e padrões de calibração permaneçam estáveis por pelo menos algumas horas para que a análise possa então ser realizada. Com este objetivo foram realizados estudos da estabilidade de sódio, potássio, magnésio e cálcio, em soluções obtidas pela diluição de padrões orgânicos com xileno e na forma inorgânica, em microemulsões. O monitoramento inicial foi realizado durante um período de até 6 horas e posteriormente, por um período de 5 dias.

#### **4.3.1 Estabilidade em xileno**

Inicialmente foram realizados estudos de estabilidade dos analitos em padrões orgânicos e amostras diluídas em xileno. Na figura 7 observa-se que os sinais analíticos para padrões orgânicos de sódio, potássio, magnésio e cálcio diluídos em xileno diminuem com o tempo. O sinal para o padrão orgânico diluído de potássio diminui cerca de 10% em 1 hora, chegando a quase a metade de seu valor inicial em cerca de 6 horas. Para o padrão orgânico diluído de cálcio a variação de sinal apresentou um pequeno decréscimo. As amostras contendo sódio e potássio diluídas em xileno apresentaram um valor elevado de decaimento de sinal no período monitorado de 6 horas; este fato porém não foi observado para as amostras contendo magnésio e cálcio diluídas em xileno.

O decaimento de sinal analítico de padrões orgânicos diluídos em solventes orgânicos já foi relatado anteriormente na literatura. Como exemplos pode-se citar o decaimento de padrões orgânicos de níquel<sup>37</sup> e chumbo<sup>35</sup> diluídos em xileno, cobre<sup>34</sup> diluído em clorofórmio, ferro em IMBK<sup>49</sup>, entre outros. Este comportamento dos metais provavelmente ocorre devido à adsorção do metal nas paredes dos frascos e tubos usados para análise<sup>107</sup>. Estes resultados confirmam a

necessidade da análise imediata dos padrões e amostras após a diluição com xileno, como recomendado pelas normas EN 14108, EN 14109 e ABNT NBR 15556.

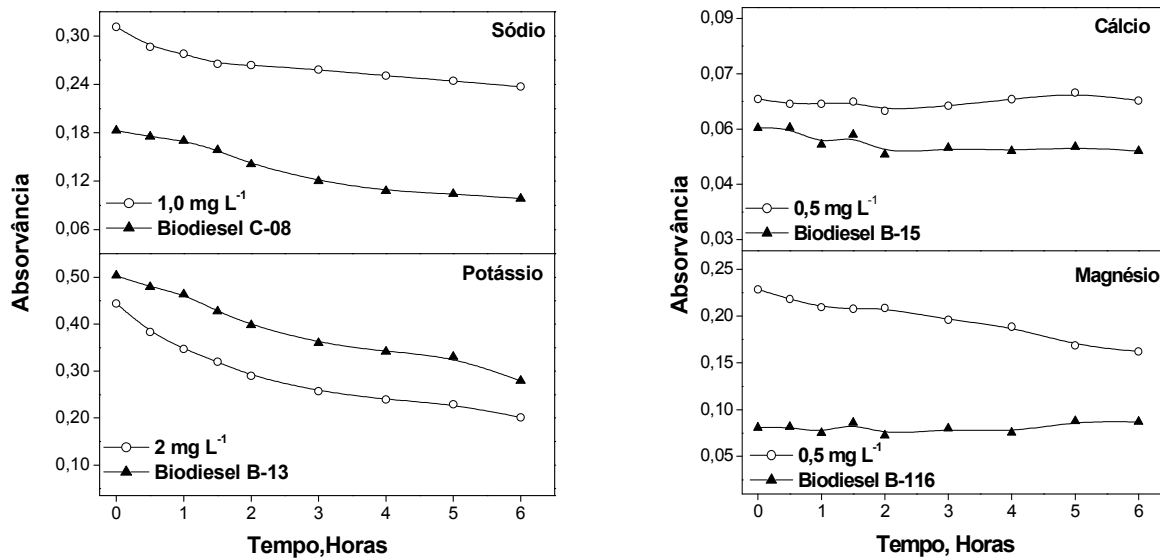


Figura 7. Estudo da estabilidade dos analitos (Na, K, Ca e Mg) de padrões orgânicos e de amostras de biodiesel diluídos em xileno. (-○- Padrão orgânico; -▲- amostra de biodiesel)

#### 4.3.2 Estabilidade em microemulsão

Como pode ser observado na Figura 8, o sinal de absorvância dos metais estudados como padrões inorgânicos em microemulsões ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{MgCl}_2$  e  $\text{Ca(OH)}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) e amostras de biodiesel apresentou-se estável por pelo menos 5 dias para sódio, magnésio e cálcio. O padrão inorgânico de potássio em microemulsão foi o único metal estudado que apresentou um período menor de estabilidade (3 dias). Esse metal foi o que apresentou menor estabilidade quando diluído com xileno também. Uma explicação provável para as diferenças no comportamento de diminuição do sinal analítico pode estar relacionada à cinética de adsorção do metal nas paredes dos frascos.

Esta maior estabilidade sugere que padrões inorgânicos em microemulsão podem ser utilizados para calibração por este período de tempo. Uma maior estabilidade para um número de elementos em microemulsões de derivados de petróleo foi relatado na literatura<sup>57,67,70</sup>, sendo que o aumento de estabilidade deve estar associado ao uso do ácido.

A maior estabilidade encontrada neste trabalho além do uso de padrões inorgânicos nos padrões de calibração faz deste modo de preparação de amostra um método mais adequado para aplicações de rotina.

