

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

WDSO ALMEIDA SANTOS

**PROCEDIMENTO SIMPLES DE DILUIÇÃO DE BIODIESEL EM ÁLCOOL PARA
DETERMINAÇÃO DE Mg POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA
COM CHAMA**

São Luís

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

WDSO ALMEIDA SANTOS

**PROCEDIMENTO SIMPLES DE DILUIÇÃO DE BODIESEL EM ÁLCOOL PARA
DETERMINAÇÃO DE Mg POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA
COM CHAMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Química – Área de Concentração: Química Analítica.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Aldaléa Lopes Brandes Marques

Co-orientador: Prof. Dr. Edmar Pereira Marques

São Luís

2016

Santos, Wdson Almeida.

Procedimento Simples de Diluição de Biodiesel em Álcool para Determinação de Mg Por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama / Wdson Almeida Santos. - 2016.

60 f.

Orientador(a): Aldaléa Lopes Brandes Marques.

Coorientador(a): Edmar Pereira Marques.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2016.

1. Biodiesel. 2. Magnésio. 3. FAAS. 4. Etanol. 5. Propanol. I. Marques, Aldaléa Lopes Brandes. II. Marques, Edmar Pereira. III. Título.

WDSOON ALMEIDA SANTOS

PROCEDIMENTO SIMPLES DE DILUIÇÃO DE BIODIESEL EM ÁLCOOL PARA DETERMINAÇÃO DE Mg POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Química – Área de Concentração: Química Analítica.

Aprovada em: / /

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. Dr.^a. Aldaléa Lopes Brandes Marques (orientadora - UFMA)

Prof.^a. Dr.^a. Kiany Sirley Brandão Cavalcante (UFMA)

Prof. Dr. Roberto Batista de Lima (Dep. Qui/UFMA)

*A minha querida esposa, Queila Catiana, filhas
Kessya e Wendy pelo incentivo e carinho
constantemente.*

AGRADECIMENTOS

Aos professores Dr^a. Aldaléa Lopes Brandes Marques e Dr. Edmar Pereira Marques por terem me aceito no laboratório, pela oportunidade, incentivo e ensinamentos no meu crescimento acadêmico e profissional e pela compreensão e orientação recebida.

Aos amigos que pertencem ou pertenceram aos laboratórios de pesquisa da (UFMA): Laboratório de Pesquisa em Química Analítica (LPQA) e Laboratório de Análise e Pesquisa em Química Analítica de Petróleo e Biocombustíveis (LAPQAP).

Ao Núcleo Interinstitucional de Estudo e Geração de Novas Tecnologias (Geratec), que funciona nas dependências da Universidade Estadual do Piauí (UESPI), pela oportunidade e ajuda durante o decorrer desse trabalho.

Enfim, a todas as pessoas que, de algum modo, tenham contribuído com esse trabalho.

RESUMO

Este trabalho propõe um método alternativo simples de preparação de amostras para determinação de magnésio no biodiesel por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS), utilizando álcoois de cadeia curta para dissolução de amostras de biodiesel. O meio etanólico e propanólico possibilitou o uso de padrão aquoso, sem a necessidade de ajuste de viscosidade em amostras de biodiesel devido a uma boa resposta instrumental. As curvas analíticas foram preparadas no intervalo de concentração entre 0,0-1,0 mg L⁻¹, utilizando o meio álcool-ácido e biodiesel/álcool-ácido. A preparação da amostra consistiu na dissolução de 1 g de biodiesel, 100 µL de HNO₃ concentrado e aferida para 10 mL com etanol ou propanol. A solução padrão inorgânica de Mg no meio biodiesel/álcool-ácido mostrou-se estável durante três dias consecutivos através de um bom sinal analítico. No presente estudo as curvas analíticas no meio álcool-ácido e biodiesel/álcool ácido apresentaram um coeficiente de correlação linear (R) maior do que 0,99 e desvio padrão relativo (DPR < 20%). O efeito de matriz foi testado comparando as inclinações das curvas analíticas feitas no meio alcoólico (etanol ou propanol) e ácido nítrico, mostrando através do teste t que as inclinações são estatisticamente iguais e sem efeito de matriz. Já para comparação de métodos aplicou-se o teste F e t de *Student*, com o nível de confiança de 95%, e os resultados foram estatisticamente concordantes o que indica que etanol ou propanol podem, ambos serem usados na determinação de Mg no meio biodiesel/álcool por FAAS. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) utilizando a dissolução de biodiesel em etanol acidificado foram 1,25x10⁻³ mg L⁻¹ e 4,17x10⁻³ mg L⁻¹, respectivamente. A exatidão do método utilizando biodiesel no meio propanol ácido, também, foi avaliada pela adição e recuperação, cujos resultados para as porcentagens de recuperação foram na faixa de 97 -103%, com o desvio padrão relativo (DPR) menor do que 20% e limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) iguais a 1,24x10⁻³ mg L⁻¹ e 4,14x10⁻³ mg L⁻¹, respectivamente. Estes resultados indicam que o procedimento simples de preparação de amostra, usando etanol ou propanol como solvente, é eficaz para a determinação de Mg em biodiesel por FAAS.

Palavras-chaves: Biodiesel, magnésio, FAAS, etanol, propanol.

ABSTRACT

This paper proposes a simple alternative method of sample preparation for determination of magnesium in biodiesel by Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS), using short-chain alcohols for dissolution of biodiesel samples. The ethanolic and propanolic medium allowed the use of aqueous standard without the need for viscosity adjustment in biodiesel samples due to a good instrumental response. The analytical curves were prepared in the concentration range from 0.0 to 1.0 mg L⁻¹, using the acid-alcohol medium and biodiesel/alcohol-acid medium. Sample preparation consisted of dissolving 1 g of biodiesel, 100 µL of concentrated HNO₃ and volume measured to 10 mL with ethanol or propanol. The inorganic standard solution of Mg in the biodiesel alcohol/acid medium was stable for three consecutive days at a good analytical signal. In this study the analytical curves in the acid-alcohol and the biodiesel alcohol acid mediums showed a correlation coefficient (R) greater than 0.99 and relative standard deviation (RSD < 20%). The matrix effect was tested by comparing the slopes of analytical curves made in an alcoholic medium (ethanol or propanol) and nitric acid, showing through the t test that the slopes are statistically equal without matrix effect. As for comparison of methods, F and Student t tests were applied, with a confidence level of 95%, and the results were statistically consistent indicating that ethanol or propanol both may be used in the determination of Mg in the biodiesel/alcohol medium by FAAS. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) using biodiesel dissolving in acidified ethanol was 1.25x10⁻³ mg L⁻¹ and 4.17x10⁻³ mg L⁻¹, respectively. The accuracy of the method using biodiesel in the propanol acid medium was also evaluated by addition and recovery and the results for recovery percentages were in the range of 97 - 103%, with relative standard deviation (RSD) lower than 20% and the limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) equal to 1.24x10⁻³ mg L⁻¹ and 4.14x10⁻³ mg L⁻¹, respectively. These results indicate that the simple sample preparation procedure using ethanol or propanol as the solvent is effective for the determination of Mg in biodiesel by FAAS.

Keywords: Biodiesel, magnesium, FAAS, ethanol, propanol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estudo da estabilidade da solução padrão aquosa inorgânica de magnésio na concentração de $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ no meio biodiesel/etanol-ácido e biodiesel/propanol-ácido.....	37
Figura 2. Curvas analíticas para Mg em meio alcóolico-ácido nítrico ($0,14 \text{ mol L}^{-1}$)	39
Figura 3. Curvas analíticas para Mg em meio álcool-ácido e biodiesel/álcool-ácido	41
Figura 4. Curva analítica média (os valores de cada ponto da curva, foram medidos em triplicata) para Mg em meio biodiesel/etanol e biodiesel/propanol.....	44
Figura 5. Estudo do efeito da adição de diferentes concentrações de Ca^{2+} em diferentes matrizes de biodiesel/etanol	47
Figura 6. Estudo do efeito da adição de diferentes concentrações de Ca^{2+} , Fe^{2+} e Al^{3+} em biodiesel/propanol	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros instrumentais para determinação de Mg por FAAS.....	27
Tabela 2. Precisão das medidas de absorvância de diferentes concentrações de Mg no meio etanólico e propanólico.....	38
Tabela 3. Parâmetros analíticos (figuras de mérito) para o método proposto em meio alcoólico-ácido nítrico	40
Tabela 4. Precisão das medidas de absorvância de diferentes concentrações de Mg no meio biodiesel/etanol e biodiesel/propanol	45
Tabela 5. Influência da adição de diferentes concentrações de Ca^{2+} nas absorvâncias para determinação de Mg em amostras de biodiesel/etanol	46
Tabela 6. Influência da adição de diferentes concentrações de Ca^{2+} , Fe^{2+} e Al^{3+} nas absorvâncias para determinação de Mg em amostras de biodiesel/propanol	48
Tabela 7. Parâmetros analíticos (figuras de mérito) para determinação de Mg em amostras de biodiesel diluídas em meio propanólico-ácido e etanólico-ácido nítrico	50
Tabela 8. Concentrações de Mg determinadas por FAAS (média \pm desvio padrão, n=5) em amostras de biodiesel diluídas em meio propanólico-ácido nítrico.....	51
Tabela 9. Comparação estatística entre as concentrações de Mg no meio biodiesel/propanol e biodiesel/etanol determinados pela técnica de FAAS (valor de F_{tab} e t_{tab} com 95% de confiança)	52

LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT / NBR - Associação Brasileira de Normas Técnicas / Norma Brasileira

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ASTM – American Society for Testing and Materials

CMD ou \bar{X} - Concentração média determinada

EN – Norma europeia (European Norm)

ETAAS – Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (Electrothermal atomic absorption spectrometry)

FAAS – Espectrometria de absorção atômica com chama (Flame atomic absorption spectrometry)

FAES – Espectrometria de emissão atômica com chama (Flame atomic emission spectrometry)

GARPA - Associação grupo de analistas de resíduos de pesticidas

GFAAS - Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (Graphite furnace atomic absorption spectrometry)

ICP-MS – Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (Inductively coupled plasma mass spectrometry)

ICP-OES – Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (Inductively coupled plasma spectrometry)

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

LD ou LOD – Limite de detecção (Limit of detection)

LQ ou LOQ– Limite de quantificação (Limit of quantification)

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

R – Coeficiente de correlação linear

RSD ou DPR– Desvio padrão relativo (Relative standard deviation)

SD ou DP – Desvio padrão (Standard deviation)

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	v
1.INTRODUÇÃO	13
2.1 Metais em biodiesel	15
2.1.1 Metodologias Analíticas	15
2.2 Métodos de preparação de amostras de biodiesel para determinação de metais	17
2.2.1 Digestão	18
2.2.2 Extração	19
2.2.3 Emulsão e microemulsão.....	20
2.2.4 Dissolução em solvente orgânico	22
3 OBJETIVOS	26
3.1 Geral	26
3.2 Específicos	26
4. PARTE EXPERIMENTAL	27
4.1 Instrumentação	27
4.2 Materiais, reagentes e soluções	27
4.3 Limpeza de materiais	28
4.4 Síntese do biodiesel	28
4.5 Preparo das soluções padrão e curvas analíticas	29
4.6 Preparo das amostras	29
4.7 Procedimento de validação da metodologia proposta	29
4.7.1 Faixa linear de trabalho	30

4.7.2 Linearidade	30
4.7.3 Sensibilidade.....	30
4.7.4 Precisão.....	31
4.7.5 Limite de detecção.....	31
4.7.6 Limite de quantificação	32
4.7.7 Exatidão/Tendência/Recuperação	32
4.7.8 Repetitividade.....	33
4.7.9 Reprodutibilidade	33
4.7.10 Comparação dos resultados obtidos entre biodiesel/propanol e biodiesel/etanol pelo teste t de <i>Student</i> e o teste F de <i>Snedecor</i>	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 Estudo da estabilidade da solução padrão aquosa de Mg diluída no meio biodiesel/etanol-ácido e biodiesel/propanol-ácido	36
5.2 Curvas analíticas na ausência de biodiesel no meio álcool/ácido	37
5.3 Parâmetros analíticos das metodologias propostas em meio alcóolico-ácido	39
5.4 Condições analíticas para análise de Mg em biodiesel em meio alcóolico-ácido	42
5.5 Resposta instrumental do meio biodiesel/álcool/ácido na determinação de Mg em biodiesel	43
5.6 Estudo de interferência	46
5.7 Aplicação do procedimento em amostra	50
5.7.1 Figuras de Mérito	50
5.7.2 Estudo de exatidão para a determinação de Mg	50
5.7.3 Comparação do meio biodiesel/propanol-ácido e biodiesel/etanol-ácido na determinação de Mg por FAAS	52
6 CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS	55

1. INTRODUÇÃO

O esgotamento esperado dos combustíveis fósseis com o aumento do consumo de energia e emissões dos gases de efeito estufa têm levado à procura de fontes de energias alternativas, renováveis, sustentáveis, eficientes e de baixo custo (SINGH *et al.*, 2010; PRASAD *et al.*, 2007). Entre essas fontes alternativas os biocombustíveis, o hidrogênio, o gás natural e o gás de síntese estão entre as fontes favoráveis à proteção do meio ambiente. Entretanto, dentre as quatro, os biocombustíveis são as fontes de energia mais favoráveis ao meio ambiente (NIGAM e SINGH, 2011).

O biodiesel é comumente definido como um combustível biodegradável, não tóxico e produzido a partir de fontes naturais e renováveis, capaz de substituir, diretamente ou parcialmente, o óleo diesel fóssil nos motores a ciclo diesel. Também, o biodiesel como qualquer outro combustível comercializado é regido por um sistema rigoroso de controle de qualidade que inclui a determinação de várias espécies metálicas.

Já a definição estabelecida pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (ANP), através da Resolução nº 45 de 26/08/2014 é: “combustível composto de alquil ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia longa, produzido a partir da transesterificação e/ou esterificação de matérias graxas, de gorduras de origem vegetal ou animal [...]” (BRASIL, 2014a, p.2). Além disso, é menos poluente do que os combustíveis derivados do petróleo, reduz emissões de gases causadores do aquecimento global e as emissões nos escapamentos dos automóveis, incluindo gases tóxicos (DEMIRBRAS, 2008; PINTO *et al.*, 2005).

A mistura de biodiesel em motores a diesel é feita em proporções baixa ou altas. Quando a proporção é baixa, não há alterações técnicas feitas no motor, enquanto em alta o motor é preparado com algumas mudanças para usar o biodiesel (UGURLU e OZTUNA, 2015).

