

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

ANA CRISTINA DE ALMEIDA LEONARDO

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE TRATAMENTO DE AMOSTRAS DE
BIODIESEL PARA DETERMINAÇÃO DE SÓDIO USANDO 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

ANA CRISTINA DE ALMEIDA LEONARDO

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE TRATAMENTO DE AMOSTRAS DE
BIODIESEL PARA DETERMINAÇÃO DE SÓDIO USANDO ESPECTROMETRIA
DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Edmar Pereira Marques

São Luís

2016

Leonardo, Ana Cristina de Almeida.

Comparação de métodos de tratamento de amostras de biodiesel para determinação de sódio usando espectrometria de absorção atômica com chama / Ana Cristina de Almeida Leonardo. - 2016.

54 f.

Orientador: Edmar Pereira Marques.

Coorientadora: Aldaléa Lopes Brandes Marques.

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

1. Biodiesel. 2. Extração ácida. 3. F AAS. 4. Preparo de amostras. 5. TMAH. I. Marques, Edmar Pereira. II. Marques, Aldaléa Lopes Brandes. III. Título.

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE TRATAMENTO DE AMOSTRAS DE
BIODIESEL PARA DETERMINAÇÃO DE SÓDIO USANDO ESPECTROMETRIA
DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Edmar Pereira Marques
Departamento de Tecnologia Química
Orientador

Prof^a. Dr^a. Kiany Sirley Brandão Cavalcante
Departamento
Membro examinador

Prof. Dr. Cícero Wellington Brito Bezerra
Departamento
Membro examinador

Dedico este trabalho a Deus, por ter me concedido capacidade, persistência e sabedoria para chegar até o fim. Aos meus pais, Francisco Leonardo e Geralda, a minha irmã Mônica por estar sempre do meu lado, acreditando, me dando força e apoio em todas as minhas decisões. Minha família é a minha base e Deus é o meu Senhor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por sempre está me consolando e me direcionando em todas as coisas. A ele seja oferecida toda honra e toda glória. Sem ele sei que não sou absolutamente nada e sem a sua bondade e graça não chegaria a lugar algum.

Aos meus pais Leonardo e Geralda pelo apoio e compreensão ao longo dessa caminhada. Por me ensinarem que tudo que é difícil vale a pena e a não desistir diante das dificuldades. Agradeço por me ensinarem a ser forte.

A minha irmã Mônica, pelo carinho, amizade, companheirismo, as intermináveis conversas ao telefone e pelo constante apoio.

Ao meu orientador Edmar Pereira Marques, pelas orientações, incentivo e confiança que tornou possível a conclusão deste trabalho.

Agradeço aos professores Cícero Wellington Brito Bezerra e Janyeid Karla Castro Sousa pelas contribuições na qualificação, e a professora Kiany Sirley Brandão Cavalcante e, novamente, ao professor Cícero Wellington Brito Bezerra pelas contribuições em minha defesa de dissertação.

Ao professor Gabriel Manoel Rodrigues que permitiu a realização das minhas análises nos laboratórios da Universidade Estadual do Piauí- UESPI e por sempre acreditar na minha capacidade.

Agradeço ao Laboratório de Pesquisa em Química Analítica (LPQA/UFMA) e ao Laboratório de Análises e Pesquisa em Química Analítica de Petróleo e Biocombustíveis (LAPQAP/UFMA).

Aos meus amigos e companheiros do LPQA/UFMA, pela presença constante e toda ajuda que me deram, auxiliando-me sempre que precisei.

A todos os meus amigos, em especial Wdson, Isabelle, Aleff, Suzyeth, Helmara e Cindy pelo incentivo, força, amizade e cumplicidade durante todo o trabalho. Não poderia deixar de expressar minha gratidão ao professor Jardes Figuerêdo e ao técnico Tomas Magno que se disponibilizaram a realizar as análises e buscar soluções para os problemas que surgiram.

Ao CNPq pela bolsa concedida durante a realização dos projetos de pesquisa para desenvolvimento da ciência.

Agradeço aos meus amigos Everlon, Patrícia, Lidiane e Mara, que tanto cuidaram de mim durante esses últimos anos.

Agradeço aos quatro irmãos, Francisco, Gerlan, Júnior e Diego, que ganhei durante esse período e que vão permanecer pra sempre em minha vida. Serei eternamente grata pela amizade e companheirismo.

A família que me acolheu e amparou de todas as formas quando precisei Carol Cardoso, Amélia e Teixeira. Amo vocês.

A minha família na fé, em especial Pr. Alexandre, que aguentaram minhas crises de choro e me aconselharam com palavras vindas da boca de Deus.

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para esta vitória.

“Apesar dos nossos defeitos, precisamos enxergar que somos pérolas únicas no teatro da vida e entender que não existem pessoas de sucesso e pessoas fracassadas. O que existem são pessoas que lutam pelos seus sonhos ou desistem deles.”

Augusto Cury

RESUMO

A maioria dos métodos analíticos precisa de um preparo da amostra para torná-la compatível com a técnica e o equipamento utilizado. Este trabalho propõe uma comparação entre a solubilização alcalina usando TMAH 25% e a extração ácida com aquecimento usando HNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ como preparo das amostras de biodiesel visando a determinação de sódio. A técnica analítica utilizada no presente trabalho foi Espectrometria de Absorção Atômica com Chama FAAS. As amostras de biodiesel utilizadas foram sintetizadas a partir de três óleos vegetais disponíveis no comércio: babaçu, milho e soja. O Biodiesel interlaboratorial usado na comparação do método proposto com a norma oficial NBR 15556:2008, foi cedido pelo Laboratório de Análise e Pesquisa em Química Analítica de Petróleo e Biocombustíveis - LAPQAP/UFMA. A solução final após a solubilização com TMAH 25% em metanol foi incompatível com FAAS. A alta viscosidade da amostra influenciou diretamente na aspiração causando variações significativas nas leituras impossibilitando a continuidade das análises. A extração ácida com HNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ proporcionou melhores resultados, além disso, as condições físicas da solução final foram consistentes com FAAS. Os valores de LD e LQ foram respectivamente: 0,02 e $0,07 \text{ mg.Kg}^{-1}$ para sódio. A recuperação obtida foi entre 102 e 110 % em três níveis diferentes de fortificação. Na comparação com a diluição do biodiesel em xileno estabelecido pelas normas oficiais, as concentrações quantificadas apresentaram valores bem próximos. A simplicidade, exatidão, precisão, menor toxicidade e baixo custo do método de extração ácida, sugerem que esta pode ser uma boa alternativa de tratamento de amostra de biodiesel para determinação de sódio.

Palavras-chave: Biodiesel, preparo de amostras, TMAH, extração ácida, FAAS.

ABSTRACT

Most analytical methods require a sample preparation to make it compatible with the technique and the equipment used. This paper proposes a comparison between alkaline solubilization using TMAH 25% and acid extraction with heating using HNO_3 0.1 mol L^{-1} as preparation of biodiesel samples in order to determine sodium. The analytical technique used in this study was Flame Atomic Absorption Spectrometry - FAAS. The biodiesel samples used were synthesized from three commercially available oils: babassu oil, corn and soybeans. The interlaboratory biodiesel sample used to compare the proposed method with the official NBR 15556:2008, was provided by Laboratory of Analysis and Research in Analytical Chemistry of Petroleum and Biofuels - LAPQAP/UFMA. The final solution after solubilization with 25% TMAH in methanol was incompatible with FAAS technique. The high viscosity of the sample influenced directly in the aspiration causing significant variations in the readings and making it impossible to continue the analysis. Acid extraction HNO_3 0.1 mol.L^{-1} yielded better results, in addition, the physical conditions of the final solution were consistent with FAAS. The LOD and LOQ values were respectively 0.02 and 0.07 mg.Kg^{-1} for sodium. The obtained recoveries were between 102 and 110% at three different levels of fortification. In comparison with the dilution of biodiesel in xylene established by official standards, quantified concentrations showed values very close. The simplicity, accuracy, precision, less toxicity and low cost of the acidic extraction method suggest that this may be a good alternative for treating biodiesel sample to determine sodium.

Keywords: Biodiesel, sample preparation, TMAH, acid extraction, FAAS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reação de transesterificação de triglicerídeo na presença de álcool.....	17
Figura 2 - Fluxograma da síntese do biodiesel.....	34
Figura 3 - Aspecto físico das amostras de biodiesel obtidas pela solubilização com TMAH em diferentes condições geradas pelo planejamento multivariado	38
Figura 4 - Amostra de biodiesel de soja após o processo de extração ácida com aquecimento.....	41
Figura 5 - Curva analítica construída com a solução aquosa extraída do biodiesel e com padronização externa	42
Figura 6 - Curvas analíticas para soluções aquosas e adição de padrão em amostras extraídas com HNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros instrumentais utilizados para as análises de biodiesel	33
Tabela 2. Fatores e intervalos da otimização univariada para extração ácida com HNO ₃	35
Tabela 3. Variáveis e níveis (máximos e mínimos) usados no planejamento multivariado para solubilização de amostras de biodiesel de soja com TMAH.	37
Tabela 4. Aplicação de TMAH no preparo de amostras.....	39
Tabela 5. Resultados gerados pelo método de otimização univariada	40
Tabela 6. Parâmetros analíticos obtidos a partir da curva analítica de adição padrão usando calibração externa	44
Tabela 7. Concentrações obtidas para Na (mg. Kg ⁻¹) nas amostras de biodiesel de soja após a adição de 1,0; 2,5 e 4,5 mg.Kg ⁻¹ de solução padrão de sódio	44
Tabela 8. Absorbâncias obtidas nas amostras de biodiesel de soja na presença de diferentes concentrações de potássio	45
Tabela 9. Concentrações obtidas nas amostras de biodiesel de babaçu, soja, milho e amostra interlaboratorial usando extração ácida como pré-tratamento da amostra	46
Tabela 10. Concentrações obtidas nas amostras de biodiesel interlaboratorial usando como pré-tratamento da amostra a extração ácida e diluição em xileno	47

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

- ABNT / NBR – Associação Brasileira de Normas Técnicas / Norma Brasileira
- ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
- ET AAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (Electrothermal Atomic Absorption)
- ETV ICP MS - Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado com Vaporização Eletrotérmica (Electrothermal Vaporization Inductively Plasma Mass Spectrometry)
- F AAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (Flame Atomic Absorption Spectrometry)
- F AES – Espectrometria de Emissão Atômica com Chama (Flame Atomic Emission Spectrometry)
- GF AAS – Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry)
- HR-CS FAAS – Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Chama de Fonte Contínua (High-Resolution Continnum Source Flame Atomic Absorption Spectrometry)
- IC PMS – 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 Optical Emission Spectrometry)
- IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied)
- LAPQAP – Laboratório de Análise e Pesquisa em Química Analítica de Petróleo
- LD – Limite de Detecção
- LQ – Limite de Quantificação
- LS FAAS – Espectrometria de Absorção Atômica em Chama com Fonte de Linhas (Line-Source Flame Atomic Absorption Spectrometry)
- S - Sensibilidade
- C. V. – Coeficiente de Variação