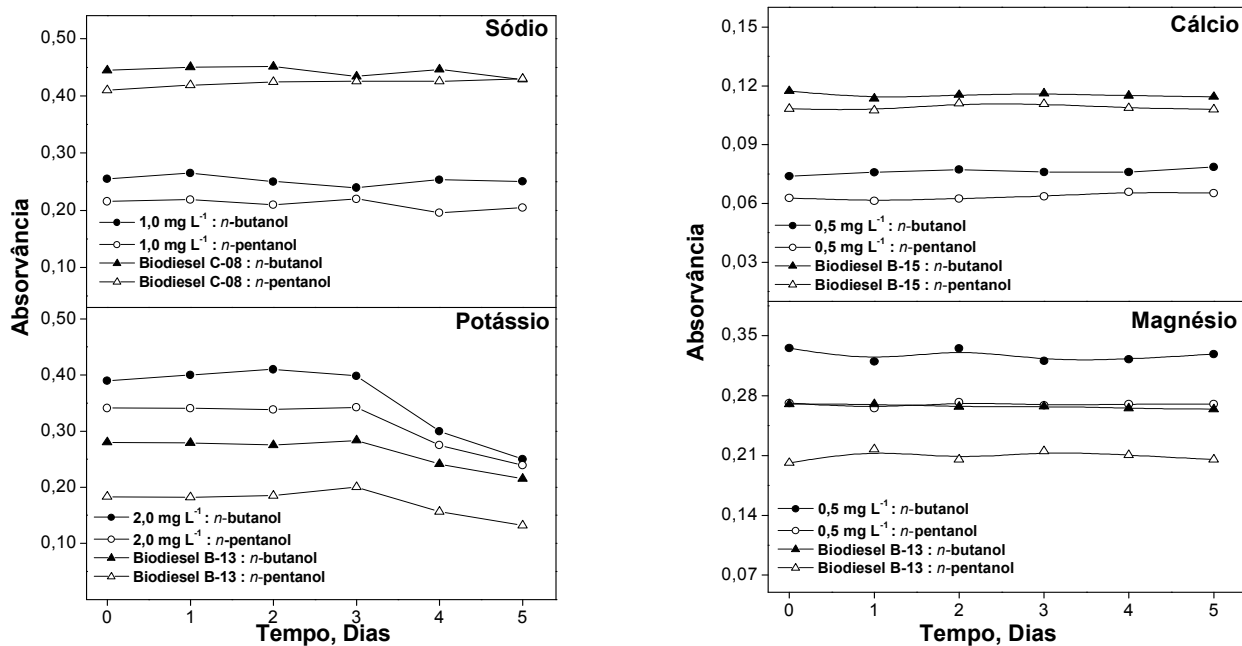


Figura 8. Estudo da estabilidade dos analitos (Na, K, Ca e Mg) de padrões inorgânicos e de amostras de biodiesel em microemulsões. (-●- padrão inorgânico em *n*-butanol; -○- padrão inorgânico em *n*-pentanol; -▲- amostra de biodiesel em *n*-butanol; -△- amostra de biodiesel em *n*-pentanol)

#### 4.4 PARÂMETROS DE MÉRITO

Para avaliar o método proposto, os seguintes parâmetros de mérito foram avaliados: a concentração característica, os limites de detecção (LOD) e quantificação do método (LOQ). A concentração característica<sup>108</sup> ( $C_0$ ) é definida como a concentração do analito correspondente a uma absorvância  $A = 0,0044$  (1% de absorção).

O LOD<sup>109</sup> é definido como a menor massa ou concentração do analito que pode ser detectada com uma dada certeza estatística. Calculou-se o limite de detecção a partir da seguinte equação:

$$\text{LOD} = 3 * \text{SD}_{\text{branco}} / S$$

Onde SD = desvio padrão das leituras de absorvância do branco (n=10) e S=Inclinação da curva de calibração.

Para o cálculo do LOQ, que expressa a menor massa ou concentração que pode ser quantificada com uma dada certeza estatística, foi utilizada a seguinte equação:

$$\text{LOQ} = 10 * \text{SD}_{\text{branco}} / S$$

Utilizando-se as condições otimizadas para cada meio, curvas de calibração foram realizadas: (i) padrões orgânicos diluídos em xileno e (ii) microemulsões com padrões inorgânicos e *n*-butanol ou *n*-pentanol. Para comparação foram realizadas curvas de calibração com padrões aquosos dos analitos sendo obtidas as equações de regressão linear e concentrações características (C<sub>0</sub>), apresentadas na tabela IV.

**Tabela IV.** Parâmetros das curvas de calibração obtidos com padrões aquosos.

Analito	Equação de regressão linear	R	C <sub>0</sub> (µg L <sup>-1</sup> )
Sódio	A = 0,3896c – 0,0025	0,9981	11
Potássio	A = 0,3449c + 0,0097	0,9991	13
Magnésio	A = 2,1647c + 0,0279	0,9969	2
Cálcio	A = 0,1583c + 0,0098	0,9990	28

Comparando a sensibilidade obtida destas curvas com as obtidas com as microemulsões e com a diluição com xileno, mostrados na tabela V, pode-se concluir, como esperado, que os padrões aquosos não podem ser usados para calibração.

As curvas de calibração com microemulsões foram lineares até 4,0 mg L<sup>-1</sup>, com exceção da curva para magnésio que foi linear até 2,0 mg L<sup>-1</sup>. As curvas de calibração com xileno, foram lineares até 2,0 mg L<sup>-1</sup>. Através da comparação das sensibilidades das curvas pode ser observado que a diluição com xileno apresentou melhor sensibilidade em relação ao sódio e potássio, e para magnésio e cálcio seus valores foram próximos aos das microemulsões. Em



relação ao magnésio, a concentração característica foi maior para diluição com xileno do que com microemulsões e para o cálcio as sensibilidades e concentrações características apresentaram valores bem próximos. As curvas de calibração obtidas com as microemulsões nas quais se utilizou *n*-butanol como co-surfactante apresentaram sensibilidades maiores do que as obtidas com *n*-pentanol em relação a todos os metais, como refletido pela concentração característica.

Em relação ao cálcio, um fato interessante pode ser observado comparando os valores de regressão linear com xileno e microemulsão com os valores obtidos em solução aquosa: a sensibilidade obtida pelas curvas nos diferentes meios (aquoso, xileno e microemulsão) apresentou valores bem próximos, isso devido provavelmente a maior temperatura que a chama de acetileno/óxido nítrico alcança, tornando a eficiência de atomização independente do solvente empregado.