Este biocombustível pode ser utilizado puro ou com diferentes proporções com o diesel de petróleo, isto é, a mistura pode conter proporções definidas de biodiesel. Essa mistura de biodiesel/diesel é designada como “BX”, onde (X%) refere-se à a porcentagem em volume do biodiesel adicionado ao diesel, e segue o seguinte padrão B2, B5, B6, B7 e B20 (mistura de 2%, 5%, 6%, 7% e 20% de biodiesel ao diesel de petróleo) até o B100 (biodiesel puro).

Atualmente, o governo brasileiro através da lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014 estabeleceu obrigatoriamente a partir de 1º de novembro de 2014 em todo território nacional a mudança de 6% para um percentual de 7 % de biodiesel ao óleo diesel (BRASIL, 2014b). Contudo, o Conselho Nacional de Política Energética - CNPE poderá reduzir esse valor percentual a qualquer tempo, por motivo justificado de interesse público, restabelecendo e normalizando as condições que motivaram a redução do percentual (BRASIL, 2014b).

A adição progressiva de biodiesel ao óleo diesel ou a substituição por completo do diesel por biodiesel gera uma diminuição significativa das emissões de gases poluentes para a atmosfera (SILVA e FREITAS, 2008; BARNWAL e SHARMA, 2005). Por exemplo, o uso do biodiesel nos veículos, nas composições B7 e B20 (7% e 20 % de biodiesel no diesel fóssil) ou progressivamente representa uma queda expressiva das emissões de óxido de enxofre (SO_x), aromáticos policondensados, monóxido de carbono (CO) e dióxido de carbono (CO_2), além disso a redução dessas emissões resultaria na diminuição das internações hospitalares, mortalidades e incidência de doenças (BIODIESEL EM FOCO, 2015; BRASIL, 2014c) causadas pela poluição atmosférica (tais como, câncer de pulmões, cardiocerebrovasculares e irritações nos olhos, nariz, pele e aparelho respiratório) (INSTITUTO SAÚDE E SUSTENIBILIDADE, 2015; NASCIMENTO et al., 2006, RODRIGUES et al., 2015; SALDIVA et al., 1995). Portanto, descarbonizar os veículos através do uso do biodiesel é uma questão de saúde pública.

Apesar dos aspectos positivos, o biodiesel apresenta alguns inconvenientes como a formação de resíduos na sua produção, custos elevados de produção, aumento de óxido de nitrogênio (NO_x), formação de sabão na presença de metais (Ca, Mg, Na, K) no produto final, possível competição entre o biodiesel e os alimentos (NIGAM e SINGH, 2011), entre outros.

A comercialização do biodiesel é considerada um assunto dos mais relevantes e depende de um rigoroso controle da qualidade referente a presença dos contaminantes presentes no produto final, entre eles os metais. Por outro lado, por ser uma matriz complexa, o pré-tratamento da amostra é um dos aspectos mais importantes para que se obtenha um resultado analítico confiável. O presente trabalho tem como foco o tratamento de amostras de biodiesel para a determinação de magnésio que é um dos metais avaliados como parâmetro de qualidade do biodiesel.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Metais em biodiesel

A presença de metais em biodiesel pode ocasionar vários problemas mecânicos em veículos, tais como a desgaste ou corrosão de peças do motor (injetor, bomba de combustível, pistões, anéis, etc.) afetando posteriormente o seu desempenho (CHAVES et al, 2008). Geralmente, os metais são introduzidos no biodiesel durante o processo de produção, transporte, armazenamento ou pode vir originalmente da matéria-prima (por exemplo, sementes, gordura animal e óleo residual de fritura). Também, os contaminantes metálicos podem ser incorporados nas matérias-primas através da absorção de alguns minerais do solo ou outras fontes, tais como pesticidas e fertilizantes (CHAVES et al., 2010; SANCHEZ et al., 2015).

Além disso, os metais Na, K, Ca e Mg podem ser introduzidos no biodiesel durante o processo de fabricação, devido ao uso de catalisadores (ex: hidróxido e metóxido de sódio e potássio) e na purificação, durante o processo de lavagem do biodiesel com água dura ou pela adição de agentes de secagem ($MgSO_4$ e CaO) (CALAND et al., 2012).

O conteúdo de metais em biodiesel é regulamentado por normas definidas pelos governos de diferentes países, cujo objetivo é o de controlar a qualidade do biodiesel. No Brasil, a legislação vigente (RANP n° 45/2014), bem como os respectivos métodos (NBR 15553, NBR 15554, NBR 15555 e NBR 15556) estão em sintonia com as normas europeias (EN 14108, EN 14109, EN 14538) e americana (ASTM D6751), as quais são baseadas na soma das concentrações de Na/K e Ca/Mg em biodiesel que não deve exceder $5mg\ kg^{-1}$ (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 2012; BRASIL, 2014a).

Neste senso, a importância da determinação de metais como Ca e Mg para controle da qualidade do biodiesel com vistas à sua comercialização é considerado um assunto dos mais relevantes.

2.1.1 Metodologias Analíticas

Para determinação de metais em amostras de biodiesel, diversas técnicas analíticas podem ser empregadas. Entre essas técnicas, as principais são: Espectrometria de absorção atômica com Chama (FAAS), Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização

Eletrotérmica em Forno de Grafite (ETAAS), Espectroscopia de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) e Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-MS).

Todas essas técnicas são utilizadas para quantificar vários metais, isto é, cada técnica apresenta suas características típicas que os diferenciam:

- Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS): técnica amplamente difundida para determinação de metais em amostras de combustíveis devido a seletividade, simplicidade, alta velocidade analítica e baixo custo do instrumento. Por outro lado, também existem outras desvantagens como a baixa sensibilidade devido ao curto tempo de permanência dos átomos no caminho ótico, maior volume da amostra na ordem de mililitros, pois apenas 5% da amostra chega no atomizador e o restante é descartado para o dreno do nebulizador (SAINT'PIERRE, 2004). É uma técnica monoelementar na qual a chama (ar/acetileno ou N_2O /acetileno) é utilizada como fonte de atomização dos analitos nas amostras, como também, utiliza a faixa em ppm (partes por milhão) para quantificar os analitos. As concentrações dos analitos nas amostras são obtidas por comparações com as absorbâncias resultantes de soluções de calibração, obedecendo aos princípios da lei de Lambert – Beer (LYRA, 2010a). A FAAS é uma técnica na qual podem ocorrer algumas interferências, por exemplo, as físicas que são advindas das variações na viscosidade ou tensão superficial da solução, o que influi na rapidez de aspiração para a chama e quantidade de analito na chama (LYRA, 2010a). Por outro lado, essas interferências podem ser reduzidas diluindo-se as amostras com solventes orgânicos.

-Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite (GF AAS): é uma técnica que apresenta sensibilidade superior à obtida pela atomização em chama, pois os limites de detecção são menores e na ordem de $\mu g L^{-1}$. Nessa técnica, um pequeno volume de amostra é introduzido manualmente por meio de uma micropipeta ou amostrador automático dentro de um tubo de grafite, onde é submetida a um programa de temperatura para a eliminação da matriz e posterior atomização, que comumente ocorre em três estágios, levando-se em conta as propriedades do analito e do tipo de amostra empregada (CURTIUS, 1982).

- Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES): é uma técnica multielementar simultânea ou sequencial rápida, dependendo do tipo de espectrômetro utilizado e do desempenho do sistema de aquisição de dados (SOUZA, 2003). Também, é uma fonte de atomização, ionização e excitação extremamente eficiente podendo excitar os elementos mais refratários, quebrando e atomizando com facilidades óxidos e carbetos estáveis, devido as temperaturas elevadas (6000 a 10000K). O ICP é muito estável quando soluções

aquosas ou ácidas são nebulizadas no seu interior, tolerando uma considerável carga de material orgânico, quando a potência do plasma e o processo de introdução da amostra são apropriadamente otimizados. Em análises de amostras mais complexas podem ocorrer problemas relacionados com interferências da matriz (espectrais e não-espectrais), que podem ser minimizados com a escolha das linhas de emissão, otimização do procedimento de preparação da amostra, uso de métodos apropriados para introdução da amostra e dos padrões. Por outro lado, essa técnica permite uma precisão em torno de 1%, isto é, superior a técnica ET AAS (2 a 5%) (SOUZA, 2003).

- Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS): é uma técnica que se adequa muito bem as análises multielementares e as determinações isotópicas. Nessa técnica, combina-se a alta energia do plasma com espectrômetro de massa, obtendo-se assim um analisador isotópico e elementar em um mesmo instrumento, no qual cerca de 90% dos elementos podem ser determinados com limites de detecção em torno de 0,001 a 0,1 μL^{-1} usando a nebulização pneumática. Já nas etapas de análise incluem resumidamente, inserção da amostra na fonte de íons e a geração dos íons a partir dos compostos da amostra, separação destes íons de acordo com sua razão massa carga (m/z) através de um analisador de massa e a posterior detecção destes íons (BECKER, 2007). Também, as análises nessa técnica de ICP-MS introduzindo uma elevada carga orgânica no plasma pode causar problemas, tais como, a extinção do plasma e deposição de carbonos nos cones, o que pode causar interferências graves (LYRA, 2010a).

Além dessas técnicas citadas existem outras na literatura que são empregadas para análises de elementos traços em amostras de biodiesel, tais como, Espectrometria de Emissão Atômica em Chama (FAES), Cromatografia de íons (IC), Eletroforese Capilar (CE) e Voltametria.

2.2 Métodos de preparação de amostras de biodiesel para determinação de metais

O pré-tratamento da amostra é provavelmente o passo determinante para o sucesso de análise de um combustível, ou seja, a amostra é submetida a um procedimento que a torne mais adequada para a análise. A escolha do método de preparação deve considerar diversos fatores, como, a disponibilidade de equipamentos, a técnica instrumental, o número de amostras, exatidão requerida, precisão e tempo de preparação (HARDAWAY et al., 2004). Neste contexto, vários métodos de preparação de amostra para combustível já foram

empregados, como por exemplo, digestão ácida ou mineralização, diluição com solvente orgânico, extração e preparação de emulsão/microemulsão.

2.2.1 Digestão

O método de digestão consiste na eliminação da matéria orgânica, isto é, reduzir o teor de carbono presente na matriz (amostras viscosas e complexas) possibilitando sua análise por diversas técnicas analíticas, além de permitir a calibração com padrões aquosos. Nesse preparo de amostra são geralmente usados ácidos inorgânicos fortes, geralmente sob aquecimento, que pode ser realizado em chapas ou blocos de aquecimento em frasco aberto ou fechado. Existem também outros procedimentos de preparo de amostras utilizando a digestão da amostra aquecida por micro-ondas ou radiação ultravioleta (UV) para promover o aquecimento dos frascos abertos ou fechados, aumentando a velocidade analítica. Nos sistemas fechados a decomposição da amostra é mais rápida e são menos sujeitos à contaminação ou perdas, embora os sistemas abertos sejam mais simples e mais acessíveis (OLIVEIRA, 2011). Além disso, a digestão das amostras realizadas em chapas de aquecimento convencional, mostraram-se morosas e com risco de perda dos analitos por volatilização, assim como, contaminação das amostras quando se trabalha com frascos abertos (DUYCK et al., 2007).

Almeida et al. (2014) utilizaram um procedimento de digestão ácida assistida por micro-ondas para determinação de cálcio por voltametria de onda quadrada e um eletrodo de carbono vítreo (GCE) numa solução contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). No preparo das amostras, 300 mg de biodiesel foram adicionados nos tubos de quartzo de 15 mL, em seguida, acrescentou-se 4 mL de HNO₃ ultrapuro, 2 mL de H₂O₂ de elevada pureza e 1 mL de água deionizada. Depois, os tubos foram selado e aquecidos em três etapas, como, potência (W)/rampa (W min)/tempo (min):etapa (1) 300/10/10; etapa (2) 450/5/5 e etapa (3) 0/0/20. Em condições otimizadas os limites de detecção foi de $1,6 \times 10^{-3} \mu\text{mol L}^{-1}$ para o Ca²⁺ com um tempo de pré-concentração de 2 min. Além disso, o EDTA/GCE apresentou boa reprodutibilidade e um coeficiente de variação (CV) de 0,70%. As amostras de biodiesel permitiram uma recuperação de cerca de 102%, mostrando-se um método adequado para determinação de Ca²⁺.

Oliveira et al. (2009) determinaram sódio em amostras de biodiesel utilizando no preparo da amostra decomposição por via seca e espectrometria de emissão atômica com chama (FAES). No preparo da amostra foram pesados aproximadamente 0,5 g e aquecidos em mufla, a 250 °C, durante 1 h, em seguida, a temperatura foi aumentada progressivamente até 600 °C e mantidos assim por 4 h para eliminar totalmente a matéria orgânica. Após o resfriamento, os resíduos foram dissolvidos por uma solução de HNO₃ 1% v/v. os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) obtidos foram de 1,3 e 4,3 mg kg⁻¹, respectivamente. A precisão do método foi verificada por meio de testes de adição e recuperação e os resultados variaram de 93% a 110%.

Korn et al. (2010) avaliaram a eficiência de dois procedimentos para digestão ácida de amostras de biodiesel visando a determinação de íons de (Ca, P, Mg, K e Na) por espectroscopia de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES). Nas digestões em sistema aberto, foi utilizada a mistura contendo 1,0 g da amostra + 10 mL de HNO₃ + 2 mL de H₂SO₄ + 6 mL de H₂O₂ (30 % m/m) e aquecimento condutivo por 90 e 220 °C por 3 h. No procedimento empregando forno de micro-ondas com cavidade foi utilizada a mistura contendo 0,25 g da amostra + 7 mL de HNO₃ + 1 mL de H₂O₂ (30 % m/m) e com um programa de aquecimento realizado em cinco etapas em diferentes tempos e potências, perfazendo um tempo de digestão total de 42 min. Os limites de detecção obtidos foram menores que 0,40 µg g⁻¹ e os percentuais de recuperação foram de 89% a 103 %.

2.2.2 Extração

A extração do analito da amostra é outro método de preparação, que geralmente é realizado com ácidos inorgânicos e, em seguida, por uma etapa de agitação que pode ser manual, mecânica (vortex) ou radiação ultrassônica (sonda ou banho de ultrassom), depois a separação do analito a partir de uma matriz mais complexa para uma mais simples pode ser feita por decantação, filtração ou centrifugação. A eficiência desse tipo de extração depende do extrator utilizado, bem como das condições de extração. Nesse tipo de extração de analitos empregando a energia ultrassônica pode ser considerada uma alternativa para o pré-tratamento em amostras com diferentes constituições físico-químicas, pois a energia das ondas ultrassônicas acelera alguns processos, como a dissolução, fusão e lixiviação, entre outros. Também nesse tipo de preparo de amostra a eficiência da extração de metais depende das variáveis (temperatura, altura da coluna de água, viscosidade, frequência do oscilador, posição

dos vasos no banho utilizado na extração, entre outros) que influenciam o processo de cavitação (CALAND *et al.*, 2012).

