

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação de Mestrado

**Desenvolvimento e validação de metodologias de
preparo de amostras para determinação de Ca,
Mg e K em Biodiesel por técnicas de
Espectrometria Atômica**

Meibel Teixeira Lisboa

Pelotas, janeiro de 2012.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação de Mestrado

**Desenvolvimento e validação de metodologias de
preparo de amostras para determinação de Ca,
Mg e K em Biodiesel por técnicas de
Espectrometria Atômica**

Meibel Teixeira Lisboa

Pelotas, janeiro de 2012.

Dados de catalogação na fonte:

Maria Beatriz V. Vieira – CRB 10/1032

Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

L769d

Lisboa, Meibel Teixeira

Desenvolvimento e validação de metodologias de preparo de amostras para determinação de Ca, Mg e K em Biodiesel por técnicas de Espectrometria Atômica / Meibel Teixeira Lisboa. – 107f.; il. color. – Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Pelotas. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos. Pelotas, 2012. – Orientador Mariana Antunes Vieira; co-orientador Anderson Schwingel Ribeiro.

1. Química. 2. Biodiesel. 3. Contaminantes inorgânicos. 4. Preparo de amostras. 5. Espectrometria Atômica. I. Vieira, Mariana Antunes. II. Ribeiro, Anderson Schwingel. III. Título.

CDD: 543.02

Desenvolvimento e validação de metodologias de preparo de amostras para determinação de Ca, Mg e K em Biodiesel por técnicas de Espectrometria Atômica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. (Área de concentração: Química analítica).

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Mariana Antunes Vieira
Co-orientador: Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro

Pelotas, janeiro de 2012.

A banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado intitulada “Desenvolvimento e validação de metodologias de preparo de amostras para determinação de Ca, Mg e K em biodiesel por técnicas de Espectrometria Atômica” de autoria de Meibel Teixeira Lisboa.

Banca examinadora:

.....
Prof^a. Dr^a. Mariana Antunes Vieira (Orientadora)

.....
Prof. Dr. Antônio Carlos da Silva Ramos

.....
Prof^a. Dr^a. Emilene Mendes Becker

"Deus permitiu a existência das quedas d'água para aprendermos quanta força de trabalho e renovações podemos extrair de nossas próprias quedas. O trabalho bem executado traz-nos a alegria do dever cumprido."

(Autor desconhecido)

Dedico esse trabalho ao meu pai Rubens, minha irmã Sabrina, meu noivo Thiago e minha avó Nair, pois sem o incentivo, a confiança e o apoio de todos vocês eu não teria conseguido concluir mais esta etapa na minha vida. Amo muito todos vocês! Obrigada!

Dedico esse trabalho ao Professor Reinaldo Calixto de Campos (in memoriam), uma vez que este trabalho contou com a sua colaboração através de seus conhecimentos e ensinamentos de Química Analítica.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Mariana Antunes Vieira, pela oportunidade de realizar este trabalho sob a sua orientação, pela confiança em mim depositada, por todos os ensinamentos transmitidos e pela amizade, muito obrigada!

Ao meu Co-orientador Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro, pelos ensinamentos, correções e observações acerca do meu trabalho, que sem dúvida me fez crescer profissionalmente, e pelo espaço concedido no seu grupo de pesquisa para realização do mesmo, obrigada!

A Prof^a. Dr^a. Adriane Medeiros Nunes, pela amizade, pelas conversas descontraídas, pelos conselhos e pelos ensinamentos trocados, obrigada!

A minha colega de Iniciação Científica Caroline Dutra Clasen, por todo apoio prestado para realização deste trabalho, pela amizade, pelos momentos de descontração, e por não ter me abandonado mesmo nos momentos mais difíceis, sou muito grata a ti por isso, obrigada amiga!

A minha colega de iniciação científica “emprestada” Daiane Corrêa de Sousa Vellar, por toda a ajuda prestada no meu trabalho, pelo incentivo as aulas de aeróbica e acima de tudo pela amizade, obrigada amiga!

Ao meu amigo e colega de mestrado Eliézer Quadro Oreste pela amizade, pelos valiosos conselhos, pelos inúmeros ensinamentos, por ter ficado ao meu lado sempre que precisei de ti, sem importar a hora e o dia. Saiba que essa amizade que nasceu vai ficar pra sempre, pois tu já tens cadeira cativa no meu S₂. Te adoro amigo, obrigada por tudo!

A minha colega de mestrado Michele Barboza da Rosa, pela ajuda prestada, por ser companheira de todas as horas, como almoço, café, central analítica e academia, e acima de tudo pela nossa amizade, que acho que já veio de outras vidas, obrigada por tudo amiga.

A minha colega de mestrado e amiga Eliane Freire, pelas caronas concedidas, pelas conversas e conselhos, pelos momentos de descontração e acima de tudo pela amizade, obrigada!

A minha colega de mestrado e amiga Camila Oliz, por todos os momentos que passamos juntas, viagens de congresso, disciplinas, os problemas do dia a dia vividos no laboratório, e a pressão final da nossa defesa, valeu amiga!

Aos meus colegas de laboratório Richard, Camila, Sérgio, Rafael e Tanize pela convivência, pela amizade, pelas risadas e pelos bons momentos vividos.

A minha amiga Caroline Santos da Silva, pelos ensinamentos quando eu entrei no grupo de pesquisa e pela amizade.

As minhas colegas de mestrado Lara Montenegro e Katiúcia Mesquita, por todos os momentos, bons e ruins, que passamos juntas, fico muito feliz por estar realizando uma conquista como essa ao lado de grandes amigas como vocês, obrigada!

Ao meu pai, por ter assumido a bronca e me dado todo o apoio para que eu pudesse seguir meus estudos e concluir meu mestrado, obrigada por todo o apoio financeiro e afetivo, pois sem isso eu certamente não teria conseguido. Te amo pai!!

A minha irmã Sabrina, que sempre me deu incentivo para que eu evoluísse como pessoa e como profissional, e por estar sempre presente na minha vida, te amo maninha!

A minha avó Nair, que mesmo não estando mais aqui entre nós, sempre me incentivou a estudar, então dedico esse diploma de mestre a ela, por todo amor e dedicação que ela sempre teve comigo, saudade vózinha!

Ao meu noivo Thiago, por todo carinho, amor e dedicação que sempre teve comigo, teu apoio é muito importante pra mim, te amo!

Agradeço a CAPES pelo suporte financeiro.

Agradeço a Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-RIO) e a empresa Brasil Ecodiesel pelo fornecimento das amostras de Biodiesel.

A Deus por todas as preces atendidas e por estar sempre ao meu lado.

E a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, Muito obrigada!

RESUMO

Título: Desenvolvimento e validação de metodologias de preparo de amostras para determinação de Ca, Mg e K em Biodiesel por Técnicas de Espectrometria Atômica.

Os contaminantes inorgânicos comumente encontrados no biodiesel podem ser incorporados durante o processo de produção, principalmente devido ao uso dos catalisadores. O monitoramento desses contaminantes, principalmente na forma de metais, em amostras de biocombustíveis é de primordial importância, pois a sua presença em determinados níveis pode prejudicar o desempenho do motor e, conseqüentemente, aumentar o problema de contaminação ambiental. Desta forma, neste trabalho foram desenvolvidas duas metodologias de preparo de amostra para a determinação de Ca, Mg e K em amostras de biodiesel obtidas de diferentes fontes: o uso de emulsão e a digestão ácida em sistema aberto, tendo em vista que na literatura ainda existem poucos trabalhos relacionados com esse tipo de preparo de amostras. A quantificação dos metais foi realizada por Espectrometria de Absorção em Chama (F AAS) para Ca e Mg e Espectrometria de Emissão Atômica em Chama (F AES) para K. A primeira metodologia avaliada para o preparo de amostra foi o uso de emulsões do tipo óleo em água (o/w) obtidas através da mistura de biodiesel, ácido fórmico (HCOOH), Triton X-100 e anti-espumante. A calibração usando esta metodologia foi realizada com padrões inorgânicos. As emulsões formadas mostraram-se estáveis por pelo menos 2h. Os limites de detecção na amostra, em mg Kg^{-1} , foram 2,30; 0,20 e 0,70 para Ca, Mg e K, respectivamente. A segunda metodologia avaliada foi a digestão ácida em sistema aberto. Para esta metodologia, as amostras de biodiesel foram digeridas com HNO_3 concentrado à uma temperatura de 220°C durante 4h. A abertura das amostras foi realizada em um bloco digestor com sistema de dedo-frio para circulação de água. A calibração foi realizada com padrões aquosos inorgânicos. Os limites de detecção na amostra, em mg Kg^{-1} , foram 0,12; 0,36 e 1,96 para Ca, Mg e K, respectivamente. Frente as duas metodologias de preparo de amostra de biodiesel avaliadas, observaram-se vantagens em relação ao método oficial descrito na norma ABNT NBR 15556

para a determinação de metais em biodiesel que faz uso da diluição com solvente orgânico (xileno), tais como a estabilidade dos analitos no meio emulsionado, a possibilidade de calibração usando padrões aquosos inorgânicos, melhores limites de quantificação, a não utilização de solventes orgânicos que são tóxicos e trazem risco ao analista e a não utilização de padrões organometálicos para a calibração, que são instáveis e caros. Foram analisadas diferentes amostras de biodiesel e os analitos Ca, Mg e K foram determinados. Para fins de comparação, as amostras também foram analisadas pelo método oficial descrito na norma ABNT NBR 15556 e através da análise de um padrão de referência certificado de biodiesel. Os resultados foram concordantes, demonstrando a eficiência dos métodos desenvolvidos, sendo uma alternativa para determinação destes metais em amostras de biodiesel.

Palavras-Chave: Biodiesel, contaminantes inorgânicos, preparo de amostras.

ABSTRACT

Title: Development and validation of methods for sample preparation for determination of Na, K, Ca and Mg in to biodiesel by techniques of atomic absorption spectrometry.

Inorganic contaminants commonly found in biodiesel can be incorporated during their production process, mainly due to the use of catalysts. The monitoring of these contaminants, especially in metals form in biodiesel samples is very important, because its presence can affect the engine performance and also increase the problem of environmental contamination. Thus, in this work were developed two sample preparation methods for the determination of Ca, Mg and K in biodiesel samples obtained from different sources: the use of emulsion and acid digestion in an open system. The quantification of metals was performed by Flame Atomic Absorption Spectrometry (F AAS) for Ca and Mg and Flame Atomic Emission Spectrometry (F AES) for K. The first methodology evaluated for the sample preparation was the use of emulsions of oil in water (o/w) obtained by mixing of biodiesel, formic acid (HCOOH), Triton X-100 and anti-foam. Calibration was performed using inorganic standards. The emulsions formed were stable for at least 2 hours. The limits of detection in the sample, in mg kg^{-1} were 2,30, 0.20 and 0.70 for Ca, Mg and K, respectively. The second methodology evaluated was the acid digestion in an open system. For this methodology, the biodiesel samples were digested with concentrated HNO_3 at $220\text{ }^\circ\text{C}$ for 4h. The sample digestion procedure was performed in a block digester with the cold-finger system for water circulation. Calibration was performed with aqueous inorganic standards. The limits of detections in the sample, in mg kg^{-1} were 0,12, 0.36 and 1.96 for Ca, Mg and K, respectively. Comparing the two developed methodologies for sample preparation of biodiesel, it was observed advantages in relation to the official method for the determination of metals in biodiesel which use dilution with organic solvent (xylene), such as the stability of the analytes in the middle emulsified the possibility of calibration using aqueous inorganic standards, better limits od detection, no use of organic solvents that are toxic and pose risks to the analyst and not using organometallic standards for calibration

(unstable and expensive). Different samples of biodiesel were analyzed and the concentration of analytes Ca, Mg and K determined. For comparison, the samples were also analyzed by the official method and by analyzing a standard reference material for biodiesel. The results were in agreement, demonstrating the effectiveness of the methods developed as an alternative for the determination of metals in samples of biodiesel.

Keywords: Biodiesel, inorganic contaminants, sample preparation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Equação geral da reação de transesterificação para obtenção do biodiesel.....	05
Figura 2	Mapa da produção de biodiesel no Brasil.....	07
Figura 3	Processo de produção do biodiesel.....	09
Figura 4	Tipos de emulsões: água em óleo (W/O) ou óleo em água (O/W).....	14
Figura 5	Esquema representativo do sistema de dedo-frio com circulação de água.....	26
Figura 6	(A) Bloco digestor com auxílio do dedo frio, (b) liberação de NOx durante o processo de digestão.....	27
Figura 7	Efeito da concentração de ácido fórmico. (–□–) solução padrão aquosa contendo 0,5 mg L ⁻¹ de Ca e Mg ou 0,4 mg L ⁻¹ de K e (–○–) biodiesel de soja contendo 0,5 mg L ⁻¹ de Ca e Mg ou 0,4 mg L ⁻¹ de K. Triton X-100: 15 gotas.....	32
Figura 8	Efeito da concentração de Triton X-100. (–□–) solução padrão aquosa contendo 0,5 mg L ⁻¹ de Ca e Mg ou 0,4 mg L ⁻¹ de K e (–○–) biodiesel de soja contendo 0,5 mg L ⁻¹ de Ca e Mg ou 0,4 mg L ⁻¹ de K. Concentração de ácido fórmico: 25,5% v/v.....	33
Figura 9	Efeito da concentração do tampão de ionização CsCl/LaCl ₃ no sinal de absorvância. (–□–) solução padrão aquosa contendo 0,5 mg L ⁻¹ de Ca e Mg e (–○–) biodiesel de soja contendo 0,5 mg L ⁻¹ de Ca e Mg. Concentração de ácido fórmico: 25,5% v/v e Triton X-100: 0,84% v/v.....	34

Figura 10	Efeito da estabilidade dos analitos. (—□—) solução padrão aquosa contendo $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Ca e K e $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de Mg; (—○—) biodiesel de soja contendo $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Ca e K e $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de Mg. Concentração de ácido fórmico: 25,5% v/v e Triton X-100: 0,84% v/v.....	36
Figura 11	Curvas de adição para diferentes amostras de biodiesel. Faixa linear de 0 a 2 mg L^{-1} para Ca (A), de 0 a $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ para Mg (B) e para K (C).....	40
Figura 12	Estudo da variação de massas das amostras de biodiesel para o processo de digestão.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Limites máximos aceitáveis dos componentes no biodiesel (B100) e respectivos métodos de análise recomendados pela ANP.....	10
Tabela 2	Aparência da emulsão em função do tamanho da partícula da fase dispersa.....	13
Tabela 3	Macroemulsões versus Microemulsões.....	13
Tabela 4	Ponto de Ebulição dos ácidos à pressão atmosférica.....	18
Tabela 5	Propriedades das chamas comumente empregadas em F AAS...	22
Tabela 6	Parâmetros operacionais do espectrômetro de absorção atômica utilizados para as análises das amostras.....	25
Tabela 7	Condições operacionais do fotômetro de chama.....	26
Tabela 8	Parâmetros de mérito para o procedimento baseado na formação de emulsão e para o procedimento recomendado pela norma ABNT NBR 15556	37
Tabela 9	Inclinações ($\pm$ desvio-padrão) das curvas de adição em amostras de biodiesel de diferentes origens obtidas por F AAS para Ca e Mg e por F AES para K, usando o procedimento de emulsões.....	39
Tabela 10	Concentrações ($\text{mg kg}^{-1} \pm \text{SD}$) de Ca, Mg e K obtidas no material de referência padrão de biodiesel preparado como emulsão com ácido fórmico e Triton X-100 ($n=3$).....	41
Tabela 11	Concentrações medidas de Ca, Mg por F AAS e K por F AES (mg Kg^{-1} , $n=3$) em amostras de biodiesel após a adição de diferentes concentrações na amostra original.....	42

Tabela 12	Concentrações ($\text{mg Kg}^{-1} \pm \text{SD}$) de Ca, Mg e K obtidas em diferentes amostras de biodiesel (n=3) usando o procedimento de emulsão.....	43
Tabela 13	Concentrações de Ca, Mg e K (mg Kg^{-1}) obtidas em amostras de biodiesel preparadas na forma de emulsões e diluídas com xileno.....	44
Tabela 14	Parâmetros de mérito do procedimento de digestão ácida em sistema aberto obtidos usando as técnicas de F AAS e F AES em comparação com os obtidos pela técnica de ICP OES.....	50
Tabela 15	Resultados das concentrações ($\text{mg Kg}^{-1} \pm \text{SD}$) de Ca, Mg e K obtidas em amostras de biodiesel (n=3) usando o procedimento de digestão ácida em sistema aberto.....	50
Tabela 16	Resultados das concentrações ($\text{mg Kg}^{-1}, \pm \text{SD}$) de Ca, Mg e K obtidas em amostras de biodiesel (n=3) usando o procedimento de digestão.....	51
Tabela 17	Resultados das concentrações ($\text{mg Kg}^{-1} \pm \text{SD}$) de Ca, Mg e K obtidas em amostras de biodiesel (n=3) pela técnica de ICP OES usando o procedimento de digestão ácida em sistema aberto para a abertura das amostras.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT/NBR	Associação Brasileira de Normas Técnicas / Norma Brasileira
EM	Norma Européia (do inglês <i>European Norm</i>)
AAS	Espectrometria de Absorção Atômica (do inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>).
ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
F AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)
F AES	Espectrometria de Emissão Atômica com Chama (do inglês <i>Flame Atomic Emission Spectrometry</i>)
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (do Inglês <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>)
GLP	Gás liquefeito de petróleo
HCL	Lâmpada de cátodo oco (do inglês <i>Hollow Cathode Lamp</i>)
ICP MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
ICP OES	Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
LD	Limite de detecção (do inglês <i>Limit of Detection</i>)
LQ	Limite de Quantificação (do inglês <i>Limit of Quantification</i>)
R	Coeficiente de correlação linear.
SD	Desvio Padrão (do inglês <i>Standard Deviation</i>)

RSD	Desvio Padrão Relativo (do inglês <i>Relative Standard Deviation</i>)
FI-CV-AFS	Geração de Vapor Frio Acoplado a Espectrometria de Fluorescência Atômica com injeção em fluxo (do inglês <i>Flow Injection Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry</i>)
UV	Ultravioleta
QAV	Querosene de Aviação

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	Viii
RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	Xli
LISTA DE FIGURAS.....	Xiv
LISTA DE TABELAS.....	Xvi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	Xviii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2.1. Biodiesel.....	03
2.2. Metais em Biodiesel.....	08
2.3. Preparo de amostras de biodiesel para determinação de metais..	10
2.3.1. Diluição direta com solvente orgânico.....	11
2.3.2. Emulsões e Microemulsões.....	12
2.3.3. Digestão via úmida.....	17
2.4. Técnicas Espectrométricas utilizadas para determinação de metais em biodiesel.....	19
2.4.1. Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS).....	20
2.4.2. Espectrometria de Emissão Atômica com Chama (F AES).....	22
2.4.3. Interferências de ionização.....	23
3. OBJETIVOS.....	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25

4.1. Instrumentação.....	25
4.2. Reagentes.....	27
4.3. Descontaminação do material.....	28
4.4. Amostras.....	28
4.5. Procedimentos de preparo de amostras.....	29
4.5.1. Procedimento 1 – Emulsões.....	29
4.5.2. Procedimento 2 – Digestão via úmida.....	29
4.5.3. Procedimento 3 - Procedimento da norma NBR ABNT 15556...	30
4.6. Exatidão.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	31
5.1. Emulsões com Ácido Fórmico e Triton X-100.....	31
5.1.1 Efeito da concentração de Ácido Fórmico.....	31
5.1.2 Efeito da concentração de Triton X-100.....	32
5.1.3 Efeito da concentração do tampão de ionização.....	34
5.1.4 Estabilidade dos analitos.....	35
5.1.5. Parâmetros de Mérito.....	36
5.1.6. Influência da Matriz.....	38
5.1.7. Estudos de Precisão e Exatidão.....	40
5.2. Digestão ácida com sistema de dedo frio.....	45
5.2.1 Mistura $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$	45
5.2.2 Mistura $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$	46
5.2.3 Mistura HNO_3/HCl	46
5.2.4 HNO_3	47
5.2.5 Estudos da variação da massa para digestão ácida.....	47
5.2.6 Determinação da concentração final de HNO_3 após o processo de digestão - Titulação com Na_2CO_3	48
5.2.7. Parâmetros de mérito.....	49

5.2.8. Exatidão.....	50
6. CONCLUSÃO.....	53
7. REFERÊNCIAS.....	54
8. ANEXO 1.....	60

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o biodiesel representa um substituto promissor para os combustíveis fósseis, uma vez que é derivado de fontes de energias renováveis. Segundo a Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, o biodiesel é definido como: “biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição ou compressão ou, conforme regulamento para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil”.

Os contaminantes inorgânicos que estão presentes no biodiesel, principalmente os que estão na sua forma metálica, podem ser oriundos da matéria-prima utilizada (óleo vegetal ou gordura animal) e/ou podem ser incorporados durante o processo de produção devido ao uso de catalisadores básicos, que geralmente são os mais utilizados devido ao seu alto rendimento na reação de transesterificação quando comparados com outros tipos de catalisadores que também podem ser utilizados. O monitoramento de elementos metálicos em amostras de combustíveis e biocombustíveis são de primordial importância em termos econômicos, não só para a indústria de combustíveis, mas em outras.

A presença de Na, K, Ca e Mg acima de determinados níveis de concentração pode mudar as características de uso do biodiesel, ocasionando diversos problemas como a formação de sabões insolúveis, aparecimento de depósitos nos filtros e injetores, pode contribuir para corrosão de peças do motor e também pode atuar como catalisador de reações de polimerização.