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS	v
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 Biodiesel	15
2.2 Obtenção do biodiesel	17
2.3 Presença de metais em biodiesel	18
2.4 Presença de sódio e potássio em biodiesel	19
2.5 Técnicas empregadas para determinação de metais em biodiesel	20
2.6 Métodos de preparo de amostras	23
2.6.1 Emulsão e Microemulsão	24
2.6.2 Diluição com solvente orgânico	26
2.6.3 Digestão	28
2.6.4 Extração líquido-líquido do analito	29
3. OBJETIVOS	31
3.1 Objetivo Geral	31
3.2 Objetivos específicos	31
4. PARTE EXPERIMENTAL	32
4.1 Limpeza dos materiais	32
4.2 Reagentes e soluções	32
4.3 Instrumentação	32
4.4 Amostras	33
4.5 Procedimento	33
4.5.1 Síntese do biodiesel	33
4.5.2 Solubilização usando TMAH	34
4.5.3 Extração ácida.....	35
4.5.4 Faixa linear de trabalho	35
4.6 Validação do método	36

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 Planejamento Multivariado para determinação das condições de solubilidade da amostra em TMAH 25% (m/v) em metanol.....	37
5.2 Otimização univariada para a determinação das condições de extração utilizando HNO ₃ 0,1 mol.L ⁻¹	40
5.3 Curvas analíticas	42
5.4 Teste de Recuperação.....	44
5.5 Análise de Interferente	45
5.6 Aplicação Analítica	46
6. CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

1. INTRODUÇÃO

Durante anos os combustíveis derivados do petróleo ocupam lugar de destaque na obtenção de energia e tem promovido o desenvolvimento das nações junto com o carvão e o gás natural. Porém, a busca por novas fontes energéticas tem sido mundialmente debatida a fim de encontrar combustíveis que possam substituí-los gradativamente e que sejam menos agressivos à natureza (JESUS *et al.*, 2008).

Em decorrência de fatores climático, ambientais e de limitações das reservas petrolíferas, os biocombustíveis vem se destacando por serem renováveis biodegradáveis e ambientalmente corretos, apresentando, portanto, diversas vantagens em relação aos combustíveis derivados de petróleo. A utilização dos derivados dos combustíveis fósseis libera na atmosfera, fuligem e gases tóxicos dos quais pode-se citar monóxido de carbono, óxido de enxofre e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (CALAND *et al.*, 2012).

Devido à sua grande extensão territorial e excelentes condições climáticas, o Brasil é um dos países mais propícios para a produção de biomassa para fins energéticos. No país, já são cultivadas diversas espécies oleaginosas que possuem potencial para serem utilizadas como matérias-primas na produção de biodiesel, tais como soja, mamona, babaçu, girassol, dendê, pequi, etc. No Brasil, além do etanol, o biodiesel é um dos biocombustíveis mais produzidos e comercializados (ANDRADE *et al.*, 2016).

Entretanto, para garantir a qualidade ambiental, de combustão e segurança no transporte e manuseio, o biodiesel necessita estar de acordo com as especificações de parâmetros de qualidade contidas no Regulamento Técnico nº 3 de 2014 da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Várias análises são necessárias para determinar a qualidade do biodiesel, entre elas a determinação da viscosidade, composição de ácidos graxos, determinação da massa específica, número de cetano e determinação de alguns elementos provenientes da matéria prima ou do processo de produção e estocagem (LÔBO *et al.*, 2009).

A determinação de sódio no biodiesel é importante devido a facilidade desse metal reagir com ésteres ou ácido graxos livres e, assim, formarem sabões insolúveis causando entupimento dos filtros do motor ou formação de depósitos nos

bicos injetores. A concentração máxima estabelecida pela ANP, para Na + K é de 5 mg/kg. Além do sódio, também é necessária a determinação de cálcio, potássio e magnésio que também podem contribuir para formação de sabões (JESUS *et al.*, 2008; LÔBO *et al.*, 2009; RAMOS *et al.*, 2003).

A determinação de metais em combustíveis é importante para garantir a qualidade do produto e para o controle da poluição no ar, pois a presença dos mesmos reduz a eficiência dos reatores catalíticos no sistema de escape, aumentando a emissão de gases tóxicos. Desse modo, é oportuno que se apliquem métodos rápidos, simples e exatos na determinação desses analitos tanto para o biodiesel final quanto para sua matéria prima (GHISI *et al.*, 2011).

Assim como várias outras amostras, o biodiesel precisa passar por um pré-tratamento antes de ser submetido a algumas técnicas analíticas. O tratamento de amostras viscosas como as amostras de combustíveis, não é uma tarefa fácil. Por este motivo, todas as etapas de um tratamento de amostra devem ser cuidadosamente consideradas. Esta é provavelmente a fase mais crítica de uma análise, onde podem ocorrer muitos erros e o tempo necessário pode interferir diretamente no custo final da análise (CHAVES *et al.*, 2008; JESUS *et al.*, 2008; CALAND *et al.*, 2012).

Já existem vários métodos de tratamento de amostra que podem ser utilizados para determinação de metais em combustíveis, especialmente em biodiesel e óleos vegetais. Este trabalho propõe um estudo comparativo entre dois métodos de tratamento de amostras considerados rápidos e simples para determinação de sódio em biodiesel utilizando técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Chama.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Biodiesel

Os combustíveis derivados de petróleo ocupam lugar de destaque na obtenção de energia por nossa sociedade. Durante anos eles têm promovido o desenvolvimento das nações, junto com o carvão e o gás natural. Com a busca por fontes renováveis de energia, a utilização de combustíveis alternativos aos combustíveis derivados do petróleo tem se tornado uma realidade (ANP, 2014; JESUS *et al.*, 2008).

Rudolf Diesel, inventor do motor à combustão interna, foi o primeiro a fazer menção sobre o uso de óleos vegetais em motor diesel. As primeiras tentativas para utilização de óleos vegetais como combustível foi utilizando-o diretamente nos motores ou realizando misturas diesel/óleo. O uso direto do óleo ou das misturas, apresentou inconveniências que teve influência direta no funcionamento do motor. Entre os problemas causados estão, a queima incompleta, formação de depósitos de carbono, diminuição da eficiência de lubrificação e entupimento do sistema de injeção (PARENTE *et al.*, 2006; CALAND *et al.*, 2012).

No Brasil, o Conde Francisco Matarazzo foi o pioneiro a retirar o subproduto do grão de café. No início dos anos 60, as indústrias Matarazzo extraíram o óleo do café com a intenção de torná-lo comestível, no decorrer do processo houve a necessidade de lavagem, pois o mesmo possui componentes impróprios para o consumo humano. Essa lavagem foi realizada com álcool proveniente da cana de açúcar. A reação entre o óleo e o álcool teve como subprodutos a glicerina e o éster etílico conhecido como biodiesel. Estes resultados foram levados às indústrias automobilísticas no início dos anos 80, porém não houve total aceitação no Brasil o que levou os pesquisadores a apresentarem seus resultados fora do país. Como resultado dessas pesquisas, alguns processos de produção do biodiesel passaram a ser estudados e testados com maior interesse em outros países (DERMIBAS, 2009).

Atualmente, o desenvolvimento do biodiesel está sendo impulsionado pelo elevado preço do petróleo e a busca por uma alternativa viável para redução da poluição ambiental. Em alguns países, o investimento em pesquisas envolvendo biocombustíveis está ligado à busca da auto-suficiência de energia e também como

uma saída para superar crises econômicas e as limitações das fontes petrolíferas (CALAND *et al.*, 2012; SUARES e MENEGHETTI, 2007).

No mundo, já são 21 países que utilizam o biodiesel como combustível e 11 países que estão em fase de implantação em seus programas. Estima-se que a produção em 2017 alcance um nível de 18,7 bilhões de litros. A maior parte do biodiesel produzido é a partir da soja, cerca de 80% da produção mundial. Ele apresenta vantagens importantes como a possibilidade real de substituir quase todos os derivados de petróleo sem modificações significativas no motor. Diante dessa e outras vantagens, o governo brasileiro tem estimulado a produção e comercialização do biodiesel, sendo o marco principal a publicação do Decreto Nº 5.448, em 20 de maio de 2005, que regulamenta a lei 11.097 de janeiro de 2005 (ANP, 2015; ANDRADE *et al.*, 2016; TÁVORA, 2011).

O Biodiesel é um combustível obtido a partir de óleos vegetais e gorduras animais. A definição adotada no âmbito do Programa Brasileiro de Biocombustíveis conceitua biodiesel como: mistura de ésteres alquílicos de ácidos graxos, obtidos da reação de transesterificação de qualquer triglicerídeo (óleos e gorduras) com álcool de cadeia curta (metanol ou etanol). O uso deste biocombustível, quando comparado ao uso dos combustíveis fósseis, apresenta vantagens tais como: menor emissão de poluentes, isenção de compostos aromáticos e caráter não tóxico. É evidente que a utilização do biodiesel representa uma oportunidade tecnológica extremamente importante, tendo em vista a abundância de recursos naturais e a diversidade de oferta de matéria-prima nas regiões do Brasil (LÔBO *et al.*, 2009; CHAVES *et al.*, 2008; ANP, 2008; NÓBREGA *et al.*, 2006).

Em 2008, a justiça determinou o uso obrigatório de 2% de biodiesel no diesel, em julho do mesmo ano essa porcentagem passou a ser de 4% (DANTAS *et al.*, 2011). Atualmente existe uma proposta para que até 2018 seja determinado o uso de 8% na mistura de biodiesel ao diesel.

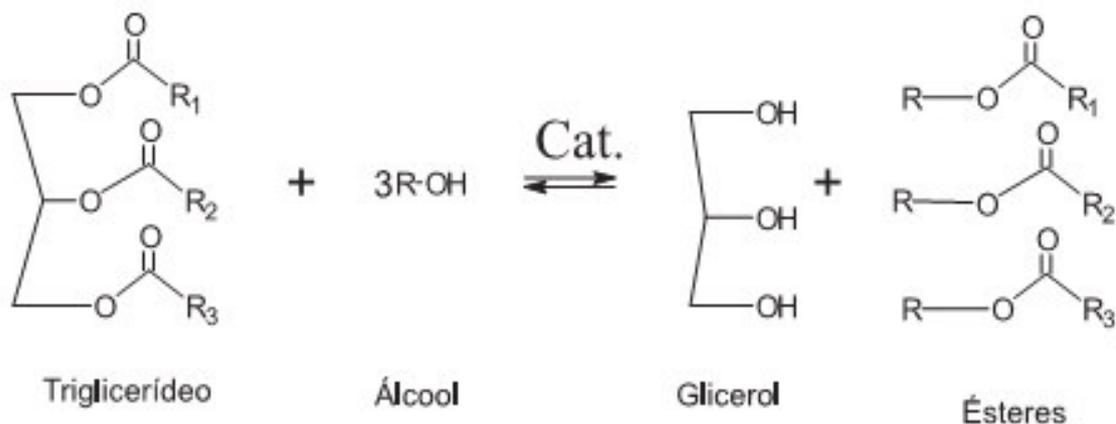
O biodiesel apresenta-se como uma alternativa de produção de energia descentralizada. Apesar das vantagens ambientais em relação aos combustíveis mais utilizados, ele ainda não se consolidou como um produto realmente sustentável e economicamente competitivo (ANDRADE *et al.*, 2016).