Na literatura há poucos trabalhos que tratam da extração de metais em análise de amostras de biodiesel. Caland *et al.* (2012) determinaram cátions inorgânicos (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} e Mg^{+2}) em amostras de biodiesel por cromatografia de íons. Neste trabalho, o preparo das amostras consistia na extração dos íons por meio de soluções aquosas ácidas que eram aquecidas e assistida por ultrassom. No preparo das amostras, cerca de 10 g foram diretamente pesadas nos tubos de centrífuga, em seguida, adicionaram-se 20 mL de água desionizada e 50 μL de HNO_3 1,0 mol L^{-1} . Essa mistura foi agitada por vórtex durante 1 min e depois imersa em um banho o termostático a 85 °C por 30 min. Em seguida, levada a um banho ultrassônico operando a frequência de 50 KHz a 70 °C por 15 min e centrifugada por 5 min. Após a centrifugação, separou-se e coletou-se a fase aquosa num balão volumétrico de 25 mL e por fim, o volume foi completado até a marca com água deionizada. Os limites de detecção para cada íon em (mg kg^{-1}), foram respectivamente 0,11 (Na^+), 0,42 (K^+), 0,23 (Ca^{+2}) e 0,36 (Mg^{+2}). A precisão do método foi avaliada por meio de teste de recuperação que ficou na faixa de 96,0 – 108,2% para os analitos.

Piovezan *et al* (2010), desenvolveram um método empregando eletroforese capilar com detecção UV-visível para determinação dos cátions (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+}) inorgânicos em biodiesel utilizando o cátion Ba^{2+} como padrão interno. Neste trabalho, o pré-tratamento da amostra consistiu na extração líquido-líquido, onde misturou-se 200 mg de biodiesel com 200 μL de padrão interno de concentração 5 mg kg^{-1} . A mistura obtida foi vagarosamente agitada por 20 minutos, e em seguida, centrifugada por 10 minutos. Esse método alternativo apresentou limites de detecção na ordem de 0,3 mg kg^{-1} e uma recuperação na faixa de 88,0 – 120 % para os analitos.

2.2.3 Emulsão e microemulsão

A modificação da matriz da amostra em emulsão ou microemulsão é um procedimento utilizado em amostras orgânicas líquidas imiscíveis em água. Uma emulsão é um sistema heterogêneo de duas fases líquidas imiscíveis ao qual é adicionado um surfactante. Estes sistemas são formados pela agitação mecânica dos componentes apresentando um aspecto turvo-leitoso e de baixa estabilidade, pois após algum tempo ocorre novamente a separação entre as fases (BURGUERA *et al.*, 2000). As microemulsão são formados pelos mesmo

componentes (água, óleo e surfactante) de uma emulsão, porém é adicionado um co-surfactante (álcool), que promove a estabilidade do sistema (PELIZZETTI; PRAMAURO, 1985). Ainda mais, as microemulsões são transparentes e estáveis por um tempo prolongado sem precisar fazer o uso da agitação. Desse modo, as microemulsões são diferentes das emulsões devido ao tamanho das partículas com diâmetro na ordem de 1 a 100nm.

Outra importante aplicação das emulsões ou microemulsões, além da utilização como método de preparo de amostras é a determinação de metais em combustíveis através das principais técnicas espectroanalíticas, assim como (FAAS, GFAAS, ICP-OES e ICP-MS).

Lobo et al. (2011) propuseram um método para determinação de íons de Ni e Cd em biodiesel de diferentes fontes empregando GF AAS. As amostras foram preparadas na forma de microemulsões, misturando aproximadamente 0,5 g de biodiesel com 5 g do Triton X-100 e, em seguida, completando um balão volumétrico de 50 mL com uma solução de 1% (v/v) de HNO₃ sob agitação magnética durante 20 minutos. Os LDs para íons de Ni e Cd foram $\geq 0,9$ e 0,1 respectivamente. A exatidão foi avaliada baseada em experimentos de adição e recuperações, os quais produziram recuperação variando 93 a 108 % para íons de Ni e de 98 a 116% para Cd.

Jesus et al. (2010) propuseram um método alternativo para determinar Ca e Mg em diferentes amostras de biodiesel e óleo vegetal por FAAS. As microemulsões foram preparadas misturando 0,86 g de biodiesel, 0,62 g de Triton X-100, 150 μ L de água com 2,6 g de co-surfactante (n-butanol ou n-pentanol) e adicionada uma solução de ácido nítrico de 1,4 mol L⁻¹ para aumentar a estabilidade dos analitos. Os limites de detecção foram de 0,04 a 0,1 μ g L⁻¹ para Ca e Mg, respectivamente e os testes de recuperação apresentaram valores entre 92 a 117%. Também, em outro trabalho de Jesus et al. (2008) realizaram procedimento semelhante para determinação de Na e K em amostra de biodiesel e óleo vegetal, ou seja, as amostras foram preparadas usando microemulsão de água em óleo, obtido por meio da mistura da amostra com Triton X-100 e 1,4 mol L⁻¹ de HNO₃ que foi avolumado com co-surfactantes n-butanol ou pentanol. A faixa de recuperação ficou em torno 95-115% para o biodiesel, enquanto as amostras de óleo vegetal ficaram entre 90-115%. Neste trabalho observou-se a estabilidade das microemulsões por um período de até três dias.

Lyra et al. (2010b) propuseram um procedimento para determinação de Na⁺, K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ em amostras de biodiesel por FAAS. A amostra foi preparada como microemulsão sem o uso do surfactante. A mistura resultante que formou a microemulsão consistiu em 1,0 g de biodiesel, 0,1 mL de HNO₃ concentrado, 0,250 mL 2 % (m/v) de CsCl para determinação de Na⁺ e K⁺ ou 0,250 mL 2 % (m/v) de KCl para determinação de Ca²⁺ e Mg²⁺ e 1,15 mL 0,2%

(v/v) de HNO₃ diluído com n-propanol. As curvas analíticas foram obtidas usando soluções de padrões organometálicos e os limites de detecção obtidos para o procedimento proposto foram 0,1, 0,001, 0,04 e 0,004 µg kg⁻¹ para Na⁺, K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺, respectivamente. Este procedimento não mostrou influência da matriz quando testes de recuperações foram desenvolvidos (89 – 103 %).

Silva *et al.* (2010) testaram diferentes calibrações e modificadores químicos para a determinação de íons de Cd, Pb e Tl em biodiesel por GF AAS. Neste trabalho, preparou-se as microemulsões misturando manualmente 2 g de biodiesel, 1 mL de solução de ácido nítrico 10% (v/v) e n-propanol até o volume final de 10 mL. A calibração aquosa não corrigiu as interferências não espectrais, mas a calibração com simulação de matriz produziu resultados exatos com recuperações entre 80 e 116%. Este método desenvolvido produziu resultados com recuperações entre 80 e 116% e com LD de 0,5 ng g⁻¹ para Cd, 6 ng g⁻¹ para Pb e 1 ng g⁻¹ para Tl.

Amais *et al.* (2010) propuseram um procedimento analítico para a determinação de Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti e Zn em biodiesel por ICP-MS usando microemulsão para a preparação da amostra. A microemulsão foi composta por 0,25 mL de Triton X-100, 0,25 mL 20% v/v de HNO₃, 0,50 mL de biodiesel e 4,0 mL de n-propanol (volume final de 5 mL). O mesmo procedimento foi adotado para o preparo das soluções de referência e óleo mineral foi usado no lugar da amostra de biodiesel para simular a matriz. Uma mistura de argônio e oxigênio foi adicionada no plasma como gás auxiliar para corrigir efeitos de matriz causados pelo alto conteúdo de carbono devido às microemulsões. Os LDs encontrados foram na faixa de µg L⁻¹ para todos os analitos. A exatidão do método foi avaliada por testes de recuperação

Vieira *et al.*, (2009) determinaram As em amostras de biodiesel empregando GFAAS. As amostras foram preparadas como microemulsão, misturando 0,1 g de biodiesel (alto fator de diluição) com 1 mL de 1-propanol mais 0,2 mL da solução 65% (v/v) de HNO₃. O volume final foi completado com 1-propanol resultando em um sistema visualmente homogêneo. O LD obtido foi de 0,3 mg Kg⁻¹ e a faixa de recuperação encontrada foi de 95 a 110%.

2.2.4 Dissolução em solvente orgânico

A dissolução da amostra é um método de preparação rápida e simples, que consiste na dissolução da amostra com um solvente apropriado (xileno, tolueno, querosene, ciclohexano,

álcool, etc.). Esses solventes orgânicos quando dissolvidos em amostras viscosas podem reduzi-las, facilitando desta maneira, a introdução da amostra no equipamento. Segundo Souza (2007) isso é uma preocupação importante para técnicas espectroanalíticas (FAAS, ICP OES e ICP MS) que utilizam a introdução contínua e nebulização de soluções, pois as variações das viscosidades das soluções de amostras e de soluções padrões provocam diferentes taxas de aspiração. Além do mais, outras propriedades físicas também influenciam na excitação da chama e eficiência da nebulização. Para corrigir flutuações do sinal decorrentes de variações na viscosidade, densidade e tensão superficial que afetam diretamente o transporte da amostra e a repetitividade e exatidão utiliza-se a padronização interna (GROTTI et al., 2003). Outros inconvenientes também são reportados quando se utiliza solventes orgânicos, tais como, aumento da chama causando instabilidade para FAAS, interferências devido as espécies poliatômicas contendo carbono e deposição de resíduos de carbono nos componentes do espectrômetro causando a desestabilização ou extinção do plasma pela técnica de ICP, entre outros.

Embora a diluição direta com solventes orgânicos seja um procedimento atrativo, esse método apresenta algumas desvantagens, como a baixa estabilidade do analito em soluções orgânicas, a necessidade de padrões organometálicos para calibração e o uso de solventes perigosos como o xileno que requererem cuidados especiais para manuseio (SANTOS et al, 2007). O uso de padrões organometálicos para quantificação apresenta desvantagens por serem caros, relativamente instáveis e voláteis, o que provoca mudança na concentração do analito, nas soluções estoque e nas de calibração afetando a exatidão dos resultados analíticos (SOUZA, 2003).

Magalhães et al. (2014) propuseram um método alternativo de dissolução de biodiesel em etanol para a determinação de Na, K, Ca e Mg por espectrometria de absorção atômica de chama (FAAS). O meio etanólico permitiu o uso de padrões aquosos, e ajuste da viscosidade das soluções foi obtida utilizando amostras de biodiesel lavado, livres dos analitos. As curvas analíticas mostraram coeficientes de correlação linear (r) superiores a 0,99, e as inclinações obtidas utilizando diferentes matrizes indicaram que a matriz não teve influência na quantificação dos analitos. Os limites de detecção instrumentais (LD) e quantificação (LQ) para todos os metais estavam na faixa de 0,05- 0,31 mg kg⁻¹ e 0,17-1,02 mg kg⁻¹, respectivamente. As porcentagens de recuperação estavam na faixa de 99-114%, com desvio padrão relativo (RSD) inferior a 15%. A precisão do método foi também avaliada por comparação com o método oficial brasileiro, e não foram observadas diferenças significativas ($p = 0,05$).

Barros et al. (2012) utilizaram dissolução de biodiesel em etanol como um único passo de preparação da amostra para determinação de Na e K por espectrometria de emissão atômica com chama (FAES). O ajuste da viscosidade de padrões foi conseguido utilizando amostras de biodiesel lavados e posteriormente livres dos analitos. As curvas analíticas apresentaram coeficientes de correlação linear (r) maiores do que 0,99. Os limites de quantificação (LQ) em solução de biodiesel / etanol (1:20 m/ v) foram de 4,00 e 3,60 mg kg⁻¹ de Na e K, respectivamente. Para soluções de biodiesel /etanol 1:10 (m/v) o limite de quantificação (LQ) foram 2,16 e 2,00 mg kg⁻¹ de Na e K, respectivamente. As recuperações foram na faixa de 91-108%, com os coeficientes de variação (CV%) abaixo de 13%. As inclinações das curvas analíticas obtidas em diferentes matrizes indicaram que a matriz não teve influência na quantificação dos analitos.

Chaves et al. (2011) determinaram Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, S e Zn em biodiesel e óleos vegetais por (ICP- IOES), após a pesagem de 0,20 g de óleo vegetal ou 0,45 g de biodiesel em tubos de polipropileno de 15 mL, e em seguida a adição de 25 µl de HNO₃ concentrado. Também, o ítrio (concentração final de 1 mg L⁻¹) foi adicionado como padrão interno em amostras diluídas com etanol (Biodiesel) ou 1-propanol (biodiesel e óleo vegetal) até um volume final de 2,5 mL. As diluições foram de 10% e 20% m/v para o óleo vegetal e o biodiesel, respectivamente. A exatidão do método foi verificada através da análise materiais de referência de biodiesel (NIST SRMs 2772 e 2773). Além disso, testes de recuperação foram realizados usando padrões inorgânicos e orgânicos. A faixa de recuperação para o biodiesel foi de 87-116% e para os óleos vegetais de 95 -106%.

Quadros *et al.* (2011) desenvolveram um método para a determinação de Al, Cu, Fe e Mn em amostras de biodiesel por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e atomização eletrotérmica. No preparo da amostra, cerca de 0,5 g de biodiesel foi pesada em tubos de polipropileno, e em seguida a adição de 25 µL de HNO₃ concentrado, de modo a proporcionar estabilidade de metal, resultando numa concentração final de ácido de 0,14 mole L⁻¹, quando diluída com etanol até um volume final de 2,5 mL. A exatidão do método foi verificada por meio de testes de recuperação e comparação com os resultados obtidos utilizando um procedimento analítico diferente. A precisão, expressa como o desvio-padrão relativo, foi normalmente melhor do que 7%. Os limites de detecção obtidos para todos os analitos foram de ng g⁻¹. As concentrações dos analitos em amostras de biodiesel foram geralmente muito baixas, em torno de ng g⁻¹, com exceção de duas amostras de concentrações de Fe que ficaram com µ g⁻¹.

Ghisi et al. (2011b) propuseram um procedimento para a determinação de Cu e Fe em amostras de biodiesel por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (ET AAS). A amostra foi preparada misturando 500 mg de biodiesel com 500 μL de uma solução 25% v/v de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) seguido de aquecimento a 90 °C por 5 minutos. A calibração foi conduzida com soluções aquosas na presença de TMAH. Os LDs encontrados foram de 15 ng g^{-1} e 24 ng g^{-1} para Cu e Fe, respectivamente.