A determinação de metais como Na, K, Mg e Ca em amostras de biodiesel é realizada de acordo com as recomendações estabelecidas pelas normas europeias e brasileiras. De modo geral, os procedimentos de preparo da amostra de biodiesel para a determinação dos elementos metálicos recomendados por estas normas fazem uso da diluição da amostra em um solvente orgânico, normalmente o xileno ou querosene de aviação, seguido da determinação através de técnicas espectrométricas. No entanto, existem algumas desvantagens em se utilizar o procedimento recomendado pelas normas, tais como a utilização de padrões organometálicos, que tem um custo elevado e quase sempre formam soluções de baixa estabilidade e o uso de

solventes orgânicos tóxicos. Também, de acordo com as normas, as determinações de Ca, Mg e P devem ser realizadas usando a técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Esta técnica, mesmo sendo capaz de analisar vários elementos, é uma técnica muito cara quando comparada com a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS), devido ao alto custo dos equipamentos e o alto consumo do gás argônio. Além disso, a introdução de solventes orgânicos como o xileno no espectrômetro pode ser um problema, se não for utilizado um sistema adequado de introdução [13].

Desta forma, o desenvolvimento de metodologias de análise que reduzam o uso de reagentes tóxicos e que forneçam resultados confiáveis para a determinação de metais em amostras de biodiesel é de extrema importância.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biodiesel

A alta demanda de energia no mundo industrializado, e os problemas de poluição causados devido ao uso generalizado de combustíveis fósseis, especialmente relacionados com gases do efeito estufa, fazem com que se tornem cada vez mais necessários o uso de fontes de energia renováveis que tenham menor impacto ambiental. Isso tem estimulado o interesse no uso de fontes alternativas de combustíveis que não sejam oriundos do petróleo. Um combustível alternativo deve ter características como ser tecnicamente viável, economicamente competitivo e ambientalmente aceitável. Uma das alternativas aos combustíveis fósseis utilizada foi o uso de óleo vegetal por volta de 1977 a partir do óleo de algodão. Atualmente, o combustível alternativo ao diesel é denominado de biodiesel, sendo também um exemplo, já em aplicação, do emprego da biomassa para produção de energia [1,2].

O biodiesel é um ótimo substituto do diesel devido às suas propriedades físicas, que são próximas às do diesel fóssil. Portanto, seu uso (puro ou misturado) não demanda qualquer modificação no motor a diesel e na distribuição de combustíveis existentes e infraestrutura de armazenamento. A designação de biodiesel puro é B100 (100% ésteres de alquila de ácido graxo). O biodiesel pode ser também usado em misturas com diesel fóssil e a abreviatura BXX indicará o volume em percentagem de B100, por exemplo, B2 é constituído por 2% de B100, e 98% de diesel. Atualmente, por decisão do governo federal, o total de biodiesel adicionado ao diesel mineral já está em 5% (B5) [3-5].

Segundo o Portal do Biodiesel, de acordo com a Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, biodiesel é um “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” e segundo a RESOLUÇÃO ANP Nº 7, DE 2008, biodiesel é um “combustível composto de alquilésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais”.

O biodiesel apresenta vantagens sobre o diesel de petróleo, pois é menos tóxico e é proveniente de fontes renováveis, além de proporcionar melhor qualidade das emissões durante o processo de combustão, tendo em vista que as oleaginosas absorvem CO₂ enquanto crescem. O biodiesel apresenta muitas vantagens sobre o diesel de petróleo, tais como: ausência de enxofre e compostos aromáticos; possui índice de cetano maior que o diesel garantindo uma melhor combustão e diminuição na emissão de poluentes; é biodegradável e obtido de fontes renováveis, tais como óleos vegetais e as gorduras animais [6-8].

Embora o biodiesel forneça uma quantidade de energia cerca de 10% menor que o diesel de petróleo, seu desempenho em motores automotivos é praticamente o mesmo no que diz respeito à potência. Por apresentar maior viscosidade, o biodiesel proporciona maior lubricidade que o diesel mineral, logo, tem-se observado redução no desgaste das partes móveis do motor. Por outro lado, o biodiesel possui estruturas moleculares mais simples que o seu precursor, os triglicerídeos, logo, sua viscosidade é comparativamente menor, apresentando maior eficiência de queima, reduzindo significativamente a deposição de resíduos nas partes internas do motor [2]. Segundo Knothe e colaboradores [6], se a viscosidade for extremamente excessiva, como no caso dos óleos vegetais, ocorrerá a degradação da pulverização no cilindro, reduzindo a eficiência da atomização e promovendo a contaminação do óleo lubrificante e a produção de fumaça preta.

O biodiesel pode ser obtido através da reação de transesterificação (Figura 1) dos triglicerídeos de óleos e gorduras de origem vegetal ou animal com uma cadeia curta de um mono-álcool (geralmente metanol ou etanol) na presença de catalisadores básicos, ácidos ou heterogêneos, geralmente são utilizados os catalisadores básicos como hidróxidos de sódio ou potássio, produzindo uma mistura de álcool etílico ou éster metílico (biodiesel) juntamente com um subproduto que é a glicerina [1,6,8].

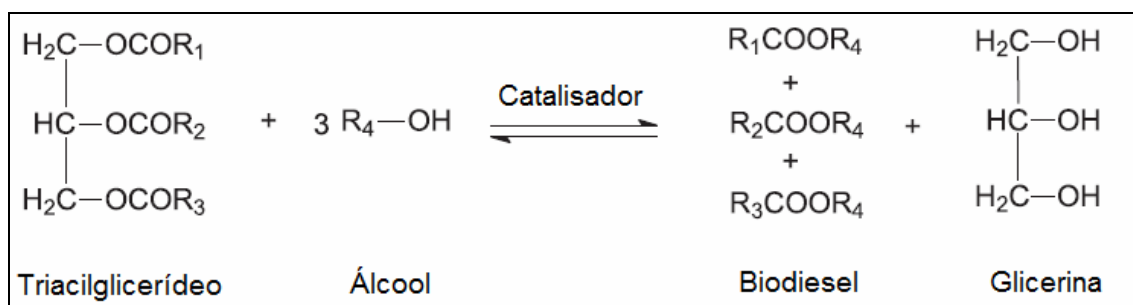


Figura 1 – Equação geral da reação de transesterificação para obtenção do biodiesel [9].

O metanol é o álcool mais utilizado no processo de transesterificação devido ao seu baixo custo na maioria dos países e às suas vantagens físicas e químicas (polaridade, álcool de cadeia mais curta, reage rapidamente com o triacilglicerídeo e dissolve facilmente o catalisador básico). Além disso, permite a separação simultânea do glicerol. A mesma reação usando etanol é mais complicada, pois requer um álcool anidro, bem como um óleo com baixo teor de água para levar à separação do glicerol. Este procedimento pode ser realizado tanto em meio ácido como em meio básico ou utilizando enzimas [6,10,11].

Entre os catalisadores básicos mais utilizados estão os hidróxidos de metais alcalinos, carbonatos e alcóxidos de metais alcalinos (metóxido de sódio, etóxido de sódio, propóxido de sódio e butóxido de sódio). A maior parte dos trabalhos descritos na literatura emprega catalisadores básicos, tais como hidróxido de potássio (KOH) e hidróxido de sódio (NaOH). Com estes catalisadores, foram observados maiores rendimento e seletividade da reação de transesterificação. No entanto, outros catalisadores básicos não iônicos podem ser usados na transesterificação dos triacilglicerídeos, entre eles trietilamina, piperidina, guanidinas, evitando a formação de subprodutos indesejáveis como os sabões. Ácido sulfúrico, ácidos sulfônicos e ácido clorídrico são geralmente empregados como catalisadores ácidos. A conversão enzimática de óleos vegetais em biodiesel oferece uma opção ambientalmente mais atrativa que os processos convencionais. Enzimas hidrolíticas como as lipases também podem ser utilizadas como biocatalisadores, embora o processo enzimático não tenha sido desenvolvido comercialmente [9-11].

Várias pesquisas têm sido realizadas do desenvolvimento de catalisadores heterogêneos, básicos, ácidos e enzimáticos, para a transesterificação de óleos e gorduras, buscando vantagens como a possibilidade de reutilização do catalisador e a simplificação do processo de purificação do biodiesel, pois os catalisadores heterogêneos são facilmente removidos por um simples processo de filtração, reduzindo assim a geração de efluentes [12].

Óleos vegetais de diferentes fontes de óleo vegetal são usadas para a produção de biodiesel. Dentre estes podem ser citados a soja, palma, mamona, abacate, algodão, amendoim, girassol, algas, pinhão manso, etc. Além dessas fontes existentes de óleos vegetais há também óleos de origem animal derivados de fritura residual e gorduras animais, como o óleo de fritura e o sebo bovino [6].

A matéria-prima para a produção de biodiesel é escolhida de acordo com a viabilidade em cada região ou país, demonstrada na Figura 2, e sua utilização traz uma série de vantagens, tais como:

- Ser altamente competitivo frente a alternativas para a redução de poluição, pois não gera aumento nas emissões, visto que as oleaginosas absorvem o CO₂ enquanto crescem;
- Surgimento de um novo mercado, proporcionando a possibilidade de redução das importações de petróleo e diesel refinado, maior base tributária, agregação de valores as matérias primas (oleaginosas, cana de açúcar), entre outros.

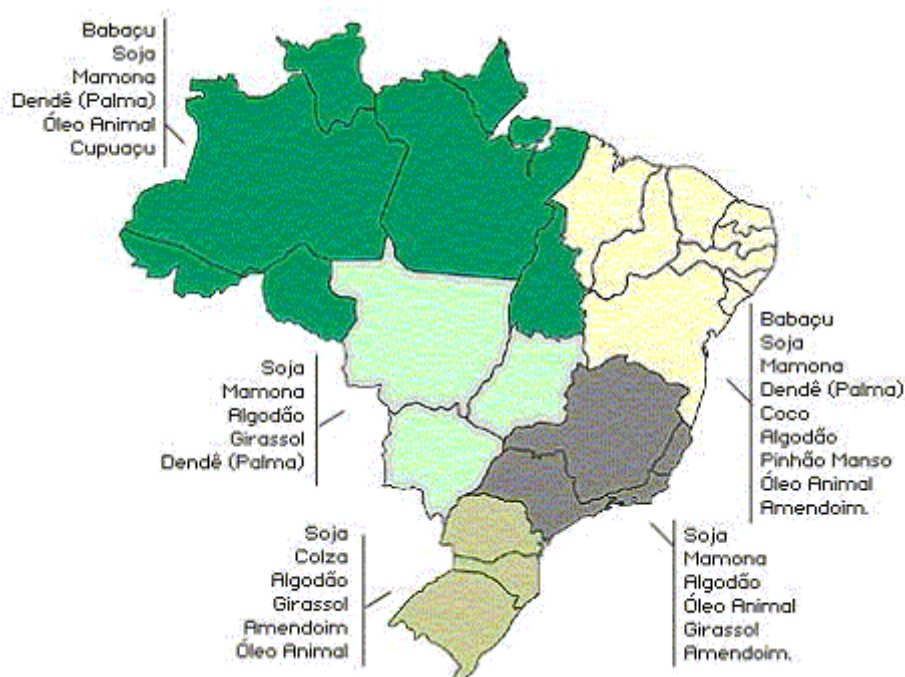


Figura 2 – Mapa da produção de biodiesel no Brasil. Adaptada de [13].

O aproveitamento energético de óleos vegetais e a produção de biodiesel são também benéficos para a sociedade, pois gera postos de trabalho, especialmente no setor primário e na agricultura familiar. Atualmente, cerca de 90% do óleo vegetal produzido no país vem da soja, mas a maior desvantagem é que ela tem um teor de óleo baixo em relação a outras matérias primas. Pensando nisso, o governo tem investido em mamona e dendê, enquanto o biodiesel de sebo bovino é mais barato e poderia atender as regiões onde são feitos o cultivo dessas oleaginosas de forma mais acessível e barata, só que com a utilização do sebo, não há incentivo à agricultura familiar, e este é um dos pilares do Programa Nacional de produção e Uso do Biodiesel [14].

A mamona, considerada como uma das maiores estrelas do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel, hoje está abalada pelo alto preço do óleo da planta, por sua elevada viscosidade, e o fato de ter nada menos do que 700 aplicações na indústria racinoquímica. As usinas estão comprando óleo de soja refinado e óleo de algodão semi-refinado por serem alternativas bem mais baratas do que o óleo de mamona para produzir o combustível. O alto grau de viscosidade da mamona, nove vezes maior do que o óleo de soja, por exemplo,

seria outro empecilho à sua utilização em larga escala para fabricação do biodiesel [15].

2.2. Metais em Biodiesel

Os metais em biodiesel podem ser oriundos de diferentes fontes. Podem estar naturalmente presentes em óleos vegetais usados como matéria-prima no processo de produção ou também podem ser incorporados durante o processo de refino ao qual o óleo é submetido (processo de transesterificação) [16,17].

No caso do biodiesel, o ponto mais crítico é a presença dos metais alcalinos e alcalinos-terrosos. Estes podem estar presentes naturalmente ou serem provenientes de resíduos de catalisadores básicos que são utilizados no processo de obtenção do biodiesel. Também é comum encontrar metais em altas concentrações nas águas de lavagem. A Figura 3 apresenta as etapas do processo de produção do biodiesel, onde é possível verificar as possíveis fontes de introdução dos metais.

A formação de cinzas dentro do motor geralmente é associada a presença de metais como Na e K no biodiesel. Também, a formação de sabões, responsável por furar a injeção da bomba e/ou formar depósitos sobre as partes dos motores, são decorrentes da presença de metais como Ca e Mg. Outros metais também podem ser incorporados durante o processo de refino ao qual o óleo vegetal ou animal é submetido e podem vir a serem incorporados no biodiesel durante o processo de produção [17]. A presença de metais tais como Cu, Fe, Ni, Mn e Zn na matéria-prima podem catalisar reações de oxidação e levar a rancidez do óleo ou da gordura, diminuindo o rendimento da reação de transesterificação. Cobre e ferro são metais que estão sendo utilizados como catalisadores no processo de transesterificação. Alguns estudos relatam que estes metais reduzem a energia de ativação do processo de auto-oxidação e, conseqüentemente, aumentam a taxa deste parâmetro. Podem também reagir diretamente com os lipídeos produzindo radicais com estes, além de radicais de oxigênio e hidroperóxidos. Estas espécies aceleram a oxidação e conseqüentemente interferem no processo de produção do biodiesel [12,18].

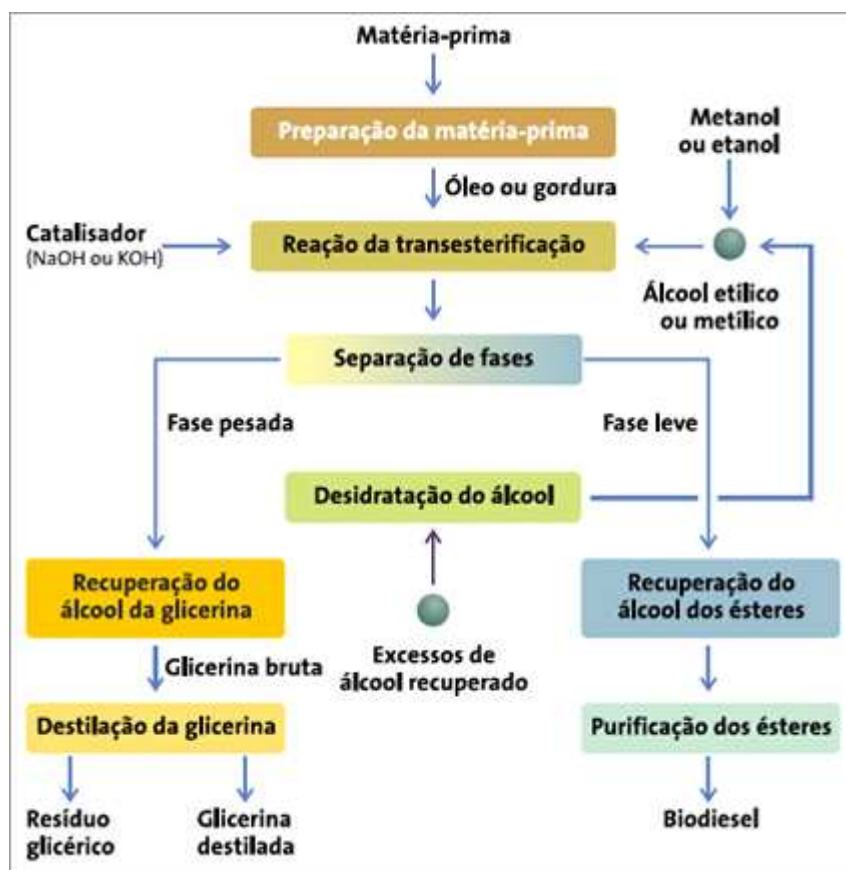


Figura 3 – Processo de produção do biodiesel. Fonte: Adaptado de [13].

Os metais, considerados contaminantes inorgânicos na matéria-prima e no biodiesel propriamente dito, no Brasil, têm suas concentrações máximas estabelecidas pela especificação atual descrita na Resolução ANP nº 07 [19] da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Esta especificação estabelece as principais características do biodiesel que deve ser adicionado ao óleo diesel.

A determinação de metais como Na, K, Mg e Ca em amostras de biodiesel é realizada de acordo com as recomendações estabelecidas pelas normas europeias (EN ISO 14108 [20], EN ISO 14109 [21], EN ISO 14538 [22]) e brasileiras (ABNT NBR 15553 [23], 15554 [24], 15555 [25] e 15556 [26]). No Brasil, a Resolução ANP nº 07 [19] também recomenda o uso de algumas normas para o controle de metais em biodiesel, como é apresentado pela Tabela 1. Para que o biodiesel possa ser comercializado no território nacional, os limites máximos de concentração para os elementos P e S é de 10 e 50 mg kg⁻¹ respectivamente enquanto que para a soma dos elementos Na+K ou Ca+Mg é de 5 mg kg⁻¹.

Tabela 1 – Limites máximos aceitáveis dos componentes no biodiesel (B100) e respectivos métodos de análise recomendados pela ANP.

Elemento	Limite máximo (mg kg ⁻¹)	Método		
		ABNT NBR	ASTM D	EN/ISSO
Na + K	5	15553; 15554; 15555; 15556	-	14108; 14109; 14538
Ca+ Mg	5	15553; 15556	-	14538
P	10	15553	4951	14107
S	50	-	5453	20846; 20884

2.3. Preparo de amostras de biodiesel para determinação de metais

A determinação de metais em amostras de biodiesel pode ser dificultada devido às baixas concentrações em que se encontram e principalmente devido a complexidade da matriz, necessitando avaliar o melhor procedimento de preparo da amostra e, principalmente, escolher métodos instrumentais sensíveis. A alta viscosidade da amostra torna difícil sua introdução direta no instrumento, e o elevado conteúdo de matéria orgânica da matriz aumenta a possibilidade de interferências durante as análises. Para superar estas dificuldades, diferentes procedimentos de preparo da amostra estão sendo desenvolvidos e aplicados para as análises de biocombustíveis.

Recentemente, Lepri e colaboradores [17], publicaram uma revisão sobre os principais métodos de preparo de amostras que são utilizados para a determinação de metais em biodiesel e óleos vegetais. Estes autores relataram que os métodos mais comuns são a diluição direta com solventes orgânicos, a digestão ácida, o uso de microemulsões e a análise direta e destacam as principais vantagens e desvantagens de cada um.

Nesta dissertação, foram avaliados dois procedimentos: o uso de emulsões e a digestão ácida. A diluição direta com solvente orgânico também foi usada, mas com a finalidade de comparar os resultados obtidos, já que é o procedimento de preparo de amostra recomendado pela norma ABNT NBR 15556 [26].

A seguir, será realizada uma breve descrição destes métodos bem como relatados alguns artigos mais recentes.

2.3.1. Diluição direta com solvente orgânico

Os procedimentos descritos pelas normas europeias, americanas e brasileiras recomendam o uso da diluição direta da amostra com um solvente orgânico, normalmente xileno ou querosene de aviação (QAV). A norma ABNT NBR 15556 [26], da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) indica a diluição da amostra de biodiesel com xileno para determinação de Na, K, Ca e Mg por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS).

No entanto, a diluição direta com solventes orgânicos muitas vezes não é a forma mais adequada de se preparar uma amostra deste tipo, pois estes solventes orgânicos além de serem voláteis não estabilizando os analitos são geralmente tóxicos e cancerígenos.

Além disso, para uma correta calibração do instrumento de análise é requerido que a curva de calibração seja preparada com o próprio solvente e com a adição de padrões organometálicos, os quais apresentam algumas dificuldades, tais como a sua instabilidade e custo elevado. Como controle de presença de metais, foram propostas algumas alternativas para a análise dos contaminantes inorgânicos usando a diluição direta da amostra com solvente orgânico.

Por exemplo, Chaves e colaboradores [27] realizaram a determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, S e Zn em amostras de biodiesel e óleos vegetais por Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Os autores propuseram um método alternativo a diluição direta com xileno, no qual a diluição das amostras de biodiesel foi realizada com etanol, e as amostras de óleos vegetais com 1-propanol, o que permitiu a aplicação do método sem qualquer modificação adicional, usando uma mistura de gases argônio e oxigênio como gás de nebulização, a fim de lidar com a carga orgânica no plasma. A curva de calibração foi obtida a partir de padrões inorgânicos diluídos com etanol ou 1-propanol.

Semelhantemente, Santos e colaboradores [28] propuseram uma metodologia simples e rápida para determinação de Ca, P, Mg, K e Na em amostras de biodiesel e detecção por ICP OES, fazendo uma simples diluição da amostra em etanol. Um fluxo de gás oxigênio foi utilizado para diminuir o fundo. As recuperações ficaram na faixa de 82 a 114% para todos os analitos, demonstrando a exatidão do procedimento proposto e os valores de RSD foram menores do que 9%.

2.3.2. Emulsões e Microemulsões

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

Uma microemulsão é um sistema heterogêneo, consistindo de pelo menos um líquido imiscível disperso em outro com tamanho de gota usualmente menor do que a longitude de onda da luz visível, e, conseqüentemente, as microemulsões são transparentes ou, pelo menos, translúcidas. Estas emulsões são estáveis, normalmente devido à utilização de uma mistura de agentes ativos de superfície.