2.2 Obtenção do biodiesel

Das várias metodologias descritas na literatura para a obtenção do biodiesel, o processo mais utilizado ainda é a transesterificação de óleos vegetais. A maioria dos óleos in natura é inadequada para o uso direto no motor, a reação de transesterificação reduz a viscosidade do óleo e o biodiesel produzido possui características bem próximas às do diesel mineral tornando-o adequado para o uso como combustível. Já as características físicas dos ésteres de ácidos graxos são muito próximas das características do diesel (GERIS *et al.*, 2007).

Na reação ocorre a quebra da molécula dos triglicerídeos, gerando uma mistura de ésteres metílicos ou etílicos dos ácidos graxos presentes no óleo, liberando o glicerol como subproduto. Logo a transesterificação é apenas a separação entre o biodiesel e a glicerina. O mecanismo da reação está representado na Figura 1. A presença de um catalisador ácido ou básico acelera essa quebra e aumenta consideravelmente o rendimento da reação. Este processo relativamente simples reduz a massa molecular dos triglicerídeos como também reduz a viscosidade e aumenta a volatilidade (GERIS *et al.*, 2007; CRUZ, 2009).

Figura 1 - Reação de transesterificação de triglicerídeo na presença de álcool



Fonte: KNOTHE, 2006.

Esse tipo de reação tem caráter reversível e por isso o álcool utilizado como agente transesterificante deve ser adicionado em excesso com a finalidade de aumentar o rendimento e melhorar o processo de separação do glicerol produzido. Vários fatores influenciam no rendimento da transesterificação como a temperatura

da reação, concentração e caráter ácido-base do catalisador utilizado. A ocorrência de reações secundárias torna impraticável a conversão total do triglicerídeo em uma única etapa reacional e a eliminação de sabões, produzidos por essas reações secundárias, excesso de catalisador e glicerol livre é possível através de etapas eficiente e repetitivas de lavagem (RAMOS *et al.*, 2003).

O metanol possui cadeia carbônica mais curta e por isso reage com maior rapidez com o óleo. Além disso, ele dissolve melhor o catalisador e proporciona a separação simultânea do glicerol. Embora o etanol seja proveniente de uma fonte renovável, o uso do etanol comercial retarda a reação devido à presença de água (4%-6%). Para minimizar este problema utiliza-se o etanol anidro, porém ele não é tão eficiente na separação da glicerina quanto o metanol. A síntese realizada em rota metálica é mais facilitada e a mais utilizada industrialmente (CRUZ, 2009; RAMOS *et al.*, 2003).

Os catalisadores utilizados na transesterificação podem ser ácidos ou básicos. Entre os catalisadores ácidos mais utilizados estão o ácido sulfúrico, ácido clorídrico e os ácidos sulfônicos. A reação por catálise ácida é mais lenta que a catálise alcalina, necessitando de condições mais elevadas de temperatura e pressão. Na presença de catalisadores alcalinos, a reação acontece com maior rapidez, pois apresentam maior seletividade e são menos corrosivos. O KOH e NaOH são utilizados com maior frequência devido ao seu baixo preço no mercado, sua eficiência e simplicidade. Existem ainda os catalisadores heterogêneos e as enzimas que são usadas como catalisadores e apresentam bons resultados e altos níveis de conversão (RAMOS *et al.*, 2003; FERRARI *et al.*, 2005).

2.3 Presença de metais em biodiesel

As especificações dos parâmetros de qualidade do Biodiesel estão contidas no Regulamento Técnico nº 3 de 2014 da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) que é parte integrante da Resolução ANP nº 45 de 2014. Um dos parâmetros críticos que é indicado como controle de qualidade para a comercialização e uso de biodiesel é a presença de metais. Os combustíveis podem ser contaminados por metais durante o processo de produção, pelo contato com equipamentos de refinamento ou de destilação, transporte, armazenamento ou pela

adição de alguns compostos metálicos com o objetivo de melhorar as características do produto final. No entanto, a não ser como aditivos, a presença de elementos metálicos é inapropriada, mesmo que seja em baixas concentrações, pois apresentam quase a mesma influência sobre a estabilidade e qualidade do biodiesel como em concentrações maiores (LÔBO *et al.*, 2009; KNHOTHE *et al.*, 2006; GHISI *et al.*, 2011; NOROUZI *et al.*, 2014).

A presença de metais além de aumentar o poder de corrosão, também aumenta a degradação nas propriedades de combustível. Outra propriedade que é influenciada diretamente pela presença de contaminantes metálicos é a estabilidade oxidativa, eles funcionam como catalisadores para a reação de oxidação do biodiesel. Este efeito está ligado ao tamanho da partícula, de modo que quanto menor maior será o efeito catalítico do metal, portanto, maior a degradação. A sua determinação é importante para garantir a qualidade do biodiesel e controlar a poluição devido à sua liberação na atmosfera (KNOTHE *et al.*, 2006; KAMINSKI e KURZYDLOWSKI, 2008; KNOTHE e DUNN, 2003; KNOTHE, 2007).

Os metais alcalinos como Na, K, Ca e Mg são incorporados durante o processo de produção, enquanto que o P, S e Zn estão presente na matéria prima. Ainda tem aqueles que são usados como aditivos ou podem está presente durante o armazenamento e transporte, como por exemplo: Si, Mn, Cr, Fe e Ni. A maioria desses contaminantes tem suas quantidades reguladas e fiscalizadas por normas técnicas (KNOTHE, 2007; SARINA *et al.*, 2009; LQBAL *et al.*, 2010).

2.4 Presença de sódio e potássio em biodiesel

A presença dos metais Na e K no biodiesel pode ocasionar a formação de sabões que, por consequência, causam o entupimento dos filtros dos motores. A remoção desses metais do produto final pode ser feita através da lavagem, com água, ou através da purificação realizada com resinas (JESUS *et al.*, 2008). A contaminação desses metais no biodiesel é proveniente do uso de hidróxidos, como catalisadores, na reação de transesterificação. A catálise alcalina é preferível, pois o rendimento da reação é elevado mesmo sob condições moderadas de pressão atmosférica e temperaturas abaixo de 60°C, além de ser mais rápida quando comparada à reação utilizando catálise homogênea ácida. Outro fator que favorece

a catálise alcalina é que os catalisadores são facilmente manipuláveis e menos corrosivos (CALAND *et al.*, 2008). A concentração máxima estabelecida pela ANP, para Na + K é de 5 mg/kg. Assim, o controle da concentração destes elementos metálicos presentes, no biodiesel é oportuno, tanto do ponto de vista ambiental como para o bom funcionamento do motor (CHAVES *et al.*, 2008).

2.5 Técnicas empregadas para determinação de metais em biodiesel

Geralmente as técnicas usadas na determinação de metais em biocombustíveis são as técnicas espectroanalíticas. Segundo a norma brasileira ABNT a metodologia para determinações de sódio em Biodiesel segue as normas NBR de números 15553, 15554 e 15556. As técnicas analíticas que são recomendadas pelas normas oficiais são baseadas em Espectrometria de Absorção Atômica e têm mostrado resultados satisfatórios e de alta confiabilidade (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Os métodos espectroscópicos podem detectar quantidades que vão de partes por milhão a partes por bilhão, além disso, são rápidos e de alta seletividade (SKOOG *et al.*, 2006).

Além da Espectrometria de Absorção Atômica com Chama que é recomendada tanto pelas normas brasileiras quanto pelas normas europeias, as principais técnicas que foram aplicadas e também mostraram resultados satisfatórios são: Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite (GF AAS), Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES), Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP MS) e Espectrometria de Emissão Atômica com Chama (F AES). Estas técnicas podem ser utilizadas para determinação de vários metais (JESUA *et al.*, 2008; CALAND *et al.*, 2012).

A Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS) fornece um meio sensível de determinação para cerca de 60 a 70 elementos. A maior limitação da FAAS está na sua natureza monoelementar, ou seja, apenas um analito por análise pode ser avaliado. Essa característica se deve ao fato da necessidade de uma lâmpada diferente para cada elemento, as mais comuns são as lâmpadas de cátodo oco. Após o tratamento da amostra, para se tornar compatível com a técnica, ela é aspirada através de um nebulizador na forma de aerosol e introduzida na chama que

funciona como atomizador onde o solvente é evaporado e o analito fica na sua forma atômica ou iônica. A chama pode ser ar/acetileno ou N_2O /acetileno e a quantificação baseia-se na medida da absorvância, que é proporcional à quantidade do elemento que atravessa o caminho óptico. A concentração do analito na amostra é obtida por comparação com as absorvâncias resultantes de soluções padrão de calibração, que podem ser de origem inorgânica ou organometálica, obedecendo aos princípios da lei de Lambert-Beer. O primeiro espectrômetro de absorção atômica foi introduzido no mercado em 1959 e, depois disso, o uso da técnica passou a crescer mais rápido (JESUS *et al.*, 2008; CHAVES *et al.*, 2008; SKOOG *et al.*, 2006). A técnica de calibração do equipamento requer maior atenção, pois a FAAS está sujeita a algumas interferências não-espectrais, podendo resultar em medidas errôneas de absorvâncias (BORGES *et al.*, 2005).

Os atomizadores eletrotérmicos usados na absorção atômica apareceram no mercado por volta de 1970 e de forma geral forneceram um aumento de sensibilidade nas análises, considerando que toda a amostra é atomizada em um curto intervalo de tempo e o tempo de permanência média dos átomos no caminho óptico é de 1 segundo ou mais (GHISI *et al.*, 2011).