Santos et al. (2007) relataram a determinação simultânea de Ca, K, Mg, Na e P em amostras de biodiesel por ICP OES, após uma simples diluição com etanol. Uma alíquota de 2,5 g de biodiesel foi diluída em 25 mL de etanol, após a adição de 2 mg L^{-1} de Y (III). O oxigênio foi adicionado como gás auxiliar para promover a eliminação de carbono no plasma. A calibração foi realizada em meio de etanol e padrão interno Y (III), de modo a minimizar as interferências não espectrais. Os limites de detecção (LD) obtidos, em $\mu\text{g g}^{-1}$, considerando-se 2,5 g de amostra num volume final de 25 ml foram 0,1; 0,3; 0,05; 0,005 e 0,03 para o Na K, P, Mg e Ca, respectivamente. Além do mais, as recuperações estavam na faixa 82-114% para todos os analitos, que demonstram a exatidão do procedimento proposto. Todas as concentrações dos analitos obtidos, com DPR inferior a 9%, estavam com um nível de $\mu\text{g g}^{-1}$.

Woods e Fryer (2007) fizeram a determinação direta de 29 elementos em amostras de biodiesel diluídas com querosene utilizando um ICP-MS com célula de reação. Gás oxigênio foi utilizado. As amostras foram preparadas através da diluição com querosene. A calibração foi realizada com padrões organometálicos, utilizando padronização interna. Os LDs obtidos foram na ordem de $\mu\text{g kg}^{-1}$ para quase todos os analitos e mg kg^{-1} para o S.

Edlund *et al.* (2002) determinaram Ca, Cl, K, Mg, Na e P em amostras de biodiesel por ICP OES, após diluição das amostras com querosene, na proporção de 1:4 m/m. A adição de oxigênio ao gás intermediário, gás exterior e de nebulização foi avaliada. A mistura de oxigênio-argônio apresentou efeito significativo sobre a redução do fundo apenas para o Na e K, e foi utilizado apenas para a determinação destes elementos. A calibração foi realizada utilizando óleo base diluído em querosene e padrões organometálicos. A exatidão do método foi investigada com três amostras de biodiesel, provenientes de um teste de proficiência, e boa concordância foi observada entre os valores encontrados e os valores de consenso para todos os elementos e amostras.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Desenvolver um procedimento de preparo de amostra, simples, para determinação de metais por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS), usando dissolução de biodiesel em meio alcóolico-ácido.

3.2 Específicos

Desenvolver e otimizar um procedimento de preparo de amostras de biodiesel para determinação de Mg pela técnica de FAAS:

- 1- Avaliar a estabilidade das solução-padrão aquosa de Mg através de curvas analíticas preparadas no meio biodiesel/propanol;
- 2- Avaliar e selecionar as condições experimentais adequadas para a determinação de Mg em Biodiesel;
- 3- Determinar a concentração de Mg em amostras de biodiesel diluída com propanol e etanol em meio ácido, empregando a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS);
- 4- Verificar as possíveis interferências;
- 5- Avaliar estatisticamente o procedimento proposto.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Instrumentação

As medidas de absorvância para determinação de Mg foram feitas usando um Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Chama (F-AAS) de marca SHIMADZU modelo AA-7000. Foi utilizada como fonte de radiação uma lâmpada de cátodo oco de magnésio (Hamamatsu Photonics K.K, Japão). Os parâmetros instrumentais utilizados nas medidas foram de acordo com os recomendados pelo instrumento e estão apresentados na tabela 1. O tempo de integração utilizado nas medidas foi de 5 segundos e as medidas foram realizadas em triplicata.

Tabela 1. Parâmetros instrumentais para determinação de Mg por FAAS.

Parâmetro	Unidade
Comprimento de onda (nm)	285,2
Largura da fenda (nm)	0,7
Corrente da lâmpada (mA)	8,0
Fluxo de ar-C ₂ H ₂ (L min ⁻¹)	1,8
Taxa de aspiração (mL min ⁻¹)	6,0
Corretor de Fundo (lâmpada de deutério-D2)	Ligado

Os gases utilizados para combustão foram ar comprimido e acetileno (99,5%, White Martins, Rio de Janeiro, Brasil). Para pesagem das amostras foi utilizado uma balança analítica com uma precisão de $\pm 0,0001$ g (Modelo ED224S, Sartorius, Goettingen, Alemanha). As micropipetas (Modelos K1-1000B e K1-100B, Kasvi, China), com volume ajustável de 10-1000 μ L e 10-100 μ L também foram utilizadas para a preparação das amostras e das soluções padrão.

4.2 Materiais, reagentes e soluções

Todos os reagentes usados no preparo das soluções foram de pureza analítica. A água utilizada foi destilada e posteriormente deionizada a uma resistividade 18,2 M Ω cm em um sistema de purificação (Thermo Scientific, Barnstead, Dubuque, EUA).

O ácido nítrico de grau ultrapuro 65% (Meck, Darmstadt, Alemanha) foi utilizado para soluções aquosas. As soluções padrão de trabalho etanólicas e propanólicas de Mg foram preparadas por diluições da solução padrão aquosa de 1000 mg L⁻¹ (Specsol, São Paulo, Brasil), utilizando etanol P.A 99,8% (Dinâmica, São Paulo, Brasil) e propanol P.A 99,5% (Sigma-aldrich, Rio de Janeiro, Brasil).

Para síntese do biodiesel (B-100) utilizou-se os óleos comerciais de babaçu (Novo Nilo, Brasil), soja (Concórdia, Brasil) e canola (Vitaliv, Brasil), metanol P.A 99,8% (Sigma-aldrich, Rio de Janeiro, Brasil), hidróxido de potássio P.A (Neon, São Paulo, Brasil) e ácido clorídrico P.A 37% (Sigma-aldrich, Rio de Janeiro, Brasil).

No estudo de interferência utilizou-se soluções padrão aquosa de Fe de 1000 mg g⁻¹ (GQ grupo química, Brasil) e Al de 1000 mg L⁻¹ (GQ grupo química, Brasil).

4.3 Limpeza de materiais

Todos os frascos e vidrarias foram lavados com água da torneira, imersos em 10% (v/v) de solução de HNO₃ durante pelo menos 24 horas, e em seguida lavados com água deionizada.

4.4 Síntese do biodiesel

O procedimento seguido para sintetizar o biodiesel foi executado conforme descrito por Ghisi (2011a). As amostras de biodiesel foram produzidas a partir de diversas matérias-primas (óleo de babaçu, soja e canola) adquiridas no comércio local. Foi utilizada uma massa de aproximadamente 400 g de óleo vegetal. Para cada 100 g do óleo de soja, foram utilizados 35 mL de metanol e 1,5 g do catalisador KOH. A produção do biodiesel foi feita no Laboratório de Pesquisa em Química Analítica (LPQA) na Universidade Federal do Maranhão.

Primeiramente, o óleo vegetal foi seco em estufa durante 2 horas a 80 °C. A síntese foi realizada adicionando metóxido de potássio (metanol e KOH) ao óleo vegetal, sob agitação mecânica por 2h. Ao final da reação, a mistura foi transferida para um funil de decantação, com a finalidade de separar as fases.

Após o repouso de 24 h, a glicerina foi retirada e o biodiesel foi purificado pelo processo de lavagem. O biodiesel foi neutralizado com solução aquosa de HCl 0,5% v/v e em seguida lavado três vezes com água destilada. A cada adição de água, o biodiesel foi deixado

em repouso, decantando, por 30 minutos para que houvesse a separação da fase aquosa e orgânica. Em seguida, o biodiesel purificado, com pH próximo de 7,0, foi levado para a estufa por aproximadamente 4 horas a 100 °C para eliminar traços de água e álcool que ainda poderiam estar presentes no biodiesel.

4.5 Preparo das soluções padrão e curvas analíticas

As soluções padrão foram preparadas seguindo os passos descritos na literatura (CHAVES *et al.*, 2011, BARROS *et al.*, 2012; MAGALHÃES *et al.*, 2014; QUADROS *et al.*, 2011). Em resumo, as curvas analíticas foram preparadas por soluções estoque a partir do padrão aquoso de Mg mais uma 1g biodiesel e aferidas para 10 mL com álcool (propanol ou etanol) acidificados. As faixas das curvas analíticas foram preparadas no intervalo de concentração entre 0,0-1,0 mg L⁻¹, utilizando o meio alcoólico-ácido, biodiesel/etanol e biodiesel/propanol.

4.6 Preparo das amostras

A preparação das amostras consistiu na pesagem de aproximadamente 1 g de biodiesel em balões volumétricos de 10 mL, seguidos pela adição de 5 mL de álcool (propanol ou etanol) e 100 µL de HNO₃ concentrado, de maneira a proporcionar a estabilidade do metal. Em seguida os balões foram completados com álcool (propanol ou etanol), resultando assim numa concentração final de 0,14 mol L⁻¹

4.7 Procedimento de validação da metodologia proposta

A validação do método de determinação de Mg por F AAS foi avaliada com base nos resultados dos parâmetros estabelecidos, tais como, faixa linear de trabalho, sensibilidade, linearidade, exatidão, precisão, limites de detecção e quantificação. Foram utilizados os testes de hipótese, os testes F para comparação de variâncias e teste t-*Student* de comparação das médias dentro de um intervalo de confiança de 95 % ($\alpha = 0,05$).

4.7.1 Faixa linear de trabalho

Em um método quantitativo existe uma faixa para se trabalhar, em que as concentrações do analito são aplicáveis ao método, ou seja, que forneçam um grau aceitável de exatidão, precisão e linearidade. Seus limites de quantificação superior e inferior são derivados do estudo de linearidade, em que o limite inferior coincide com o limite de quantificação e o limite superior varia de acordo com o equipamento (INMETRO, 2010).

4.7.2 Linearidade

É a capacidade de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, em uma dada faixa de concentração. Também, recomenda-se que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, 5 concentrações diferentes das soluções padrão de calibração (BRASIL, 2003; INMETRO, 2010; BRASIL, 2011). Esta obedece à equação linear $y = a + bx$, em que y é a resposta medida, x é a concentração, a é a interseção com o eixo y quando $x = 0$ e b é a inclinação da curva analítica (representa a sensibilidade). O gráfico resultante desta função matemática demonstra os resultados do ensaio em função da concentração do analito. Se for visto uma relação linear aparente após exame visual do gráfico, os resultados dos testes deverão ser tratados por métodos estatísticos como determinação do coeficiente de correlação (critério mínimo para aceitação é de 0,99), intersecção com o eixo Y , coeficiente angular, soma residual dos quadrados mínimos da regressão linear e desvio padrão relativo (BRASIL, 2003).

Neste estudo a linearidade foi verificada pelo coeficiente de correlação linear, R , resultante da linha de regressão de 6 concentrações diferentes para Mg . As concentrações utilizadas para as curvas de calibração foram: 0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 $mg L^{-1}$.

4.7.3 Sensibilidade

A sensibilidade é descrita junto ao parâmetro da linearidade, em que pela equação linear da curva analítica se pode pressupor a sensibilidade do método. No caso, quanto mais sensível o método for, maior a inclinação da reta demonstrando então que pequenas variações de concentração resultam em maior variação da resposta (INMETRO, 2010). Já a ANVISA

relaciona a sensibilidade com o limite de detecção, colocando-os como o mesmo parâmetro (BRASIL, 2003).

4.7.4 Precisão

Tanto para o INMETRO quanto para a ANVISA, a precisão é expressa por meio do desvio padrão relativo (DPR ou RSD), também conhecido como coeficiente de variação (C.V) em termos percentuais. Ela é calculada pela razão entre o desvio padrão (DP ou SD) e a concentração média determinada (CMD ou \bar{X}), como mostrado na equação 1 (INMETRO, 2010; BRASIL, 2003).

$$RSD = \frac{S}{\bar{X}} * 100 \quad (1)$$

4.7.5 Limite de detecção

Limite de detecção (LD) corresponde à menor quantidade de um analito detectada, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2003). Na prática, é determinado como a menor concentração do analito a qual pode ser diferenciada do ruído do sistema, com segurança (SKOOG *et al.*, 2002).

Para a determinação do limite de detecção utilizou-se o desvio padrão da média (S) aritmética das concentrações obtidas de dez leituras consecutivas do branco e a relação é mostrada na Equação 2.

$$LD = \frac{3 * S}{b} \quad (2)$$

Onde b é a inclinação ou coeficiente angular da curva de calibração.

4.7.6 Limite de quantificação

O limite de quantificação (LQ) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão e com confiabilidade determinada (INMETRO, 2007; MILLER; MILLER, 2000).

Para a determinação do limite de quantificação utilizou-se o desvio padrão da média (S) aritmética das concentrações obtidas de dez leituras consecutivas do branco e a relação é mostrada na Equação 3.

$$LQ = \frac{10 * S}{b} \quad (3)$$

Onde b é a inclinação ou coeficiente angular da curva de calibração.

4.7.7 Exatidão/Tendência/Recuperação

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (INMETRO, 2007). Os processos utilizados para avaliar a exatidão de um método são: uso de materiais de referência, comparação de métodos, utilização de ensaios de recuperação e o método de adição de padrão. Todos estes procedimentos devem ser acompanhados de testes estatísticos para garantir a exatidão (RIBANI et al., 2004).

Na falta do material de referência, a recuperação/exatidão/tendência pode ser expressa pela equação 4.

$$Recuperação = \frac{Valor\ observado}{Valor\ esperado} * 100 \quad (4)$$

A determinação da exatidão deve ser realizada com três níveis de concentrações (baixa, média e alta), contemplando a faixa linear da curva analítica, realizando-se, no mínimo, cinco determinações por concentração (BRASIL, 2003; FDA, 2013).

4.7.8 Repetitividade

Um mesmo procedimento; mesmo analista; mesmo instrumento usado sob as mesmas condições; mesmo local e repetições em um curto intervalo de tempo determinam a repetitividade de um método. A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de medição, chamadas condições de repetitividade (FRAZÃO, 2010). Neste trabalho o estudo de repetitividade foi realizado por 5 determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, 3 concentrações (baixa, média e alta), com três réplica de cada amostra de biodiesel.

4.7.9 Reprodutibilidade

Mudança de operador; laboratório; equipamentos, etc., determinam a reprodutibilidade de um método. A reprodutibilidade é o grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra, efetuada sob condições variadas (INMETRO, 2011). Neste trabalho não foi realizado o estudo de reprodutibilidade.

4.7.10 Comparação dos resultados obtidos entre biodiesel/propanol e biodiesel/etanol pelo teste t de *Student* e o teste F de *Snedecor*

Inicialmente, recomenda-se o teste F para saber se dois desvios-padrão são significativamente diferentes ou iguais entre si, dentro de um determinado nível de confiança. F é o quociente entre os quadrados dos desvios padrão representado na Equação (LEVINE *et al.*, 2012).

$$F_{cal} = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (5)$$

Onde:

s_1^2 = maior variância da amostra 1

s_2^2 = menor variância da amostra 2

$n_1 - 1$ = grau de liberdade da amostra 1 (ou seja, grau de liberdade do numerador)

$n_2 - 1$ = grau de liberdade da amostra 2 (ou seja, grau de liberdade do denominador)

Para verificar se dois grupos de medidas obtidas por métodos distintos fornecem resultados “idênticos” ou “diferentes” dentro de um determinado nível de confiança, utiliza-se o teste t de *Student*. Se os desvios-padrão dos dois conjuntos de dados não são significativamente diferentes entre si ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$), usamos então a Equação 6 e 7 para o teste t (LEVINE et al., 2012). Caso contrário, quando a diferença é significativa ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$), usamos a Equação 8 e 9 (HARRIS, 2005).