Uma macroemulsão é um sistema heterogêneo, consistindo pelo menos de um líquido imiscível disperso em outro em forma de gotas, em geral, com diâmetros maiores a 0,1 μm . Estes sistemas possuem uma estabilidade mínima, podendo melhorar com a adição de agentes ativos de superfície, como surfatantes e sólidos finamente divididos, entre outros.

O tamanho da partícula interna pode variar e o sistema é termodinamicamente instável à medida que a fase interna tenta constantemente se aglomerar e se separar como uma segunda fase. Agentes emulsificantes são usados para retardar essa separação inevitável. A viscosidade da emulsão e sua aparência são controladas em parte pelo tamanho das partículas da fase dispersa e a proporção entre as fases internas e externas, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Aparência da emulsão em função do tamanho da partícula da fase dispersa. Adaptada de [29].

Tamanho da Partícula (µm)	Aparência
>1,0	Branco
0,1 – 1	Azul esbranquiçado
0,05 – 0,1	Semi-transparente
<0,05	Transparente

Quando o tamanho das partículas da fase dispersa diminui, a emulsão muda de um branco leitoso para transparente (microemulsão). Se as partículas são maiores do que 1 µm a emulsão é branco leitoso e esta impressão visual é devida ao espalhamento de luz, consequência dos diferentes índices de refração do meio dispersado e o dispersante (fase contínua). Algumas semelhanças e diferenças entre macro-emulsões e microemulsões são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Macroemulsões versus microemulsões

Propriedade	Macro	Micro
Componentes	Óleo-água-surfactante	Óleo-água-surfactante
Numero de surfactante	Um ou mais de um	Um ou mais de um (usualmente pelo menos dois)
Tipo de surfactante	Todos	Todos
Concentração de surfactante	Muito baixo	Muito alto
Tamanho de gota	Micrometros	0.01 - 0.001 µm
Estabilidade termodinâmica	Instável	Estável
Estabilidade de armazenamento	Dependente da formulação	Infinito

Além das micro e macro-emulsões, existem basicamente dois tipos de emulsões. Como tradicionalmente os componentes das emulsões são água e óleo, tornou-se usual denominar a ambas, as micro e macro-emulsões, como emulsões água em óleo e emulsões óleo em água. Esta denominação continua sendo utilizada, mesmo que a fase aquosa contenha eletrólitos dissolvidos, alcoóis com baixa quantidade de átomos de carbono, ou até não conter água e sim líquidos polares como glicóis. A fase oleosa pode não coincidir

precisamente com a definição de óleo, contendo líquidos insolúveis em água como silicones, fluorocarbonos, nitroglicerina, etc.

Se a emulsão for de gotas de óleo (O) dispersas em água (A), chama-se de emulsão óleo em água (O/A), enquanto que se a fase dispersa é água, denomina-se de emulsão água em óleo (A/O), como representadas na Figura 4, que mostra um esquema dos tipos de macroemulsões.

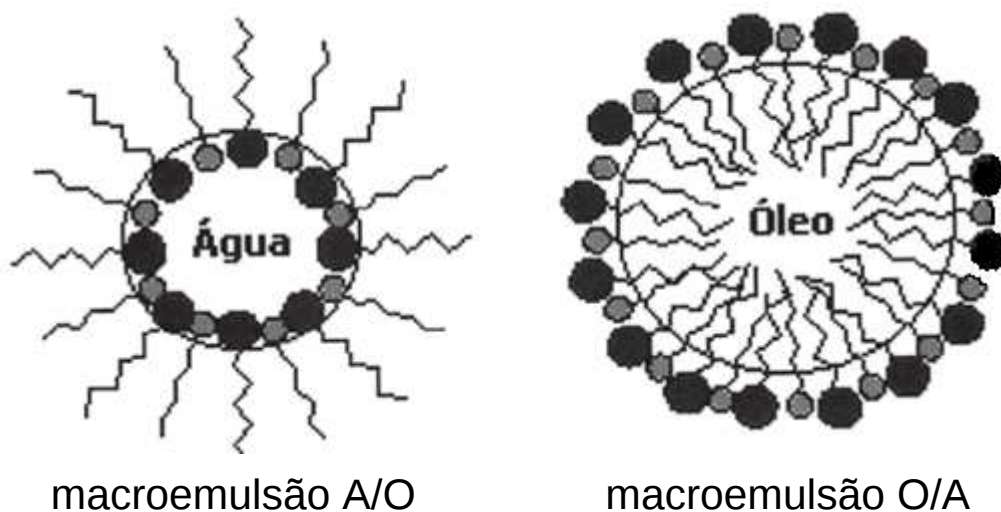


Figura 4 – Tipos de macroemulsões: água em óleo (A/O) ou óleo em água (O/A) [30,31].

A preparação de amostras na forma de emulsão é um procedimento atrativo para as amostras de biodiesel por ser extremamente simples e rápido. Assim, como na diluição direta com solvente orgânico, a emulsificação exige um mínimo de manipulação da amostra, com praticamente o mesmo fator de diluição e com a vantagem da diminuição em até 90% da carga orgânica da amostra. Porém, vários fatores podem influenciar a estabilidade das emulsões como as relativas concentrações dos reagentes: quantidade de óleo, o tipo de surfactante e co-solvente e as técnicas utilizadas para agitação e homogeneização dos componentes [17,32].

O surfactante Triton X-100 é frequentemente empregado no preparo de emulsões do tipo água em óleo para amostras de petróleo, óleo lubrificante, gasolina, óleos vegetal e biodiesel. O uso desse emulsificante satisfaz a todos

os critérios necessários além de sua fácil disponibilidade na maioria dos laboratórios [32].

Nas emulsões, as gotículas de óleo contendo os analitos de interesse estão homogeneamente dispersas na fase aquosa se comportando muito similarmente às soluções aquosas. Este fato, associado à acidificação do meio emulsificado, viabiliza os procedimentos de calibração que utilizam curvas de calibração feitas com padrões inorgânicos. A acidificação converte espécies organometálicas do analito ou particulados metálicos em espécies iônicas em solução, uniformizando as espécies de analitos presentes na amostra. Tem sido demonstrado, que com o uso de emulsões acidificadas, correlações diretas podem ser feitas entre os sinais dos analitos na amostra e com os sinais dos analitos dos padrões inorgânicos aquosos. As principais vantagens são a maior estabilidade dos analitos no meio emulsionado, viabilidade do uso de padrões inorgânicos para a calibração, em vez de padrões organometálicos, o tempo de preparação da amostra e a não utilização de solventes tóxicos que trazem riscos à saúde do analista [33].

Na literatura, são encontrados diversos métodos que usam a formação de emulsão para a determinação de metais em óleos vegetais. Entretanto, para biodiesel, foram encontrados artigos que só relatam o uso de microemulsões.

Microemulsões preparadas usando n-propanol e Triton X-100 foram usadas para a determinação de As em amostras de óleo vegetal e de biodiesel usando a técnica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) [34].

Chaves e colaboradores [35] utilizaram microemulsões diluídas em n-propanol e solução aquosa ácida, sem a adição de surfactante para determinar Na e K em amostras de biodiesel pela técnica de espectrometria de emissão atômica com chama (F AES). A calibração foi realizada com o uso de padrões aquosos. Jesus e colaboradores [36] também propuseram um método de preparo de amostras para determinação de Na e K em biodiesel por F AAS usando microemulsão do tipo água em óleo. As microemulsões foram preparadas com n-pentanol e Triton X-100. A estabilidade das microemulsões foram investigadas e constataram que elas foram estáveis por até 3 dias. Em outro estudo [33], estes mesmos autores propuseram um método alternativo para determinação de Ca e Mg em biodiesel e em óleo vegetal por F AAS,

onde as amostras foram preparadas como microemulsões do tipo água em óleo usando ácido nítrico, Triton X-100 e alguns álcoois tais como n-propanol e n-butanol. A calibração foi realizada com padrões aquosos.

Outros metais também foram determinados em amostras de biodiesel ou óleo vegetal preparados como microemulsões: Cd, Pb e Tl em biodiesel por GF AAS [37]; Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti e Zn em biodiesel por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) [38] e Cu, Pb, Ni, e Cd em biodiesel por GF AAS [39]; Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na e P em biodiesel por ICP OES [40] e Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V em amostras de diesel e biodiesel por ICP-MS [41].

Lyra e colaboradores [42] propuseram um procedimento para determinação de Na, K, Ca e Mg em amostras de biodiesel por F AAS em que as amostras foram preparadas na forma de microemulsão sem adição de surfactante. As microemulsões foram preparadas pela mistura de biodiesel, n-propanol, HNO₃ concentrado e solução de supressor de ionização. As curvas de calibração foram obtidas usando soluções de padrão organometálico.

Um trabalho interessante foi publicado por Aranda e colaboradores [43] onde Hg total e Hg inorgânico foram determinados em amostras de biodiesel preparadas como emulsões com ácido nítrico e Triton X-100. A determinação foi realizada pela técnica de espectrometria de fluorescência atômica (AFS) com introdução da amostra por injeção em fluxo a partir da geração de vapor frio (FI-CV-AFS).

Através dos exemplos acima citados que utilizaram amostras preparadas na forma de microemulsões, pode-se constatar a possibilidade em se realizar a determinação de metais em diferentes matrizes, como óleos vegetais e biocombustíveis, podendo realizar a calibração através do uso de padrões inorgânicos preparados ou não no mesmo meio da emulsão. Neste contexto, faz-se necessário impulsionar novos estudos e descobrir diferentes formas de preparo dessas amostras na forma de emulsões, uma vez que há poucos estudos enfatizando este tipo de preparo.

2.3.3. Digestão via úmida

Como já citado anteriormente, o desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de metais em biocombustíveis é de grande interesse ambiental e econômico, pois vários problemas estão associados com as análises devido à alta complexidade da matriz. Para minimizar esses problemas, a mineralização das amostras de biocombustíveis com mistura de ácidos inorgânicos fortes sob aquecimento tem sido também uma alternativa utilizada, pois propicia a eliminação da matéria orgânica da amostra, possibilitando o uso de soluções padrão aquosas para a calibração, já que as propriedades físicas e químicas da amostra tratada são similares os dos padrões aquosos utilizados [44,45].

O processo de digestão pode ocorrer em sistema aberto com chapa de aquecimento ou com bloco digestor ou também por sistema fechado como o forno de microondas. No caso do sistema aberto, ela ocorre em um bloco de aquecimento, podendo este sistema ocasionar perdas do analito por volatilização. Além disso não é possível se chegar a elevadas temperaturas, as quais são normalmente requeridas para amostras mais complexas, devido ao baixo ponto de ebulição de alguns ácidos [45,46].

Os ácidos com propriedades oxidantes mais utilizados para decomposição de amostras orgânicas ou biológicas são o HNO_3 , H_2SO_4 e o HClO_4 . Estes ácidos podem ser usados individualmente (exceto o HClO_4) ou combinados com outros. Também é comum as combinações de HNO_3 ou H_2SO_4 com H_2O_2 . A eficiência oxidativa pode ser limitada para determinadas amostras devido ao ponto de ebulição destes ácidos à pressão atmosférica, visto que altas temperaturas são necessárias para total quebra das ligações carbono-carbono das moléculas orgânicas. A Tabela 4 mostra o ponto de ebulição, à pressão atmosférica, dos principais ácidos utilizados nestes procedimentos [45].

Tabela 4 – Ponto de Ebulição dos ácidos a pressão atmosférica.

Ácido	Concentração	PE (°C)
HCl	37,0 % (m/m)	110
HNO ₃	65,0 % (m/m)	120
H ₂ SO ₄	98,3 % (m/m)	338
Água régia	HCl:HNO ₃ – 3:1 (v/v)	112

Amostras de óleo vegetal, por exemplo, necessitam de uma temperatura em torno de 170°C para serem digeridas completamente e, devido ao alto teor de gordura. Torna-se muito difícil oxidar completamente amostras de matérias orgânicas utilizando apenas HNO₃, pois este ácido tem baixo ponto de ebulição (120°C) e é o mais moderado ácido oxidante. Se por um lado o baixo ponto de ebulição do azeótropo formado com a água facilita a remoção do ácido nítrico após a digestão, por outro a baixa temperatura limita a sua eficiência oxidativa [45].

São encontrados na literatura diversos trabalhos que utilizam procedimentos variados com ácidos ou misturas destes para digestão de amostras com elevado conteúdo de matéria orgânica como é o caso dos óleos vegetais, combustíveis e biocombustíveis [47,48].

Korn e colaboradores [47] avaliaram a eficiência de dois procedimentos de preparo de amostra usando a digestão ácida visando a determinação de Ca, P, Mg, K e Na em biodiesel por ICP OES usando a configuração axial. Nas digestões com sistema aberto foi utilizada uma mistura contendo HNO₃, H₂SO₄ e H₂O₂ e aquecimento convencional, enquanto que no procedimento empregando o forno de microondas foi utilizada uma mistura contendo somente HNO₃ e H₂O₂. Os teores de carbono residual nos digeridos foram 0,358 ± 0,012% para o sistema aberto com aquecimento convencional e 0,614 ± 0,023% para o sistema fechado com aquecimento assistido por radiação microondas, o que demonstra a alta eficiência dos procedimentos propostos.

Recentemente, Chaves e colaboradores [49] propuseram um método para determinação de elementos majoritários (Ca, K, Mg, Na e P) e elementos minoritários (Al, Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Ga, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sr e Zn) em sementes de diversas plantas, como caroço de algodão, girassol, mamona e

nabo forrageiro por ICP OES e ICP MS. A digestão das amostras foi realizada através da mistura de HNO_3 e H_2O_2 , com abertura em forno de microondas.

Com base nos diferentes trabalhos que utilizam o método de digestão, seja em copo aberto ou em sistema fechado, para diferentes tipos de amostras de biocombustíveis e óleos vegetais, foi desenvolvido em nosso grupo de pesquisa, um sistema de digestão em copo aberto que conta com o auxílio de um dedo frio com circulação de água, a fim de minimizar possíveis perdas do analito por volatilização e/ou perdas de ácido. Este sistema também permite trabalhar com temperaturas mais elevadas, acima do ponto de ebulição de alguns ácidos.

2.4. Técnicas espectrométricas utilizadas para determinação de metais em biodiesel

Amostras tais como óleos vegetais e biodiesel possuem uma matriz complexa e podem apresentar diferentes viscosidades. Assim, a determinação de metais e não metais usando técnicas de espectrometria atômica requer uma especial atenção em relação aos procedimentos de preparo e introdução da amostra [17, 50].

Dentre as principais técnicas espectrométricas utilizadas para a determinação de elementos traço em biodiesel destacam-se a espectrometria de absorção atômica (AAS) com chama e forno de grafite, a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP MS) e também a espectrometria de emissão óptica com chama (F OES). A literatura cita outras técnicas que podem ser empregadas, mas as técnicas de espectrometria atômica são as mais populares e recomendados pelas normas oficiais. A seguir, serão descritas brevemente as técnicas que foram utilizadas neste trabalho.

2.4.1. Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS)

A técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS) é uma das técnicas mais utilizadas para a determinação de metais devido à sua seletividade, simplicidade e baixo custo do instrumento, se comparada com as outras técnicas. É uma técnica essencialmente mono-elementar e é utilizada para determinação de elementos na faixa de ppm (partes por milhão) [51].

O princípio fundamental desta técnica envolve a medida da intensidade de absorção da radiação eletromagnética por átomos gasosos no estado fundamental. Quando uma radiação de um comprimento de onda apropriado passa através de um vapor contendo átomos no estado fundamental, parte desta radiação é absorvida de acordo com o processo $M + h\nu \rightarrow M^*$, onde M é o átomo no estado fundamental e M^* é o átomo no estado excitado. A probabilidade de ocorrer o processo de absorção é proporcional à concentração de átomos M no caminho ótico e à intensidade da radiação incidente sobre estes átomos [51].

Os primeiros espectrômetros de absorção atômica utilizavam uma chama como atomizador, no entanto, com o desenvolvimento da técnica, novos sistemas alternativos de atomização foram desenvolvidos, proporcionando uma melhor sensibilidade e conseqüentemente, uma maior aplicabilidade a respectiva técnica analítica. O atomizador é uma parte importantíssima do equipamento, pois neste dispositivo é que serão gerados os átomos gasosos no estado fundamental, que absorverão radiação de mesmo comprimento de onda proveniente da fonte de radiação. A quantificação da atenuação dessa radiação, no caso a absorvância, emitida pela fonte, permite a determinação da concentração do analito de interesse presente na amostra, comparando as atenuações produzidas pelas soluções de calibração [51-53].

Em um atomizador com chama, através do uso de nebulizadores pneumáticos como sistemas de introdução das amostras, operando pela ação de fluxo de gás comprimido, a solução da amostra contendo os elementos de interesse é aspirada e nebulizada na câmara de nebulização. As pequenas gotículas formadas no aerossol chegam ao atomizador arrastado pelos gases combustível e oxidante. Essas pequenas gotas que penetram na chama têm o solvente evaporado, produzindo então partículas sólidas finamente divididas.

Tal processo é chamado de dessolvatação, seguido da volatilização dessas partículas para a formação de moléculas gasosas que são, subsequente, dissociadas a átomos, sob elevadas temperaturas. Alguns dos átomos desse gás se ionizam formando cátions e elétrons, porém outras moléculas e átomos também são produzidos na chama como resultado de algumas interações do combustível com o oxidante e com várias espécies presentes na matriz da amostra. Com esses nebulizadores pneumáticos, a taxa de aspiração da solução da amostra varia de 4 a 7 mL min⁻¹. Porém no máximo 10 % da solução da amostra introduzida é transformada em aerossol útil, sendo sua maior parte (acima de 90 %) descartada [51].

Uma grande fração das moléculas, átomos e íons também são excitadas pelo calor da chama, resultando em espectros de emissão atômica, iônica e molecular. Devido a esse problema, a atomização é considerada a etapa mais crítica na técnica de F AAS e limita a precisão de alguns métodos, sendo imprescindível compreender as características e as variáveis dessas chamas.

Um grande número de combinações de combustível e oxidante pode ser utilizado para a produção da chama, e as misturas mais comumente utilizadas em AAS são as de ar e acetileno ou óxido nitroso e acetileno. A temperatura da chama e as razões entre o combustível e o oxidante são consideradas os parâmetros mais importantes. Algumas variações na proporção oxidante e combustível podem alterar o equilíbrio da chama, o que pode vir a melhorar significativamente a eficiência de atomização, deste modo a otimização destes parâmetros é de fundamental importância para garantir uma temperatura constante e uniforme [51,54]. Na Tabela 5 são apresentadas as principais propriedades das chamas mais utilizadas em absorção atômica [51].

Tabela 5 – Propriedades das chamas comumente empregadas em F AAS.

Combustível	Oxidante	Temperatura °C
Gás natural	Ar	1700 – 1900
Gás natural	Oxigênio	2700 – 2800
Hidrogênio	Ar	2000 – 2100
Hidrogênio	Oxigênio	2550 – 2700
Acetileno	Ar	2100 – 2400
Acetileno	Oxigênio	3050 – 3150
Acetileno	Óxido Nitroso	2600 – 2800

2.4.2. Espectrometria de Emissão Atômica com Chama (F AES)

A espectrometria de emissão atômica por chama (F AES), ou fotometria de chama, é considerada a mais simples das técnicas analíticas baseadas em espectrometria atômica. Baseia-se na excitação de átomos neutros no estado fundamental. A introdução da amostra na chama é semelhante ao sistema empregado na técnica de F AAS. O ar comprimido é utilizado como gás oxidante e o gás butano (GLP) é utilizado como combustível no fotômetro de chama convencionais, dessa forma a chama opera em temperatura entre 1700 e 1900 °C.

Os elementos, principalmente os metais alcalinos, ao receberem energia de uma chama, geram espécies excitadas que, ao retornarem ao estado fundamental, liberam parte da energia recebida na forma de radiação eletromagnética na região do visível através de relativamente poucas linhas intensas, em comprimentos de onda característicos para cada elemento químico. A radiação produzida pela chama passa, então, por uma lente e um filtro óptico, normalmente um filtro de interferência é usado para isolar a linha de emissão desejada, que só permite a passagem da radiação característica do elemento de interesse para o fotodetector, no caso uma fotomultiplicadora, e a leitura é feita em um visor digitalizado, onde são gerados espectros simples. Na técnica de emissão atômica, estão envolvidos os processos de excitação, ou seja, a absorção de energia, e decaimento que é a liberação de energia [55].

2.4.3. Interferências de ionização

Em absorção atômica, de um modo geral, as interferências podem ser classificadas em dois tipos: as interferências espectrais e as interferências não-espectrais.

A interferência de ionização é um exemplo de interferência não-espectral, que ocorre quando a temperatura da chama é muito alta para a determinação do analito de interesse e, por isso, tem energia suficiente para levá-lo além do seu estado atômico neutro e produzir uma fração significativa de íons, acarretando na diminuição da absorção da radiação, por possuir menor número de átomos no estado fundamental, resulta em um menor sinal de absorvância. Os metais alcalinos e alcalinos terrosos, como o Na e K são considerados os elementos mais suscetíveis a interferências desta natureza, devido a seus baixos potenciais de ionização em relação aos demais elementos [40].

Esse tipo de interferência pode ser minimizada através da reprodução da matriz das amostras nas soluções de calibração, ou através da uniformização da matriz, pela adição às amostras e padrões de um sal que contenha um elemento mais facilmente ionizável que o analito (cloreto de lítio, cézio ou rubídio) conhecidos como tampões de ionização, de forma a aumentar a pressão parcial dos elétrons na chama. A concentração destes elementos deve ser tal que, a partir de um determinado valor, o efeito da interação de ionização seja constante. Tais interações são bem conhecidas, por isso os tampões de ionizações são comumente utilizados, quando se pretende determinar elementos que se ionizam facilmente na chama. Outra estratégia é trabalhar com chamas mais frias, que também podem diminuir os efeitos da ionização sofridas por estes elementos [35-40-41].