**Tabela V.** Curvas de calibração e concentrações características ( $C_0$ ) obtidas para ambos os métodos.

Analito	Método	Equação de regressão Linear	R	$C_0 / \mu\text{g L}^{-1}$
Sódio	Diluição com xileno	$A = 0,2172c + 0,0036$	0,9931	20
	ME - Butanol	$A = 0,1732c + 0,0040$	0,9993	25
	ME - Pentanol	$A = 0,1418c - 0,0019$	0,9992	31
Potássio	Diluição com xileno	$A = 0,2237c - 0,0053$	0,9986	20
	ME - Butanol	$A = 0,2022c + 0,0026$	0,9994	22
	ME - Pentanol	$A = 0,1562c + 0,0099$	0,9995	28
Magnésio	Diluição com xileno	$A = 0,5267c + 0,0146$	0,9939	8
	ME - Butanol	$A = 0,6816c + 0,0589$	0,9990	6
	ME - Pentanol	$A = 0,5405c + 0,0158$	0,9986	8
Cálcio	Diluição com xileno	$A = 0,1249c - 0,0059$	0,9981	35
	ME - Butanol	$A = 0,1456c - 0,0021$	0,9998	30
	ME - Pentanol	$A = 0,1209c + 0,0133$	0,9992	36

Para o cálculo do LOD e LOQ utilizaram-se microemulsões sem a presença dos analitos. Os valores de LOD e LOQ foram calculados para microemulsões contendo uma massa de 0,86g de óleo mineral em um volume de 5,0 mL e para a diluição com xileno uma massa de 0,40g de

óleo mineral para sódio e 0,50g para potássio, magnésio e cálcio em um volume de 5,0 mL. Em ambos os casos foi utilizado óleo mineral para simular as amostras.

Embora os valores de Co encontrados para os diferentes meios tenham sido próximos, os limites de detecção e quantificação (LOD e LOQ) obtidos com microemulsões foram melhores. O sódio e potássio em microemulsão apresentaram valores duas vezes melhores do que os valores obtidos com diluição com xileno, para magnésio os valores obtidos com microemulsão foram cerca de cinco vezes melhores e para cálcio até três vezes. Este fato é devido à maior proporção de amostra utilizada para o preparo da microemulsão e, também, devido à menor flutuação nos sinais de absorvância que se reflete, também, em um menor desvio padrão relativo (RSD) para esta técnica, como mostrado na tabela VI.

Os LODs encontrados neste trabalho são semelhantes aos valores para determinação de sódio e potássio obtidos por Chaves *et al.* utilizando F AES; e com os valores obtidos por Santos *et al.*, utilizando ICP OES, sob condições especiais, determinando os quatro analitos. Edlund *et al.* utilizando diluição com querosene e ICP OES obteve resultados com valores bem menores, porém foi necessário a aplicação de um fluxo auxiliar de oxigênio e a utilização de solvente orgânico para diluição cujos vapores são tóxicos. Em relação aos LOQs indicados nas normas EN 14108 (sódio) e EN 14109 (potássio), os valores obtidos neste trabalho foram, respectivamente três vezes melhores para o sódio e para o potássio apresentou valor semelhante. Os LOQs indicados na norma ABNT NBR 15556, que foi utilizada para a determinação de magnésio e cálcio, são cerca de 10 vezes maiores do que os obtidos com as microemulsões. Deve-se ainda salientar, que os valores obtidos neste trabalho são pelo menos 50 vezes menores do que os níveis máximos de  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  para sódio mais potássio ou magnésio mais cálcio no biodiesel como estabelecido pela portaria brasileira.

A maior sensibilidade obtida na calibração associada a maior região de formação das microemulsões fez do co-surfactante *n*-butanol mais indicado para as determinações, embora no trabalho algumas determinações tenham sido realizadas com *n*-pentanol.

**Tabela VI.** Parâmetros de mérito para a determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio nas amostras de biodiesel obtidos por F AAS usando microemulsões e diluição com xileno.

Analito	Método	LOD (n=10)/	LOQ (n=10)/	RSD (n=10)/
		$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	%
Sódio	Diluição com xileno	0,2	0,6	2,0 – 4,0
	ME - Butanol	0,1	0,3	0,3 – 1,1
	ME - Pentanol	0,1	0,3	
Potássio	Diluição com xileno	0,1	0,4	1,5 – 4,5
	ME - Butanol	0,06	0,2	0,3 – 1,2
	ME - Pentanol	0,06	0,2	
Magnésio	Diluição com xileno	0,04	0,1	1,6 – 4,0
	ME - Butanol	0,004	0,02	0,8 – 1,5
	ME - Pentanol	0,005	0,02	
Cálcio	Diluição com xileno	0,1	0,3	3,2 – 3,3
	ME - Butanol	0,04	0,1	0,3 – 1,9
	ME - Pentanol	0,06	0,2	

#### 4.5 DETERMINAÇÃO DE SÓDIO, POTÁSSIO, MAGNÉSIO E CÁLCIO EM BIODIESEL E ÓLEO VEGETAL

Materiais de referência certificado para biodiesel ainda não estão sendo comercializados, por esta razão, a exatidão do método proposto foi avaliada comparando-se os resultados obtidos com os resultados obtidos através das normas europeias EN 14108 (sódio) e EN 14109 (potássio), e ABNT NBR 15556 (magnésio e cálcio).

Os resultados obtidos para amostras de biodiesel provenientes de diferentes fontes estão mostrados nas tabelas VII (sódio), VIII (potássio), IX (magnésio) e X (cálcio). As amostras foram preparadas em triplicata e os resultados representam a média das triplicatas. Com exceção das amostras R-02, C-01 e D-01, que apresentaram altas concentrações de potássio e a amostra C-32 para sódio, todas as outras amostras apresentaram valores abaixo do nível máximo permitido pela portaria brasileira. Deve ser salientado que as amostras R-02, C-01,

D-01 e C-32 foram obtidas de grupos de pesquisa que estão trabalhando no desenvolvimento de novos métodos de produção de biodiesel, i.e., não são amostras comerciais de biodiesel. Os três óleos vegetais analisados não apresentaram concentrações de sódio, potássio, magnésio e cálcio, considerando-se os LODs para ambos os métodos.

Para verificar a eficiência do método proposto foi aplicado o teste t Student aos dados das tabelas VII, VIII, IX e X e mostrou que os resultados obtidos para ambos os métodos não mostraram diferenças significativas a um nível de 95% de confiança.