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{S_{\text{agrupado}}} \cdot \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} \quad (6)$$

$$S_{\text{agrupado}} = \sqrt{\frac{s_1^2(n_1 - 1) + s_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (7)$$

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad (8)$$

$$\text{Grau de liberdade} = \left\{ \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2} \right)^2}{\left(\frac{(s_1^2/n_1)^2}{n_1 + 1} + \frac{(s_2^2/n_2)^2}{n_2 + 1} \right)} \right\} - 2 \quad (9)$$

Onde:

S_{agrupado} = desvio padrão agrupado

\bar{X}_1 = valor médio de concentração do método proposto

\bar{X}_2 = valor médio de concentração do método de comparação

S_1 = desvio padrão do método proposto

S_2 = desvio padrão do método de comparação

n_1 = número de replicatas do método proposto

n_2 = número de replicatas do método de comparação

O valor de $t_{\text{calculado}}$ a partir da Equação 6 é comparado com o t_{tabelado} para $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade. Se o $t_{\text{calculado}}$ for maior que o t_{tabelado} os dois resultados são considerados diferentes. Caso contrário, os dois resultados são considerados iguais. No presente estudo os valores de n_1 e n_2 são iguais e o t_{tabelado} para $n_1 + n_2 - 2$ no nível de confiança de 95%.

Em ambos os métodos as análises foram feitas em quintuplicata, logo, $n_1 = n_2 = 5$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados a seguir compreendem um estudo comparativo entre dois álcoois (etanol e propanol) como solventes para dissolução de biodiesel na determinação de Mg.

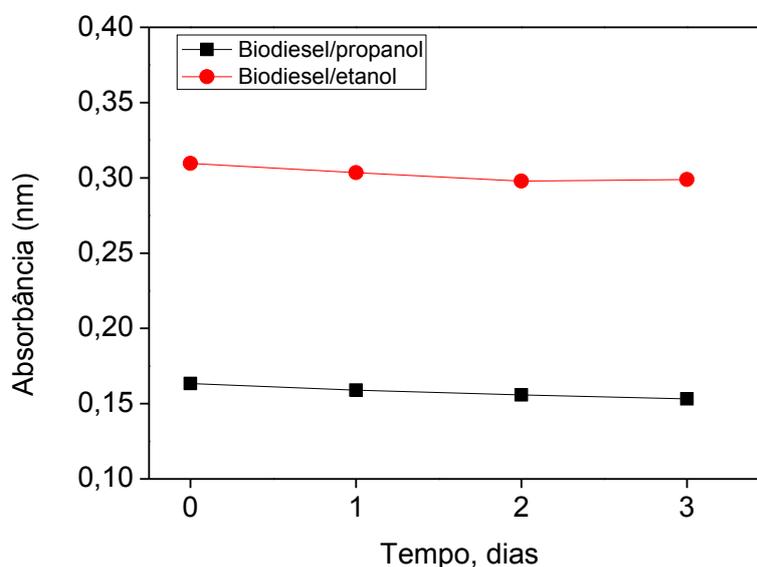
Primeiramente, avaliou-se a estabilidade da solução padrão inorgânica de magnésio no meio biodiesel/álcool-ácido. Também, dois tipos de curvas de calibração externas foram avaliadas: na presença e na ausência de biodiesel. Além disso, parâmetros de validação e teste estatísticos também foram realizados e são apresentados.

5.1 Estudo da estabilidade da solução padrão aquosa de Mg diluída no meio biodiesel/etanol-ácido e biodiesel/propanol-ácido

Uma qualidade fundamental na avaliação da estabilidade das amostras e padrões de calibração é manterem-se estáveis por algumas horas para que a análise possa então ser realizada, já que uma degradação do analito ou dos constituintes da matriz pode ocorrer durante a estocagem e comprometer a exatidão dos resultados. Para gerar resultados confiáveis e reprodutíveis, as amostras, os padrões e reagentes usados devem ser estáveis por um período razoável (por ex. um dia, uma semana, um mês, dependendo da necessidade) (SHABIR, 2003). Com este objetivo foi realizado um estudo da estabilidade da solução padrão aquosa de Mg diluída no meio biodiesel/etanol-ácido e biodiesel/propanol-ácido. O monitoramento da solução padrão aquosa de Mg foi feita em temperatura ambiente e realizada através das análises de amostras por um período de três dias consecutivos, bem como, a estabilidade dos mesmos por meio da intensidade do sinal analítico para as soluções de concentração de $0,4 \text{ mg L}^{-1}$.

Inicialmente o preparo consistia na adição de solução padrão aquosa inorgânica de magnésio de concentração conhecida e diluído no meio biodiesel/etanol e biodiesel/propanol, e em seguida da adição de ácido nítrico concentrado. Nesse intervalo de tempo as amostras apresentaram uma boa estabilidade do sinal analítico durante três dias consecutivo, conforme é visto na Figura 1.

Figura 1. Estudo da estabilidade da solução padrão aquosa inorgânica de magnésio na concentração de $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ no meio biodiesel/etanol-ácido e biodiesel/propanol-ácido



Na Figura 1 observa-se a boa estabilidade do padrão inorgânico de Mg no meio biodiesel/álcool-ácido, podendo esta ser utilizada para os experimentos pelo período de tempo estudado. Outros trabalhos, também realizaram o estudo da estabilidade para esse metal obtiveram resultados semelhantes (CHAVES et al., 2008; JESUS et al., 2008, LYRA, 2010a).

5.2 Curvas analíticas na ausência de biodiesel no meio álcool/ácido

Nesse estudo avaliou-se a viabilidade do método quanto a resposta do sistema para Mg no meio álcool/ácido na ausência de biodiesel. As curvas analíticas, para os dois solventes (etanol e propanol) foram obtidas nas mesmas condições, na ausência de biodiesel. As soluções padrão do Mg foram preparadas em meio alcóolico (etanol ou propanol) contendo HNO_3 ($0,14 \text{ mol L}^{-1}$), sendo aferidas para um volume total de 10 mL.

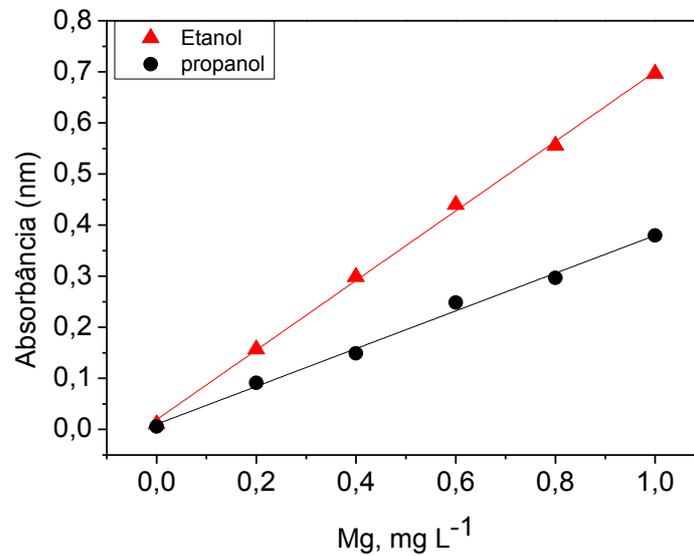
Na Tabela 2 estão os dados referentes à precisão das medidas ($n=3$) das absorvâncias para os diferentes pontos da curva analítica.

Tabela 2. Precisão das medidas de absorvância de diferentes concentrações de Mg no meio etanólico e propanólico.

Etanol				Propanol			
[Mg] Padrão (mg L ⁻¹)	Absorvância Média (nm)	Desvio Padrão	DPR (%)	[Mg] Padrão (mg L ⁻¹)	Absorvância Média (nm)	Desvio Padrão	DPR (%)
0	0,0103	3,06x10 ⁻⁴	2,97	0	0,0057	2,08x10 ⁻⁴	3,63
0,2	0,1571	1,36x10 ⁻³	0,87	0,2	0,0913	2,65x10 ⁻⁴	0,29
0,4	0,2989	8,02x10 ⁻⁴	0,27	0,4	0,1488	4,36x10 ⁻⁴	0,29
0,6	0,4397	1,29x10 ⁻³	0,29	0,6	0,2484	9,54x10 ⁻⁴	0,38
0,8	0,5560	2,17x10 ⁻³	0,39	0,8	0,2969	8,33x10 ⁻⁴	0,28
1.0	0,6964	3,93x10 ⁻³	0,56	1.0	0,3798	2,64x10 ⁻³	0,69

Pelos resultados apresentados na Tabela 2, pode-se observar uma boa faixa de precisão para os diferentes pontos das curvas analítica, medidas através dos coeficientes de variação, comprovando a boa performance dos procedimentos analíticos avaliados. Por outro lado, através destes dados pode-se também fazer uma comparação da precisão proporcionada pelos dois solventes. Vê-se, claramente, que o solvente propanol apresentou uma faixa de precisão um pouco menor em relação (DPR%: 0,28 a 3,63) ao solvente etanol (DPR%: 0,27 a 2,97). Sendo assim, o propanol pode ser considerado um reagente adequado para ser utilizado nas curvas analíticas sem a presença de biodiesel. Na Figura 2 mostra as curvas analíticas representativas dos procedimentos para os dois solventes.

Figura 2. *Curvas analíticas para Mg em meio alcóolico-ácido nítrico (0,14 mol L⁻¹)*



Um bom desempenho analítico foi observado para ambos os solventes em termos de linearidade e coeficientes de correlação acima de 0,99. Para Currie e Svehla (1994), julga-se satisfatória a linearidade do gráfico quando o coeficiente de correlação da reta obtida não é diferente da unidade.

5.3 Parâmetros analíticos das metodologias propostas em meio alcóolico-ácido

Os parâmetros de validação analítica investigados, tais como, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), desvio padrão (S) e coeficiente de variação (DPR) foram obtidos a partir das curvas analíticas por padronização externa e calculados através do desvio padrão de 10 medidas do branco.

Na Tabela 3 está contido um resumo dos parâmetros analíticos para os dois métodos propostos em álcool acidificado e determinados pela técnica de F AAS.

Tabela 3. Parâmetros analíticos (figuras de mérito) para o método proposto em meio alcoólico-ácido nítrico

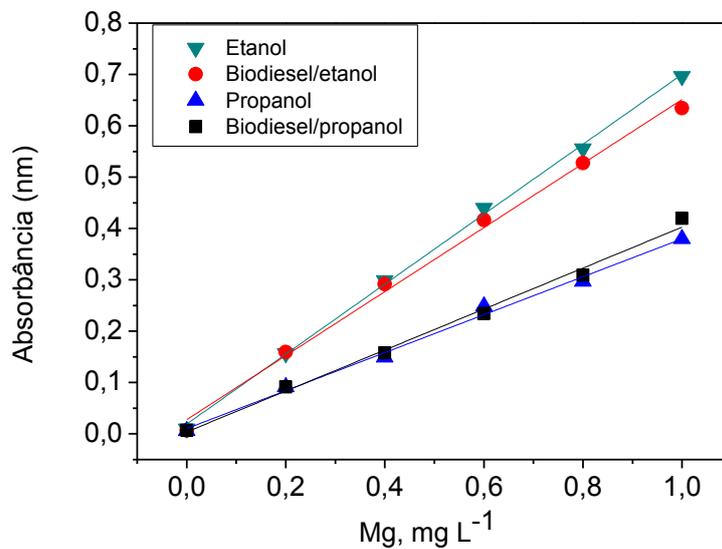
Parâmetros analíticos	Etanol	Propanol
Sensibilidade (Abs.L.mg ⁻¹)	0,6812	0,3696
R	0,999	0,997
S	2,30x10 ⁻⁴	1,64x10 ⁻⁴
DPR (%)	2,24	2,91
LD (mg L ⁻¹)	1,01x10 ⁻³	1,33x10 ⁻³
LQ (mg L ⁻¹)	3,38x10 ⁻³	4,43x10 ⁻³

De maneira geral, bons resultados foram obtidos, em relação a performance analítica, para os dois solventes avaliados. Em termos de comparação, pelos resultados da Tabela 3 pode-se inferir alguns comentários. A sensibilidade mostrou-se maior para etanol, cuja inclinação da curva é 54% maior do que a obtida para o propanol. Portanto, a diferenças de sensibilidade das curvas calibração analíticas podem ser atribuídas as propriedades físicas (viscosidade, densidade, ponto de ebulição, pressão de vapor, tensão superficial, etc.) que são comumente relatadas na literatura (BARROS et al., 2012; LYRA, 2010a; LEMONDS; MCCLELLAN, 1973; SOUZA, 2007).

As faixas lineares das concentrações para ambos álcoois são similares, o que permite comparar as determinações de Mg nas mesmas concentrações. O desvio padrão relativo indica, claramente, que o procedimento do etanol é mais preciso. Em termos de limites de detecção e quantificação, os resultados obtidos com o solvente etanol apresentaram também melhores valores, que indicam maior sensibilidade deste solvente, pois ambos os parâmetros apresentaram menores valores do que o solvente propanol.

Diante disso, também avaliou a sensibilidade e o efeito de matriz das curvas analíticas apresentadas nas figuras 2 e 4. Na figura 3 apresenta as curvas analíticas em meio biodiesel/álcool-ácido e no meio álcool-ácido.

Figura 3. Curvas analíticas para Mg em meio álcool-ácido e biodiesel/álcool-ácido



Na Comparação das curvas analíticas apresentadas na Figura 3, ficou evidente que as curvas analíticas feitas com etanol foram mais sensíveis, assim como, as diferenças de inclinação obtidas pelos solventes utilizados podem estar relacionadas com as propriedades físicas. Ainda mais, a intensidade das absorbâncias é significativamente maior quando usado álcool de baixo peso molecular, em virtude das viscosidades e tensões superficiais menores, evaporação mais rápida e completa, além do fato de o solvente orgânico contribuir para elevação da temperatura da chama (OHLWEILE, 1976).

Além da simples comparação nas inclinações das curvas analíticas, notou-se o aumento da sensibilidade de 8,44% no meio etanólico-ácido em relação ao meio biodiesel/etanol acidificado, pois esse aumento de sensibilidade pode ser atribuído à diferença de viscosidade. Para o meio propanólico-ácido a sensibilidade decresceu de 7,37% em comparação ao meio biodiesel/propanol acidificado.