Na Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite (GFAAS), a amostra é introduzida em um forno de grafite através de um orifício no forno com auxílio de um amostrador automático, ou feita manualmente com o auxílio de uma micropipeta. Dentro do forno de grafite a amostra é submetida a um programa de temperatura para a eliminação da matriz e posterior atomização, que geralmente ocorre em três estágios, levando-se em conta as propriedades do analito e do tipo de amostra empregada. O que significa que não são diluídas tanto como estaria em um plasma ou em uma chama (GHISI *et al.*, 2011; SKOOG *et al.*, 2006; CURTIUS e FIEDLER, 2002). O desenvolvimento de atomizadores de grafite aumentou a sensibilidade de 2 a 3 ordens de grandezas quando comparada com a sensibilidade da chama. A Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite (GFAAS) é menos suscetível a interferências físicas na introdução da amostra, porém sua velocidade analítica é menor que a velocidade da FAAS (JESUA *et al.*, 2008; GHISI *et al.*, 2011; LEGGLI, 2011).

Espectrometria de Emissão ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) é uma técnica multielementar e baseia-se na medida do sinal de radiação

emitidas por átomos ou íons excitados em um plasma de argônio gerado por aquecimento indutivo em um campo eletromagnético de alta frequência. Esta técnica é empregada na determinação de constituintes majoritários e traços de metais em amostras de águas e efluentes e também na determinação de constituintes inorgânicos em produtos de petróleo, em biocombustíveis, em alimentos, em amostras geológicas, biológicas e no controle de qualidade industrial. A Espectrometria de Emissão ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) tem-se tornado a fonte espectroscópica de emissão mais utilizada. Seu sucesso é devido à sua alta estabilidade, baixo ruído, baixa intensidade de emissão de fundo e imunidade a muitos tipos de interferências. O plasma alcança temperaturas de 5500 a 10000 K, essa condição possibilita a vaporização completa do analito e uma alta eficiência de excitação e atomização. O inconveniente relacionado a esta técnica é que o equipamento de ICP OES é relativamente caro para se adquirir e exige treinamento prévio para operar (SKOOG *et al.*, 2006; CHAVES *et al.*, 2010).

A Espectrometria de Massa com Plasma acoplado Indutivamente (ICP MS) é uma técnica analítica relativamente nova, se comparada com os métodos descritos acima. A técnica de ICPMS tem como principal vantagem a possibilidade de analisar vários elementos em sequência rápida aliada à alta sensibilidade. A técnica combina a alta energia do plasma com o quadrupolo do espectrômetro de massa, na configuração mais usual, obtendo-se assim um analisador isotópico e elementar em um mesmo instrumento, no final cerca de 90 % dos elementos podem ser determinados com limites de detecção na ordem de 0,001 a 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$, a amostra é aspirada utilizando a nebulização pneumática. O plasma é formado por um gás ionizado e elétrons livres, gerados por descarga elétrica e mantidos por uma bobina de radiofrequência que produz um campo eletromagnético. A amostra é introduzida na tocha, à pressão atmosférica, junto com o fluxo de gás, o gás mais usado geralmente é o argônio, onde é formado o plasma. As amostras são normalmente aspiradas sob a forma de solução líquida e introduzidas no plasma na forma de aerossol. No plasma ocorre a vaporização, decomposição, atomização, excitação e a ionização dos átomos dos analitos, predominantemente como íons monovalentes (CHAVES *et al.*, 2008; VANHAECKE, 2002).

A Espectrometria de Emissão Atômica com Chama (F AES) tem como base o princípio no qual os átomos, quando estão excitados, perdem energia pela emissão de fótons em uma frequência característica. Esta frequência pode ser utilizada para

identificar os elementos presentes em uma amostra, por que os comprimentos de onda dos fótons emitidos são específicos para cada elemento químico. A intensidade de emissão, em determinadas condições, é proporcional à quantidade do elemento que está presente na amostra. Uma das limitações da técnica está ligada ao fato de que a emissão de outros elementos presentes na amostra e sinais de fundo podem eventualmente causar interferência espectral sobre o sinal do analito (OKUMURA e CAVALHEIRO, 2004). A faixa analítica de trabalho compreende comprimentos de onda desde 160 nm até 850 nm aproximadamente. A F AES é usada principalmente para análise de amostras líquidas ou digeridas. A introdução da amostra é realizada através de um sistema de nebulização. Apresenta ainda uma boa sensibilidade, principalmente para determinação de metais alcalinos. A interferência resultante da ionização é frequentemente minimizada através da adição, em excesso, de um elemento facilmente ionizável, tal como o cério, utilizado como supressor de ionização (CHAVES *et al.*, 2010; OKUMURA e CAVALHEIRO, 2004).

2.6 Métodos de preparo de amostras

A análise direta de combustíveis não é uma tarefa simples, devido a sua alta volatilidade, corrosividade e imiscibilidade em água. A determinação de metais em combustíveis é difícil e requer um cuidado especial no preparo da amostra devido à alta complexidade da matriz. Assim, vários procedimentos de preparo de amostras ou métodos de extração para o biodiesel têm sido estudados e empregados durante esses últimos anos (KORN, 2007; RIBANI *et al.*, 2004).

A amostra deve ser convertida para uma forma que seja compatível com a técnica e o instrumento utilizado, além disso, é importante que possibilite o emprego de uma calibração simples e eficiente. Por este motivo, todas as etapas de um pré-tratamento de amostra devem ser cuidadosamente consideradas. Entre os vários fatores a ser considerados na escolha da metodologia a ser usada, estão: natureza da amostra, técnica analítica a ser utilizada, precisão, o analito a ser determinados, concentração dos contaminantes e custo da análise (CHAVES *et al.*, 2008; KORN, 2007).

O procedimento de preparo de amostra para determinação de sódio em biodiesel, recomendado pela legislação brasileira e internacional é a dissolução da amostra em xileno ou ciclohexano, seguido de determinação por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS) ou por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES). No entanto, é necessário um cuidado especial com a manipulação, transporte e armazenamento de solventes orgânicos devido a sua toxicidade, corrosividade, volatilidade e inflamabilidade. O xileno é um solvente tóxico, não-miscível com a água, volátil e exige o uso de padrões organometálicos para calibração. Além disso, ele é um solvente que também contribui na formação de resíduos no interior do nebulizador e do queimador do equipamento (RAMADHAS *et al.*, 2004; RAPOSO *et al.*, 2015; ABNT NBR 15553, 2008; SANTOS *et al.*, 2012).

Atualmente, já existem vários métodos alternativos de preparo de amostra que podem ser utilizados para determinação de metais em combustíveis, especialmente em biodiesel e óleos vegetais, como a conversão da amostra em uma emulsão ou microemulsão, diluição com solvente orgânico, digestão e extração da espécie de interesse. Estes métodos alternativos são relativamente simples, rápidos e estão de acordo com os princípios da Química Verde (JESUS *et al.*, 2008; CALAND *et al.*, 2012; GHISI *et al.*, 2011; BARROS *et al.*, 2012).

2.6.1 Emulsão e Microemulsão

De acordo com a IUPAC, a emulsão é definida como um sistema de fluidos coloidal em que gotas líquidas ou cristais líquidos estão dispersos em um líquido. Este sistema é formado pela agitação mecânica dos componentes e resulta em sistemas que apresentam baixa estabilidade, pois após um curto período de tempo, as fases voltam a se separar (JESUS *et al.*, 2008; CALAND *et al.*, 2012; MENDONÇA *et al.*, 2003).

Microemulsões são sistemas de água, óleo e moléculas anfifílicas que formam uma única solução líquida, são termodinamicamente estáveis e opticamente homogêneas. Sistemas microemulsionados, em função da sua composição química, apresentam uma grande diversidade estrutural e são constituídos de microgotículas

dispersas e dinâmicas, que possuem diâmetro variando entre 5 - 100 nm (BEMERT *et al.*, 2009).

Chaves *et al.*, 2008 desenvolveram um método de pré-tratamento para amostras de diesel e biodiesel usando a formação de emulsão para determinação de Ca, Cu, Fe, Mn e V, a técnica utilizada para as determinações foi ETV ICPMS. O preparo da emulsão consistiu em misturar 1,0 g da amostra de óleo diesel ou biodiesel, 2,0 mL de uma solução de Triton X-100 5% m/v, 0,5 ml de HNO₃, água deionizada até completar um volume final de 10 mL e depois submetida a um banho ultrassônico por 20 minutos. A precisão do método foi verificada por meio de testes de recuperação que ficaram entre 80 e 120% e comparação dos resultados com os obtidos por GF AAS. Os valores de limite de detecção foram da ordem de ng g⁻¹.

Raposo *et al.*, 2015. também usaram a emulsão como preparo de amostra para a determinação simultânea de Na, K e Ca em biodiesel por espectrometria de emissão atômica com chama. Dois procedimentos foram utilizados para a preparação da amostra de biodiesel: diluição direta com querosene e emulsificação amostra com HNO₃, *n*-butanol e Triton X-100. Os resultados apresentaram boa linearidade, os limites de quantificação de 0,05 e 0,02 mg kg⁻¹ de Na e K, respectivamente, utilizando emulsificação e diluição com querosene. Para Ca, o limite de quantificação foi de 0,2 e 1,0 mg.kg⁻¹, aplicando diluição em querosene e emulsão, respectivamente. Os testes de recuperação que foram realizados ficaram entre 89 -108%.

Nunes *et al.*, 2011 avaliaram o uso da microemulsão como procedimento de preparação da amostra para determinação de Cu, Fe, Ni e Zn em amostras de óleos vegetais por Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Chama de Fonte Contínua (HR-CS FAAS). Uma massa de 0,5 g de amostra, foram adicionados 100 uL de HCl e propan-1-ol, a mistura resultante foi diluída com água deionizada para um volume final de 10 mL. A amostra foi agitada manualmente, resultando em um sistema visualmente homogêneo. Os limites de detecção foram de 0,12, 0,62, 0,58 e 0,12 mg kg⁻¹ de Cu, Fe, Ni e Zn, respectivamente. O desvio-padrão relativo (RSD) variou de 5% a 11% nas amostras inoculadas com 0,25 e 1,5 ug ml⁻¹ de cada metal, respectivamente. As recuperações variaram de 89% a 102%. O método foi aplicado nos óleos de soja, de oliva e girassol.

Jesus *et al.*, 2008 desenvolveram um método para a determinação de sódio e de potássio em biodiesel por FAAS utilizando microemulsão água em óleo como

preparo da amostra. A microemulsão foi obtida com a mistura de 57,6% de *n*-pentanol, 20% de biodiesel ou óleo vegetal, 14,4% de Triton X-100 e 8% de água. A estabilidade dos padrões e amostras aquosas microemulsionado foi investigada e verificou-se ser estável durante pelo menos 3 dias. Os limites de detecção foram de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,06 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. As recuperações variaram de 95% a 115% para o biodiesel e de 90% a 115% das amostras de óleos vegetais. A comparação entre os resultados obtidos para o biodiesel por ambos os métodos não apresentaram diferenças significativas no nível de confiança de 95% de acordo com um de Student *t*-test.