**Tabela VII.** Determinação de sódio em amostras de biodiesel por F AAS.

Amostra	Concentração de Na / mg Kg <sup>-1</sup> (média ± SD, n=3)	
	Diluição com xileno (Método de referência)	Microemulsão (Método proposto)
	S-02	0,7 ± 0,03
B-13	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,2
B-15	0,5 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,03
C-32	39,7 ± 0,5	36,2 ± 0,4
B-40	1,1 ± 0,02	1,1 ± 0,2
C-57	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,01
C-64	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,3
C-74	1,6 ± 0,2	1,5 ± 0,1
H-23	1,6 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,01

<sup>a</sup>Resultados fornecidos pelo Laboratório de Absorção Atômica da Pontifícia Universidade Católica (PUC) do Rio de Janeiro, Brasil.

**Tabela VIII.** Determinação de potássio em amostras de biodiesel por F AAS.

Amostra	Concentração de K / mg Kg <sup>-1</sup> (média ± SD, n=3)	
	Diluição com xileno (Método de referência)	Microemulsão (Método proposto)
R-02	12,1 ± 0,6	11,5 ± 0,06
S-01	3,1 ± 0,14	3,2 ± 0,03
E-01	< 0,4	0,3
B-09	< 0,4 <sup>a</sup>	< 0,2
B-13	3,10 <sup>a</sup>	3,0 ± 0,03
B-14	0,9 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,01
B-48	< 0,4 <sup>a</sup>	< 0,2
C-01	172 ± 17	156 ± 1,5
C-04	0,9 ± 0,03	1,1 ± 0,1
D-01	10,1 ± 0,6	10,2 ± 2,6
I-01	4,9 ± 0,4	4,9 ± 0,04
J-02	1,6 ± 0,03	1,7 ± 0,4

<sup>a</sup>Resultados fornecidos pelo Laboratório de Absorção Atômica da Pontifícia Universidade Católica (PUC) do Rio de Janeiro, Brasil.

**Tabela IX.** Determinação de magnésio nas amostras de biodiesel por F AAS.

Amostra	Concentração de Mg / mg kg <sup>-1</sup> (média ± SD, n=3)	
	Diluição com xileno (Método de referência)	Microemulsão (Método proposto)
B-13	2,9 <sup>a</sup>	2,9 ± 0,04
B-87	3,2 ± 0,2	3,8 ± 0,3
B-88	8,3 <sup>a</sup>	7,1 ± 1,0
B-92	7,6 ± 0,6	8,0 ± 0,2
B-178	1,9 ± 0,04	1,9 ± 0,04
B-116	1,5 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,03
B-179	0,9 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,01
B-200	0,5 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,01
FS-01	< 0,1	< 0,02

<sup>a</sup>Resultados fornecidos pelo Laboratório de Absorção Atômica da Pontifícia Universidade Católica (PUC) do Rio de Janeiro, Brasil

**Tabela X.** Determinação de cálcio nas amostras de biodiesel por F AAS.

Amostra	Concentração de Ca / mg kg <sup>-1</sup> (média ± SD, n=3)	
	Diluição com xileno (Método de referência)	Microemulsão (Método proposto)
B-13	5,1 <sup>a</sup>	5,2 ± 0,1
B-15	5,4 <sup>a</sup>	5,6 ± 0,2
P-05	<0,3	<0,2
B-128	1,7 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,01
B-147	4,3 <sup>a</sup>	5,0 ± 0,01
B-179	2,8 <sup>a</sup>	2,3 ± 0,1
B-200	3,1 ± 0,1	3,1 ± 0,01

<sup>a</sup>Resultados fornecidos pelo Laboratório de Absorção Atômica da Pontifícia Universidade Católica (PUC) do Rio de Janeiro, Brasil.

#### 4.6 TESTES DE RECUPERAÇÃO

Para verificar o efeito de matriz na determinação dos elementos investigados, algumas amostras de biodiesel obtidas de diferentes fontes (soja, mamona e gordura animal) e três amostras de óleo vegetal (soja, girassol e canola) foram enriquecidas com sódio, potássio, magnésio ou cálcio como descrito na seção 3.5.3. Este estudo é importante particularmente para análise de óleos vegetais pelo método proposto e também pelas normas, uma vez que não foi possível comparar os resultados devido a baixa concentração de sódio, potássio, magnésio e cálcio nessas amostras. Os testes de recuperação foram realizados também para o método de diluição com xileno para efeito de comparação. Os valores de recuperação encontrados para os métodos de diluição com xileno e microemulsão, que estão mostrados nas tabelas XI, XII, XIII e XIV, indicam a ausência de efeitos de matriz na análise de biodiesel, para os quatro metais estudados. Os mesmos resultados foram observados para os óleos vegetais, com exceção dos valores de recuperação para sódio no método de microemulsão. Os valores de recuperação obtidos utilizando-se a condição de preparação de amostra descrita na seção 3.5.3, i.e., 20% (m/m) de óleo vegetal, variaram entre 72% e 79%. As medidas de viscosidade das microemulsões preparadas com óleos vegetais e com óleo mineral (usado para simular a fase oléica nos padrões) mostraram diferenças significativas (7.7 cP e 6.6 cP, respectivamente). Uma

diminuição da quantidade de amostra para 16% (m/m) reduziu a viscosidade para (6.9 cP). Nesta condição, as recuperações variaram entre 90% e 105%, como mostrado na tabela XI. O resultado mais interessante foi o fato deste efeito não ter sido observado para potássio, magnésio ou cálcio. A repetição dos testes de recuperação com 20% (m/m) de óleos vegetais para potássio para confirmação mostrou resultados similares aos apresentados na tabela XII. Estes resultados indicam que o efeito de viscosidade para potássio, magnésio ou cálcio não é tão crítico, não necessitando o ajuste de viscosidade. No entanto, um cuidado especial deve ser tomado quando se tentar utilizar este método para outros tipos de óleos vegetais tais como óleo de mamona, palma, etc., que apresentam viscosidades maiores.

Os testes de recuperação, com o prévio enriquecimento das amostras com padrões orgânicos dos analitos estudados, não apresentaram resultados satisfatórios. Estes resultados provavelmente se devem a não homogeneidade obtida pela mistura do padrão orgânico com as amostras, levando a resultados aleatórios e não reprodutíveis dos valores de recuperação.