3. OBJETIVOS

Como parte deste projeto, os objetivos principais foram desenvolver metodologias analíticas para a determinação de Ca, Mg e K em amostras de biodiesel por técnicas de Espectrometria Atômica; Investigar diferentes procedimentos de preparo de amostras, como o uso de emulsões e a digestão ácida e validar os métodos desenvolvidos através do uso de amostras controle, método de adição e recuperação e/ou através de comparação dos resultados por outros métodos já publicados e normas oficiais estabelecidas ou através da análise por outras técnicas com a finalidade de obter o melhor desempenho da técnica analítica e métodos isentos de interferências.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Instrumentação

As determinações de Ca e Mg foram realizadas utilizando um espectrômetro de absorção atômica com chama modelo AA-6300 (Shimadzu, Japão) equipado com lâmpada de arco de deutério como corretor de fundo e lâmpadas de cátodo oco de cada elemento como fontes de linha. A Tabela 6 apresenta os parâmetros operacionais do espectrômetro de absorção atômica. De modo a obter o melhor desempenho do instrumento, os parâmetros instrumentais foram ajustados diariamente para cada analito.

Tabela 6 – Parâmetros operacionais do espectrômetro de absorção atômica utilizados para as análises das amostras.

Parâmetros	Ca	Mg
Comprimento de onda (nm)	422,7	285,2
Fenda espectral (nm)	0,7	0,5
Corrente da lâmpada (mA)	10	8
Altura do queimador (mm)	7	7
Vazão de gás combustível (L min ⁻¹)	2,0	1,8
	7,2*	1,1*
Tipo de chama	ar – C ₂ H ₂	ar – C ₂ H ₂
	N ₂ O/C ₂ H ₂ *	

*usada para a aplicação da norma ABNT NBR 15556 [26]

As determinações de Na e K foram realizadas em um fotômetro de chama modelo B462 (Micronal, São Paulo/SP). A chama foi mantida com gás liquefeito de petróleo (GLP). As condições de operação do fotômetro de chama estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 – Condições operacionais do fotômetro de chama

Condições de análise	
Taxa de aspiração da amostra (mL min^{-1})	5
Ar comprimido (L min^{-1})	9
Pressão (kgf/cm^2)	1
Tempo de estabilização da leitura (segundos)	8

As amostras e reagentes foram pesadas em uma balança analítica Ohaus Adventurer modelo AR 2140 com precisão de 0,1 mg e tara máxima de 210 g.

Para a digestão ácida das amostras, foi utilizado um bloco digestor da Marconi, modelo MA 4025, equipado com um sistema de dedo-frio com circulação de água que foi desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa. A Figura 5 apresenta a ilustração do sistema de dedo-frio utilizado.

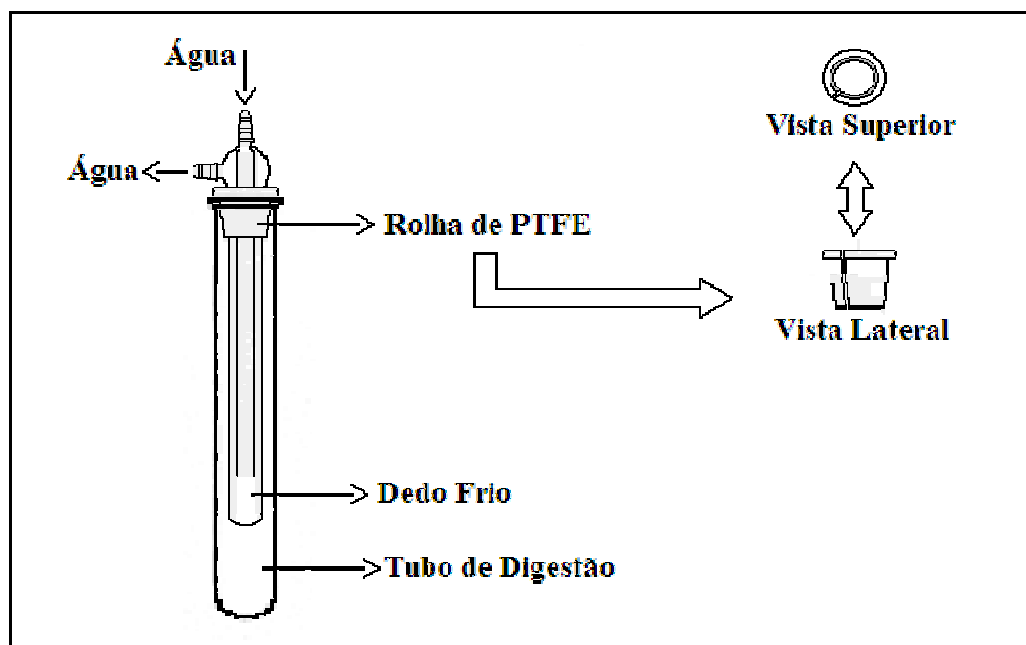


Figura 5 – Esquema representativo do sistema de dedo-frio com circulação de água.

A Figura 6 apresenta duas fotos do bloco digestor com o sistema de dedo-frio em funcionamento, onde é possível visualizar as amostras em processo de digestão e a liberação dos gases do tipo NOx.

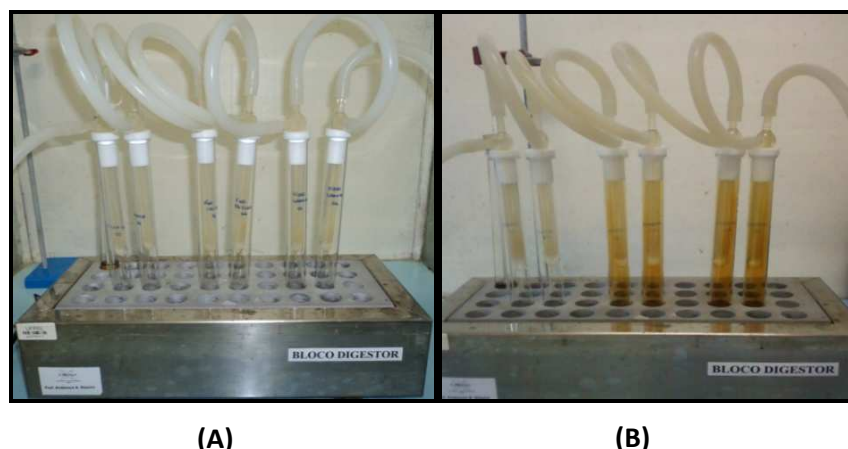


Figura 6 – (A) Bloco digestor com auxílio do dedo frio, (b) liberação de NOx durante o processo de digestão.

4.2. Reagentes

Os reagentes utilizados em todos os experimentos foram de grau analítico. Água ultrapura foi obtida através de um sistema Direct-Q 3 de purificação (Millipore Corporation, Bedford, USA) com resistividade de 18,3 MΩcm. Ácido nítrico 65% (v/v) e ácido fórmico 85% (v/v) (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) foram bidestilados abaixo dos seus respectivos pontos de ebulição em um destilador de quartzo MA-075 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil). Surfactante Triton X-100 (Sigma-Aldrich), anti-espumante Antifoam A (Fluka) e o tampão espectroscópico de cloreto de cério e lantânio, conhecido como solução de Schinkel (Fluka) que contém 100 g/L La e 10 g/L CsCl também foram utilizados.

Para a calibração utilizando o método da emulsão, preparam-se soluções padrões de Ca, Mg e K por diluição das respectivas soluções padrão estoque contendo 1000 mg L⁻¹ (Fluka, Buchs, Alemanha) de cada analito com água deionizada. As soluções de calibração foram então preparadas pela adição de 0,5g de óleo mineral e diluídas com ácido fórmico e Triton X-100 nas concentrações otimizadas. Para a curva de calibração utilizando o método da

digestão ácida, as soluções de calibração foram diluídas com HNO_3 2,93 mol L⁻¹.

Quando o procedimento da norma ABNT NBR 15556 [26] foi empregado, foi utilizado xileno P.A. (Vetec) e óleo mineral (vaselina líquida), com viscosidade de 10,8 mm²/s a 13,6 mm²/s, a 40 °C e massa específica de 0,828 g/mL a 0,856 g/mL (Vetec) para a diluição das amostras e preparo das soluções de calibração. Para a construção da curva de calibração, foi utilizada uma solução multielementar de padrão organometálico (S-21+K - Conostan, Champlain, EUA), contendo 885 µg g⁻¹ de cada analito. Uma solução diluente e branco de óleo mineral em xileno (120 g L⁻¹) foi preparada diluindo-se 120 g de óleo mineral com xileno a 1000 mL em um balão volumétrico.

4.3 Descontaminação do material

Os tubos de polipropileno (PP), materiais de vidro e os tubos do bloco digestor foram lavados primeiramente com água de torneira, seguidos de imersão em uma solução 10 % (v/v) de HNO_3 por pelo menos 48 h, sendo posteriormente lavados com água deionizada e secos em capela. Já, os materiais que foram utilizados para o preparo das emulsões foram primeiramente lavados com sabão líquido e água corrente, logo passaram por um banho de KOH 10% (v/v) em álcool etílico para remoção do óleo retido nas paredes dos frascos para evitar uma possível contaminação do banho de ácido nítrico e, posteriormente, foram lavados novamente com água destilada e água ultrapura para serem transferidos para o banho de HNO_3 para completa descontaminação dos frascos. Logo foram lavados com água destilada e água ultrapura e secos a temperatura ambiente na capela.

4.4. Amostras

Para o desenvolvimento dos procedimentos de preparo de amostras e verificação das concentrações dos analitos, amostras de biodiesel de diferentes fontes (soja, palma, mamona, girassol, pinhão manso, algodão, óleo de fritura, sebo bovino, algas, etc.) foram empregadas.

As amostras foram cedidas pelo Laboratório de Absorção Atômica da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio) e pela planta de biodiesel BrasilEcodiesel, situada em Rosário do Sul, RS.

4.5. Procedimentos de preparo das amostras

4.5.1. Procedimento 1 – Emulsões

Pesou-se aproximadamente 0,5 g de amostra de biodiesel diretamente em tubos graduados de polipropileno, seguidos da adição de 15 mL de ácido fórmico e 15 gotas de Triton X-100. Ao final, as concentrações de ácido fórmico e Triton X-100 foram 25,5% (v/v) e 0,84% (v/v), respectivamente. O volume final foi completado para 50 mL com água ultrapura. Antiespumante (3 gotas) foi adicionado de modo a evitar a formação de espuma na solução durante as análises.

As curvas de calibração foram preparadas de maneira similar às emulsões, substituindo a amostra de biodiesel pelo óleo mineral de base, para “simular a matriz” e foi feito a dição de padrões inorgânicos de Ca, Mg e K. Antes de cada medida instrumental, as emulsões foram manualmente agitadas para uma completa homogeneização da mesma e não separação das fases durante as análises.

4.5.2. Procedimento 2 – Digestão via úmida

O procedimento de preparo das amostras através da mineralização consistiu em pesar aproximadamente 0,25 g de amostra de biodiesel diretamente nos tubos de vidro do bloco digestor, seguida da adição de 5 mL de HNO₃ bidestilado. O sistema foi levado ao aquecimento no bloco digestor, o qual iniciou em 50°C e foi aumentando lentamente, até a temperatura de 220°C. A mistura ficou sob aquecimento por um período de 4h. Durante este aquecimento, o sistema de dedo-frio foi utilizado, evitando assim de vapores de ácidos serem projetados para fora do tubo.

Posteriormente, a solução resultante da decomposição, após resfriamento, foi diluída a 50 mL com água ultrapura. As soluções de calibração foram preparadas com padrões aquosos de Ca, Mg e K, nas mesmas condições de acidez da amostra.

4.5.3 Procedimento 3 - Procedimento da norma NBR ABNT 15556

As amostras foram preparadas em conformidade com o procedimento descrito pela norma ABNT NBR 15556 [26]. Para este procedimento, pesou-se aproximadamente 1g de amostra de biodiesel diretamente nos tubos de polipropileno de 15 mL, seguida da adição do xileno e avolumados a 10 mL com o mesmo.

Para a obtenção da curva de calibração, as soluções de calibração foram preparadas por diluição apropriada das soluções de padrão organometálico com o óleo mineral em solução de xileno (120 g L^{-1}), para corresponder à viscosidade das soluções de amostra. As soluções das amostras foram então analisadas pelas técnicas de FAAS ou FAES imediatamente, devido a instabilidade das mesmas.

4.6. Exatidão

A exatidão dos métodos desenvolvidos foi avaliada através da análise de um padrão de controle de biodiesel B-100 (Standard reference control B-100 Biodiesel-Conostan) enriquecido com 20 mg g^{-1} de Na, K, Mg, Ca e P e através da aplicação da norma ABNT NBR 15556 [26] com diluição direta com xileno.

Testes de adição e recuperação também foram realizados para o procedimento com emulsões. Para o procedimento usando a digestão ácida, os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos pela técnica de ICP OES.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Emulsões com ácido fórmico e Triton X-100

5.1.1 Efeito da concentração de ácido fórmico

Inicialmente, foram avaliados alguns parâmetros para a obtenção de uma emulsão para a determinação de Na, K, Mg e Ca nas amostras de biodiesel usando o ácido fórmico e o Triton X-100.

Normalmente, as emulsões são preparadas com ácido nítrico seguido da adição de um surfactante, como por exemplo o Triton X-100 e da diluição com água ou um solvente, como o n-propanol. Nestas condições, se tem a formação de uma microemulsão, ou seja, uma solução que é formada espontaneamente e é estável por um tempo indefinido.

Já uma emulsão, também denominada de macroemulsão, apresenta baixa estabilidade e é necessário uma agitação manual ou por Vortex para uma completa mistura das fases antes da análise como já citado anteriormente. De acordo com os dados da literatura, até o presente momento, apenas microemulsões de biodiesel foram analisadas para a determinação de elementos como Na, K, Mg, Ca, Cu, Fe, etc.

O ácido fórmico, de fórmula molecular HCOOH , é um ácido orgânico de baixo peso molecular, muito utilizado para a dissolução de materiais biológicos, além de ser um reagente com baixa toxicidade, quando comparado com os solventes orgânicos. Desta forma, optou-se em utilizar o ácido fórmico como um novo reagente para o preparo das emulsões de biodiesel e determinação de metais como Ca, Mg e K.

Para isso, foi otimizado a concentração adequada empregada na emulsão, a fim se obter os melhores resultados. A Figura 7 apresenta o estudo para a obtenção da melhor concentração de ácido fórmico a ser utilizada no preparo das emulsões. As determinações para Ca e Mg foram realizadas pela técnica de F AAS e a de K foi realizada pela técnica de F AES, através da comparação dos sinais de absorvância ou emissão obtidos para uma solução padrão aquosa contendo Ca, Mg e K e para uma amostra de biodiesel de soja

com adição de padrões aquosos. Para este estudo, foi estabelecida uma quantidade fixa de Triton X-100 equivalente a 15 gotas.

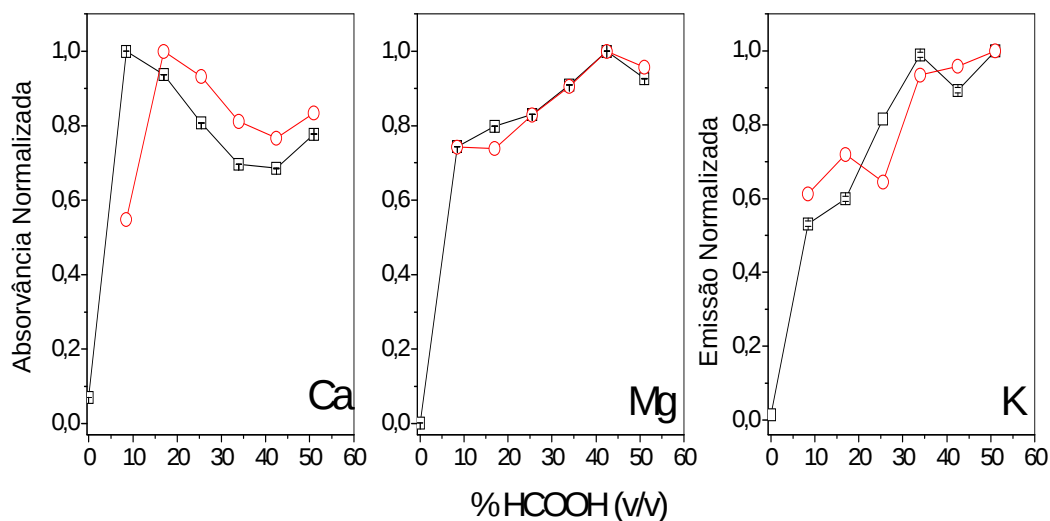


Figura 7 – Efeito da concentração de ácido fórmico. (–□–) solução padrão aquosa contendo $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Ca e Mg ou $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ de K e (–○–) biodiesel de soja contendo $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Ca e Mg ou $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ de K. Triton X-100 0,84% (v/v).

De acordo com os dados apresentados pela Figura 7, verificou-se que para cada analito foi encontrada uma concentração ótima de ácido fórmico. De modo a usar uma única emulsão com a mesma concentração de ácido fórmico para a determinação de todos os analitos e sem ocasionar perda na sensibilidade, optou-se em usar a concentração de 25,5% v/v que equivale a 15 mL de ácido fórmico bidestilado usado para o preparo de 50 mL da emulsão.

Os gráficos de estudo da melhor condição de trabalho para cada reagente adicionado para a preparação das emulsões foram normalizados com a finalidade de se corrigir qualquer tipo de oscilação no sinal analítico durante as análises, uma vez que a sensibilidade das curvas analíticas pode sofrer pequenas variações diárias. Sendo assim, fica possível a escolha de um determinado ponto para as posteriores análises para todos os elementos.

5.1.2 Efeito da concentração de Triton X-100

O surfatante Triton X-100 foi selecionado para o preparo das emulsões e a sua concentração também foi avaliada. Os resultados deste estudo estão apresentados na Figura 8. Para este estudo, foi estabelecida uma quantidade fixa de ácido fórmico (25,5%), equivalente a 15 mL do ácido.

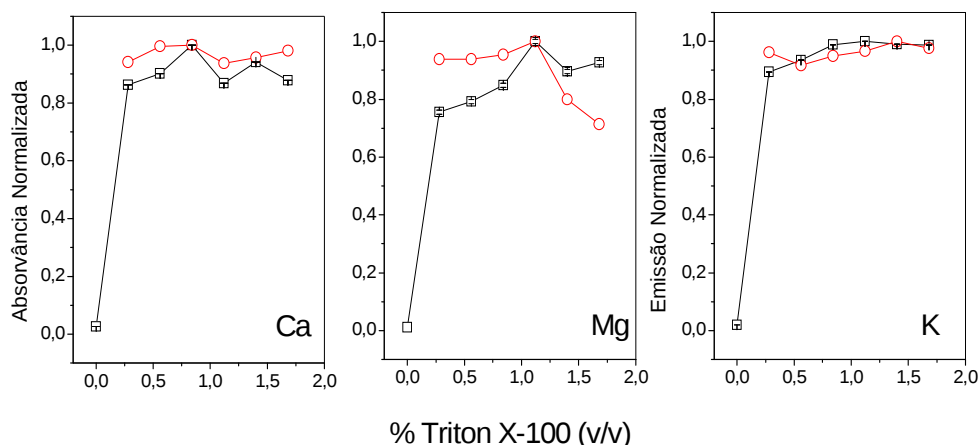


Figura 8 – Efeito da concentração de Triton X-100. (–□–) solução padrão aquosa contendo 0,5 mg L⁻¹ de Ca e Mg ou 0,4 mg L⁻¹ de K e (–○–) biodiesel de soja contendo 0,5 mg L⁻¹ de Ca e Mg ou 0,4 mg L⁻¹ de K. Concentração de ácido fórmico: 25,5% (v/v).

De acordo com os resultados apresentados pela Figura 8, verificou-se que foram necessárias 15 gotas de Triton X-100, o que equivale a uma concentração final de 0,84% (v/v). Esta concentração foi calculada levando em consideração a densidade do Triton X-100. Observou-se que para Ca e Mg, o aumento da quantidade de Triton X-100 não causou um aumento significativo no sinal de absorvância na presença da amostra. Para K, foi observado um aumento no sinal de emissão com a adição de até 0,4 mL de Triton X-100. Com isso, a adição de 0,4 mL (~ 15 gotas) de Triton X-100 foi adotada, o que leva a uma concentração final de 0,84% (v/v) na emulsão.

A determinação de Na nas amostras de biodiesel também foi avaliada através da técnica de F AES. No entanto, foi observado que o branco de Na usando Triton X-100 foi muito alto, o que inviabilizou a determinação do Na nas

amostras de biodiesel. O branco de Na no ácido fórmico também foi avaliado e o mesmo foi baixo, mas mesmo assim, não foi possível realizar a quantificação deste elemento no biodiesel.

5.1.3 Efeito da concentração do tampão de ionização

Para a determinação de Ca e Mg por F AAS usando uma chama do tipo ar-acetileno, foi realizado um estudo de otimização da concentração necessária de uma solução tampão de cloreto de cério lantânio. Esta solução é comumente utilizada quando se pretende determinar elementos que são facilmente ionizados nestes atomizadores, a fim de proporcionar uma completa minimização das possíveis interferências de ionização na chama. A Figura 9 apresenta os resultados deste estudo.