Os resultados apresentados podem ser influenciados pelas interferências físicas originadas de variações na viscosidade ou tensão superficial da solução, o que influencia na velocidade de aspiração e posteriormente na quantidade de analito na chama (LYRA, 2010a). No entanto, a comparação entre as inclinações das curvas analíticas sem biodiesel e com biodiesel no meio álcool-ácido preparadas com os mesmos solventes (etanol ou propanol) não sofreram uma diferença significativa.

Também, foram feitas análises estatísticas comparando as inclinações das curvas analíticas mostradas na Figura 3 e obtidas no meio biodiesel/álcool-ácido e álcool-ácido, utilizando o teste t de Student, como descrito na seção 4.7.10 na equação 6 e 7.

Os resultados do teste t considerando um grau de liberdade igual a 10 e nível de confiança de 95% para ambas as comparações das curvas analíticas mostraram que para o etanol $t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$ ($0,14 < 2,23$) e para o propanol $t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$ ($0,10 < 2,23$). Considerando os valores de $t_{\text{calculado}}$, pode-se avaliar que as inclinações das curvas analíticas para os álcoois do estudo na presença e ausência de biodiesel não apresentaram diferença significativa, indicando que os dois métodos não sofrem efeito de matriz.

5.4 Condições analíticas para análise de Mg em biodiesel em meio alcóolico-ácido

Inicialmente, foi feito um ajuste das condições para as medidas analíticas das soluções padrão e das amostras, com vistas a propor uma metodologia simples de preparo de amostras para análise de Mg em biodiesel, tendo como base a literatura (BARROS *et al.*, 2012; MAGALHÃES *et al.*, 2014) e levando em consideração a influência das variáveis que afetam o sinal analítico.

Soluções padrão de Mg em meio alcóolico (etanol ou propanol) contendo HNO_3 foram preparadas para obtenção das curvas analíticas na faixa de concentração de 0,0-1,0 mg L^{-1} . Esta faixa de concentração em níveis menores, teve como objetivo avaliar uma maior sensibilidade do método proposto e, por outro lado, considerando a possibilidade de algumas amostras conterem concentrações baixas do analito. Neste caso, para a análise de amostras reais de biodiesel contendo maiores concentrações de Mg (ex: 5 mg kg^{-1} , que é o valor limite máximo considerado na especificação do biodiesel, para o somatório de Ca + Mg), tais amostras poderão ser diluídas para adequação à faixa de concentração da curva de calibração.

O ajuste de viscosidade de biodiesel tem sido recomendado e baseia-se na lavagem do biodiesel, geralmente, com ácido diluído e aquecida a 70°C. Este procedimento garante que as amostras de biodiesel reduzam as concentrações dos analitos para níveis não detectáveis e que as medidas analíticas de soluções padrão da curva analítica e da amostra sejam feitas nas mesmas condições, minimizando as interferências de efeito matriz (BARROS *et al.*, 2012; MAGALHÃES *et al.*, 2014). No entanto, nesse presente trabalho, não utilizou o ajuste de viscosidade recomendado, pois segundo Barros *et al.* (2012) as soluções etanólicas preparadas

com biodiesel lavados e não lavados mostraram aproximadamente taxas de aspiração (1 mL min^{-1}) semelhantes, assim como, as respostas instrumentais.

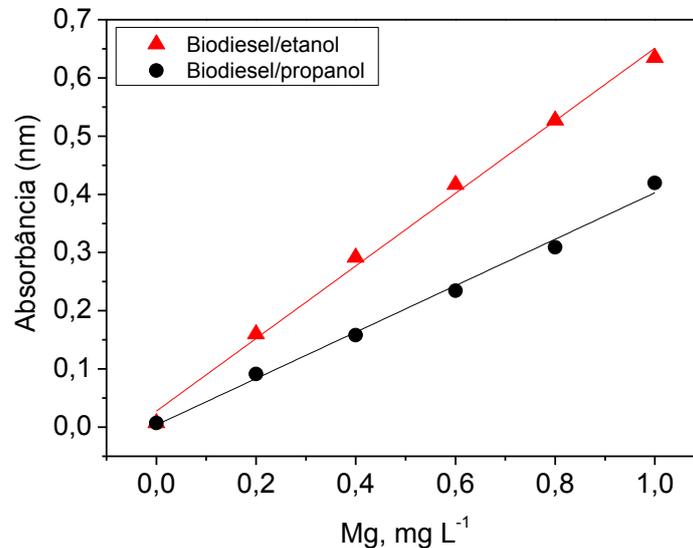
Quanto ao uso de ácidos nas amostras, a concentração de HNO_3 usada levou em consideração os estudos já realizados anteriormente (CHAVES et al., 2011; QUADROS et al., 2011), tendo em vista que nestas condições propostas utilizando ácido nítrico concentrado e posteriormente diluído em álcool (propanol ou etanol) resultaria numa concentração de $0,14 \text{ mol L}^{-1}$ garantindo assim a estabilidade da solução, além de evitar a interação do Mg com moléculas orgânicas. Nos testes preliminares, verificou-se que maiores concentrações de ácido não alteraram a sensibilidade das medidas, portanto, optou-se por manter e usar este valor já recomendado na literatura ($0,14 \text{ mol L}^{-1}$). Assim, em todos os experimentos posteriores, esta concentração de HNO_3 foi usada na solução empregada nas análises de Mg.

5.5 Resposta instrumental do meio biodiesel/álcool/ácido na determinação de Mg em biodiesel

Nesse estudo, as curvas analíticas para determinação de Mg foram feitas em um meio contendo biodiesel puro, álcool (etanol ou propanol) e HNO_3 . O biodiesel usado como meio foi obtido de babaçu.

Na aplicação deste procedimento, duas amostras reais de biodiesel foram previamente contaminadas com solução padrão inorgânica de magnésio e analisadas através das curvas analíticas obtidas em meio etanol e propanol. As leituras das amostras foram realizadas em triplicata, a média desses valores, obtidas em mg L^{-1} , foram usadas como valor real das amostras, transformadas em mg kg^{-1} . Para se determinar a concentração de magnésio foram feitas, primeiramente, uma diluição das amostras em 10 vezes; sendo assim, o seu valor real foi obtido multiplicando-se a média do valor da concentração encontrada pelo fator multiplicativo 10. A Figura 4 apresenta as curvas de analíticas características e representativas do estudo realizado.

Figura 4. Curva analítica média (os valores de cada ponto da curva, foram medidos em triplicata) para Mg em meio biodiesel/etanol e biodiesel/propanol.



As curvas analíticas foram obtidas na faixa de 0,0-1,0 mg L⁻¹, e os valores de absorbância são a média dos valores de cada ponto da curva, medidos em triplicata. Como se observa, os valores são bastante satisfatórios em termos de linearidade, cuja equação da reta para o biodiesel/etanol ($Abs = 0,0276 + 0,623[Mg]$) apresentou excelentes indicadores analíticos (coeficiente de correlação (r) igual a 0,999 e sensibilidade igual a 0,623 abs.L.mg⁻¹). Para a curva de biodiesel/propanol resultou em uma equação da reta ($Abs = 0,0037 + 0,399[Mg]$) e coeficiente de correlação (r) igual a 0,997 e sensibilidade igual a 0,399 abs .L. mg⁻¹. Logo, bons indicadores analíticos para ambas curvas de calibração podem ser atribuídos ao aumento da eficiência da nebulização, causada por uma evaporação mais rápida devido a presença de álcool e menor tensão superficial da solução (BARROS et al, 2012).

O cálculo da concentração de Mg no biodiesel foi feito por meio da equação da reta (onde Abs representa o sinal analítico referente a absorção do metal (Mg)). As medidas de absorbância da amostra de biodiesel/etanol, medidas em triplicata, resultaram em um valor médio de 0,1849 nm, cujo cálculo da correspondente concentração encontrada foi de 0,252 mg L⁻¹.

Considerando que a amostra foi diluída, o valor corrigido da concentração de Mg na amostra de biodiesel foi de 2,52 mg kg⁻¹, que significa um erro (desvio do valor verdadeiro) de 0,88%. Enquanto para amostra de biodiesel/propanol o valor médio da absorbância resultou em 0,1053 nm e o valor da concentração encontrada na amostra foi de 0,254 mg L⁻¹. Esses

dados resultaram em um valor corrigido da concentração da amostra de biodiesel de 2,54 mg kg⁻¹, que significa um erro (desvio do valor verdadeiro) de 1,92 %.

Uma avaliação estatística da precisão das medidas (n=3) das absorvâncias para os diferentes pontos da curva analítica e também da amostra é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4. Precisão das medidas de absorvância de diferentes concentrações de Mg no meio biodiesel/etanol e biodiesel/propanol

Biodiesel/etanol			Biodiesel/propanol		
[Mg] padrão (mg L ⁻¹)	Absorvância Média (nm) (n=3)	DPR (%)	[Mg] padrão (mg L ⁻¹)	Absorvância Média (nm) (n=3)	DPR (%)
0,0	0,0067	3,83	0,0	0,0071	2,44
0,2	0,1596	0,35	0,2	0,0911	0,77
0,4	0,2915	0,40	0,4	0,1580	0,57
0,6	0,4166	0,27	0,6	0,2343	0,92
0,8	0,5273	0,50	0,8	0,3091	0,47
1,0	0,6344	0,20	1,0	0,4197	0,03
Amostra	0,1849	0,23	Amostra	0,1053	0,61

Na Tabela 4, os resultados dos desvios padrão relativos para biodiesel/etanol foram entre 0,20-3,83% e para o biodiesel/propanol ficaram entre 0,03-2,44%, enquanto nas amostras diluídas em etanol e propanol ficaram entorno de 0,23% e 0,61%, respectivamente. Em vista disso, expressar a precisão em termos de coeficientes de variação (CV), a ANVISA e a FDA recomendam que os resultados não excedam 15% de CV (exceto para o limite de quantificação, o qual não deve exceder 20% do CV) (BRASIL, 2003; FDA, 2013). Tais valores observados mostram boa precisão das medidas espectroscópicas e indicam a viabilidade do método proposto, nas condições estudadas, quanto a determinação de Mg em meio biodiesel diluído na mistura ácido-álcool.

5.6 Estudo de interferência

O magnésio é geralmente determinado em biodiesel juntamente com cálcio através de métodos oficiais (EN 14214 e ANP n° 45/2014) (BRASIL, 2014a). Dessa forma, foi avaliado inicialmente uma possível interferência de cálcio na análise de magnésio em biodiesel/etanol através das medidas da absorbância de biodiesel derivado de diferentes matérias-primas. O estudo foi realizado através da medida da absorbância de todas amostras contaminadas com Mg ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$) obtidas após as adições de Ca (alíquotas de $25 \mu\text{L}$, $50 \mu\text{L}$, $100 \mu\text{L}$ e $200 \mu\text{L}$). A proporção dos valores finais adicionados nas amostras contaminadas (Mg + Ca) após a diluição ficaram $(1:0,5; 1:1; 1:2 \text{ e } 1:4)$.

As medidas das absorbâncias foram feitas em amostras fortificadas com concentrações de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Mg sem adição do Ca para, assim, averiguar o sinal analítico e comparar com outras amostras com diferentes quantidades de cálcio. Os resultados dos valores médios (triplicatas) das absorbâncias obtidas de distintas proporções de Mg:Ca nas amostras dos biodieseis (babaçu, canola e soja) utilizando etanol como solvente estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Influência da adição de diferentes concentrações de Ca^{2+} nas absorbâncias para determinação de Mg em amostras de biodiesel/etanol

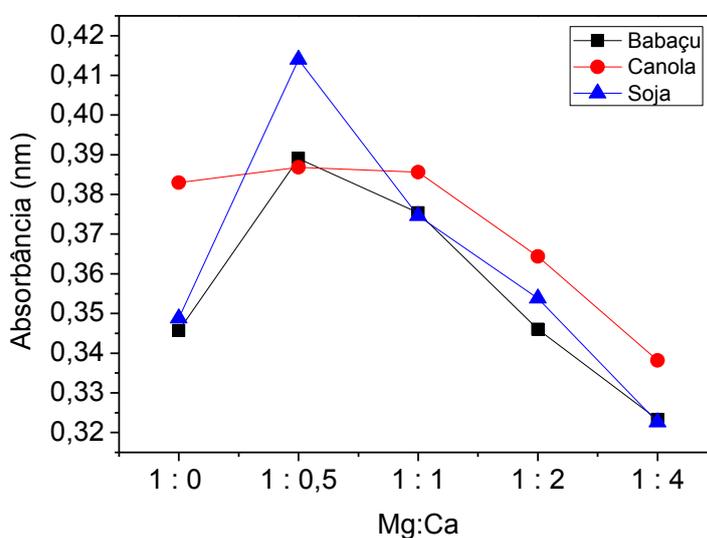
Interferente	Proporção (Mg: interferente)	Absorbâncias médias (nm)		
		Babaçu	Canola	Soja
Ca^{2+}	1 : 0	0,3457	0,3830	0,3488
	1 : 0,5	0,3890	0,3868	0,4140
	1 : 1	0,3754	0,3856	0,3746
	1 : 2	0,3460	0,3644	0,3538
	1 : 4	0,3233	0,3382	0,3226

Observou-se através da Tabela 5, que as fontes de biodiesel nas proporções estudadas não influenciaram de forma significativa no sinal da absorbância, ou melhor, as interferências não foram tão acentuadas. Por outro lado, a diferença percentual das diferentes proporções de Mg:Ca ($1:0,5; 1:1 \text{ e } 1:2$) avaliadas entre a absorbância das amostras fortificadas com Mg sem interferente, obtidas após as adições de diferentes concentrações de Ca, resultaram

em aumento percentual na faixa de 0,09% a 18,69%. Entretanto, apenas a amostra de biodiesel de canola na proporção 1:2 apresentou uma diminuição percentual de até 4,86%. Para as amostras com a proporção 1:4 (Mg:Ca) as diminuições das absorvâncias foram entre 6,48% e 11,70%.

Um resumo do efeito do estudo de interferência de cálcio em amostras de biodiesel/etanol, dados extraídos da Tabelas 6 está representado na Figura 5.

Figura 5. Estudo do efeito da adição de diferentes concentrações de Ca^{2+} em diferentes matrizes de biodiesel/etanol



De acordo com a Figura 5 a adição de Ca influenciou no aumento mais significativo do sinal analítico na proporção de 1:0,5 (Ca:Mg) para o biodiesel de soja, enquanto que para os demais biodieseis o aumento do sinal analítico não foi significativo. Já na proporção 1:4 verificou-se uma diminuição da absorvância para todos os biodieseis. Portanto, estes resultados mostraram que os interferentes podem aumentar ou reduzir o sinal analítico, e a intensidade do efeito pode depender da concentração (INMETRO, 2011).