**Tabela XI.** Testes de recuperação para sódio realizados com diluição com xileno e microemulsões.

Amostra	Diluição com xileno		Microemulsão	
	Adicionado (mg/L)	Recuperação (%)	Adicionado (mg/L)	Recuperação (%)
S-02	1,0	96 ± 1,5	0,25	108 ± 4,0
B-13	0,75	96 ± 4,6	0,75	96 ± 2,5
J-01	1,0	107 ± 0,1	1,0	95 ± 6,1
Óleo de soja*	0,25	87 ± 1,2	0,25	105 ± 3,0
Óleo de girassol*	0,75	96 ± 1,1	0,75	90 ± 2,0
Óleo de canola*	1,0	97 ± 4,1	1,0	91 ± 1,0

\*Microemulsão preparada com 16% em massa.

**Tabela XII.** Testes de recuperação para potássio realizados com diluição com xileno e microemulsões.

Amostra	Diluição com xileno		Microemulsão	
	Adicionado (mg/L)	Recuperação (%)	Adicionado (mg/L)	Recuperação (%)
R-01	2,0	96 ± 1,5	4,0	105 ± 5,4
E-01	1,0	96 ± 4,6	3,0	115 ± 0,1
S-01	1,0	95 ± 0,2	2,0	113 ± 0,8
Óleo de soja	2,0	98 ± 1,3	4,0	98 ± 3,9
Óleo de girassol	2,0	92 ± 1,5	2,0	115 ± 1,4
Óleo de canola	3,0	93 ± 0,5	3,0	95 ± 0,7

**Tabela XIII.** Testes de recuperação para magnésio realizados com as amostras de biodiesel diluídas com xileno e microemulsões.

Amostra	Diluição com xileno		Microemulsão	
	Adicionado (mg/L)	Recuperação (%)	Adicionado (mg/L)	Recuperação (%)
B-13	1,0	118 ± 1,5	1,0	117 ± 1,7
L-01	1,0	84 ± 1,5	1,0	116 ± 1,5
M-01	1,5	95 ± 1,0	1,5	106 ± 1,5
FS-01	1,0	92 ± 0,7	1,0	113 ± 2,2
Óleo de soja	1,0	100 ± 0,6	1,0	95 ± 1,0
Óleo de girassol	1,5	90 ± 0,6	1,5	95 ± 0,1
Óleo de canola	0,5	105 ± 1,2	0,5	87 ± 1,6



**Tabela XIV.** Testes de recuperação para cálcio realizados com as amostras de biodiesel diluídas com xileno e microemulsões.

Amostra	Diluição com xileno		Microemulsão	
	Adicionado (mg/L)	Recuperação (%)	Adicionado (mg/L)	Recuperação (%)
B-200	0,5	109 ± 5,7	0,5	92 ± 4,1
B-128	1,0	100 ± 4,4	1,0	93 ± 0,5
P-05	1,5	108 ± 3,4	1,5	109 ± 5,4
Óleo de soja	0,5	87 ± 0,7	0,5	89 ± 1,1
Óleo de girassol	1,5	82 ± 1,2	1,5	95 ± 0,1
Óleo de canola	1,0	83 ± 1,6	1,0	86 ± 1,3

O resultado geral foi satisfatório para aplicações de rotina, e uma boa concordância foi observada comparando o método proposto (microemulsão) e o método de comparação (diluição com xileno), mostrando que o método proposto pode ser aplicado para este propósito.

## 5. CONCLUSÕES

A formação de microemulsões de biodiesel ou óleo vegetal foi obtida pela mistura com Triton X-100, co-surfactante e água em diferentes percentuais mássicos. Os álcoois *n*-butanol e *n*-pentanol foram eficientes como co-surfactantes. Através do diagrama pseudo-ternário construído observou-se que o co-surfactante *n*-butanol apresentou uma maior região de formação de microemulsão.

A otimização instrumental obtida com as microemulsões foi reflexo das propriedades físicas desse meio. Um aumento na taxa de aspiração para as microemulsões foi necessário devido à maior viscosidade apresentada pelas mesmas em relação ao solvente aquoso ou xileno.

As microemulsões formadas apresentaram uma estabilidade de pelo menos 18 meses. Através dos estudos de estabilidade nos dois meios empregados, se constatou que os analitos nas microemulsões obtidas com padrões e amostras foram estáveis por pelo menos 5 dias para sódio, magnésio e cálcio, e de 3 dias para potássio, considerando-se o emprego dos co-surfactantes *n*-butanol e *n*-pentanol. Uma maior estabilidade dos analitos no meio microemulsificado foi observada em relação aos analitos no solvente orgânico xileno, cujo decréscimo de sinal analítico ocorreu em um período de horas. O potássio foi o analito que apresentou a menor estabilidade, tanto nas microemulsões quanto na diluição com xileno. A estabilidade obtida pelas microemulsões sugere que microemulsões para calibração possam ser utilizados pelo período de tempo no qual são estáveis.

Não foi possível a realização da calibração direta com padrões aquosos devido a diferença de viscosidade das microemulsões, causando assim as diferenças de sensibilidade observadas entre o meio aquoso e o meio microemulsificado. A calibração com as microemulsões foi possível de ser realizada adicionando-se padrões aquosos de sais inorgânicos dos analitos na porção aquosa que é um dos componentes da microemulsão. As curvas de calibração obtidas com microemulsão apresentaram uma faixa linear maior. A utilização de padrões inorgânicos nas microemulsões para calibração é um procedimento mais econômico e adequado do que a calibração realizada com os padrões orgânicos diluídos em xileno, devido ao custo elevado desses padrões e da baixa estabilidade dos analitos nos padrões diluídos em xileno. As microemulsões utilizadas para calibração com *n*-butanol apresentaram de um modo geral uma maior sensibilidade do que as microemulsões com *n*-pentanol. A maior sensibilidade obtida na calibração associada a maior região de formação das microemulsões fez do co-surfactante *n*-butanol o mais indicado para as determinações, embora no trabalho algumas determinações tenham sido realizadas com *n*-pentanol.