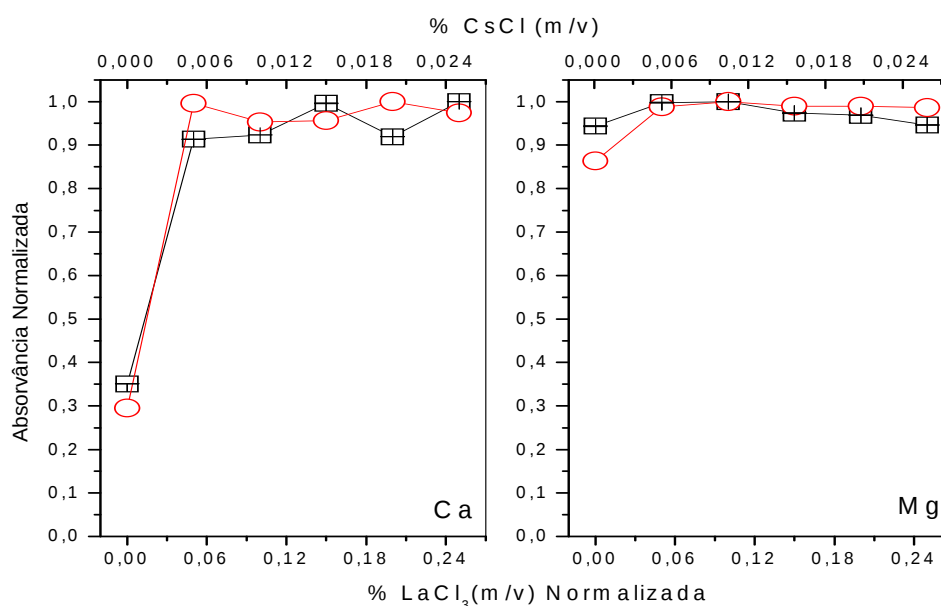


Figura 9 – Efeito da concentração do tampão de ionização CsCl/LaCl₃ no sinal de absorvância (–□–) solução padrão aquosa contendo 0,5 mg L⁻¹ de Ca e Mg e (–○–) biodiesel de soja contendo 0,5 mg L⁻¹ de Ca e Mg. Concentração de ácido fórmico: 25,5% (v/v) e Triton X-100 0,84% (v/v).

Através dos resultados apresentados na Figura 9, pode-se observar que, na ausência da solução tampão, o sinal analítico de Ca foi fortemente afetado, ocorrendo uma supressão em torno de 35%, devido possivelmente a interferência de ionização. No entanto, foi observado, que com a presença de

apenas 0,05 % (m/v) de LaCl_3 ou 0,005 % (m/v) CsCl , o sinal de absorvância já alcança o seu valor máximo. Lantânio (La) é normalmente utilizado com agente de liberação em chamas mais frias, como é o caso da chama ar-acetileno (2250°C) e Césio (Cs) é um tampão de ionização. Para o Mg, a presença do tampão não influenciou significativamente no sinal de absorvância, mostrando que não há interferência de ionização neste caso. Assim a concentração de 0,15% (m/v) de LaCl_3 e 0,015% (m/v) de CsCl foi escolhida como sendo adequada para a determinação de Ca e Mg em biodiesel por F AAS.

5.1.4 Estabilidade dos analitos

Uma parte importante de um procedimento de rotina é que os analitos nas soluções da amostra e calibração (emulsões) permaneçam estáveis por pelo menos algumas horas para que a análise possa ser realizada sem perdas de precisão e exatidão.

Diversos trabalhos têm demonstrado que soluções orgânicas que contenham metais traço podem sofrer perdas depois de alguns minutos apenas [55,56]. Desta forma, a estabilidade dos analitos (Ca, Mg e K) foi avaliada ao longo de um período de 4 horas nas emulsões de biodiesel enriquecidas com $0,9 \text{ mg L}^{-1}$ de Ca; $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de Mg e $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de K, escolhidas de acordo com a faixa de calibração utilizada nas respectivas soluções padrões, contendo 25,5% v/v de ácido fórmico e 0,84% v/v de Triton X-100. A Figura 10 apresenta os resultados obtidos deste estudo.

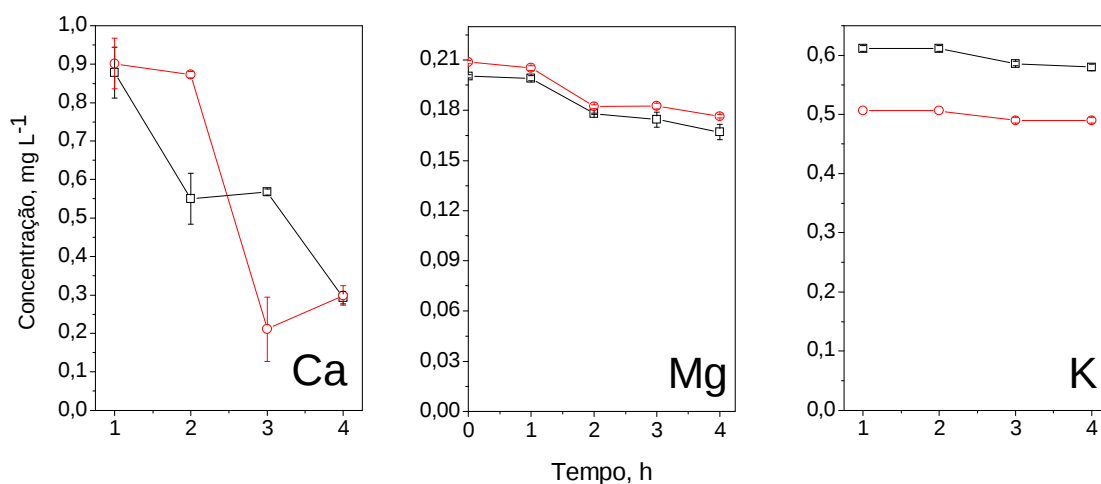


Figura 10 – Efeito da estabilidade dos analitos. (–□–) solução padrão aquosa contendo $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Ca e K e $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de Mg; (–○–) biodiesel de soja contendo $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Ca e K e $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de Mg. Concentração de ácido fórmico: 25,5% v/v e Triton X-100 0,84% v/v

Conforme mostrado na Figura 10, os resultados demonstraram que os analitos Mg e Ca se mantiveram estáveis no meio emulsionado por 1-2 horas. Assim, a fim de se obter resultados precisos, é recomendado que as amostras sejam analisadas dentro desse período, após a preparação da emulsão. Para Ca, os resultados de estabilidade para dos analitos mostraram que a solução deve ser analisada em até 1h após o seu preparo. De modo a não ter problemas de diminuição do sinal de Ca, as soluções foram preparadas e imediatamente lidas.

5.1.5. Parâmetros de mérito

A Tabela 8 apresenta os principais parâmetros de mérito obtidos para a análise de emulsão do biodiesel por F AAS para Ca e Mg e por FAES para K. Apresenta também, os parâmetros de mérito obtidos para a análise utilizando o procedimento recomendado pela norma ABNT NBR 15556 [26]. Para a obtenção destes parâmetros, uma curva de calibração externa foi utilizada e as soluções de calibração foram preparadas com padrões inorgânicos dos Ca, Mg e K, com 25,5% (v/v) de ácido fórmico e 0,84% (v/v) de Triton X-100, como

descrito na parte experimental. A fim de minimizar as diferenças de viscosidade entre as amostras de biodiesel e soluções de calibração, o óleo mineral foi adicionado às soluções de calibração para promover este ajuste. Esse procedimento é recomendado pela norma [26].

Tabela 8 – Parâmetros de mérito para o procedimento baseado na formação de emulsão e para o procedimento recomendado pela norma ABNT NBR 15556 [26].

Analito	R	Faixa linear (até, mg L ⁻¹)	LD ^a (mg L ⁻¹)	LQ ^b (mg L ⁻¹)	LD ^c (mg kg ⁻¹)
Emulsão					
Ca	0,999	2,0	0,022	0,075	2,30
Mg	0,997	0,4	0,002	0,008	0,20
K	0,999	0,9	0,007	0,023	0,70
Diluição com xileno					
Ca	0,999	2,0	0,015	0,15	1,50
Mg	0,999	0,4	0,002	0,018	0,18
K	0,999	0,8	0,002	0,022	0,22

LD^a: Limite de detecção instrumental; LQ^b: Limite de quantificação; LD^c: Limite de detecção na amostra original.

A faixa linear das curvas de calibração para o Ca, Mg e K foram selecionados com base no intervalo de concentrações de analito (concentração máxima admissível de 5 mg L⁻¹) que deve ser esperado em acordo com a legislação. A partir das curvas de calibração, os limites de detecção instrumental, quantificação e limite de detecção na amostra original foram obtidos.

O cálculo do limite de detecção (LD) foi realizado de acordo com a seguinte fórmula:

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

Em que SD é o desvio padrão das leituras de absorvância do branco (n=10) e S é a inclinação da curva de calibração.

Para o cálculo do limite de quantificação (LQ) que expressa a menor massa ou concentração que pode ser quantificada com uma dada certeza estatística, foi utilizada a seguinte equação:

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

Para o cálculo do LD na amostra original, a massa de amostra utilizada para preparar a emulsão e os fatores de diluição foram tidas em conta. De acordo com os dados apresentados na Tabela 8, os limites de detecção, nas condições otimizadas, são adequados para a análise do biodiesel de acordo com os limites estabelecidos na legislação brasileira. Em comparação com os parâmetros de mérito obtidos quando o procedimento recomendado pela norma ABNT NBR 15556 [26] foi usado, o método proposto usando emulsões mostrou melhores limites de detecção e melhorou a sensibilidade para Ca e Mg.

Os valores de LD e LQ, quando comparados aos obtidos por Chaves e colaboradores [27] e por Jesus e colaboradores [33] que determinaram Ca, Mg e K em amostras de biodiesel usando microemulsões, mostraram melhor desempenho.

5.1.6. Influência da matriz

A influência da matriz foi investigada por meio da observação das inclinações das curvas de adição do analito nas amostras de biodiesel de diferentes origens e viscosidades (sebo bovino, soja, algas e mamona). Estas curvas de adição foram preparadas pela adição dos padrões inorgânicos de Ca, Mg e K diretamente nas emulsões de biodiesel. As curvas de calibração externa foram preparadas conforme descrito anteriormente. Os resultados apresentados na Tabela 9 demonstraram que há um pequeno efeito multiplicativo de matriz em relação às diferentes amostras e da curva de calibração externa, demonstrado pelas diferenças entre os valores de inclinação. Isto confirma que os resultados de concentração obtidos quando se utiliza a curva de calibração externa podem não serem verdadeiros. De modo a contornar este inconveniente, quando se tem amostras de biodiesel de

diferentes fontes e viscosidades, a calibração por “matrix matching” é o método mais recomendável, pois com ele se consegue reproduzir a matriz da amostra.

Para isto, deve-se escolher uma amostra de biodiesel com concentrações muito baixas de Ca, Mg e K, preferencialmente abaixo do LD. Com a aplicação deste procedimento, tem-se uma aproximação da matriz e assim é possível fazer a calibração utilizando apenas uma amostra.

Tabela 9 – Inclinações ($\pm$ desvio-padrão) das curvas de adição em amostras de biodiesel de diferentes origens obtidas por F AAS para Ca e Mg e por F AES para K, usando o procedimento de emulsões.

Biodiesel	Inclinação ($L\ mg^{-1}$) $\pm$ SD		
	Ca	Mg	K
Sebo bovino	0,099 ($\pm$ 0,001)	1,854 ($\pm$ 0,013)	1,549 ($\pm$ 0,064)
Soja 1	0,095 ($\pm$ 0,001)	1,860 ($\pm$ 0,014)	1,547($\pm$ 0,017)
Mamona	0,098 ($\pm$ 0,002)	1,927 ($\pm$ 0,016)	1,666($\pm$ 0,110)
Soja 2	0,095 ($\pm$ 0,001)	1,884 ($\pm$ 0,027)	1,561($\pm$ 0,065)
Alga	0,086 ($\pm$ 0,004)	1,844 ($\pm$ 0,016)	1,555($\pm$ 0,038)
Calibração Externa	0,085 ($\pm$ 0,001)	1,732 ($\pm$ 0,035)	1,829 ($\pm$ 0,028)

SD: Desvio Padrão

Estas inclinações podem ser mais bem visualizadas através das curvas de adição demonstradas na Figura 11, onde os resultados demonstram que o uso da matriz correspondente de calibração externa (óleo mineral) é possível em todos os casos, visto que não foi observado diferenças significativas em relação à matriz de diferentes amostras.

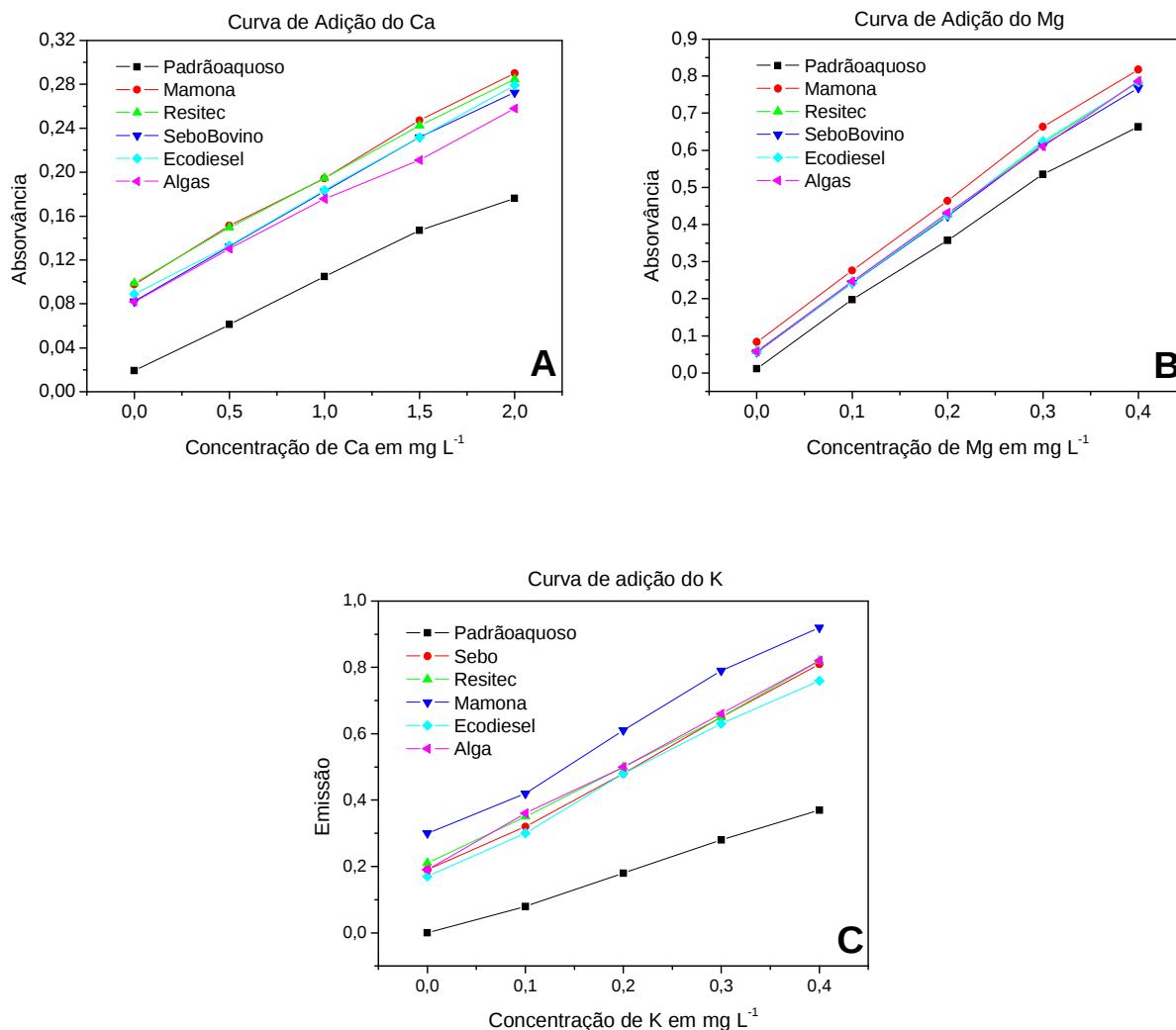


Figura 11 – Curvas de adição para diferentes amostras de biodiesel. Faixa linear de 0 a 2 mg L⁻¹ para Ca (A), de 0 a 0,4 mg L⁻¹ para Mg (B) e para K (C).

5.1.7. Estudos de Precisão e Exatidão

A exatidão da metodologia proposta foi avaliada usando um padrão controle de biodiesel contendo 20 mg kg⁻¹ de Ca, Mg e K, e a precisão de acordo com o desvios padrão relativo. A Tabela 10 apresenta os resultados de concentração de Ca, Mg e K obtidos neste material que foi preparado como emulsão com ácido fórmico e Triton X-100.

Tabela 10 – Concentrações (mg kg⁻¹ ± SD) de Ca, Mg e K obtidas no padrão controle de biodiesel preparado como emulsão com ácido fórmico e Triton X-100 (n=3).

Analito	Valor encontrado	RSD (%)	Valor Esperado*
Ca	19,60 ± 0,23	1,2	20,0
Mg	23,40 ± 0,14	0,7	20,0
K	19,91 ± 0,13	0,7	20,0

* Valor de desvio-padrão não informado pelo fabricante.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 10 e a aplicação do teste t para um nível de confiança de 95%, foi observado que não houve diferença significativa entre os valores encontrados e esperados para Ca e K, comprovando a exatidão do método para estes analitos. Para Mg, o valor encontrado foi 17% superior ao valor esperado. No entanto, como o fabricante do material de referência não informa os valores de desvio-padrão para estes analitos, este resultado pode ser considerado. O teste t foi aplicado de acordo com a seguinte equação:

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|\bar{X} - V_c|}{S} \sqrt{N}$$

A exatidão também foi avaliada por testes de adição e recuperação. Para isso, fez-se a adição de três concentrações dentro do intervalo da faixa linear de calibração. As adições foram feitas nas amostras originais e os resultados obtidos são apresentados pela Tabela 11.

As recuperações das concentrações adicionadas variaram de 94 a 107%, apoiando a exatidão do método.

Tabela 11 – Concentrações medidas de Ca, Mg por F AAS e K por F AES (mg L⁻¹, n=3) em amostras de biodiesel após a adição de diferentes concentrações na amostra original

	Adições (mg L⁻¹)		
	Ca		
	0,50	1,00	1,50
Sebo Bovino	0,50	1,01	1,51
Soja 1	0,53	1,07	1,50
Mamona	0,52	0,98	1,52
Soja 2	0,48	1,01	1,52
Alga	0,53	1,06	1,49
	Mg		
	0,10	0,20	0,30
Sebo Bovino	0,10	0,19	0,30
Soja 1	0,11	0,19	0,30
Mamona	0,10	0,20	0,30
Soja 2	0,09	0,19	0,29
Alga	0,10	0,20	0,29
	K		
	0,10	0,20	0,30
Sebo Bovino	0,09	0,19	0,30
Soja 1	0,09	0,19	0,30
Mamona	0,08	0,19	0,30
Soja 2	0,08	0,20	0,30
Alga	0,10	0,19	0,30

A Tabela 12 apresenta os resultados de concentrações medidas de Ca e Mg por F AAS e K por F AES em amostras de biodiesel de diferentes origens preparados como emulsões. As concentrações foram obtidas usando calibração externa com soluções de calibração preparadas com padrões inorgânicos de Ca, Mg e K. As amostras de Sebo Bovino, Soja 1 e Mamona 1 apresentaram concentrações de Ca, Mg e K abaixo do limite de detecção, e as

amostras de Soja 2 e Alga apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção para Mg e K.

Tabela 12 – Concentrações (mg Kg^{-1} , $\pm$ SD) de Ca, Mg e K obtidas em diferentes amostras de biodiesel ($n=3$) usando o procedimento de emulsão.

	Ca	Mg	K
Sebo Bovino	<LD	<LD	<LD
Soja 1	<LD	<LD	<LD
Mamona 1	<LD	<LD	<LD
Soja 2	0.023 ± 0.01	<LD	<LD
Alga	0.024 ± 0.01	<LD	<LD
Soja 3	3.09 ± 0.14	1.64 ± 0.04	1.17 ± 0.01

A Tabela 13 demonstra os resultados obtidos usando as amostras preparadas na forma de emulsão com os obtidos através do procedimento comparativo da norma (ABNT NBR 15556 [26]). Para este estudo, fez-se o enriquecimento das amostras com $16,1 \text{ mg Kg}^{-1}$ de cada analito. Esta concentração foi adotada a fim de atingir a menor incerteza possível, considerando os instrumentos volumétricos disponíveis no laboratório. Os resultados mostraram uma excelente concordância entre os dois procedimentos, com desvio-padrão relativo menores que 9% para os testes de recuperação.

Tabela 13 – Concentrações de Ca, Mg e K ($\text{mg Kg}^{-1} \pm \text{SD}$) obtidas em amostras de biodiesel fortificadas preparadas na forma de emulsões e diluídas com xileno ($n=3$) [26].

	Emulsão	ABNT NBR 15556
Ca		
Mamona	$16,38 \pm 0,30$	$15,83 \pm 0,02$
Palma	$14,95 \pm 0,31$	$16,11 \pm 0,02$
Babaçu	$18,17 \pm 0,21$	$16,79 \pm 0,04$
Girassol	$16,41 \pm 0,48$	$16,54 \pm 0,06$
Soja	$16,54 \pm 0,43$	$16,39 \pm 0,02$
Mg		
Mamona	$18,03 \pm 0,43$	$16,80 \pm 0,02$
Palma	$17,63 \pm 0,32$	$17,03 \pm 0,03$
Babaçu	$16,39 \pm 0,72$	$17,11 \pm 0,06$
Girassol	$16,75 \pm 0,41$	$15,97 \pm 0,04$
Soja	$18,06 \pm 0,97$	$16,67 \pm 0,03$
K		
Mamona	$16,32 \pm 0,41$	$16,66 \pm 0,13$
Palma	$15,69 \pm 0,31$	$14,85 \pm 0,10$
Babaçu	$16,28 \pm 0,33$	$15,63 \pm 0,09$
Girassol	$16,61 \pm 0,37$	$15,91 \pm 0,06$
Soja	$15,75 \pm 0,38$	$17,35 \pm 0,09$

5.2 Digestão ácida com sistema de dedo frio

A mineralização das amostras de biocombustíveis com misturas de ácidos minerais fortes tem sido uma alternativa bastante utilizada de modo a minimizar perdas dos analitos por volatilização e proporcionar a conversão das espécies organometálicas em íons inorgânicos, possibilitando assim, o uso de soluções padrão aquosos para a calibração.