Além disso, foi feito um estudo de interferentes com outros dois analitos (Fe e Al) adicionados em amostras de biodiesel de babaçu diluída em propanol para determinação de Mg. Nesse estudo manteve as mesmas proporções de interferentes utilizadas no estudo de amostras de biodiesel diluído em etanol em meio ácido.

Na Tabela 6 estão descritas as absorvâncias (valores médios em triplica) para as proporções de Mg:(interferentes) em amostras de biodiesel de babaçu diluídas em meio propanólico-ácido adicionadas com diferentes concentrações de Ca, Fe e Al.

Tabela 6. Influência da adição de diferentes concentrações de Ca^{2+} , Fe^{2+} e Al^{3+} nas absorvâncias para determinação de Mg em amostras de biodiesel/propanol

*Absorbância inicial de Mg na proporção 1:0 (nm)	Interferentes	Proporção (Mg: interferente)	**Absorbância (nm)	*** Absorbância (%) de Mg (nm)
0,2178	Ca^{2+}	1 : 0,5	0,1871	-14,08
		1 : 1	0,1796	-17,54
		1 : 2	0,1737	-20,26
		1 : 4	0,1642	-24,59
0,2128	Fe^{2+}	1 : 0,5	0,2103	-1,17
		1 : 1	0,1535	-27,87
		1 : 2	0,2036	-4,32
		1 : 4	0,1737	-18,37
0,2095	Al^{3+}	1 : 0,5	0,1880	-10,26
		1 : 1	0,1956	-6,63
		1 : 2	0,1897	-9,45
		1 : 4	0,1665	-20,53

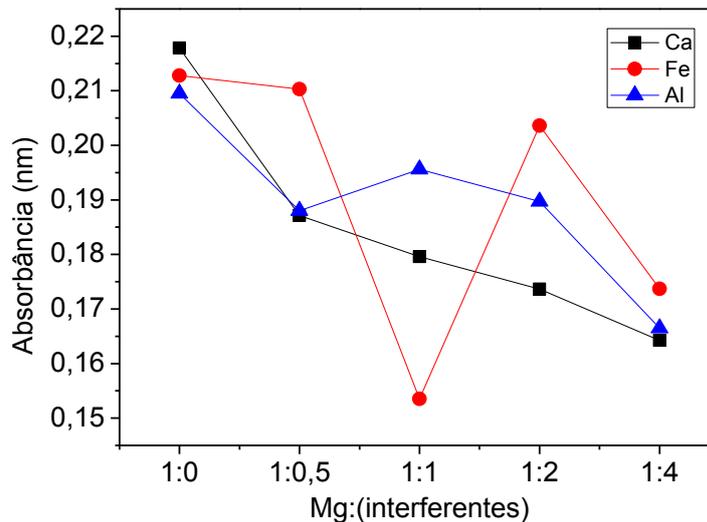
*Absorbância inicial de Mg na proporção 1:0 sem adição de interferente. ** Absorbância de Mg após a adição de interferente; *** Diferença percentual entre adição de interferente e absorvância inicial de Mg.

Na Tabela 6 fica evidente uma diminuição dos valores de absorvâncias de todas as amostras de biodiesel que foram adicionadas com diferentes concentrações do interferente. As diminuições percentuais são mais evidentes nas proporções 1:4 descrita na Tabela 6. Porém, a diminuição da absorvância na proporção 1:1 com adição de Fe foi o maior dentre os três descritos, isto é, no valor de 27,37%.

Na adição de Ca proporcionou uma diminuição percentual em valores decrescentes (14,08% a 24,59%), enquanto os demais (Fe e Al) oscilaram bastantes os valores de absorvância. Portanto, esses metais presentes nas amostras que causaram um erro sistemático na medida do sinal analítico são chamados de interferentes.

Também foi feito um resumo do estudo do efeito de interferentes em amostras de biodiesel/propanol utilizando os dados extraídos da Tabelas 6 (Figura 6).

Figura 6. Estudo do efeito da adição de diferentes concentrações de Ca^{2+} , Fe^{2+} e Al^{3+} em biodiesel/propanol



Na Figura 6, verificou-se que a adição de Ca na faixa de proporção de 1:0,5–1:4 decresceu continuamente os valores do sinal de absorbância. Os analitos de Fe e Al adicionado nas amostras na faixa de proporção entre 1:0,5-1:4 apresentaram decréscimos variados do sinal analítico. Aliás, estes resultados demonstram que a técnica analítica foi seletiva, pois determinou Mg em amostras de biodiesel contendo outros metais. Por isso, um método que produz respostas para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito na presença de outros, é chamado seletivo (INMETRO, 2007).

Por outro lado, a adição dos metais Ca, Fe e Al nas amostras de biodiesel no meio propanólico e ácido nítrico resultaram na diminuição das absorbâncias de todas as análises feitas, indicando que esses metais em proporções maiores causam maior interferência, isto é, podem comprometer a quantificação de Mg nas amostras de biodiesel dissolvidas no meio propanólico.

5.7 Aplicação do procedimento em amostra

5.7.1 Figuras de Mérito

Os parâmetros de mérito foram obtidos seguindo os passos realizados conforme o descrito na seção experimental e nas condições recomendadas para utilização da FAAS. A metodologia proposta foi validada pelos seguintes parâmetros: seletividade, linearidade, sensibilidade, faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão.

Na Tabela 7 mostra um resumo dos parâmetros analíticos para determinação de Mg em amostras de biodiesel/propanol e biodiesel/etanol em meio ácido.

Tabela 7. Parâmetros analíticos (figuras de mérito) para determinação de Mg em amostras de biodiesel diluídas em meio propanólico-ácido e etanólico-ácido nítrico

Faixa de trabalho (0,0-1,0 mg L ⁻¹)	Sensibilidade (Abs.L.mg ⁻¹)	Mg			
		R	LD (mg L ⁻¹) n=10	LQ (mg L ⁻¹) n=10	DPR (%)
Biodiesel/propanol	0,3914	0,999	1,24x10 ⁻³	4,14x10 ⁻³	3,70
Biodiesel/etanol	0,6861	0,999	1,25x10 ⁻³	4,17x10 ⁻³	3,15

Os valores apresentados na Tabela 7, tais como, desvio padrão relativo, limite de detecção e limite de quantificação foram determinados pelas equações 1, 2 e 3, respectivamente. De modo geral, bons resultados foram obtidos, como linearidade, sensibilidade, coeficiente de correlação (R) forte (0,999) e desvio padrão relativo (DPR) abaixo de 20%.

5.7.2 Estudo de exatidão para a determinação de Mg

A exatidão expressa o quão próximo um valor de uma medida está do valor real (HARRIS, 2005). Já a precisão é determinada por análise de replicação de amostras contendo quantidades conhecidas de analito (FDA, 2013). É geralmente determinada através do uso de uma amostra certificada, cuja concentração do analito de interesse é conhecida.

Devido as amostras de biodiesel certificadas não apresentarem valores quantificáveis de magnésio nas análises feitas por FAAS, isso se deve ao período de estocagem, resolveu-se utilizar o método de adição e recuperação calculada pela equação 4.

O estudo de exatidão e precisão foi realizado somente para dissolução de biodiesel em meio propanólico-ácido por ser um método alternativo ainda não utilizado para determinação de Mg em biodiesel por FAAS. Os testes de recuperação e precisão foram realizados com uma amostra de biodiesel de babaçu através da adição do analito (Mg^{2+}) em três níveis de concentrações diferentes (baixa, média e alta), contemplando a faixa de trabalho do procedimento e realizado por 5 determinações por concentração. Estes resultados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Concentrações de Mg determinadas por FAAS (média \pm desvio padrão, n=5) em amostras de biodiesel diluídas em meio propanólico-ácido nítrico

FAAS				
Amostra	[Mg] Adicionado (mg kg ⁻¹)	[Mg] Determinado (mg kg ⁻¹)	Recuperação (%)	DPR (%)
Biodiesel/ propanol	2,00	1,93 \pm 0,092	97	5
	5,00	5,16 \pm 0,015	103	3
	8,00	8,02 \pm 0,028	100	4

Os resultados apresentados na Tabela 8 confirmaram uma boa exatidão e precisão do método proposto para determinação de magnésio. Os valores de precisão ficaram na faixa de 3 % a 5%, indicando que os valores estão dentro da faixa aceitável de 20%. E os valores de recuperação foram no intervalo de 97-103%. Os percentuais de recuperação utilizando dissolução em propanol quando comparados com os resultados expostos por Magalhães et al. (2014) que utilizaram a dissolução do biodiesel em etanol como preparo de amostra, mostram intervalos semelhantes e satisfatórios. Sendo que a faixa de recuperação e precisão obtidas por Magalhães et al. (2014) para determinação de magnésio em biodiesel foram entre 101-108% e

2-11%. Com isso, se verifica que o propanol é um bom solvente para determinação de magnésio em biodiesel por FAAS em casos que utiliza a dissolução simples, corroborando com outros estudos que aplicaram técnicas espectroanalíticas para determinação de metais utilizando álcool como reagente diluente (BARROS et al., 2012; CHAVES et al., 2011; QUADROS *et al.*, 2011; SANTOS et al., 2007).

Em diversas validações de métodos analíticos, a porcentagem de recuperação é na faixa de 80% a 120% (BRASIL, 2003) e 70% a 120% (GARP, 1999) com precisão de aproximadamente de 20% (BRASIL, 2003; BRASIL, 2011; GARP, 1999) são geralmente aceitáveis. Dessa forma, os resultados de exatidão e precisão apresentados neste trabalho indicaram que o método proposto foi satisfatório.

5.7.3 Comparação do meio biodiesel/propanol-ácido e biodiesel/etanol-ácido na determinação de Mg por FAAS

O desempenho do método em amostras reais foi avaliado. Uma comparação entre os solventes etanol (*método proposto por Magalhães et al. (2014), que utiliza a técnica espectroanalítica de FAAS*) e propanol, que é o solvente avaliado neste trabalho.

Nesse estudo comparativo utilizou-se inicialmente o teste F para avaliar a precisão, ou seja, se há diferença entre as variâncias dos dois procedimentos (usando os dois solventes).

O teste t de *Student* foi usado para avaliar a exatidão, ou seja, se há diferença entre as médias obtidas pelos procedimentos. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 9.

Em ambos os procedimentos, com cada solvente diferente, as análises foram feitas em quintuplicatas, logo, $n_1 = n_2 = 5$. Os valores do grau de liberdade para distribuição F e t foram 4 (numerador e denominador) e 8, respectivamente.

Tabela 9. Comparação estatística entre as concentrações de Mg no meio biodiesel/propanol e biodiesel/etanol determinados pela técnica de FAAS (valor de F_{tab} e t_{tab} com 95% de confiança)

FAAS									
Biodiesel/propanol (Babaçu)		Biodiesel/etanol (Soja)							
\bar{X}_1 (mg kg ⁻¹)	S_1^2	\bar{X}_2 (mg kg ⁻¹)	S_2^2	F_{cal}	F_{tab}	Relação entre F_{cal} e F_{tab}	t_{cal}	t_{tab}	Relação entre t_{cal} e t_{tab}
1,92	1,73E ⁻²	1,90	1,69E ⁻²	1,03	6,38	$F_{cal} < F_{tab}$	0,25	2,30	$t_{cal} < t_{tab}$

Os resultados obtidos do teste F e teste t apresentados na Tabela 9, para as amostras de biodiesel de babaçu e soja diluídas no meio alcoólico-ácido para determinação de Mg por FAAS, não apresentaram diferença significativa, ao nível de confiança de 95%, tanto no que se refere à precisão e exatidão.

6 CONCLUSÃO

O estudo realizado mostrou que a simples diluição de amostras de biodiesel com álcoois de cadeia curta, associada à detecção pela técnica FAAS pode ser usada eficazmente como método alternativo para determinação de Mg em biodiesel. O método com a dissolução de biodiesel nos solventes etanol ou propanol mostrou-se viável, simples e rápido para ambos os álcoois, podendo ser aplicado para solubilização de amostras de biodiesel na determinação de Mg, não comprometendo a análise instrumental. Além disso, a solução padrão inorgânica de Mg utilizada apresentou uma boa estabilidade e pode ser usada consecutivamente durante três dias em análises de rotina.

No estudo das interferências avaliadas notou-se que os interferentes podem acentuar ou inibir a detecção ou quantificação de magnésio no meio biodiesel/etanol e biodiesel/propanol. Além do mais, a determinação de Mg por FAAS nesse estudo foi mais comprometido quando adicionou uma maior concentração de interferentes, entretanto a distinção do Mg na presença de outros metais não foi significativamente comprometida, ou seja, o método ainda pode ser considerado seletivo.

A metodologia proposta com os dois solventes para a determinação de Mg por FAAS apresentou bons indicadores analíticos, em termos de precisão, exatidão, e limites de detecção e quantificação. Por outro lado, o propanol mostrou-se tão eficaz quanto o etanol na diluição de biodiesel em meio ácido para determinação de Mg por FAAS. Em termos de exatidão, realizados com testes de recuperação de Mg, o meio biodiesel/propanol mostrou resultados similares ao método de diluição biodiesel/etanol já existente na literatura, indicando uma boa exatidão do método proposto.