Os limites de detecção e quantificação obtidos com microemulsões para determinação de sódio e potássio apresentaram valores duas vezes melhores do que os valores obtidos com diluição com xileno, para magnésio os valores obtidos com microemulsão foram cerca de cinco vezes melhores e para cálcio os valores foram de até três vezes melhores. Os limites de detecção e quantificação obtidos foram na maioria semelhantes aos resultados relatados em outros trabalhos utilizando outras técnicas analíticas. O desvio padrão relativo das medidas de microemulsões apresentou valores menores do que os desvios das medidas de padrões orgânicos diluídos com xileno.

Amostras de biodiesel provenientes de diferentes fontes (óleo vegetal ou gordura animal) e de óleos vegetais foram analisadas com eficácia aplicando-se microemulsões como método de preparo das amostras, evidenciando a robustez do método. Os teores determinados dos metais nas amostras de biodiesel foram concordantes com os resultados obtidos com o método de referência utilizado. Os óleos vegetais analisados não apresentaram teores acima dos limites de detecção obtidos.

O teste *t* Student foi aplicado aos resultados obtidos pelo método proposto (microemulsão) e ao método de referência (diluição com xileno), e mostrou que os resultados obtidos por ambos os métodos não mostraram diferenças significativas a um nível de 95% de confiança.

Os testes de recuperação confirmaram não haver efeitos de matriz para os elementos estudados no biodiesel. Os testes de recuperação sugerem que o novo método proposto pode ser também aplicado para a determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio em óleos vegetais, após o ajuste de viscosidade para sódio. E se pode ainda assumir que este procedimento poderá ser aplicado para outros elementos traço de interesse no biodiesel, contanto que a concentração dos mesmos se encontre dentro da faixa de trabalho da técnica.

O novo método proposto baseado no uso de microemulsões mostrou ser uma alternativa eficiente para a determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio em amostras de biodiesel e óleo vegetal. A maior estabilidade de padrões e amostras, a possibilidade do uso de padrões inorgânicos para calibração, os menores limites de detecção e desvio padrão relativo, e a não utilização de solventes orgânicos carcinogênicos torna este método de preparo de amostra mais adequado para aplicações de rotina do que o método com diluição com solventes que é utilizado pelas normas de quantificação desses metais no biodiesel.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lima, P. C. R. O biodiesel e a inclusão social. “Câmara dos Deputados” - 2004
2. Demirbas, A.; *Energy Policy* **2007**, 35, 4661.
3. Hribernik, A., Kegl, B.; *Energy & Fuels* **2007**, 21, 1760
4. Knothe, G.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2006**, 83(10), 823
5. Agarwal, A. K.; *Progress in Energy and Combustion Science* **2007**, 16, 233.
6. Benvenuto, L. H.; *Desafios e perspectivas da inserção de Biodiesel na matriz energética Nacional* - 1º Seminário sobre tecnologia de combustíveis e lubrificantes – Ford Motor Company – Combustíveis e Lubrificantes; 02 de junho de **2005**, Salvador, Bahia, Brasil.
7. <http://www.biodieselbr.com>, site acessado em agosto de 2008.
8. Plano Nacional de Agroenergia 2006-2011 - Ministério de Agricultura, Pecuária e abastecimento - MAPA
9. Parente, E. J. S.; Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado. Fortaleza-CE, Unigráfica, **2003**, p.66.
10. Lima, J. R. O.; Silva, R. B.; Silva, C. C. M.; Santos, L. S. S.; Santos Jr, J. R.; Moura, E. M.; Moura, C. V. R.; *Quim. Nova* **2007**, 30 (3), 600.
11. Pinto, A. C.; Guarieiro, L. L. N.; Rezende, M. J. C.; Ribeiro, N. M.; Torres, E. A.; Lopes, W. A.; Pereira, P. A. de P.; Andrade, J. B.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, 16(6B), 1313.
12. Ma, F.; Hanna, M. A.; *Bioresour. Technol.* **1999**, 70,1.
13. Fukuda, H.; Kondo, A.; Noda, H.; *J. Biosci. Bioeng.* **2001**, 92 (5), 405.
14. Gryglewicz, S.; *Appl. Catal., A* **2000**, 192, 23.
15. Vicente, G.; Martínez, M.; Aracil, J.; *Bioresearch. Technol.* **2004**, 92, 297.
16. Meher, L. C.; Sagar, D. V.; Naik, S. N.; *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2006**, 10, 248
17. Brasil. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e Reforma Agrária. Portaria nº 795, de 15 de dezembro de 1993.
18. Korn, M. G. A.; Santos, D. S. S.; Welz, B.; Vale, M. G. R.; Teixeira, A. P.; Lima, D. C.; Ferreira, S. L. C.; *Talanta* **2007**, 73, 1.
19. Mahajan, S.; Konar, S. K.; Boocock, D. G. B.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2007**, 84, 189.
20. Nutrição Mineral de Plantas, disponível em [http://pt.wikipedia.org/wiki/Nutri%C3%A7%C3%A3o\\_nas\\_plantas](http://pt.wikipedia.org/wiki/Nutri%C3%A7%C3%A3o_nas_plantas), Site acessado em Julho de 2008.
21. Welz, B.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; High-resolution Continuum Source AAS: The Better Way to Do Atomic Absorption Spectrometry; Wiley-VCH, 2005.