Lyra *et al.*, 2010 usam também a microemulsão como pré-tratamento de amostra para determinação de sódio, potássio, cálcio e magnésio em amostras de biodiesel por espectrometria de absorção atômica (FAAS). A microemulsão foi preparada sem surfactante misturando-se 10% (m/v) de biodiesel, 75% (v/v) de *n*-propanol, 1% (v/v) de HNO_3 concentrado e 14% (v/v) de solução aquosa formada pela 0,2% (v/v) de supressor de ionização. As curvas analíticas foram obtidas utilizando soluções padrão organometálicos. Os limites de detecção encontrados para a metodologia proposta foram de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$, $0,01 \mu\text{g g}^{-1}$, $0,04 \mu\text{g g}^{-1}$, e $0,004 \mu\text{g g}^{-1}$ para Na, K, Ca e Mg, respectivamente. Os testes de recuperação que foram realizados ficaram entre 89% -103%.

Apesar da simplicidade do preparo de amostra desenvolvidos pelos trabalhos citados acima, baseado na formação de emulsão ou microemulsão, o uso de *n*-butanol, Triton X-100 e *n*-pentanol, exige maior cuidado na manipulação devido à sua toxicidade e inflamabilidade. Além disso, uma das desvantagens da emulsão é a baixa estabilidade físico-química. A estabilidade destes sistemas é influenciada por uma série de variáveis tais como a natureza química e as quantidades relativas dos componentes, bem como a técnica utilizada para misturar os componentes.

2.6.2 Diluição com solvente orgânico

O método de diluição direta usando solventes orgânicos vem sendo muito utilizado devido à praticidade e rapidez quando usados no pré-tratamento de amostras de biodiesel e de óleo.

Ghisi et al., 2011 fizeram um estudo envolvendo o uso de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) e biodiesel com o objetivo de propor um procedimento de tratamento de amostra alternativo e rápido para determinação de Cu e Fe usando Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (ETAAS). Uma alíquota de 500 mg de amostra de biodiesel foi simplesmente misturada com 500 μL de TMAH 25%(m/v) em metanol e o volume completado para 5 mL com água após o aquecimento a 90 °C durante 5 min. A calibração foi realizada com soluções padrão aquosas na presença de TMAH. Os limites de detecção na amostra, foram de 15 ng.g^{-1} e 24 ng.g^{-1} de Cu e Fe, respectivamente. A amostra de biodiesel obtida a partir do nabo forrageiro mostrou-se rica nos analitos quando comparadas com as outras amostras. Embora, sete amostras de biodiesel tenham sido analisadas, a técnica analítica utilizada foi diferente e a determinação de sódio não foi realizada neste trabalho.

Santos et al., 2007 determinaram simultaneamente de Ca, P, Mg, K e Na em biodiesel pela espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com vista axial. Usaram um simples e rápido preparo de amostra apenas diluindo em etanol. Uma massa de 2,5 g da amostra foi diluída, completando o volume para 25 mL com etanol, após a adição de 2 mg mL^{-1} Y (III). Os limites de detecção obtidos, em $\mu\text{g g}^{-1}$ foram: 0,03, 0,5, 0,005, 0,3 e 0,1 para Ca, P, Mg, K e Na, respectivamente. A metodologia proposta foi aplicada em amostras de biodiesel produzido a partir de matérias-primas diferentes, tais como óleo de soja, óleo de rícino, algodão e gordura animal. A calibração foi realizada com soluções padrão em etanol. Todas as recuperações foram no intervalo de 82-114% para todos as espécies de interesse.

Magalhães *et al.*, 2014 apresentam outro método alternativo baseado na diluição em solvente orgânico para a determinação de sódio, potássio, cálcio e magnésio em biodiesel por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Utilizaram diluição direta em etanol para preparação de amostras. O ajuste da viscosidade das soluções foi conseguido utilizando amostras de biodiesel lavado, livre dos analitos. As curvas analíticas mostraram coeficientes de correlação linear maior que 0,99, e não houve influência da matriz na quantificação das espécies analisadas. Os limites de detecção e quantificação 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 percentagens de recuperação estavam na faixa de 99-114%, com desvios padrão relativo (RSD)

inferior a 15%. Os resultados sugerem que a dissolução etanol pode ser utilizada como um método alternativo de preparação de amostras para determinação de Na, K, Ca, Mg e em amostras de biodiesel por FAAS.

O uso de solventes orgânicos sugeridos pelos trabalhos que foram citados apresenta maior risco e exige maior cuidado do analista durante a manipulação. Outro inconveniente é que na maioria das vezes há a necessidade do uso de padrões de origem organometálica no preparo das soluções de calibração. Podem ocorrer também alterações significativas na viscosidade da solução final o que exige otimizações nas quantidades de reagente que serão utilizadas a fim de tornar a solução compatível com a técnica escolhida para realização das análises. O uso de alcoóis no preparo de amostras exige otimizações nos parâmetros instrumentais, principalmente nos equipamentos que utilizam a chama como atomizador. A presença do álcool pode aumentar a temperatura da chama e causar a ionização do analito interferindo no sinal analítico.

2.6.3 Digestão

Os métodos que usam a digestão para pré-tratar a amostra se baseiam na digestão da amostra com ácidos inorgânicos em altas temperaturas que podem ser feitas em chapas ou blocos de aquecimento em frasco aberto ou fechado. Na maioria dos casos, após a digestão, as espécies de interesse são dissolvidas em água tornando a solução final compatível com várias técnicas (CALAND *et al.*, 2012; DUYCK *et al.*, 2007).

Oliveira *et al.*, 2009 usam como método para a determinação de sódio em biodiesel por espectrometria de emissão atômica de chama (FAES), a digestão a seco para a preparação da amostra. Foram avaliados dois métodos de calibração para a quantificação de sódio: a adição padrão e o padrão externo. Em ambos os casos, não foram observados efeitos de matriz significativos ou perda de sensibilidade. Os limites de detecção e limite de quantificação foram de 1,3 e 4,3 mg.kg^{-1} de Na, respectivamente. O método de precisão foi verificado por meio de testes de adição e recuperação e os resultados variaram de 93% a 110%. Os desvios padrão relativos dos resultados foram menos do que 4,0% em todos os casos.

Korn *et al.*, 2010 avaliam a eficiência de dois procedimentos para a digestão de biodiesel para a determinação simultânea de Ca, P, Mg, K e Na por ICPOES. Na digestão em frasco aberto com o aquecimento convencional, os ácidos nítrico e sulfúrico concentrados foram adicionados às amostras, e a adição de peróxido de hidrogênio concluiu a digestão. Na digestão em frasco fechado no forno de microondas, a completa digestão foi realizada usando ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio. As quantidades de carbono residual para as amostras de biodiesel digeridas foram de $0,358 \pm 0,012\%$, utilizando a digestão em frasco aberto com o aquecimento convencional e $0,614 \pm 0,023\%$, utilizando digestão em frasco fechado assistida por micro-ondas, o que demonstra a elevada eficiência de ambos os processos propostos. O procedimento de decomposição assistida por microondas otimizado produziu os resultados analíticos, mais seguros e precisos mais rápidos com recuperação de 89,0-103,0% e desvios inferiores a 5% na maioria dos casos. Em comparação com outros processos propostos na literatura, o processo desenvolvido usando o sistema fechado, assistida por microondas, é vantajoso, visto que não exige soluções orgânicas padrão para calibração sem utilizar solventes orgânicos tóxicos.

Como desvantagens da digestão ácida estão o tempo relativamente longo de digestão das amostras, a degradação parcial ou total da amostra e o risco de perda de analitos. Pode ocorrer também a contaminação externa quando a digestão é realizada em bloco aberto.

2.6.4 Extração líquido-líquido do analito

Extração líquido-líquido, também é conhecida como extração solvente, é um método de separação de componentes, baseado nas suas solubilidades relativas em dois diferentes líquidos não miscíveis, normalmente água e um solvente orgânico. A Aparilhagem deve encontrar-se na posição vertical e permitir separação as fases (QUEIROZ *et al.*, 2001).

Caland *et al.*, 2012 propôs a extração líquido-líquido em meio ácido com aquecimento e ultra-som como pré-tratamento da amostra de biodiesel para determinação quantitativa de sódio, potássio, magnésio e cálcio por cromatografia iônica. Os limites de detecção para cada íon, em mg.kg^{-1} de biodiesel, foram

respectivamente: 0,11 (Na^+); 0,42 (K^+); 0,23 (Ca^{2+}); e 0,36 (Mg^{2+}). Para efeito de comparação, duas amostras também foram analisadas usando um procedimento de plasma indutivamente acoplado Espectrometria de Emissão Óptica (ICPOES).

Piovezan *et al.*, 2010 realizaram um método para a determinação de cátions inorgânicos (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) em amostras de biodiesel usando a técnica de electroforese capilar rápido, tendo o bário (Ba^{2+}) como padrão interno. A fim de obter as condições otimizadas para a extração, foi utilizado um planejamento experimental fatorial fracionário. As condições ótimas foram: 200 mg de biodiesel, o volume de extrator foi de 200 mL (10mmol L^{-1} de Imidazol e 40mmol L^{-1} , pH 4,2) e agitação de 20 min. O método é caracterizado por uma boa linearidade ($r > 0,999$) na faixa de trabalho de $0,5\text{-}20\text{ mg.kg}^{-1}$, limite de detecção foi igual a $0,3\text{ mg.kg}^{-1}$, os níveis de recuperação foram de 88,0-120%. O método desenvolvido foi aplicado com sucesso na determinação de cátions em amostras de biodiesel.

Existem poucos trabalhos disponíveis na literatura que utilizam a extração líquido-líquido ou extração ácida na determinação de metais e que empregam técnicas espectroanalíticas.

A simplicidade operacional, a exatidão e precisão dos métodos propostos nos trabalhos de Ghisi *et al.*, 2011 e Caland *et al.*, 2012, deram base para esta pesquisa por sugerir que ambos podem ser boas alternativas para se estudar e aplicar no preparo de amostras de biodiesel ou de outros combustíveis na determinação de metais. Assim, o objetivo principal deste trabalho foi de avaliar e comparar métodos de preparo de amostras de biodiesel, baseados em procedimentos de solubilização em meio alcalino usando TMAH 25% (m/v) em metanol e extração ácida com aquecimento usando HNO_3 $0,1\text{ mol.L}^{-1}$, pois são realizados em um curto período de tempo, além de utilizar quantidades mínimas de amostras e reagentes para determinação de sódio. Os métodos foram estudados e aplicados na determinação de sódio usando a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Chama.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Realizar um estudo comparativo entre dois métodos de preparo de amostra para determinação de Na em biodiesel por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Sintetizar o biodiesel a partir de oleaginosas diferentes.
- ✓ Otimizar os parâmetros necessários para a solubilização da amostra de biodiesel em solução de TMAH.
- ✓ Otimizar os parâmetros necessários para o uso da extração ácida com HNO_3 como preparo da amostra de biodiesel.
- ✓ Avaliar a sensibilidade, faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão do método proposto.
- ✓ Determinar as concentrações de Na em amostras de biodiesel empregando a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Limpeza dos materiais

Todos os materiais utilizados nos experimentos (vidrarias, frascos de polipropileno, ponteiras, pipetas, etc.) foram previamente lavados e deixados submersos em solução de Extran diluído a 10% (v/v) por 24 h. Após esse período, foram lavados com água destilada e, novamente submersos, porém, em solução de HNO₃ 10% (v/v) por no mínimo 48 h, posteriormente, retirados e lavados com água deionizada e armazenados.