Pensando nisso, este trabalho propõe outro método simples de preparo das amostras de biodiesel. O procedimento proposto envolve a digestão ácida em um sistema aberto com auxílio de um sistema de dedo frio com refluxo de água fria. O sistema do dedo-frio foi utilizado para reduzir perdas dos analitos por volatilização, possibilitando desta forma a utilização de temperaturas de abertura de amostra maiores, geralmente acima do ponto de ebulição dos ácidos utilizados.

Inicialmente, foram testadas diferentes misturas de ácidos para avaliar qual delas teria maior eficiência de digestão das amostras de biodiesel. A seguir, serão apresentados os resultados e as discussões destes estudos.

5.2.1. Mistura $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$

Para este estudo utilizaram-se amostras de biodiesel de soja e de óleo de fritura. Pesaram-se aproximadamente 250 mg das amostras diretamente nos tubos de digestão e em seguida fez-se a adição de 3 mL de H_2SO_4 95-97%. Esta mistura foi levada para aquecimento a 80°C e a temperatura foi gradativamente aumentada até atingir 150°C. A mistura permaneceu então nesta temperatura durante 2 horas e foi realizada a agitação dos frascos em períodos de 30 em 30 minutos. Subseqüentemente as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente e então fez-se a adição de 3 mL de HNO_3 bidestilado, com posterior aquecimento o qual iniciou a 50°C e subiu lentamente com cuidado para não projetar a amostra para fora do tubo até 220°C, onde as amostras permaneceram a esta temperatura por mais 4 horas. Este processo de digestão levou em torno de 6 horas para ser completado. Posteriormente, com as amostras resfriadas a temperatura ambiente, foi adicionado lentamente 2 mL de H_2O_2 para dar continuidade ao processo de

digestão, deixando-as em repouso, fora do aquecimento, durante 12 horas (overnight). Em seguida, as amostras foram levadas ao aquecimento lento, iniciando a 50°C até 150°C, por 2 horas, sendo em seguida novamente resfriadas e transferidas para tubos volumétricos de 50 mL e aferidas a 15 mL com água deionizada. Ao final do procedimento, foi observado visualmente que esta metodologia era suficiente para eliminar a matéria orgânica da amostra, tendo em vista que esta, ao final do processo ficou límpida como água. No entanto, o tempo de digestão foi muito grande.

5.2.2 Mistura $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$

Em virtude do tempo de digestão da mistura anterior ser muito longo, optou-se em retirar o H_2SO_4 e proceder a digestão apenas com a mistura de HNO_3 e H_2O_2 , com o intuito de se utilizar menos reagentes e diminuir o tempo de digestão. Para isso, pesaram-se aproximadamente 250 mg de amostras de biodiesel (foram testados biodiesel de mamona e óleo de fritura) e adicionaram-se 3 mL de HNO_3 ficando sob aquecimento por 4h a temperatura constante de 220°C. Após resfriadas a temperatura ambiente, foram adicionados 2 mL de H_2O_2 aos tubos e mantidos em repouso fora do aquecimento (overnight). Após esse período de repouso, as amostras voltaram ao aquecimento por mais 2 horas a 150°C. Logo, as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente e então transferidas para tubos graduados de 50 mL e aferidas a 15 mL com água deionizada. Ao final desse procedimento, também foi observado que as amostras tinham sido digeridas, assim como no método anterior mas o tempo de digestão ainda foi longo.

5.2.3 Mistura HNO_3/HCl

Também foi testada a digestão com uma solução de água régia (3 mL de HCl para 1 mL de HNO_3) e foi adicionado 4 mL dessa solução nas amostras de biodiesel, que foram levadas ao aquecimento por 4 horas a 110°C. Logo, as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente e então adicionaram-se 2 mL de H_2O_2 e deixaram-se em repouso durante a noite (overnight). Passado o tempo de repouso, as amostras foram colocadas no bloco digestor e aquecidas

por mais duas horas a 150°C. No entanto esse procedimento não foi eficiente, pois essa mistura de ácidos ocasionou muita pressão interna dentro dos tubos, resultando na projeção das amostras e por consequência, perda de material.

5.2.4. HNO₃

Por fim, foi testado a digestão apenas com a adição de HNO₃ bidestilado, para se tentar minimizar cada vez mais a utilização de reagentes, diminuir o risco de contaminação das amostras e o tempo de digestão. Quando a digestão usando a mistura de HNO₃ e H₂O₂ foi realizada (item 5.2.2), foi observado que antes da adição do H₂O₂ e o tempo de repouso, a solução já apresentava uma característica de digestão quase completa. Assim, pensou-se em retirar o H₂O₂ e proceder a digestão somente com o HNO₃. Para isso, pesaram-se 250 mg das amostras diretamente nos tubos de digestão e adicionaram-se 5 mL de HNO₃ bidestilado. A mistura foi então colocada no bloco digestor e levada ao aquecimento por um período de 4 horas a 220°C. Ao final do procedimento, pode-se observar que apenas com o aumento do volume de ácido nítrico de 3 mL para 5 mL e o aumento da temperatura de 150°C para 220°C já foi possível fazer a abertura desse tipo de amostra. Ao final, as amostras foram resfriadas até a temperatura ambiente e foram transferidas para os tubos de polipropileno de 50 mL.

Logo, após terem sido testadas diversas metodologias de digestão ácida, foi definido que a melhor a ser utilizada seria a digestão que utilizou apenas o HNO₃, pois ela utiliza apenas um reagente, sem a necessidade de adições ao longo do procedimento e se mostrou tão eficaz quanto as outras testadas.

5.2.5. Estudo da variação da massa da amostra para digestão ácida

Após ter sido estabelecido o tipo de ácido adicionado para o processo de digestão das amostras, bem como o seu respectivo volume, foi realizado um estudo da melhor massa de amostra a ser utilizada. Para isso, foram testadas diferentes massas de amostras de biodiesel, para verificar qual seria mais apropriada para se usar no método de preparo, de modo a melhorar os limites de detecção e conseguir determinar maiores concentrações dos analitos.

Essas massas variaram entre 250, 500, 750 e 1000 mg. As amostras foram pesadas diretamente nos tubos do bloco de digestão, seguido da adição de 5 mL de HNO_3 e mantidas sob aquecimento a 220°C por 4h.

Ao final deste teste, pode se observar visualmente, como é mostrado na Figuras 12, que para a massa de 250 mg, a amostra foi digerida completamente, sem nenhum resquício do óleo de biodiesel. No entanto, a partir das massas de 500 até 1000 mg, ficou cada vez mais presente na amostra nas paredes do frasco. Provavelmente, com a adição de um volume maior de HNO_3 , proporcional a massa da amostra, seria possível digerir essas amostras, assim como foi feito com a primeira massa. Por conta disso, foi estabelecido a utilização de uma massa de 250 mg de amostras para realização do procedimento.

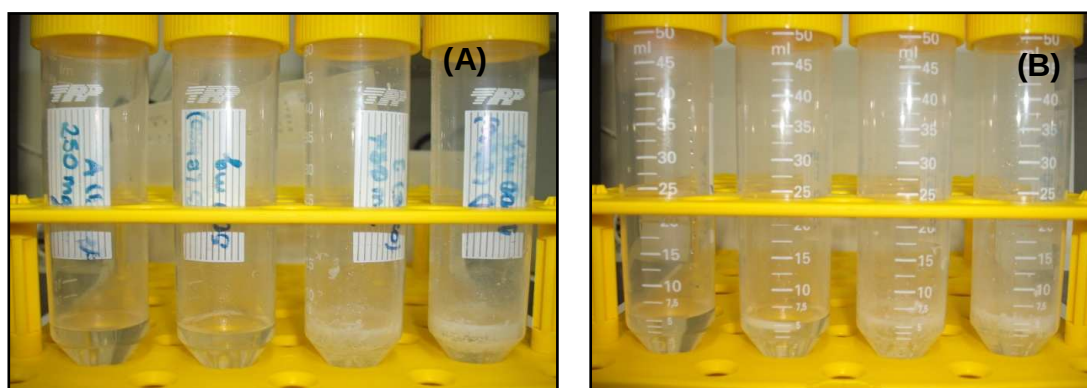


Figura 12 – Estudo da variação de massas das amostras de biodiesel para o processo de digestão.

5.2.6. Determinação da concentração final de HNO_3 após o processo de digestão - Titulação com Na_2CO_3

Para a digestão das amostras, foi utilizado o ácido nítrico concentrado (65,5% m/v). De modo a determinar a concentração final de HNO_3 que ficou no final do processo de digestão, foi feita uma titulação da amostra com uma solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) em triplicata. A concentração do ácido antes do processo de digestão era de $2,93 \text{ molL}^{-1}$. Após a digestão, a

concentração final foi de $2,68 \text{ mol.L}^{-1}$ com uma recuperação de 91,5%, um desvio de 0,0058 e um desvio padrão relativo de 0,22% das titulações.

A partir deste resultados, foi possível determinar as condições de acidez para se construir a curva de calibração através do uso de padrões aquosos.

Deste modo, concluiu-se que após o processo de digestão, a matriz resultante da amostra apresenta uma concentração ácida muito semelhante àquela encontrada nos padrões aquosos. Com isso, o risco de interferências por diferença nas matrizes entre a amostra e padrões aquosos é minimizado, uma vez que, de acordo com a taxa de recuperação do meio ácido após o processo de digestão, não foi observado diferenças significativas nas suas composições.

5.2.7. Parâmetros de mérito

A Tabela 14 apresenta os principais parâmetros de mérito obtidos para as análises usando o método da digestão ácida em sistema aberto para a determinação de Ca, Mg e K em amostras de biodiesel. Apresenta também, os parâmetros de mérito obtidos para as análises realizadas pela técnica de ICP OES, para fins de comparação. Para a obtenção destes parâmetros, uma curva de calibração externa foi utilizada e as soluções de calibração foram preparadas com padrões inorgânicos dos Ca, Mg e K em meio de HNO_3 $2,96 \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 14 – Parâmetros de mérito do procedimento de digestão ácida em sistema aberto obtidos usando as técnicas de F AAS e F AES em comparação com os obtidos pela técnica de ICP OES.

Analito	Faixa Linear (mg L ⁻¹)	R	LD ^a (mg L ⁻¹)	LQ ^b (mgL ⁻¹)	LD ^c (mg kg ⁻¹)
F AAS (Ca e Mg) e F AES (K)					
Ca	2,0	0,999	0,001	0,05	0,12
Mg	0,4	0,999	0,002	0,01	0,36
K	0,9	0,999	0,01	0,05	1,96
ICP OES					
Ca	0,2 - 1,0	0,999	0,01	0,01	1,00
Mg	0,1 - 1,0	0,999	0,0002	0,01	0,02
K	0,1 - 1,0	0,999	0,0003	0,01	0,03

5.2.8. Exatidão

Para o método proposto de digestão ácida, foram investigadas diferentes amostras de biodiesel de diversas origens e a exatidão foi avaliada comparando os resultados encontrados pelo método proposto, com os obtidos pelo padrão controle de biodiesel (Conostan) que contém 20,00 mg Kg⁻¹ de cada analito. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Resultados das concentrações (mg Kg⁻¹ ± SD) de Ca, Mg e K obtidas em amostras de biodiesel (n=3) usando o procedimento de digestão ácida em sistema aberto.

	Ca	Mg	K
Soja 1	6,64 ± 0,51	4,35 ± 0,42	3,36 ± 0,02
Soja 2	57,08 ± 1,08	4,21 ± 0,02	4,38 ± 0,03
Soja 3	27,89 ± 0,04	3,60 ± 0,01	3,40 ± 0,04
Soja 4	28,46 ± 0,71	3,52 ± 0,01	3,41 ± 0,05
Óleo de fritura	61,74 ± 0,11	3,71 ± 0,03	3,44 ± 0,04
Soja 5	17,30 ± 0,26	4,02 ± 0,01	3,46 ± 0,01
Conostan	20,98 ± 0,86	19,30 ± 0,03	21,46 ± 0,12

Os valores de concentração de Ca, mg e K encontrados para o padrão controle de biodiesel são concordantes com o valor de referência demonstrando a eficiência do método de digestão ácida em sistema aberto com dedo frio para o preparo das amostras de biodiesel. Os resultados obtidos mostraram boa exatidão e precisão, com valores de desvio padrão relativo (RSD) menor que 5,1%.

Um novo grupo de amostras foi digerido usando o procedimento otimizado e fez-se então as determinações das concentrações de Ca, Mg e K pelas técnicas de F AAS ou F AES. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – Resultados das concentrações (mg Kg^{-1} , $\pm$ SD) de Ca, Mg e K obtidas em amostras de biodiesel (n=3) usando o procedimento de digestão.

	Ca	Mg	K
Soja 1	50,22 $\pm$ 0,64	0,14 $\pm$ 0,01	1,85 $\pm$ 0,02
Mamona	74,18 $\pm$ 0,00	1,92 $\pm$ 0,02	1,24 $\pm$ 0,02
Soja 2	33,36 $\pm$ 0,42	0,13 $\pm$ 0,01	1,83 $\pm$ 0,02
Alga	41,17 $\pm$ 0,42	0,14 $\pm$ 0,01	1,84 $\pm$ 0,01
Sebo Bovino	54,44 $\pm$ 0,64	0,36 $\pm$ 0,01	1,23 $\pm$ 0,02

Para fins de comparação, as mesmas amostras da Tabela 16 foram digeridas e analisadas com outra técnica, a ICP OES e os resultados obtidos são apresentados pela Tabela 17.

Tabela 17 – Resultados das concentrações ($\text{mg Kg}^{-1} \pm \text{SD}$) de Ca, Mg e K obtidas em amostras de biodiesel ($n=3$) pela técnica de ICP OES usando o procedimento de digestão ácida em sistema aberto para a abertura das amostras.

	Ca	Mg	K
Soja 1	$87,18 \pm 10,97$	$1,42 \pm 0,21$	$4,50 \pm 0,92$
Mamona	$121,5 \pm 24,73$	$2,76 \pm 0,10$	$4,39 \pm 0,15$
Soja 2	$43,80 \pm 4,06$	$0,76 \pm 0,10$	$1,41 \pm 0,15$
Alga	$51,01 \pm 2,76$	$1,09 \pm 0,06$	$3,61 \pm 0,13$
Sebo Bovino	$56,47 \pm 5,30$	$1,06 \pm 0,10$	$3,59 \pm 0,28$

Como pode ser observado pelos resultados apresentados pelas Tabelas 16 e 17, concentrações elevadas de alguns metais foram encontradas nas amostras e os valores entre os métodos não foram concordantes entre si. Possivelmente, uma contaminação dos reagentes pode ter ocasionado estes valores e esta comparação de resultados será feita novamente, dando continuidade a este trabalho.

De qualquer modo, os resultados obtidos para a análise do padrão controle de biodiesel mostram que o procedimento de digestão ácida com HNO_3 em sistema aberto é eficiente, produzindo resultados concordantes com os valores informados. O método mostrou ser simples, utilizando pouca quantidade de reagente, sem a necessidade de adição adicional durante a digestão, minimizando a possibilidade de perdas e/ou contaminação dos analitos. Além disso, apresenta baixo custo, pois utiliza instrumentação comumente encontrada nos laboratórios de rotina como bloco digestor. Certamente, este método pode ser utilizado para o controle destes e outros metais em biodiesel.

6. CONCLUSÃO

Os procedimentos propostos neste trabalho, emulsões com ácido fórmico e Triton X-100 e digestão ácida, para o preparo das amostras de biodiesel mostraram ser alternativas simples e direta para determinação de metais Ca, Mg e K em biodiesel em relação ao procedimento recomendado pelas normas que fazem uso da diluição com solvente orgânico.

As emulsões mostraram uma melhor estabilidade se comparada com o método de diluição em solvente orgânico com xileno, favorecendo a precisão e exatidão das análises. Além disso, o método proporcionou o uso de reagentes de baixa toxicidade, comparado com o xileno utilizado no método oficial, diminuindo os riscos de contaminação para o analista e contribuindo para a química verde. As curvas de calibração podem ser obtidas através do uso de padrões inorgânicos.

O método de digestão ácida em sistema aberto também se mostrou simples usando apenas o ácido nítrico e em pouca quantidade, sem a necessidade de adição adicional durante a digestão, minimizando a possibilidade de perdas e/ou contaminação dos analitos e a obtenção de um método eficaz para a digestão de amostras de matrizes complexas. O tempo de digestão foi de 4h, o que torna este método bastante atrativo para aplicação em análises de rotina. Além disso, é um método de baixo custo, utiliza instrumentação comumente encontrada nos laboratórios.

Certamente estes métodos podem ser utilizados para o controle destes e outros metais em biodiesel, podendo futuramente utilizar essas metodologias desenvolvidas em vias de comparação com outras, bem como serem aplicadas em diferentes tipos de matrizes.

7. REFERÊNCIAS

- [1] L.C. Meher, V.Sagar, S.N. Naik. Technical aspects of biodiesel production by transesterification - A review. *Renew. Sust. Energy Rev.* 10 (2006) 248–268.
- [2] I.P. Lôbo, S.L.C. Ferreira, R.S. Cruz. Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Quim. Nova* 32(6) (2009) 1596-1608.
- [3] *Revista Biodieselbr*, 16 (2010) 20.
- [4] M.R. Monteiro, A.R.P. Ambrozini, L.M. Lião, A.G. Ferreira. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. *Talanta* 77 (2008) 593–605.
- [5] S.A. Basha, K.R. Gopal, S.A. Jebaraj. A review on biodiesel production, combustion, emissions and performance. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 13 (2009) 1628–1634.
- [6] G. Knothe, J.V. Gerpen, J. Kahl, L.P. Ramos. *Manual de Biodiesel*. São Paulo, 2006.
- [7] A.C. Pinto, L.L.N. Guarieiro, M.J.C. Rezende, N.M. Ribeiro, E.A. Torres, W.A. Lopes, P.A.P. Pereira, J.B. De Andrade, Biodiesel: An overview. *J. Braz. Chem. Soc.* 16 (2005) 1313-1330.
- [8] M.B.M. Garcia, D.B. Milla, A.J. Jimenez, M.P.H. Artiga. Application of a fractionary factorial design to the determination of tin in lubricating oils by continuous flow hydride generation atomic-absorption spectrometry. *Fres. J. Anal. Chem.* 364(6) (1999) 527-532.
- [9] R. Geris, N.A.C. Santos, B.A. Amaral, I.S. Maia, V.D. Castro, J.R.M. Carvalho. Biodiesel de Soja – Reação de Transesterificação para aulas práticas de Química Orgânica. *Quím. Nova*, 30(5) (2007) 1369-1373.
- [10] M.K. Modi, J.R.C. Reddy, B.V.S.K. Rao, R.B.N. Prasad, Lipase-mediated transformation of vegetable oils into biodiesel using propan-2-ol as acyl acceptor, *Biotechnol. Lett.* 28 (2006) 637-640.
- [11] T.W. Tan, K. L. Nie, F. Wang, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 128 (2006) 109-
- [12] A. Lee, K. Wilson, Catalyst in production of Biodiesel, *J. Biobased. Mater. Bioenergy* 1 (2007) 19-30.
- [13] <http://www.biodieselbr.com/biodiesel/brasil/biodiesel-brasil.htm>. Acessado

em 04/01/12.

[14] Revista Biodieselbr, nº3 (2008) pág.09.

[15] Revista Biodieselbr, nº3 (2008) pág. 29.

[16] M. Balat, Production of biodiesel from vegetable oils: A survey, Energ. Source Part A. 29 (2007) 895–913.

[17] F.G. Lepri, E.S. Chaves, M.A. Vieira, A.S. Ribeiro, A.J. Curtius, L.C.C. Oliveira, R.C. Campos, Determination of trace elements in vegetable oils and biodiesel by atomic spectrometric techniques – A Review. App. Spectrosc. Rev. 46 (2011) 175-206.

[18] D. P. C. Quadros, E. S. Chaves, J. S. A. Silva, L.S. G. Teixeira, A. J. Curtius, P. A. P. Pereira. Contaminantes em Biodiesel e Controle de Qualidade. Rev. Virtual Quim, 3, nº5, (2011) 376-384.

[19] Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, **Resolução** ANP Número 7, de 19.3.2008-DOU 20.3.2008.

[20] EN 14108, Fat and oil derivatives - Fatty acid methyl esters (FAME), Determination of sodium content by atomic absorption spectrometry, (2003).

[21] EN 14109, Fat and oil derivatives - Fatty acid methyl esters (FAME), Determination of potassium content by atomic absorption spectrometry, (2003).

[22] DIN EN 14538, Fat and oil derivatives - Fatty acid methyl esters (FAME), Determination of Ca, K, Mg and Na content by optical emission spectral analysis with inductively coupled plasma (ICP OES), (2006).

[23] ABNT NBR 15554:2008 Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos - Determinação dos teores de cálcio, magnésio, sódio, fósforo e potássio por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICPOES).

[24] ABNT NBR 15554:2008 (Produtos derivados de óleos e gorduras – Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos – Determinação do teor de sódio por espectrometria de absorção atômica.