- 
22. Lepri, F. G.; Welz, B.; Borges, D. L. G.; Silva, A. F.; Vale, M. G. R.; Heitmann, U.; *Anal. Chim. Acta* **2006**, 558, 195.
23. Borges, D. L. G.; Curtius, A. J.; Welz, B.; Heitmann, U.; *Revista Analytica* 18, 2005, 58.
24. Hardaway, C.; Sneddon, J.; Beck, J. N.; *Anal. Letters* **2004**, 37(14), 2881.
25. Lienemann, C. P.; *Oil Gas Sci. Technol. Rev. IFP* **2005**, 60 (6), 951.
26. Ozcan, M.; Akman, S.; *Spectrochim. Acta B* **2005**, 60, 399.
27. Trindade, J. M.; Marques, A. L.; Lopes, G. S.; Marques, E. P.; Zhang, J.; *Fuel* **2006**, 85, 2155.
28. Wondimu, T.; Goessler, W.; *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* **2000**, 14(2), 99.
29. Campbell, M. B.; Kanert, G. A.; *Analyst* **1992**, 117, 121.
30. Duyck, C.; Miekeley, N.; Silveira, C. L. P.; Aucélio, R. Q.; Campos, R. C.; Grinberg, P.; Brandão, G. P.; *Spectrochim. Acta B* **2007**, 62, 939.
31. Brandão, G. P.; Campos, R. C.; Castro, E. V. R.; Jesus, H. C.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2006** (386), 2249.
32. Kingston, H. M.; Haswell, S. J. Eds. *Microwave Enhanced Chemistry: Fundamentals, Sample Preparation, and Applications; ACS Professional Reference Book Series*; American Chemical Society: Washington, DC, 1997.
33. Bowman, M., Hilligoss, D., Rasmussen, S.; Thomas, R., *Hydrocarbon Process.*  
[http://las.perkinelmer.com/content/relatedMaterials/NLT\\_HydrocarbonProcessingFeb2006.pdf](http://las.perkinelmer.com/content/relatedMaterials/NLT_HydrocarbonProcessingFeb2006.pdf),  
site acessado em julho de 2008.
34. Karwowska, R.; Bulska, E., Barakat, K. A.; Hulanicki, A.; *Chem. Anal* **1980**, 25, 1043.
35. Hulanicki, A.; Bulska, E.; *XXVI Colloquium Spectroscopicum Internationale*, ed. Tsalev, D. L.; University of Sofia, Bulgaria, **1989**, vol. VII, 57.
36. De La Guardia, M.; Vidal, M. T., *Talanta* **1984**, 31, 799.
37. Vale, M. G. R.; Damin, I. C. F.; Klassen, A.; Silva, M. M.; Welz, B., Silva, A. F.; Lepri, F. G.; Borges, D. L. G.; Heitmann, U.; *Microchem. J.* **2004**, 77, 131.
38. EN 14108 – Derivados de aceites y grasas – Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) - Determinación del contenido de sódio mediante espectrometria de absorción atómica, 12p. Madri, 2003.
39. EN 14109 – Derivados de aceites y grasas – Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) - Determinación del contenido de potasio mediante espectrometria de absorción atómica, 12p. Madri, 2003.

- 
40. EN 14538 – Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl ester (FAME) – Determination of Ca and Mg content by Optical emission spectral analysis with inductively coupled plasma (ICP OES), Bruxelas, 2002.
41. Korn, M. G. A.; Santos, D. S. S.; Welz, B.; Vale, M. G. R.; Teixeira, A. P.; Lima, D. C.; Ferreira, S. L. C.; *Talanta* **2007**, 73, 1.
42. Burguera, J. L.; Salager, R. A.; Burguera, M.; Salager, J. L.; Rondón, C.; Carrero, P.; Gallignani, M.; Brunetto, M. R.; Briceño, M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2000**, 15, 549.
43. Hellweg, T.; Eimer, W.; *Colloid. Surf. A* **1998**, 136, 97.
44. Mendonça, C. R. B.; Bica, C. I. D.; Piatnicki, C. M. S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, 14 (4), 628.
45. Romero, J.S. E.; Afonso, E. F. S.; Alvarez-Coque, M. G. G.; Ramos, G. R.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, 235, 317.
46. Mendonça, C. R. B.; Desenvolvimento de metodologias para análise direta de óleos vegetais empregando microemulsões de água em óleo e meios não aquosos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Tese de Doutorado, 2005.
47. Langevin, D.; Jacques, M.; Cazabat, A.; Les microémulsions ; La recherche, vol. 16, 720, 1985.
48. Chaves, E. S. C.; Saint’Pierre, T. D. ;Santos, E. J. ; Tormen, L. ; Bascuñan, V. L. A. F. ; Curtius, A. J.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2008**, 19(5), 856.
49. De La Guardia, M.; Sanchez, M. J.; *At. Spectrosc.* **1982**, 3, 36.
50. De La Guardia, M.; Lizondo, M. J.; *At. Spectros.* **1984**, 5, 150.
51. Du, B.; Wei, Q.; Wang, S.; Yu, W.; *Talanta*, **1997**, 44, 1803.
52. Santos, D. S. S.; Teixeira, A. P.; Korn, M. G. A; Teixeira, L. S. G., *Spectrochim. Acta, Part B*, **2006**, 61, 592.
- 53 Amorim, F. A. C.; Lima, D. C.; Amaro, A. A.; Vale, M. G. R.; Ferreira, L. C., *J. Braz. Chem. Soc.*, 2007, 18(8), 1566.
54. Campos, R. C.; Santos H. R.; Grinberg, P.; *Spectrochim. Acta, Part B*, **2002**, 57, 15.
55. Aucélio, R. Q.; Curtius, A. J.; *J. Anal. Atom. Spectrom.* **2002**, 17, 1.
56. Aucélio, R. Q.; Doyle, A.; Pizzorno B. S.; Tristão, M. L. B.; Campos, R. C.; *Microchem. J.*, **2004**, 78, 21.
57. Reyes, M. N.; Campos, R. C. C.; *Spectrochim. Acta, B*, **2005**, 60, 615.
58. Santos, W. N. L.; Dias, F. S.; Fernandes, M. S.; Rebouças, M. V.; Vale, M. G. R.; Welz, B; Ferreira, S. L. C.; *J. Anal. Atom. Spectrom.* **2005**, 20, 127.