4.2 Reagentes e soluções

Os reagentes químicos empregados foram de grau analítico (P.A.). Para a extração ácida foi utilizado HNO₃ 65%(v/v) suprapuro (Merck). Soluções padrão inorgânicas foram preparadas a partir de soluções estoque aquosas (1000 mg kg⁻¹) de Na e K (Grupo Química). A água deionizada apresentou uma resistividade de 18,2 MΩ.cm e foi obtida por um sistema Barnstead Nanopure™ (Thermo Scientific). Para o preparo dos catalisadores foi usado KOH (Neon), NaOH (Merck) e álcool metílico PA (Vetec). Para a solubilização alcalina do biodiesel, foi utilizada uma solução de hidróxido de tetrametilamonio (TMAH) 25% (m/v) em metanol (Sigma-Aldrich).

4.3 Instrumentação

As leituras das absorvâncias de sódio foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica AA- 700 Shimadzu, cedido pelo Núcleo Interinstitucional de Estudo e Geração de Novas Tecnologias – Projeto Geratec, UESPI. Como fonte de radiação foi utilizada lâmpada de cátodo oco de sódio. A linha de ressonância que foi utilizada nas análises, estabelecida no equipamento, foi a linha primária. Acetileno e gás comprimido foram usados como gás combustível e oxidante, respectivamente. As medidas dos sinais de intensidade de absorvâncias foram

baseadas na altura do pico de absorção. A Tabela 1 mostra os parâmetros instrumentais que foram ajustados de acordo com as recomendações do fabricante para cada análise.

Tabela 1. Parâmetros instrumentais utilizados para as análises de biodiesel

Parâmetro	Unidade
Analito	Sódio
Comprimento de onda (nm)	589,0
Largura da fenda (nm)	0,2
Corrente da lâmpada (mA)	10
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

4.4 Amostras

Uma das amostras de biodiesel utilizada neste trabalho foi fornecida pelo Laboratório de Análises e Pesquisa em Química Analítica de Petróleo e Biocombustíveis – LAPQAP/UFMA. As demais amostras de biodiesel utilizadas nas análises foram sintetizadas a partir de três óleos (milho, babaçu e soja) disponíveis no comércio local.

4.5 Procedimento

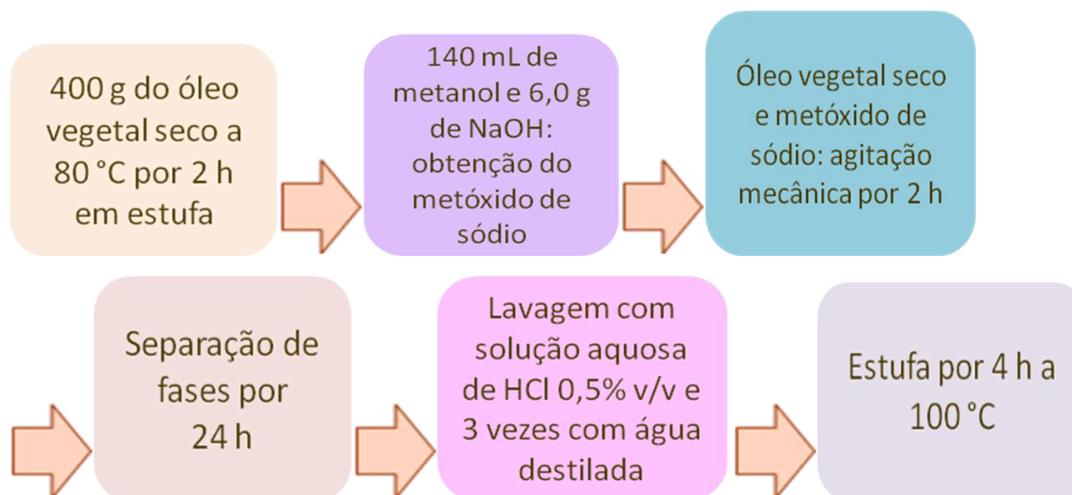
4.5.1 Síntese do biodiesel

As amostras foram sintetizadas por rota metílica e catálise básica homogênea. Foi utilizada uma massa de aproximadamente 400 g de óleo comercial em cada síntese. Para cada 100 g de óleo, foram utilizados 35 mL de metanol P.A. (Qhemis) e 1,5 g do catalisador hidróxido de sódio (Merck), com exceção do biodiesel de babaçu que foi sintetizado usando hidróxido de potássio (Neon) como catalisador. Para cada síntese, o óleo foi previamente seco em estufa durante 2 h a 80 °C. O metóxido de sódio (catalisador) foi obtido misturando-se o metanol com o

hidróxido de sódio, sob agitação magnética até a homogeneização completa. O mesmo procedimento foi utilizado para obtenção do hidróxido de potássio. O catalisador foi adicionado ao óleo seco, misturando-se por 2 h sob agitação constante em agitador mecânico.

Ao final da reação, a mistura passou por um período de repouso de aproximadamente 24 h para separação das fases. A glicerina (fase mais densa) foi retirada. O biodiesel foi submetido ao processo de lavagem, a primeira foi feita com solução aquosa de ácido clorídrico a 0,5% v/v (Merck) e as três posteriores foi feita com água deionizada a uma resistividade de 18,2 MΩ.cm. Em seguida, o biodiesel passou por um processo de secagem em estufa a 100 °C por aproximadamente 4 h. O fluxograma da Figura 2 mostra de forma simplificada a síntese do biodiesel.

Figura 2 - Fluxograma da síntese do biodiesel.



Fonte: Autoria própria.

4.5.2 Solubilização usando TMAH

A solubilização do biodiesel em meio alcalino, usando TMAH 25% (v/v) em metanol, foi realizada diretamente em frascos de polipropileno de 15 mL, com aquecimento em banho-maria. Para a otimização do tratamento das amostras, foi realizado um planejamento fatorial linear de 2³ com um ponto central e em duplicatas totalizando 18 amostras. A massa de biodiesel foi fixada em 0,5 g para todas as condições do planejamento multivariado.

4.5.3 Extração ácida

Para a extração ácida, uma massa de aproximadamente 1g de biodiesel foi pesada em frasco de polipropileno de 15 mL. O procedimento de extração foi desenvolvido adicionando 4 mL de solução de HNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ às massas pesadas previamente. A mistura foi agitada por 2 minutos no vórtex e aquecida em banho-maria a 70°C por 10 minutos. Após a separação das fases, a fase oleosa foi retirada utilizando papel filtro e descartada. A parte aquosa foi aferida com água deionizada até o volume final de 10 mL. Estas condições foram fixadas após a otimização univariada destes fatores.

O método de otimização univariada foi realizado para avaliar os fatores que podem afetar na eficiência da extração ácida de Na no biodiesel. Os fatores e intervalos estabelecidos para este planejamento encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Fatores e intervalos da otimização univariada para extração ácida com HNO_3

Tempo de agitação (s)	30 a 120
Temperatura ($^\circ\text{C}$)	25 a 70
Tempo de aquecimento (min.)	3 a 15
Concentração do HNO_3 (mol/L)	0,05 a 1,0

A massa de biodiesel adotada (1g) foi definida de modo que não ultrapassasse a proporção (biodiesel/volume final da amostra) adotada pela norma oficial ABNT NBR 15556:2008.

4.5.4 Faixa linear de trabalho

A faixa linear de trabalho foi definida com base nas curvas analíticas com padrões inorgânicos em meio aquoso com HNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Foi preparada uma solução estoque intermediária com concentração 10 mg.Kg^{-1} de sódio e a partir dela foram realizadas diluições para obter os seguintes níveis de concentrações: 0,8; 1,2; 1,6; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e $6,0 \text{ mg.Kg}^{-1}$. As curvas analíticas foram obtidas a partir da intensidade do sinal em função da concentração da espécie analisada.

4.6 Validação do método

A adequação do método para quantificação de sódio por extração ácida empregando a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Chama foi avaliada com base nos parâmetros estabelecidos: sensibilidade, exatidão, precisão, limites de detecção e quantificação. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados usando o desvio padrão da média aritmética das concentrações obtidas de dez leituras consecutivas do branco da amostra aplicando as seguintes equações:

$$LD = \frac{3*s}{b}$$

Equação 1

$$LQ = \frac{10*s}{b}$$

Equação 2

Onde s representa o desvio padrão de dez medidas do branco e b a inclinação da curva analítica (BRITO *et al.*, 2003).

A exatidão do método proposto foi avaliada através de testes de recuperação e foi determinada matematicamente segundo a recomendação da IUPAC e de acordo com a Equação 3.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100$$

Equação 3

Onde C_1 é a concentração encontrada na amostra adicionada de padrão, C_2 é a concentração inicial e C_3 é a concentração de padrão que foi adicionada. A concentração em que a espécie de interesse será adicionada na amostra é chamada de nível de fortificação (IUPAC, 1995).

A sensibilidade de um método é a capacidade de diferenciar, com determinado nível de confiança, concentrações próximas do analito em estudo. A sensibilidade pode ser determinada pelo coeficiente angular do gráfico da curva analítica (BRITO *et al.*, 2003).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados a seguir compreendem um estudo comparativo entre os dois métodos de pré-tratamento de amostra de biodiesel visando a determinação sódio usando a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS).

5.1 Planejamento Multivariado para determinação das condições de solubilidade da amostra em TMAH 25% (m/v) em metanol.

A solubilização em meio alcalino foi proposta por ser considerado um método simples, de baixo custo e por reduzir riscos de perda do analito, tendo como base a literatura. Neste trabalho, foi utilizado solução de TMAH 25%(m/v) em metanol. Na literatura encontram-se trabalhos com diferentes proporções de massa de amostras e volume de TMAH com matrizes diferentes. GHISI *et al.*, 2011 observaram que 1 μ L de TMAH 25% (m/v) em metanol para cada mg de biodiesel seria o suficiente para a solubilização do material.