- [25] ABNT NBR 15555:2008 (Produtos derivados de óleos e gorduras – Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos – Determinação do teor de potássio por espectrometria de absorção atômica).
- [26] ABNT- NBR 15556:2008- Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos – Determinação do teor de sódio, potássio, magnésio e cálcio por espectrometria de absorção atômica.
- [27] E.S. Chaves, M.T.C. Loos-Vollebregt, A.J. Curtius, F. Vanhaecke. Determination of trace elements in biodiesel and vegetable oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry following alcohol dilution. *Spectrochim. Acta Part B* 66 (2011) 733–739.
- [28] E.J. Santos, A.B. Herrmann, E.S. Chaves, W.W.D. Vechiatto, A.C. Schoemberger, V.L.A. Frescura, A.J. Curtius. Simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization. *J. Anal. At. Spectrom.* 22 (2007) 1300–1303.
- [29] C.P. Lisboa, W. Loh. Emulsões. Material Didático de físico-química de solução de polímeros e surfactantes. UNICAMP, 1-13.
- [30] http://www2.dbd.pucrio.br/pergamum/tesesabertas/0621128_08. Acessado dia 12/12/2011.
- [31] T.P. Formariz, M.C.C. Urban, A.A.S. Júnior, M.P.D. Gremião, A.G. Oliveira, Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos, *Braz. J. Pharmac. Sci.* 41 (2005) 310-313.
- [32] S.E. Friberg, P. Bothorel, *Microemulsions: Structure and dynamics*. New York: CRC, 1988. 219p.
- [33] A. Jesus, A.V. Zmozinski, J.A. Barbará, M.G.R. Vale, M.M. Silva, Determination of calcium and magnesium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry using microemulsions as sample preparation, *Energ. Fuels* 24 (2010) 2109–2112.
- [34] M.A. Vieira, L.C.C. De Oliveira, R.A. Gonçalves, V. Souza, R.C. Campos, Determination of As in vegetable oil and biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Energ. Fuels* 23 (2009) 5942 – 5946.

- [35] E.S. Chaves, T.D. Saint'Pierre, E.J. Santos, L. Tormen, V.L.A. Frescura, A.J. Curtius, Determination of Na and K in biodiesel by flame atomic emission spectrometry and microemulsion sample preparation, *J. Braz. Chem. Soc.* 19 (2008) 856-861.
- [36] A. Jesus, M.M. Silva, M.G.R. Vale, The use of microemulsion for determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry, *Talanta* 74 (2008) 1378-1384.
- [37] J.A.S. Silva, E.S. Chaves, E.J. Santos, T.D. Saint'Pierre, V.L.A. Frescura, A.J. Curtius, Calibration techniques and modifiers for the determination of Cd, Pb and Tl in biodiesel as microemulsion by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.*, 21 (2010) 620-626.
- [38] R.S. Amais, E.E. Garcia, M.R. Monteiro, A.R.A. Nogueira, J.A. Nóbrega, Direct analysis of biodiesel microemulsions using an inductively coupled plasma mass spectrometry, *Microchem. J.* 96 (2010) 146–150.
- [39] R.M. De Souza, L.G. Leocadio, C.L.P. Silveira, ICP OES simultaneous determination of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, and P in biodiesel by axial and radial inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, *Anal. Lett.* 41 (2008) 1614–1621.
- [40] F.A. Lobo, D. Goveia, A.P. Oliveira, E.R. Pereira-Filho, L.F. Fraceto, N.L.D. Filho, A.H. Rosa, Comparison of the univariate and multivariate methods in the optimization of experimental conditions for determining Cu, Pb, Ni and Cd in biodiesel by GF AAS, *Fuel* 88 (2009) 1907–1914.
- [41] E.S. Chaves, F.G. Lepri, J.S.A. Silva, D.P.C. Quadros, T.D. Saint'Pierre, A.J. Curtius, A.J. Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS, *J. Environ. Monit.* 10 (2008) 1211–1216.
- [42] H. F. Lyra, D. W. T. M. Carneiro, G. P. Brandão, M. H. Pessoa, V. E. Castro, Determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel samples by flame atomic absorption spectrometry (F AAS) using microemulsion as sample preparation. *Microchem. J.*, 96 (2010) 180–185.
- [43] P.R. Aranda, P.H. Pacheco, R.A. Olsina, L.D. Martinez, R.A. Gil, Total and inorganic mercury determination in biodiesel by emulsion sample introduction

and FI-CV-AFS after multivariate optimization. J. Anal. At. Spectrom. 24 (2009) 1441–1445.

[44] R.S. Amais. Desenvolvimento de procedimentos para análise inorgânica de biodiesel usando técnicas espectroanalíticas. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de São Carlos (2010).

[45] F. J. Krug. Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1 ed., Piracicaba, (2010) 340.

[46] C. Duyck, N. Miekeley, C.L.P. Da Silveira, R.Q. Aucélio, R.C. Campos, P. Grinberg, G.P. Brandão, The determination of trace elements in crude oil and its heavy fractions by atomic spectrometry, Spectrochim. Acta Part B 62 (2007) 939–951.

[47] M.G.A. Korn; D.C.M.B. Santos, M.A.B. Guida, I.S. Barbosa, M.L.C. Passos, M.L.M.F.S. Saraiva, J.L.F.C. Lima, Evaluation of Digestion Procedures for Simultaneous Determination of Ca, P, Mg, K and Na in Biodiesel by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. J. Braz. Chem. Soc. 21 (2010) 2278-2284.

[48] F.W. Sant’Ana, R.E. Santelli, A.R. Casselha, R.J. Cassela, Optimization of an open-focused microwave oven digestion procedure for determination of metals in diesel oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, J. Hazardous Mat. 149 (2007) 67–74.

[49] E.S. Chaves, E.J. Santos, R.G.O. Araujo, J.V. Oliveira, V.L.A. Frescura, A.J. Curtius. Metals and phosphorus determination in vegetable seeds used in the production of biodiesel by ICP OES and ICP MS, Microchem. J. 96 (2010) 71–76.

[50] L.T. Black, Comparison of 3 atomic absorption techniques for determining metals in soybean oil, J. Am. Oil Chem. Soc. 52 (1975) 88-91.

[51] B. Welz, Atomic Absorption Spectrometry, Weinheim, 3rd edition, 1999.

[52] F. J. Holler, D. A. Skoog, S. R. Crouch. Princípios de Análise Instrumental. 6º edição, Porto Alegre: Bookman (2009).

[53] S. P. J. Higson. Química Analítica, São Paulo: McGraw-Hill (2009).

- [54] Beaty, R.D.; Kerber, J.D. Concepts, instrumentation and techniques in atomic absorption spectrophotometry, The Perkin-Elmer corporation, Norwalk, CT, Estados Unidos, 1993.
- [55] R.C. Campos, H.R. Santos, P. Grinberg, Determination of copper, iron, lead and nickel in gasoline by graphite furnace atomic absorption spectrometry using a three component solution, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 15-28.
- [56] G.P. Brandão, R.C. De Campos, A.S. Luna, E.V.R. Castro, H.C. Jesus, Determination of arsenic in diesel, gasoline and naphtha by graphite furnace atomic absorption spectrometry using microemulsion medium for sample stabilization, *Anal. Bioanal. Chem* 385 (2006) 1562-1569.

ANEXO 1

Artigo enviado para publicação na Spectrochimica Acta Part B

**An easy and fast procedure for the determination of Ca, Mg and K in
biodiesel by F AAS and F OES using emulsification as sample
preparation strategy**

Meibel T. Lisboa^a, Caroline D. Clasen^a, Daiane C. S. Vellar^a, Eliézer Q. Oreste^a,
Reinaldo C. Campos^b, Rodrigo Gonçalves^b, Anderson S. Ribeiro^a, Mariana A. Vieira^a

*^aCentro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e Alimentos, Programa de Pós-
Graduação em Química, Laboratório de Metrologia Química, Universidade Federal de
Pelotas, Capão do Leão, RS, Brazil*

*^bPontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Departamento de
Química, Rio de Janeiro, RJ, Brazil*

*Corresponding author: Fax: +55 53 3275-7356.

E-mail address: maryanavieira@hotmail.com

Abstract

In the present work, an alternative procedure for the pre-treatment of biodiesel samples aiming at determining Ca, Mg and K by flame atomic spectrometry techniques is proposed. The procedure is based on the emulsion formation of biodiesel with formic acid and Triton X-100. Their concentrations were optimized and the stability of emulsified aqueous standards and samples was found to be of least 2h. Multiplicative matrix effects were investigated by observing the slopes of analyte addition curves, performed with biodiesel samples of different origins. The results showed that matrix matched external calibration with inorganic aqueous standard solutions in the emulsion medium should be used. The accuracy of the procedure was assessed by the analysis of a standard reference material of biodiesel and also by recovery tests. Recoveries using inorganic standard of Ca, Mg and K spiked solutions ranged from 91 to 108%. The limits of detection in the original sample, in mg kg^{-1} , were 2.3, 0.20 and 0.7 for Ca, Mg and K, respectively, adequate for the analysis of the biodiesel in accordance to the established limits of the Brazilian legislation. The proposed procedure use low toxicity reagents and showed to be a simple and straightforward alternative of sample preparation for metal determination in biodiesel by flame atomic absorption and emission spectrometry.

Keywords: Biodiesel; Emulsions; Formic acid, Flame atomic spectrometry techniques

1. Introduction

Biodiesel can be produced from new or used vegetable oils as well as animal fats. They are non-toxic, biodegradable and renewable resources, what turns biodiesel an actual alternative to petroleum derived fuels. Density, viscosity and cetane index are among the properties, which are used to biodiesel characterization and evaluate its quality as fuel. Also, during the biodiesel production, contaminants present in the raw material may be incorporated to the final product, changing the emission quality and its performance as motor fuel [1-5]. Among these contaminants, the metals require special attention. They are introduced into biodiesel by the use of catalysts (homogeneous or heterogeneous) during its production, and Na and K are the most common, since their respective hydroxides are used as catalysts. Their presence in biodiesel above certain levels can cause the formation of ash in the engine [1]. Ca and Mg may be present in biodiesel due to the washing process necessary to clean the final products from byproducts such as glycerin.

There are different approaches for the determination of these contaminants in biodiesel. European [6,7,8], American [9] as well as Brazilian [10] norms recommend sample dilution with an organic solvent, normally xylene and external calibration with organometallic standards dissolved in base oil after viscosity adjustment of the calibration solutions with base or mineral oils. The instrumental determination can be performed by atomic spectrometry techniques such as inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) or flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The methods based on dilution with organic solvents (xylene, kerosene, etc.) are simple and can overcome problems associated with the high viscosity of the biodiesel samples. However, in spite of the calibration curves be prepared with organometallic standards, the matching of the analyte response in the sample in comparison to that in

the calibration solutions may be questionable due to the different speciation. Also, the analyte may present low stability in the calibration and sample solutions presented to the equipment, making it difficult to fully use the autosampler. Moreover it is necessary special care for handling the organic solvents due to their toxicity [11].

Other alternative procedures for the determination of trace elements in biodiesel by atomic spectrometric techniques were reviewed by Lepri *et al.* [12]. Among them, an interesting alternative to sample dilution of biodiesel with an organic solvent, and as simple as, is the emulsion formation, which offers additional advantages such as the use of aqueous standard solutions for the preparation of the calibration emulsions, analyte stability along days and lower cost of analysis. Also, when properly stabilized, the emulsified sample is compatible with most analytical instrumentation [13,14]. The kind of emulsion that is formed is mainly related to its formulation and to a lesser degree to the oil/water ratio: when two immiscible liquids are stirred, a macroemulsion is obtained, either oil-in-water (o/w, droplets of oil in water) or water-in-oil (w/o, droplets of water in oil). In o/w emulsions the oil or fuel is dispersed in the aqueous phase as micro droplets stabilized by micelles or vesicles generated by the addition of a detergent [15].

In the literature, there are several methods using emulsion formation for the determination of metals in vegetable oils. However, for biodiesel there were only found papers that used microemulsion for determination of metals in these samples: Microemulsions prepared using short chain alcohol (n-propanol or n-butanol) and Triton X-100 were used to determine As [16] in biodiesel and vegetable oils by GF AAS; Na and K in biodiesel by F OES without surfactant [17] or Na and K in biodiesel and vegetable oil by FAAS [18]. Microemulsions with nitric acid and Triton X-100 and dilution with some alcohol also were evaluated to determine Ca and Mg in biodiesel and

vegetable oil samples by FAAS [19]; Cd, Pb and Tl in biodiesel samples by GF AAS [20]; Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti and Zn in biodiesel by ICP-MS [21] and Cu, Pb, Ni, and Cd in biodiesel by GF AAS [22]; Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, and P in biodiesel by ICPOES [23] and Co, Cu, Fe, Mn, Ni, and V in diesel and biodiesel by ETV-ICP-MS [24]. Lyra *et al.* [25] performed the determination of Na, K, Ca, and Mg in biodiesel prepared as a microemulsion without surfactant by FAAS. The microemulsion was obtained by mixing biodiesel, concentrated HNO₃, an ionization suppressor solution, and n-propanol. An interesting work was published by Aranda *et al.* [26] wherein total and inorganic Hg were determined in biodiesel samples prepared as emulsions with nitric acid and Triton X-100 by flow injection cold vapor atomic fluorescence spectrometry (FI-CV-AFS). In all the works here cited, which used microemulsion, calibration was performed using aqueous standard solutions in the same microemulsion medium as the sample, and both samples and calibration solutions showed good stability.

The present work presents an alternative sample pre-treatment based on the emulsion formation with formic acid and Triton X-100 for the determination of Ca, Mg and K in biodiesel by atomic spectrometry techniques. The proposed method is easy and simple to perform and is an alternative to the procedure based in dilution with organic solvents.

2. Experimental

2.1. Instrumentation

Calcium and Mg were determined in biodiesel samples by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) using an atomic absorption spectrometer (Model AA-6300, Shimadzu, Japan) equipped with deuterium arc background correction and Ca and Mg hollow cathode lamps (Hamamatsu photonics K.K, Japan) were used as line

sources. Air-acetylene (Mg, Ca) or nitrous oxide-acetylene (Ca by NBR ABNT 155556 norm) flames were used for the determinations. The spectrometer was operated under the following conditions: wavelengths of 422.7 and 285.2 nm; spectral band passes of 0.7 and 0.5 nm and lamp currents of 10 and 8 mA for Ca and Mg, respectively. For K the measurements were made by flame emission spectrometry, using a flame photometer (Micronal, model B462, São Paulo, SP, Brazil), operating under the following conditions: aspiration rate, 5 mL min⁻¹; sample volume, 8 s settling time of reading time, 8 s; air flow rate, 9 L min⁻¹, at a pressure of 1 Kg cm⁻²; fuel, butane. In order to obtain the best performance of the instruments used, the flame parameters (burner height as well as the gases flow rates were optimized for each analyte in order to find the best sensitivity. All samples were weighed using an Ohaus Adventurer analytical balance (Model AR 2140, Pine Brook, NJ, USA) with a resolution of 0.1 mg.

2.2. Materials and reagents

All reagents were of analytical reagent grade. All solutions were prepared using high-purity water having a resistivity of 18.3 MΩ cm, obtained from a Direct-Q 3 Water Purification System (Millipore Corporation, Bedford, MA, USA). Formic acid 85% v/v (Vetec, Rio de Janeiro, Brazil) was purified by doubly sub-boiling distillation in a quartz system MA-075 (Marconi, model MA-075, Piracicaba, SP, Brazil). Triton X-100 (Sigma-Aldrich, Germany) and antifoam A (Fluka, Buchs, Germany) were used for preparation of the emulsion. Cesium chloride and lanthanum chloride (Fluka, Buchs, Germany) were used as spectroscopic buffer for the Ca and Mg AAS measurements. In this flask (Schinkelsolution) their original concentration are 10 and 100 g L⁻¹, respectively. Xylene and mineral oil (viscosity ranging from 10.8 mm²s⁻¹ to 13.6 mm²s⁻¹ and specific mass = 0.856 g mL⁻¹) both Vetec (Rio de Janeiro, Brazil) were used.

Individual Ca, Mg and K standard aqueous solution (1000 mg L^{-1} , Fluka, Buchs, Germany) were used for preparing the calibration solutions by adequate dilution. For the comparative procedure (ABNT NBR 15556 [10]), a multielemental organometallic standard solution (S21+k, Conostan, Champlain, USA) was used for preparing the calibration solutions. The diluent solution (mineral oil in xylene, 120.0 g L^{-1}) was prepared by diluting 120.0 g of mineral oil to 1000 mL with xylene in a volumetric flask. This solution was used as a diluent for the calibration solutions and blanks. The polypropylene tubes (PP) were washed with tap water, followed by immersion in 10% (m/v) KOH in order to remove any oil from flask wall. In continuation, the flasks were washed with deionized water and then placed in 10% (v/v) HNO_3 for at least 48 h and subsequently rinsed with deionized water and dried.

2.3. Samples

For the preparation of the emulsions, biodiesel samples from different origins (soybean, palm, beef tallow, algae, castor, sunflower, babassu, cotton and cooking oil) were analyzed. The samples were provided by the Laboratory of Biofuels from Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro (PUC-Rio) as well as by a biodiesel plant located in Southern Brazil. The accuracy of the developed method was evaluated by the analysis of a standard reference material (SRM) for the determination of metals in biodiesel (Conostan B-100, SCP Science, Canada) containing 20 mg g^{-1} of Na, K, Mg, Ca and P.

2.4. Emulsion preparation

Approximately 0.5 g of biodiesel was accurately weighed in a 50mL polypropylene flask and 20 mL of 85% formic acid and 15 droplets of Triton X-100 were

added. Antifoam (3-4 droplets) was also added in order to avoid foam during the analysis. The samples were then made up to 50 mL diluted with ultrapure water. Before the analysis, the emulsions were shaken vigorously. The emulsions were stable, i.e., showed no phase separation during 15-20 minutes, time enough to proceed the readings in triplicate.

2.5. Procedure

For the measurements of Ca and Mg, a spectroscopy buffer solution (LaCl₃/CsCl) was used. For this, to 7 ml of sample or calibration emulsion, 105 µL of spectroscopic buffer were added. Calibration emulsions were prepared similarly to the sample emulsions, using mineral oil (0.5 g) instead of the sample, for the viscosity matching between sample and calibration emulsions. The sample and calibration solutions were analysed by FAAS (Ca and Mg) or by F OES (K). For comparison, the samples were also analyzed by the ABNT NBR 15556 norm.

3. Results and discussion

3.1. Formic acid concentration

The influence of the formic acid concentration was based on the measurements of Ca, Mg and K using a biodiesel sample (soybean) spiked with inorganic standard solutions of Ca, Mg and K, at a fixed amount of Triton X-100 (15 droplets).

In accordance to the results displayed in Fig. 1, a specific optimum concentration of formic acid was found for each analyte. However, in order to prepare a unique emulsion for the determination of all the three analytes in the same sample emulsion the

concentration of 25.5% (v/v) was chosen, as the best compromise. This is equivalent to use 15 mL of distilled formic acid for the preparation of the emulsion.

3.2. Triton X-100

Triton X-100 has been selected for the preparation of emulsions and the influence of its amount was evaluated, as shown in Fig. 2. For this study, the concentration of formic acid was fixed at 25.5% (v/v). It was observed that for Ca and Mg, the increase of the Triton X-100 amount did not cause a significant increase in the absorbance signal in the presence of the sample. For K, it was observed an increase in the emission signal up to 0.4 mL. Thus, the addition of 0.4 mL (~ 15 droplets) of Triton X-100 was adopted, which leads to a final concentration 0.85% v/v in the emulsion.

3.3. Spectroscopic buffer concentration

For the determination of Ca and Mg by FAAS using air-acetylene flame, the optimization of the spectroscopic buffer concentration ($\text{LaCl}_3/\text{CsCl}$) was carried out. This solution is commonly used to overcome non spectral interferences in flames. Fig. 3 presents the results. In the absence of the buffer solution, the absorbance signal of Ca is around 35% of those in its presence, possibly due to ionization. However, in the presence of only 0.05% (m/v) LaCl_3 or 0.005% (m/v) CsCl , the absorbance signal already reaches its maximum value. La is usually used as releasing agent in colder flames, such as the air-acetylene flame and Cs is an ionization buffer. For Mg, the presence of the buffer does not significantly influence the absorbance signal, showing that there is non-spectral interference in this case. Thus, the concentration of 0.15% (m/v) of LaCl_3 and 0.015% (m/v) of CsCl in the emulsion was chosen for the determination of Ca and Mg in biodiesel by FAAS in the same sample solution.

3.4. Analyte stability

An important part of a routine procedure is that the analytes in the sample and calibration solutions (or emulsions) remain stable for at least few hours so that the analysis can be carried out without losses. Several papers have shown that organic solutions containing trace metals may suffer from losses after just few minutes[27-29]. Thus, the stability of the analytes (Ca, Mg and K) in the emulsified medium was evaluated along a period of 4 hours in the biodiesel emulsion, after its enrichment with 0.9;0.2;and 0.5 mg L⁻¹ of Ca, Mg and K, respectively. The results demonstrate that the analytes were stable in the emulsified medium for 1-2 hours. Thus, in order to get accurate results, is recommended that the samples should be analyzed within this period, after the emulsion preparation.

3.5. Matrix influence

The matrix influence was investigated by observing the slopes of analyte addition curves in biodiesel samples of different origins and viscosities (beef tallow, soybean, algae and castor). These curves were prepared by spiking biodiesel sample emulsions with appropriate volumes of aqueous inorganic standard solutions of Ca, Mg and K. The external calibration curves were prepared as already described in the procedure section. The results presented in Table 1 show that there are multiplicative matrix effect in relation to the different samples and the external calibration curve. This confirms that external calibration curves as prepared with aqueous standards cannot be used to analyze the samples. However, the use of matrix matched external calibration is possible, since the slopes observed for the different samples are not significantly

different. Thus, the calibration can be performed using a biodiesel sample with very low concentrations of Ca, Mg and K, preferably below the LOD.

Table 1 – Slopes ($\pm$ standard deviation) of analyte addition curves in biodiesel samples of different origins by FAAS for Ca and Mg and by F OES for K using the proposed procedure.