- 
59. Brandão, G. P.; Campos, R. C.; Luna, A. S.; *Spectrochim. Acta B* **2005**, 60, 625.
60. Saint’Pierre, T. D.; Dias, L. F.; Maia, S. M.; Curtius, A. J.; *Spectrochim Acta B* **2004**, 59, 551.
61. Brenner, I. B.; Zander, A.; Kim, S.; Shkolnik, J. *Anal. At. Spectrom.* **1996**, 11, 91.
62. Souza, R. M.; Mathias, B. M.; Scarminio, I. S.; Silveira, C. L. P.; Aucélio, R. Q.; *Microchim. Acta* **2006**, 153, 219.
63. Liu, L.H. Deng, W., Yang, B.; Sun, L. H.; *Spectroscopy and Spectral Analysis* **2002**, 22, 165.
64. Saint’Pierre, T. D.; Dias, L. F.; Pozebon, D.; Aucélio, R. Q. ; Curtius, A. J. ; Welz, B. ; *Spectrochim Acta B* **2002**, 57, 1991.
65. Al-Swaidan, H. M.; *At. Spectrosc.* **1994**, 14, 170.
66. Du, B.; Wei, Q.; *Talanta* **1998**, 45, 957.
67. Aucélio, R. Q.; Curtius, A. J.; Welz, B.; *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2000**, 15, 1389.
68. Santos, E. J.; Herrmann, A. B.; Chaves, E. S.; Vechiatto, W. W. D.; Schoemberger, A. C.; Frescura, V. L. A.; Curtius, A. J.; *J. Anal. Atom. Spectrom.* **2007**, 22, 1300.
69. Al-Swaidan, H. M.; *Talanta* **1996**, 43, 1313.
70. Molinero, A. L.; Castillo, J. R.; *Anal. Lett.* **1998**, 31, 903.
71. Reimer, R. A.; Miyazaki, A.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1993**, 9, 157.
72. Lord III, C. J.; *Anal. Chem.* **1991**, 63, 1594.
73. Al-Swaidan, H. M.; *At. Spectrosc.* **1993**, 14, 170.
74. ABNT NBR 15556 – Produtos derivados de óleos e gorduras – Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos – Determinação de teor de sódio, potássio, magnésio e cálcio por espectrometria de absorção atômica com chama.
75. Nowka, R.; *GIT Labor-Fachzeitschrift* **2003**, 47, 518.
76. Edlund, M.; Visser, H.; Heitland, P.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2002**, 17, 232.
77. Woods, G. D.; Fryer, F. I.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 389, 753.
78. Rapta, P.; Paligová, J.; Hotheneder, H.; Cvengros, J.; *Chem. Pap.* **2007**, 61(5), 337.
79. Castilho, M. S.; Stradiotto, N. R.; *Talanta* **2008**, 74, 1630.
80. Mortimer, R. J.; Barbeira, P. J. S.; Sene, A. F. B.; Stradiotto, N. R.; *Talanta* **1999**, 49, 271
81. Souza, R. M.; Lobo, F. A.; Vieira, M. A.; Livro de Resumos da 31<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, ocorrida em Águas de Lindóia, SP, Brasil, 2008.
82. Figueiredo, Ribeiro. Catálise heterogênea 1987. Calouste Gulbekian, cap. 7, 252.
83. Meeravali; Kumar, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2001, 16, 527.

- 
84. EPA Method 3031: Acid digestion of oils for metals analysis by atomic absorption or icp spectrometry, **1996**.
85. Dias, T. G.; Guiberteau, A.; Soto, M. D. L.; Ortiz, J. M.; *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51(13), 3743.
86. Amini, M.K.; Momeni-Isfahani. T.; Khorasani, J. H.; Pourhossein, M.; *Talanta* **2004**, 63(3), 713.
87. Dugo, G.; Pera, L.; Torre, G. L.; Giuffrida, D.; *Food Chem.* **2004**, 87(4), 639.
88. Thomaidis, N. S.; Georgiou, C. A.; *Laboratory Automation and Information Management*, **1999**, 34, 101.
89. Carbonell, V.; Maurí, A. R.; Salvador, A.; Guardia, M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1991**, 6, 581.
90. Martínez, Y. G.; Pavón, J. L. P.; Cordero, B. M.; Pinto, B. C. G.; *J. Chromatogr. A* **1997**, 789 (1-2), 549.
91. Frias, I.; Díaz, C.; Hardisson,; *Food Chem*, **1994**, 50, 237.
92. Abdel-Hamid.; Abdel-Rahman, Y.; *Food Chem.* **1984**, 13(2), 161.
93. Karadjova, I.; Zachariadis, G.; Boskou, G.; Stratis, J.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1998**, 13(3), 201.
94. Polvillo, M. M.; Albi, T.; Guinda, A.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1994**, 71(4), 347.
95. Karadjova, I.; Venelinov, T.; *Food Addit. Contam.* **2002**, 19(10), 948.
96. Leonardis, A.; Macciola, V.; Felice, M.; *Int. J. Food Sci. Technol*, **2000**, 35, 371.
97. Reyes, M. N. M.; Campos, R. C.; *Talanta* **2006**, 70, 929.
98. Castillo, J. R.; Jimenez, M. S.; Ebdon, L.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1999**, 14, 1515.
99. Jiménez, M. S.; Velarte, R.; Gomez, M. T.; Castillo, J. R.; *Atom. Spectrom.* **2004**, 25(1), 1 .
100. Johna, J.; Bhattacharya, M.; Raynorb, P. C.; *Colloids Surf, A* **2004**, 237(1-3), 141.
101. Mitra, R. K.; Paul, B. K.; *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, 238, 565.
102. Dantas, T. N. C.; Silva, Silva, A. C.; Neto, A. A. D.; *Fuel* **2001**, 80, 75.
103. Hbio o novo combustível da PETROBRAS.  
<http://www.biodieselbr.com/destaques/2006/h-bio-novo-diesel-petrobras.htm> ou  
[http://pt.wikipedia.org/wiki/H\\_bio](http://pt.wikipedia.org/wiki/H_bio), sites acessados em julho de 2008.
104. Hoar, T.P., Schulman, J.H, *Nature* **1943**, 152, 102.
105. Murillo, M.; Benzo, Z.; Gomez, C.; Garaboto, A.; Marin, C.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1999**, 14, 815.
106. Souza, R. M.; Da Silveira, C. L. P.; Aucélio, R. Q., *Analytical Sciences* **2004**, 20, 351.



- 
107. Silva, I. A.; Campos, R. C.; Curtius, A. J.; Sella, S. M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1993**, 8, 749.
108. Welz, B.; Sperling, M.; Atomic Absorption Spectrometry, 3° Ed.; WILEY-VCH, Weinheim, New York, **1999**.
109. Guidelines for Data Acquisition and Data Quality Evaluation in Environmental Chemistry; *Anal.Chem.* **1980**, 52, 2242.