O planejamento fatorial linear de 2^3 e um ponto central (feito em duplicata e em ordem aleatória) gerou informações relevantes sobre o mapeamento dos fatores que poderiam afetar a solubilidade da amostra. O aspecto físico da amostra foi adotado como resposta qualitativa para este planejamento. A partir das respostas do planejamento foram selecionadas as melhores condições de solubilização do biodiesel de soja com TMAH. Os níveis máximos e mínimos foram escolhidos com base no levantamento bibliográfico feito durante esta pesquisa. Na tabela 3 estão as variáveis estudadas e seus níveis de variação.

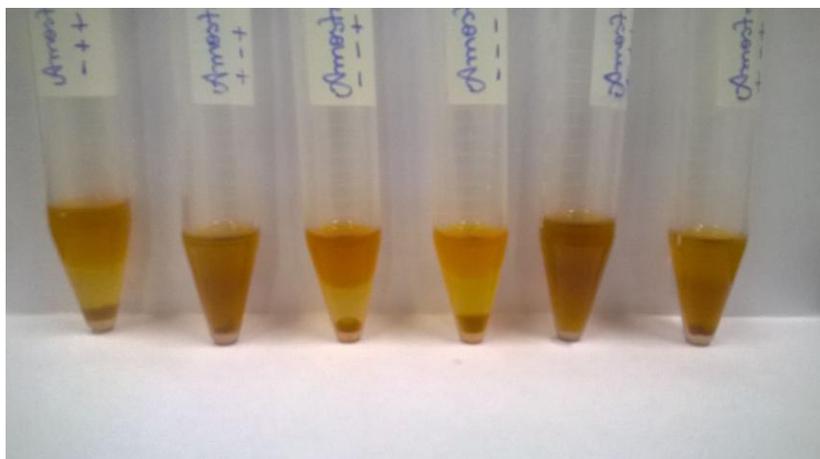
Tabela 3. Variáveis e níveis (máximos e mínimos) usados no planejamento multivariado para solubilização de amostras de biodiesel de soja com TMAH.

Replicatas	Temperatura de aquecimento (°C)	Volume de TMAH (μ L)	Tempo de aquecimento (min)
1	90	1000	5
1	90	1500	10

2	40	1500	5
1	40	1000	10
1	40	1000	5
1	90	1500	5
2(P.C.)	65	1250	7,5
1(P.C.)	65	1250	7,5
2	90	1000	5
1	40	1500	10
1	40	1500	5
2	90	1500	5
2	40	1500	10
1	90	1000	10
2	40	1000	10
2	40	1000	5
2	90	1500	10
2	90	1000	10

Optou-se por utilizar 1000 μL de solução TMAH 25% (m/v), temperatura de 90°C e 5 minutos de aquecimento em banho-maria, pois foram as melhores condições de solubilização geradas pelo planejamento, posteriormente as amostras foram avolumadas com água deionizada até completar 10 ml. A Figura 3 mostra algumas amostras de biodiesel de soja em diferentes condições de solubilização que foram geradas pelo planejamento multivariado.

Figura 3 - Aspecto das amostras de biodiesel obtidas pela solubilização com TMAH em diferentes condições geradas pelo planejamento multivariado



Fonte: Autoria própria

Com quantidades superiores de TMAH e baixas temperaturas observou-se que a solução ficava turva no momento em que a água era adicionada, além disso, mesmo com o acréscimo de um volume considerável de água, a solução final apresentou alta viscosidade, dificultando a aspiração da amostra pelo nebulizador e, assim, impedindo a análise no espectrômetro, ressaltando que esta limitação permaneceu mesmo com alterações na taxa de aspiração. Ainda que otimizadas as condições de solubilidade do biodiesel, a solução final após o preparo da amostra foi incompatível com a técnica de FAAS impossibilitando construção de uma curva de calibração usando TMAH nas soluções padrão.

Na tabela 4 estão destacados alguns trabalhos que utilizam o TMAH no preparo de amostras e as técnicas utilizadas na determinação dos metais.

Tabela 4. Aplicação de TMAH no preparo de amostras.

Amostra	Analito	Técnica	Observações	Refer.
Leite em pó, fígado e músculo bovino	Cd, Pb, Ni, Cr, Cu e Ag	GFAAS	Os limites de detecção obtidos para Cr, Ni, Ag, Pb e Cd eram piores do que os obtidos com um processo de digestão ácida por causa dos efeitos da matriz e impurezas na solução de TMAH.	MARTINS, P. et al. Anal. Chim. Acta, 470, 195, 2002 .
Cabelo humano	As, Cd, Ni, e Pb	GFAAS	Quando TMAH foi adicionado à solução de calibração, não foi obtida linearidade nas curvas de calibração analítica.	RIBEIRO, A. S. et al. Microchem. J., 64, 2000 .
Biodiesel	Cu e Fe	ETAAS	A técnica utilizada não requer a mineralização completa da amostra.	GHISI, M. et al. Microchemical Journal, 98, 62, 2011 .
Carne	Na, K, Mg e Zn	F AAS e F AES	A solução de TMAH utilizada foi em meio aquoso.	OLIZ, C. M. et al. Quim. Nova, 36, 972, 2013 .

A Tabela 4 mostra que a solubilização de amostras em TMAH pode ser uma alternativa às metodologias convencionais, porém, a utilização deste solvente tem algumas limitações e requer estudos aprofundados para as otimizações tanto nos parâmetros instrumentais quanto nas quantidades de reagentes.

Segundo Nóbrega *et al.*, 2006 também pode existir contaminação no TMAH dependendo do fabricante, produzindo altos valores de absorvância desde a solução em branco prejudicando, assim, a determinação em baixas concentrações da espécie analisada. Outra dificuldade ligada à utilização do TMAH está associada com a taxa de aspiração da amostra devido à viscosidade da solução final (como já foi citado), gerando possíveis erros no sinal de absorvância das amostras.

5.2 Otimização univariada para a determinação das condições de extração utilizando HNO_3 0,1 mol.L⁻¹.

A primeira parte desta fase do trabalho incluiu o levantamento bibliográfico para definir quais os fatores de maior relevância na extração ácida usando HNO_3 e a afinidade do sódio por este meio reacional, assim foi realizado uma otimização univariada para estudo dos fatores escolhidos e sua influência na análise.

Para a realização da otimização dos fatores, foi usado o biodiesel sintetizado a partir do óleo de soja. Os valores de absorvância obtidos podem ser observados na Tabela 5.

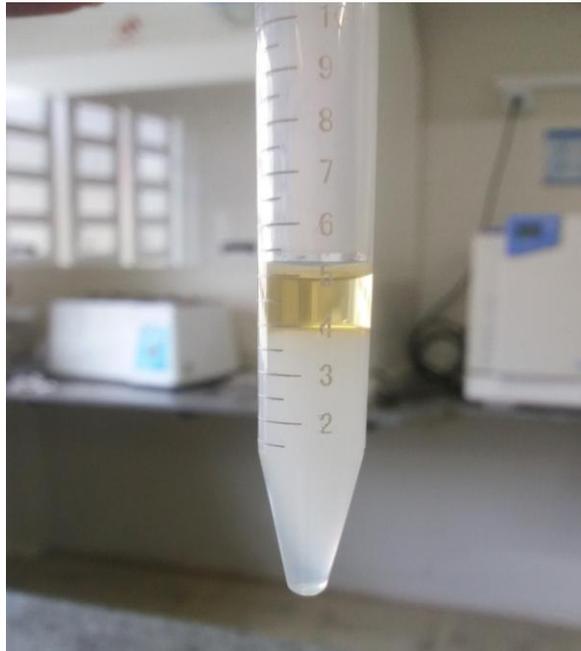
Tabela 5. Resultados gerados pelo método de otimização univariada

Fatores	Absorvância
2 minutos de agitação	0,8602
70 °C	0,8486
10 minutos de aquecimento	0,7817
HNO_3 0,1mol/L	0,7191

A escolha das melhores condições para cada fator avaliado foi baseada no maior sinal de absorvância obtido no espectrômetro para cada nível de variação. À medida que os níveis de um fator estavam variando, os outros permaneciam fixos em valores intermediários.

Os valores que no início foram mantidos fixos foram substituídos à medida que maiores valores de absorvância eram obtidos. Com o resultado da otimização optou-se por usar as seguintes condições: 2 minutos de agitação, 70°C, 10 minutos de aquecimento em banho-maria e HNO_3 0,1 mol.L⁻¹. A Figura 4 mostra o aspecto da amostra de biodiesel após ser submetida ao processo de extração ácida com aquecimento.

Figura 4 - Amostra de biodiesel de soja após o processo de extração ácida com aquecimento



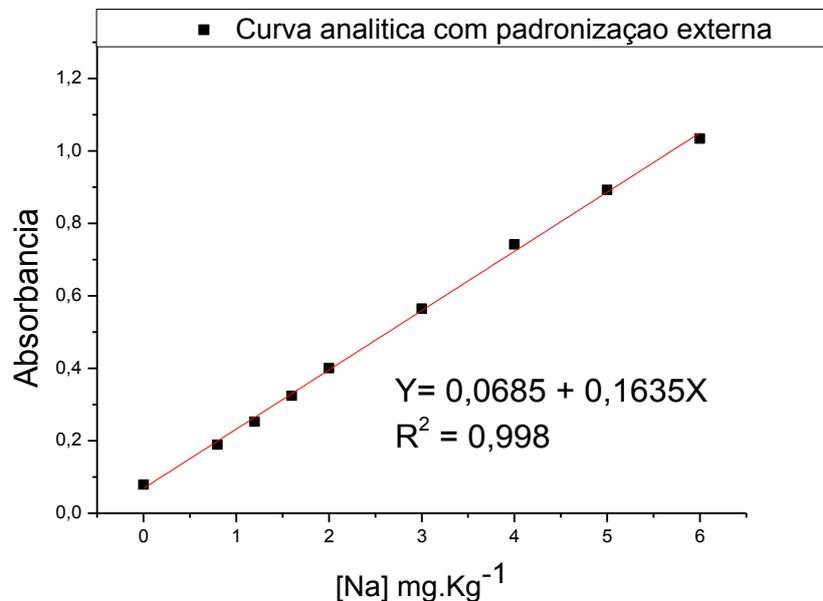
Fonte: Autoria própria

A extração líquido-líquido é um método usado para separar componentes, baseado nas suas solubilidades relativas em dois diferentes líquidos não miscíveis, normalmente um dos solventes envolvidos é um solvente orgânico (QUEIROZ *et al.*, 2001). O procedimento de extração ácida de sódio em biodiesel que é proposto neste trabalho é baseado no princípio da maior afinidade dos cátions inorgânicos, no caso o sódio, por um solvente polar, em comparação com a afinidade em um meio orgânico apolar como o biodiesel. A eficiência da extração depende da afinidade do soluto pelo solvente de extração, da razão das fases e do número de extrações. Com a otimização univariada foi possível escolher os fatores considerados de maior importância durante o preparo da amostra visando a melhor condição de extração do analito para posterior quantificação.