Além dos mais, os resultados do teste F e t de *Student* para ambos métodos de preparo de amostras no meio biodiesel/propanol e biodiesel/etanol mostraram-se estatisticamente equivalentes para a determinação de Mg por FAAS. Portanto, o solvente propanol, que é usado pela primeira vez, indicou-se adequado e pode ser utilizado como método simples de dissolução de biodiesel em meio ácido, para a determinação de Mg por FAAS, indicando que pode ser usado para outros metais ainda não estudados.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. M. S.; DORNELLA, R. M.; YOTSUMOTO-NETO, S.; GHISI, M.; FURTADO, J. G. C.; MARQUE, E. P.; AUCÉLIO, R. Q.; ALDALÉA, A. L. B. A simple electroanalytical procedure for the determination of calcium in biodiesel. **Fuel**, 115: 658–665, 2014.
- AMAI, R. S.; GARCIA, E. E.; MONTEIRO, M. R.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Direct analysis of biodiesel microemulsions using an inductively coupled plasma mass spectrometry. **Microchemical Journal** 96: 146-150, 2010.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) D6751/12: *Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels*, USA, 2012. Disponível em: < <http://www.vieselfuel.com/pdf/D6751-12.pdf> >. Acesso em: 10 de fev. 2016.
- ASSOCIAÇÃO GRUPO DE ANALISTAS DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS (GARP); Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos (apostila), 1999.
- BARNWAL, B. K.; SHARMA, M. P. Prospects of biodiesel production from vegetable oils in India. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v.9, n.4, p.368-378, 2005.
- BARROS, A. I.; OLIVEIRA, A. P.; MAGALHÃES, M. R. L.; VILLA, R. D. Determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry, with dissolution in ethanol as a single sample preparation step, **Fuel**, 93: 381-384, 2012.
- BECKER, J. S. *Inorganic mass spectrometry – Principles and applications*. Weinheim, Alemanha: WILEY-VCH, 2007.
- BIODIESEL EM FOCO. Cidades na UTI: poluição do ar mata mais que acidente de trânsito. União Brasileira do Biodiesel e Bioquerosene - Ubrabio. Ano VI, n. 6, p. 15-19, set. 2015. Disponível em: < <http://www.ubrablo.com.br/sites/1800/1891/RevistaBiodieselemFoco/BiodieselemFocoEd06Setembro2015web.pdf> >. Acesso em: 10 de jul. de 2016.
- BRASIL. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP. Resolução ANP nº 45, de 25 de agosto de 2014. Dispõe sobre a especificação do biodiesel contida no Regulamento Técnico ANP nº 3 de 2014 e as obrigações quanto ao controle da qualidade a serem atendidas pelos diversos agentes econômicos que comercializam o produto em todo o território nacional. Diário Oficial da União. 25 de ago. 2014a.
- BRASIL. Lei n. 13.033, de 24 de setembro de 2014. Dispõe sobre a adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado com o consumidor final; altera as Leis nºs 9.478, de 6 de agosto de 1997, e 8.723, de 28 de outubro de 1993; revoga dispositivos da Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005; e dá outras providências. Diário Oficial da União - Seção 1 – 25 de set. 2014b. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/2014/lei-13033-24-setembro-2014-779372-publicacaooriginal-145039-pl.html>>. Acesso em: 1 de dez. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 72p., 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Benefícios ambientais da produção e do uso do biodiesel / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Executiva. – Brasília: MAPA/ACS, 33p. 2014c.

BRASIL. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2003.

BURGUERA, J. L.; SALAGER, R. A.; BURGUERA, M.; SALAGER, J. L.; RONDON, C.; CARRERO, P.; GALLIGNANI, M.; BRUNETO, M. R.; BRICENO, M. On-line emulsification of lubricating oils in a flow-injection system for chromium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.** 15: 549-555, 2000.

CALAND, L. B.; SILVEIRA, E. L. C.; TUBINO, M..Determination of sodium, potassium, calcium and magnesium cations in biodiesel by ion chromatography. **Analytica Chimica Acta** 718: 116– 120, 2012.

CHAVES, E. S.; LOOS-VOLLEBREG, M. T. C. DE; CURTIUS, A. J. V.; VANHAECKE, F. Determination of trace elements in biodiesel and vegetable oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry following alcohol dilution, **Spectrochimica Acta Part B**, 66: 733-739, 2011.

CHAVES, E. S.; SANTOS, E. J.; ARAUJO, R. G. O.; OLIVEIRA, J. V.; FRESCURA, V. L.A.; CURTIUS, A. J. Metals and phosphorus determination in vegetable seeds used in the production of biodiesel by ICP OES e ICP-MS. **Microchemical Journal** 96: 71-76, 2010.

CHAVES, E.S.; SAINT'PIERRE, T.D.; DOS SANTOS, E.J.; TORMEN, L., BASCUÑAN, V.L.A.F.; CURTIUS, A. J. Determination of Na and K in Biodiesel by Flame Atomic Emission Spectrometry and Microemulsion Sample Preparation,. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 19: p.856-861, 2008.

CURRIE, L. A.; SVEHLA, G. Nomenclature for the presentation of results of chemical analysis. *Pure & Applied Chemistry*., v. 66, n. 3, p. 595-908, 1994. Disponível em:< <https://ciencias.ulisboa.pt/sites/default/files/fcul/dep/dqb/doc/nomenclatura.pdf>>. Acessada em: 27 de jun. de 2016.

CURTIUS, A. J. Espectrometria de Absorção Atômica. Parte I: Princípios da técnica por forno de grafite. **Revista de Química Industrial** 681: 20-25, 1982.

DEMIRBAS, A. Biodiesel: a realistic fuel alternative for diesel engines. London: *Springer-Verlag*, 2008.

DUYCK, C.; MIEKELEY, N.; SILVEIRA, C. L. P.; AUCÉLIO, R. Q.; CAMPOS, R. C.; GRINBERG, P.; BRANDÃO, G. P. The determination of trace elements in crude oil and its heavy fractions by atomic spectrometry. **Spectrochim. Acta B** 62: 939-951, 2007.

EDLUND, M., VISSER, H., HEITLAND, P. Analysis of biodiesel by argon–oxygen mixed-gas inductively coupled plasma optical emission spectrometry **J. Anal. At. Espectro.**, 17, 232-235, 2002.

ENCARNAÇÃO, A. P. G. **Geração de Biodiesel pelos Processos de Transesterificação e Hidroesterificação, Uma Avaliação Econômica**. 2008. 144 f. Dissertação (mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2008. Disponível em: <<http://tpqb.eq.ufrj.br/download/biodiesel-via-trans-e-hidroesterificacao.pdf>>. Acesso em: 1 de dez. 2015.

FRAZÃO, É. V. P. **Determinação simultânea de metais em biodiesel (B100), por voltametria de redissolução anódica usando eletrodo de filme de mercúrio em meio alcoólico**. São Luís, 2010. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, 2010.

GHISI, M. **Determinação de Cu e Fe em biodiesel por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e estudo do efeito catalítico destes metais sobre a estabilidade a oxidativa do biodiesel**. São Luís, 2011. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Química Analítica, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011a.

GHISI, M.; CHAVES, E. S.; QUADROS, D. P. C.; MARQUES, E. P.; CURTIUS, A. J.; MARQUES, A. L. B. Simple method for the determination of Cu and Fe by electrothermal atomic absorption spectrometry in biodiesel treated with tetramethylammonium hydroxide. **Microchem. J.**, 98: 62-65, 2011b.

GROTTI, M.; MAGI, E.; LEARDI, R. Selection of internal standards in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry by principal component analysis. **Journal Analytical Atomic Spectrometry** 18: 274–28, 2003.

HARDAWAY, C.; SNEDDON, J.; BECK, J. N. *Anal. Letters* 37: 2881-2889, 2004.
HARRIS, DANIEL C., *Análise Química Quantitativa*, 6ª Edição, LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro-RJ, 2005.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. DOQ-CGCRE-008-Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos (Revisão 03- Fev. 2010), 2010.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. DOQ-CGCRE-008-Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos (Revisão 04- Jul. 2011), 2011.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. DOQ-CGCRE-008-Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos (Revisão 02- Jun. 2007), 2007.

INSTITUTO SAÚDE E SUSTENTABILIDADE. Avaliação dos impactos na saúde pública e sua valoração devido à implementação progressiva do componente biodiesel na matriz energética de transporte. São Paulo, jul. 2015. Disponível em: <http://www.saudeesustentabilidade.org.br/site/wp-content/uploads/2015/07/Relatorio-final-JCEV-0907_FINAL.pdf>. Acesso em: 10 de abr. 2016.

JESUS, A. DE; SILVA, M.; VALE, M. G. R. The use of microemulsion for determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, 74: 1378-1384, 2008.

JESUS, A. DE; ZMOZINSKI, A.V.; BARBARÁ, J. A. Determination of calcium and magnesium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry using microemulsions as sample preparation. **Energy Fuels**, 24: 2109–2112, 2010.

KORN, M. G. A.; SANTOS, D. C. M. B.; GUIDA, M. A. B.; BARBOSA, I. S.; PASSOS, M. L. C.; SARAIVA, M. L. M. F. S.; LIMA, J. L. F. C. 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: 2278-84, 2010.

LEMONDS, A. J. e MCCLELLAN, B. E. Correlation of enhancement of atomic absorption sensitivity for selected metal ions with physical properties of organic. **Anal. Chem.**, 45: 1455-1460, 1973.

LEVINE, D. M.; STEPHAN, D.; KREHBIEL, T. C.; BERENSON, M. L. Estatística: teoria e aplicações usando o Microsoft Excel em português. 8.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; OLIVEIRA, A. P.; ROMÃO, L. P. C.; FRACETO, L. F.; DIAS, N. L. F; ROSA, A. H. Development of a method to determine Ni and Cd in biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fuel** 90: 142-146, 2011.

LYRA, F. H. **Espectrometria de Absorção Atômica como Ferramenta Analítica para Determinação de Elementos Traços em biodiesel**. 2010. 104 f. Dissertação – (mestre em Química) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, 2010a.

LYRA, F. H.; CARNEIRO, M. T. W. D.; BRANDÃO, G. P.; PESSOA, H. M.; CASTRO, E. V. Determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel samples by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) using microemulsion as sample preparation. **Microchemical Journal**, 96: 180-185, 2010b.

MAGALHÃES, M. R. L. DE; BARROS, A. I.; OLIVEIRA, A. P. DE; SILVA, A. DOS S.; VILLA, R. D. Dissolution in Ethanol as a Sample Preparation Procedure for Determination of Metals in Biodiesel by FAAS. **Current Analytical Chemistr**, 10: 166-177, 2014.

MILLER E MILLER. *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*. 4. ed., Prentice Hall, 2000.

MOORE, D. S.; MCCABE G. P.; DUCKWORTH, W. M.; SCLOVE, S. L. A Prática da Estatística Empresarial Análise: Como Usar Dados para Tomar Decisões. 1s ed., Rio de Janeiro: Editora LTC, 2006.

NASCIMENTO, L. F.; PEREIRAB, L. A. A.; BRAGA, A. L. F.; MÓDOLO, M. C. C.; CRVALHO, J. A. Effects of air pollution on children's health in a city in Southeastern Brazil. **Rev. Saúde Pública**, 40: 2006.

NIGAM, P. S.; SINGH, A. Production of liquid biofuels from renewable resources. **Progress in Energy and Combustion Science** 37: 52-68, 2011.

OHLWEILER, O. A. Química Analítica Quantitativa. 2a ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, v. 3. 374 p. 1976.

OLIVEIRA, A. P. DE, VILLA, R. D., ANTUNES, K. C. P., MAGALHÃES, A. DE, SILVA, E. C., Determination of sodium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry using dry decomposition for the sample preparation. **Fuel** 88: 764-766, 2009.

OLIVEIRA, L. C. C. DE. **Desenvolvimento e avaliação de métodos para a determinação de elementos-traço em biodiesel por espectrometria atômica**. Tese (doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 176f, 2011.

PELIZZETTI, E.; PRAMAURO, E. Analytical Applications of Organized Molecular Assemblies. **Analytica Chimica Acta** 169: 1-29, 1985.

PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L.L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P. de; ANDRADE, J. B. Biodiesel: Na Overview. **Journal of the Brazilian Chemical Society** 16: 1313-1330, 2005.

PIOVEZAN, M.; COSTA, A. C. O.; JAGER, A. V.; OLIVEIRA, M. A. L. DE; MICKE, G. A. Development of a fast capillary electrophoresis method to determine inorganic cations in biodiesel samples. **Anal. Chim. Acta**, 673: 200–205, 2010.

PRASAD, S.; SINGH, A.; JAIN, N.; JOSHI, H. C. Ethanol Production from Sweet Sorghum Syrup for Utilization as Automotive Fuel in India. **Energy Fuel** 21: 2415-2420, 2007.

QUADROS, D. P. C.; RAU, M.; IDRESS, M.; CHAVES, E. S.; CURTIUS, A. J.; BORGES D. G. A. A simple and fast procedure for the determination of Al, Cu, Fe and Mn in biodiesel using high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry **Spectrochimica Acta Part B**, 66: 373-377, 2011.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova** 27: 771-780, 2004.

RODRIGUES, C. G.; VORMITTAG, E. M. P. A.; CAVALCANTE, J. A.; SALDIVA; P. H. N. Projeção da Mortalidade, Internações Hospitalares nas Rede Públicas e Gastos públicos em Saúde atribuíveis à poluição atmosférica no Estado de São Paulo entre 20 a 2030. **R. bras. Est. Pop., Rio de Janeiro**, 32: 489-509, 2015

SAINT' PIERRE, T. D. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de metais traço em álcool combustível e gasolina por espectrometrias de absorção atômica e de massa com plasma indutivamente acoplado**. Florianópolis, 2004. 107 f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

SALDIVA, P. H.; PAPA, P. C. A.; SCHWARTZ, J.; DOCKERY, D. W., LICHTENFELS, A. J., SALGE, J. M.; BARONE, I.; BOHM, G. M. Air pollution and mortality in elderly people: a time-series study in São Paulo, Brazil. **Arch Environ Health**, 50: 159-163, 1995.

SANCHEZ, R.; SANCHEZ, C.; LIENEMANN, C-P; TODOLI, J-L. Metal and metalloid determination in biodiesel and bioethanol – Critical review. **J. Anal. At. Spectrom**, 30: 64–101, 2015.

SHABIR, G. A. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization, **J. Chromatogr**, 987: 57-66, 2003.

SILVA, J. A . S., CHAVES, E.S., SANTOS, E. J., SAINT'PIERRE, T. D., FRESCURA, V. L. A., CURTIUS A. J. Calibration techniques and modifiers for the determination of Cd, Pb and Tl in biodiesel as microemulsion by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal J. Braz. Chem. Soc.**, 21: 620-626, 2010.

SILVA; P. R. F.; FREITAS, T.F. S. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. *Ciência Rural*, Santa Maria, 38: 843-851, 2008.

SINGH, A.; PANT, D.; KORRES, N. E.; NIZAMI; A-S., PRASAD, S.; MURPHY; J. D. Key issues in life cycle assessment of ethanol production from lignocellulosic biomass: Challenges and perspectives. *Bioresour. Technol.* **101**: 50035012, 2010.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. *Princípios de análise instrumental*. 5 ed., Porto Alegre: Bookman, 2002

SOUZA, R. M. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de elementos-traço em amostras oleosas e pastosas por ICP OES e ICP-MS**. Tese (Doutorado em Química) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, RJ, 2007.

SOUZA, R. M. **Determinação de elementos refratários em óleo lubrificante usado e em óleo combustível por ICP OES após emulsificação da amostra**. Dissertação de mestrado, Departamento de Química, PUC - Rio de Janeiro, p, 67, 2003.

UGURLU, A.; OZTUNA, S. A comparative analysis study of alternative energy sources for automobiles. **Internacional Jornal of Hydrogen Energy** 40: 11178 - 11188, 2015.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (US-FDA), CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH, CENTER FOR VETERINARY MEDICINE, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Guidance for Industry: bioanalytical method validation, Revision 1, Sept., 2013.

VIEIRA; M. A., OLIVEIRA; L. C. C., SOUZA; V.; GONÇALVES, R. A.; CAMPO; R. C., Determination of As in Vegetable Oil and Biodiesel by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Energy Fuels**, 23: 5942 -5946, 2009.

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