Biodiesel	Slope(L mg ⁻¹) $\pm$ SD		
	Ca	Mg	K
Beef tallow	0.099($\pm$ 0.001)	1.854($\pm$ 0.013)	1.549 ($\pm$ 0.064)
Soybean 1	0.095($\pm$ 0.001)	1.860($\pm$ 0.014)	1.547($\pm$ 0.017)
Castor	0.098($\pm$ 0.002)	1.927($\pm$ 0.016)	1.666($\pm$ 0.110)
Soybean 2	0.095 ($\pm$ 0.001)	1.884($\pm$ 0.027)	1.561($\pm$ 0.065)
Algae	0.086 ($\pm$ 0.004)	1.844 ($\pm$ 0.016)	1.555($\pm$ 0.038)
External calibration	0.085($\pm$ 0.001)	1.732 ($\pm$ 0.035)	1.829 ($\pm$ 0.028)

SD: Standard deviation

3.6. Accuracy studies

The accuracy of the proposed methodology was evaluated using a multi-element standard reference material for Ca, Mg and K containing 20 mg kg⁻¹ of each analyte. The concentrations were obtained by using matrix matched external calibration curve, as discussed. Table 2 shows the results.

Table 2—Concentration ($\text{mg kg}^{-1} \pm s$) of Ca, Mg and K obtained in standard reference material of biodiesel by the proposed procedure ($n=3$).

Analyte	Found value	Expected value*
Ca	19.60 ± 0.23	20
Mg	23.40 ± 0.14	20
K	19.91 ± 0.13	20

* standard deviation value not informed

According to the results presented in Table 2 and the application of the t-test for a confidence level of 95%, no significant difference between found and expected values was observed for Ca and K, proving the accuracy of the method for those analytes. For Mg, the found value was 17% higher to the expected value. The accuracy also was assessed by spike recovery tests conducted at three concentrations for each analyte. Spikes were added to the original samples and results are summarized in Table 3. Recoveries ranged from 94 to 107%, also supporting the accuracy of the proposed method.

Table 3– Measured concentrations of Ca, Mg by FAAS and K by F OES (mg L^{-1} , $n=3$) in biodiesel after the addition of different concentrations to the original sample.

Added (mg L^{-1})			
Ca			
	0.50	1.00	1.50
Beef tallow	0.50	1.01	1.51
Soybean 1	0.53	1.07	1.50
Castor	0.52	0.98	1.52
Soybean 2	0.48	1.01	1.52
Algae	0.53	1.06	1.49
Mg			
	0.10	0.20	0.30
Beef tallow	0.10	0.19	0.30
Soybean 1	0.11	0.19	0.30
Castor	0.10	0.20	0.30
Soybean 2	0.09	0.19	0.29
Algae	0.10	0.20	0.29
K			
	0.10	0.20	0.30
Beef tallow	0.09	0.19	0.30
Soybean 1	0.09	0.19	0.30
Castor	0.08	0.19	0.30
Soybean 2	0.08	0.20	0.30
Algae	0.10	0.19	0.30

3.7. Figures of merit

Table 4 summarizes the main figures of merit of the proposed procedure. For sake of comparison, figures of merit using one of the recommended procedures, that described in ABNT NBR 15556 (dilution with xylene) are also shown. These figures of merit were taken from an external calibration curve with the calibration solutions

prepared with inorganic standards of Ca, Mg and K, in 25.5% (v/v) of formic acid and 0.85% (m/v) of Triton X-100, and containing mineral oil for viscosity adjustment, as already described. The figures of merit of the ABNT NBR 15556 norm were also taken from the calibration curve, as described in [10].

Table 4 – Figures of merit of the proposed procedure (emulsion formation) in comparison to that of the ABNT NBR 15556 (dilution with xylene).

Present work (emulsion formation)					
Analyte	R	Linear range (up to, mg L ⁻¹)	LOD ^a (mg L ⁻¹)	LOQ ^b (mgL ⁻¹)	LOD ^c (mg kg ⁻¹)
Ca	0.999	2.0	0.022	0.075	2.30
Mg	0.997	0.4	0.002	0.008	0.20
K	0.999	0.9	0.007	0.023	0.70
ABNT NBR 15556 (dilution with xylene)					
Analyte	R	Linear range (up to, mg L ⁻¹)	LOD ^a (mg L ⁻¹)	LOQ ^b (mgL ⁻¹)	LOD ^c (mg kg ⁻¹)
Ca	0.999	2.0	0.015	0.15	1.50
Mg	0.999	0.4	0.002	0.018	0.18
K	0.999	0.8	0.002	0.022	0.22

LOD^a: Instrumental limit of detection; LOQ^b: Limit of quantification; LOD^c: limit of detection in the original sample.

The dynamic range of the calibration curves for Ca, Mg and K were selected based on the range of analyte concentrations (maximum permissible concentration of 5 mg L⁻¹) that should be expected in according to legislation. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were defined respectively as 3s/m_a and 10s/m_a, where

s is the standard deviation of 10 measurements of the blank and m_a is the slope of the calibration curve, in the best working conditions. In the case of the LOD in the original sample, the sample mass used to prepare the emulsion and the dilution factors used were taken into account. The limits of detection, at the optimized conditions, are adequate for the analysis of the biodiesel in accordance to the established limits in the Brazilian legislation. The values of LOD and LOQ when compared to those obtained by *Chaves et al.* [17] and *De Jesus et al.* [18,19] which determined Ca, Mg and K in biodiesel samples using microemulsions showed better performance. Also, according to table 4, the proposed procedures showed comparable limits of detection in comparison to the ABNT NBR 15556 procedure. Table 5 shows the measured concentrations of Ca, Mg by FAAS and K by F OES in biodiesel samples of different origins prepared as emulsions. The concentrations were obtained by using matrix matched external calibration with calibration solutions prepared with inorganic standards of Ca, Mg and K.

Table 5– Concentrations (mg L^{-1} , $\pm s$) of Ca, Mg and K obtained in biodiesel samples (n=3) using the procedure with emulsions.

	Ca	Mg	K
Beef tallow	<LOD	<LOD	<LOD
Soybean 1	<LOD	<LOD	<LOD
Castor 1	<LOD	<LOD	<LOD
Soybean 2	0.023 ± 0.01	<LOD	<LOD
Algae	0.024 ± 0.01	<LOD	<LOD
Soybean 3	3.09 ± 0.14	1.64 ± 0.04	1.17 ± 0.01

Table 6 compares results obtained by the proposed and a comparative procedure (ABNT NBR 15556 norm procedure). The samples were spiked with 16.1 mg kg^{-1} of

each analyte. This concentration was adopted in order to reach the lowest uncertainty possible considering the volumetric instrumentation available in the laboratory. The results show excellent agreement between the two procedures, with deviation within $\pm 9\%$

Table 6 –Measured concentrations of Ca, Mg and K (mg Kg^{-1}) in biodiesel samples by the proposed and comparative procedure (ABNT NBR 15556 norm).

	Emulsion formation	ABNT NBR 15556 norm
Ca		
Castor	16.38 ± 0.30	15.83 ± 0.02
Palm	14.95 ± 0.31	16.11 ± 0.02
Babassu	18.17 ± 0.21	16.79 ± 0.04
sunflower	16.41 ± 0.48	16.54 ± 0.06
soybean	16.54 ± 0.43	16.39 ± 0.02
Mg		
Castor	18.03 ± 0.43	16.80 ± 0.02
Palm	17.63 ± 0.32	17.03 ± 0.03
Babassu	16.39 ± 0.72	17.11 ± 0.06
sunflower	16.75 ± 0.41	15.97 ± 0.04
soybean	18.06 ± 0.97	16.67 ± 0.03
K		
Castor	16.32 ± 0.41	16.66 ± 0.13
Palm	15.69 ± 0.31	14.85 ± 0.10
Babassu	16.28 ± 0.33	15.63 ± 0.09
sunflower	16.61 ± 0.37	15.91 ± 0.06
soybean	15.75 ± 0.38	17.35 ± 0.09

4. Conclusions

Calcium, Mg and K could be determined in biodiesel samples obtained from different feedstock prepared as emulsion with formic acid and Triton X-100. The proposed procedure is direct, simple, makes use of less toxic reagents, is easy to implement and fast, offering a good alternative for the determination of these metals in biodiesel. Sodium could also be determined in principle, but the high blank for this element due to the Triton X 100 contamination, impaired its application in this case. In order to obtain the accuracy, the use of matrix matched calibration is indicated. Their limits of detection, at the optimized conditions, are adequate for the analysis of biodiesel for these elements in accordance to the established limits in the Brazilian and international legislation.

Acknowledgements

The authors are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for research scholarship. Also, to the CNPq (Edital Universal 14/2010 - Process 473497/2010-7) and to the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS/Edital ARD/2010- Process 10/0234-9) for financial support through research projects, as well as for Petrobras.

References

- [1] G. Knothe, J.V. Gerpen, J. Krahl, The biodiesel handbook. AOCS Books. Champaign, Illinois. 2005
- [2] G. Knothe, Biodiesel and renewable diesel: a comparison, Progr. Energ. Combust. 36 (2010) 364-373.

- [3] B. Kahraman, Biodiesel as an alternative motor fuel: Production and policies in the European Union, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 12 (2008) 542–552.
- [4] M.A. Fazal, A.S.M.A. Haseeb, H.H. Masjuki, Biodiesel feasibility study: an evaluation of material compatibility; performance; emission and engine durability, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 15 (2011) 1314–1324.
- [5] Y.C. Sharma, B. Singh, S.N. Upadhyay, Advancements in development and characterization of biodiesel: a review, *Fuel* 87 (2008) 2355-2373.
- [6] BS EN 14108, Fat and oil derivatives - Fatty acid methyl esters (FAME), Determination of sodium content by atomic absorption spectrometry, 2003.
- [7] BS EN 14109, Fat and oil derivatives - Fatty acid methyl esters (FAME), Determination of potassium content by atomic absorption spectrometry, 2003.
- [8] DIN EN 14538, Fat and oil derivatives - Fatty acid methyl esters (FAME), Determination of Ca, K, Mg and Na content by optical emission spectral analysis with inductively coupled plasma (ICP OES), 2006.
- [9] ASTM D6751 - 10 Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels.
- [10] ABNT NBR 15556:2008 - Fat oil and derivatives. Fatty acid methyl esters. Determination of the sodium, potassium, calcium and magnesium contents by atomic absorption spectrometry.
- [11] M.D.A. Korn, D.S.S. dos Santos, B. Welz, M.G.R. Vale, A.P. Teixeira, D.C. Lima, S.L.C. Ferreira, Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels — a review, *Talanta* 73 (2007) 1–11.
- [12] F.G. Lepri; E.S. Chaves; M.A. Vieira; A.S. Ribeiro; A.J. Curtius; L.C.C. De Oliveira; R.C. De Campos, Determination of trace elements in vegetable oils and

biodiesel by atomic spectrometric techniques – A Review, *Appl.Spectrosc. Rev.* 46 (2011) 175 - 206.

- [13] M. de la Guardia, M.T. Vidal, The use of emulsions in the preparation of samples and standards for analysis by atomic-absorption spectroscopy determination of Cu and Fe in milk extracts of their apdc complexes, *Talanta* 31 (1984) 799-803.
- [14] O. Platteau, M. Carrillo, Determination of metallic elements in crude oil-water emulsions by flame AAS, *Fuel* 74 (1995) 761-767.
- [15] E. Pelizzetti, E. Pramauro, Analytical applications of organized molecular assemblies, *Anal. Chim. Acta* 169 (1985) 1-29.
- [16] M.A. Vieira, L.C.C. De Oliveira, R.A. Gonçalves, V. Souza, R.C. De Campos, Determination of As in vegetable oil and biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Energ. Fuel* 23 (2009) 5942 – 5946.
- [17] E.S. Chaves, T.D. Saint’Pierre, E.J. Santos, L. Tormen, V.L.A. Frescura, A.J. Curtius, Determination of Na and K in biodiesel by flame atomic emission spectrometry and microemulsion sample preparation, *J. Braz. Chem. Soc.* 19 (2008) 856-861.
- [18] A. De Jesus, M.M. Silva, M.G.R. Vale, The use of microemulsion for determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry, *Talanta* 74 (2008) 1378–1384.
- [19] A. De Jesus, A.V. Zmozinski, J.A. Barbará, Determination of calcium and magnesium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry using microemulsions as sample preparation, *Energ. Fuel* 24 (2010) 2109–2112.
- [20] J.A.S. Silva, E.S. Chaves, E.J. Santos, T.D. Saint’Pierre, V.L.A. Frescura, A.J. Curtius, Calibration techniques and modifiers for the determination of Cd, Pb and

- Tl in biodiesel as microemulsion by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *J. Braz. Chem. Soc.* 21 (2010) 620-626.
- [21] R.S. Amais, E.E. Garcia, M.R. Monteiro, A.R.A. Nogueira, J.A. Nóbrega, Direct analysis of biodiesel microemulsions using an inductively coupled plasma mass spectrometry, *Microchem. J.* 96 (2010) 146–150.
- [22] R.M. De Souza, L.G. Leocadio, C.L.P. Silveira, ICP OES simultaneous determination of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, and P in biodiesel by axial and radial inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *Anal. Lett.* 41 (2008) 1614–1621.
- [23] F.A. Lobo, D. Goveia, A.P. De Oliveira, E.R. Pereira-Filho, L.F. Fraceto, N.L.D. Filho, A.H. Rosa, Comparison of the univariate and multivariate methods in the optimization of experimental conditions for determining Cu, Pb, Ni and Cd in biodiesel by GF AAS. *Fuel* 88 (2009) 1907–1914.
- [24] E.S. Chaves, F.G. Lepri, J.S.A. Silva, D.P.C. Quadros, D.P.C., T.D. Saint’Pierre, A.J. Curtius, Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS, *J. Environ. Monit.* 10 (2008) 1211–1216.
- [25] H.F. Lyra, D.W.T.M. Carneiro, G.P. Brandão, M.H. Pessoa, V.E. Castro, Determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel samples by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) using microemulsion as sample preparation, *Microchem. J.* 96 (2010) 180–185.
- [26] R.P. Aranda, H.P. Pacheco, A.R. Olsina, D.L. Martinez, A.R. Gil, Total and inorganic mercury determination in biodiesel by emulsion sample introduction and FI-CV-AFS after multivariate optimization, *J. Anal. At. Spectrom.* 24 (2009) 1441–1445.

- [27] R.C. De Campos, H.R. Santos, P. Grinberg, Determination of copper, iron, lead and nickel in gasoline by graphite furnace atomic absorption spectrometry using a three component solution, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 15-28.
- [28] M.N.M. Reyes, R.C. De Campos, Graphite furnace atomic absorption spectrometric determination of Ni and Pb in diesel and gasoline samples stabilized as microemulsion using conventional and permanent modifiers, *Spectrochim. Acta. Part B* 60 (2005) 615-624.
- [29] G.P. Brandão, R.C. De Campos, A.S. Luna, E.V.R. Castro, H.C. Jesus, Determination of arsenic in diesel, gasoline and naphtha by graphite furnace atomic absorption spectrometry using microemulsion medium for sample stabilization, *Anal. Bioanal. Chem.* 385 (2006) 1562-1569.

Figure Captions

Fig. 1 – Effect of formic acid concentration: (–○–) soybean biodiesel spiked with 0.5 mg L⁻¹ of Ca or Mg or 0.4 mg L⁻¹ of K.

Fig. 2 – Effect of Triton X-100 volume: (–○–) soybean biodiesel spiked with 0.5 mg L⁻¹ of Ca or Mg or 0.4 mg L⁻¹ of K.

Fig. 3 – Effect of spectroscopic buffer concentration. (–□–) aqueous standard solution containing 0.5 mg L⁻¹ of Ca or Mg; (–○–) soybean biodiesel spiked with 0.5 mg L⁻¹ of Ca or Mg.

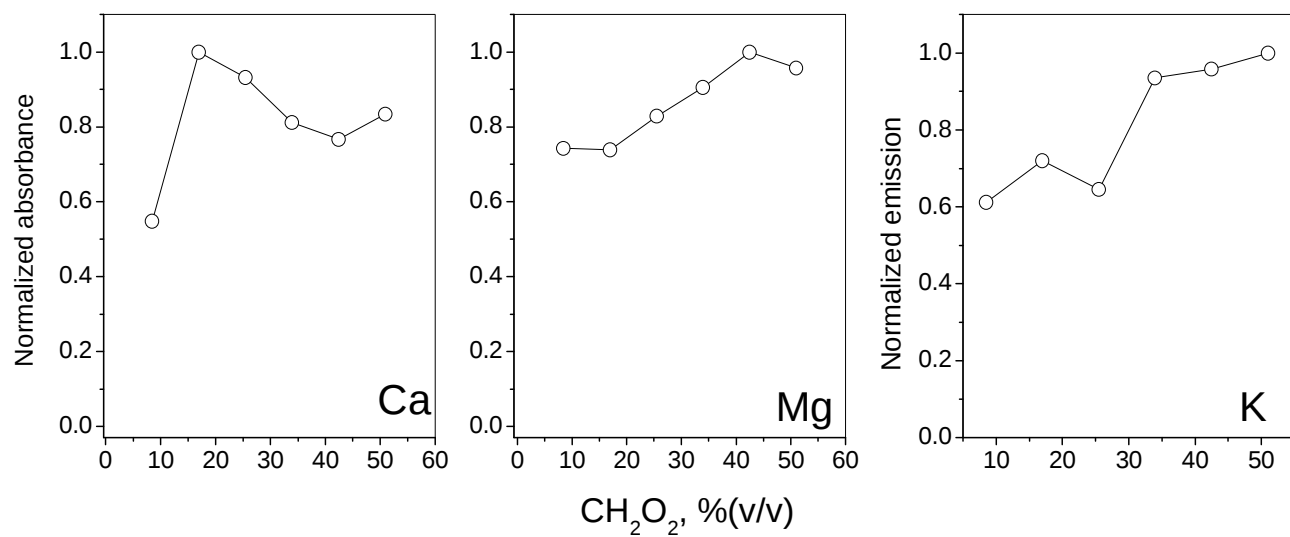


Fig. 1

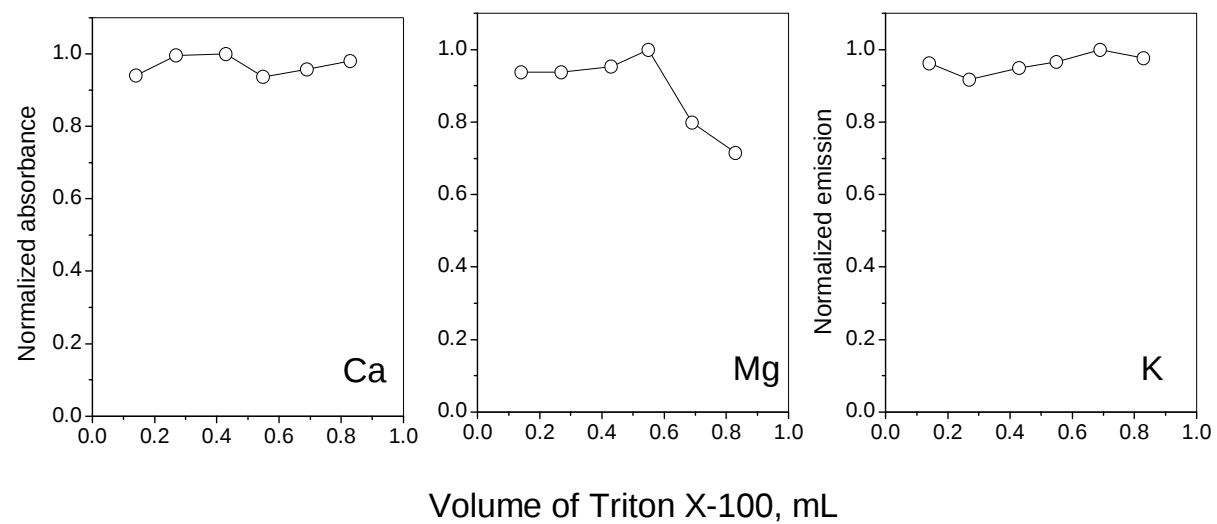


Fig. 2

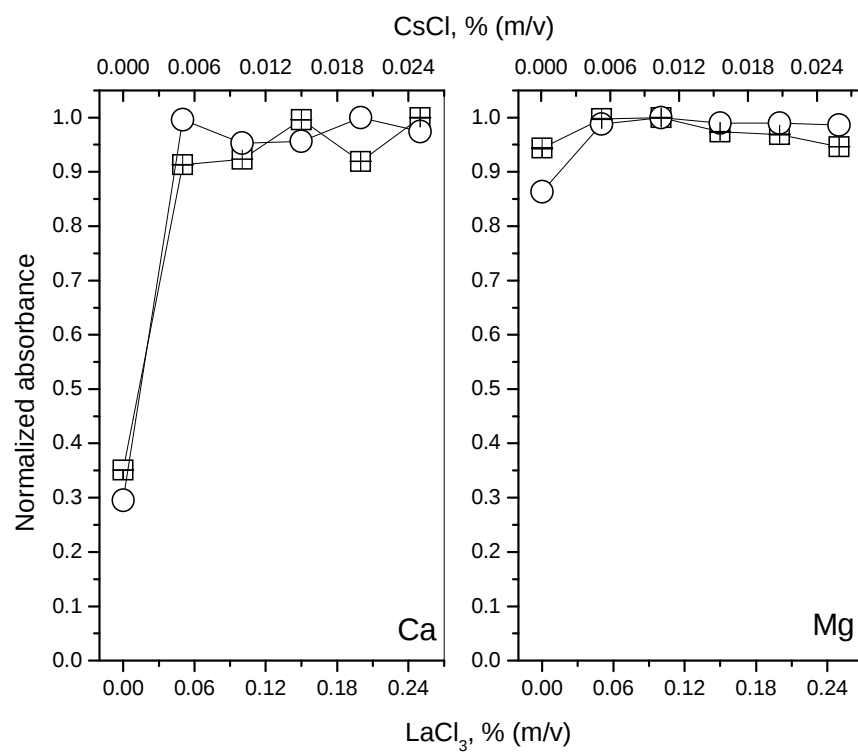


Fig. 3