5.3 Curvas analíticas

O desempenho do método de extração foi avaliado pela determinação de sódio, em diferentes níveis de concentração. A primeira curva analítica foi feita com a solução extraída do biodiesel e submetida à calibração externa com solução padrão de origem inorgânica. A linearidade da curva na faixa de trabalho mostrou-se adequada e coerente com as concentrações das espécies quantificadas. Como pode ser observado na Figura 5.

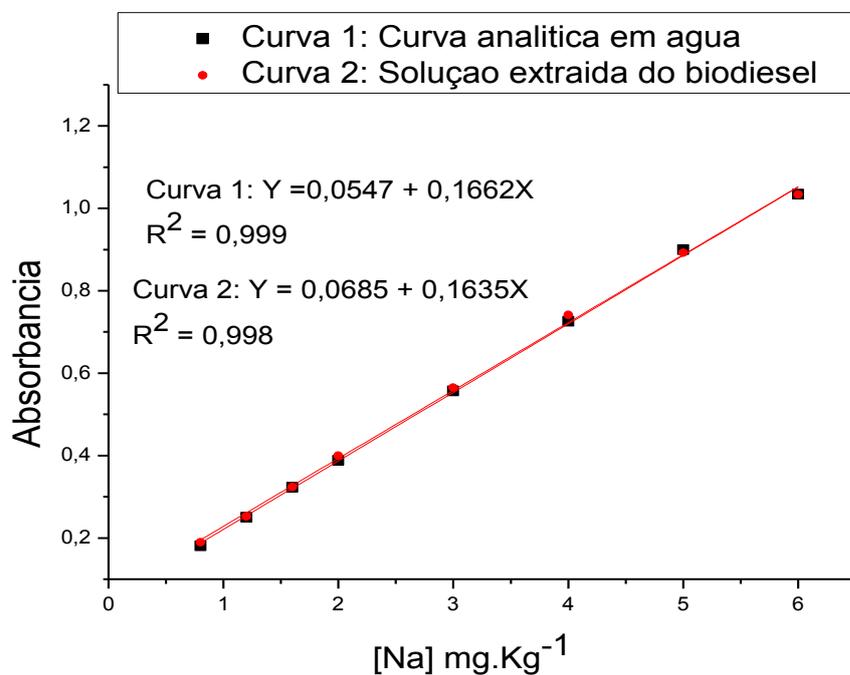
Figura 5 - Curva analítica construída com a solução aquosa extraída do biodiesel e com padronização externa



Em técnicas espectrométricas como a FAAS e a FAES podem ocorrer interferências de matriz que podem afetar o sinal analítico detectado pelo equipamento. Estas interferências são devidas principalmente pelas características físico-químicas da amostra como: viscosidade, tensão superficial, etc. e podem apresentar maior influência no processo de nebulização pneumática (CLASEN *et al.*, 2014). Para avaliar estes efeitos, outra curva analítica foi construída para fins de comparação com a primeira curva analítica (Figura 5) e avaliar se há efeito de matriz durante a determinação do sódio por FAAS. A segunda curva foi obtida com o uso de padrão externo (solução aquosa de referência) em água deionizada.

De acordo com os valores dos coeficientes angulares (sensibilidade) das curvas observou-se que não há diferença significativa entre as duas curvas e a sobreposição das mesmas que está apresentada na Figura 6 mostra isso claramente. Sendo assim, optou-se por utilizar a curva analítica na presença da matriz para a calibração do método durante todas as análises e para os cálculos das figuras de mérito. Quanto à taxa de aspiração da amostra não houve alteração significativa após a extração.

Figura 6 - Curvas analíticas para soluções aquosas e adição de padrão em amostras extraídas com HNO₃ 0,1 mol.L⁻¹



As curvas analíticas para sódio apresentam coeficientes de correlação aproximados ($R^2 = 0,999$ e $R^2 = 0,998$) indicando uma forte correlação entre o sinal analítico e a concentração de sódio. A faixa de trabalho escolhida inclui o limite máximo de concentração de sódio em biodiesel permitido pelas normas oficiais, tanto brasileiras quanto europeias (5 mg. Kg⁻¹). Com essa comparação foi observado que não há efeito de matriz que sejam significantes na determinação de sódio usando extração ácida.

As figuras de mérito como limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram feitas utilizando as medidas do branco da solução de calibração segundo

as Equações 1 e 2. A precisão do método foi avaliada através do cálculo do coeficiente de variação. Os valores encontrados são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6. Parâmetros analíticos obtidos a partir da curva analítica usando calibração externa

Amostra	Preparo da amostra	Faixa de trabalho (mg. Kg ⁻¹)	R ²	LD (mg.Kg ⁻¹)	LQ (mg. Kg ⁻¹)	D.P.	C.V. %	S
Biodiesel de soja	Extração ácida (biodiesel, HNO ₃ e água)	0,02 - 6,0	0,998	0,02	0,07	1,1.10 ⁻³	1,42	0,1635

O coeficiente de variação apresentou valor aceitável e dentro do limite determinado pela Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003 (ANVISA) que não admite valores acima de 15%. Os limites de detecção e quantificação também apresentaram valores aceitáveis e abaixo do valor máximo de concentração de 5 mg.Kg⁻¹ que é o valor permitido pela ANP.

5.4 Teste de Recuperação

Testes de recuperação foram realizados para avaliar a exatidão do método. As porcentagens de recuperação encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7. Concentrações obtidas para Na (mg.Kg⁻¹) nas amostras de biodiesel de soja após a adição de 1,0; 2,5 e 4,5 mg.Kg⁻¹ de solução padrão de sódio

Amostra	[Na] Inicial (mg.Kg ⁻¹)	[Na] adicionada (mg.Kg ⁻¹)	[Na] Obtida (mg.Kg ⁻¹)	Recuperação (%)
Biodiesel	0,1	1,0	1,2	110
Biodiesel	0,1	2,5	2,8	108
Biodiesel	0,1	4,5	4,7	102

Os testes foram feitos em três níveis de fortificações diferentes (1,0; 2,5; 4,5 mg.Kg⁻¹), mas que estão incluídos na faixa linear escolhida para este estudo, empregando a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama.

As concentrações obtidas para o teste de recuperação correspondem à média de cinco análises para cada nível de fortificação determinada. Considerando que as recuperações ficaram entre 102 e 110%, pode-se afirmar que exatidão do método é adequada para determinação de sódio em biodiesel.

5.5 Análise de Interferente

A presença de metais coexistentes numa matriz de amostra pode gerar interferências na quantificação do analito. Para avaliar este fato foi realizado um teste de interferência adicionando concentrações conhecidas de sódio e potássio na amostra. A concentração de sódio permaneceu fixa em 3 mg.Kg^{-1} , enquanto a concentração de potássio foi variada para se observar o quanto a coexistência desses metais, na mesma amostra, influenciaria no sinal de absorbância do sódio na presença de potássio. As absorbâncias referentes à determinação de sódio aumentam, assim também como o erro relativo, na medida em que a concentração de potássio aumenta em relação à concentração de sódio. A Tabela 8 mostra a variação nas proporções [Na]:[K] (mg.Kg^{-1}) e os sinais de absorbâncias que foram gerados.

Tabela 8. Absorbâncias obtidas nas amostras de biodiesel de soja na presença de diferentes concentrações de potássio

Proporção [Na]:[K] (mg.Kg^{-1})	Absorbância	Erro Relativo (%)
1:0	$0,5862 \pm 0,02$	-
1:0,5	$0,6011 \pm 0,04$	4,5
1:1	$0,6103 \pm 0,03$	6,5
1:2	$0,6291 \pm 0,01$	8,4

Essa interferência ocorre porque o potássio tem energia de ionização mais baixa que o sódio, assim o potássio é mais facilmente ionizável fornecendo elétrons que suprem a excitação dos átomos de sódio na chama. Por causa dessa competição entre ionização e excitação do átomo, é preferível realizar a determinação de metais alcalinos em temperaturas mais baixas como as temperaturas geradas pela chama ar/acetileno usada neste trabalho.

Outro fator a ser ressaltado é sobre as fontes de contaminação de sódio e potássio no biodiesel. Considerando que a principal fonte de contaminação é o uso de hidróxido desses metais como catalisadores durante a transesterificação, a possibilidade da concentração de potássio ser maior que a concentração de sódio será maior somente em caso de contaminação externa. Em condições normais a interferência do potássio na determinação de sódio será pequena.

5.6 Aplicação Analítica

Quatro amostras de biodiesel, obtidas de diferentes matérias-primas, foram analisadas, após a extração ácida usando HNO_3 $0,1 \text{ mol. L}^{-1}$ e calibração externa na presença deste reagente. Três amostras de biodiesel foram produzidas a partir de óleos de babaçu, milho, soja. A amostra que foi cedida pelo Laboratório de Análises e Pesquisa em Química Analítica de Petróleo e Biocombustíveis – LAPQAP/UFMA é uma amostra de biodiesel que tem os valores de concentração de sódio aceitos pelo Programa de Comparação Interlaboratorial em Biodiesel da ANP e foram determinados através do método de preparo que é proposto pela norma oficial. Os resultados obtidos (mg.Kg^{-1} , para $n=5$) foram calculados com base na equação gerada pela curva analítica com calibração externa mostrada na Figura 5. Os valores de concentração obtidos estão na Tabela 9.

Tabela 9. Concentrações obtidas nas amostras de biodiesel de babaçu, soja, milho e amostra interlaboratorial usando extração ácida como pré-tratamento da amostra

Amostra (biodiesel)	[Na] mg.Kg^{-1}	RSD (%)
Babaçu	0,25	0,2
Soja	0,12	2,2
Milho	0,34	2,5
Interlaboratorial (2014)	1,10	0,2

A variação nas concentrações de sódio que foram encontradas se deve aos diferentes tipos de matérias primas e ao catalisador utilizado durante a produção do biodiesel. O biodiesel de babaçu foi preparado usando KOH como catalisador e por isso a concentração de sódio encontrada foi mais baixa que a concentração

encontrada nas amostras de biodiesel de milho, soja e interlaboratorial que utilizaram o NaOH como catalisador durante a reação de transesterificação.

Outro teste também foi realizado na amostra de biodiesel cedida pelo Laboratório de Análises e Pesquisa em Química Analítica de Petróleo e Biocombustíveis – LAPQAP/UFMA para comparar o método proposto a partir da extração ácida com aquecimento usando HNO_3 0,1 mol. L^{-1} e a diluição em xileno proposta pela ABNT NBR 15556:2008.

Os valores de concentração encontrados para sódio usando a metodologia proposta pela ABNT NBR 15556 foram determinados por laboratórios diferentes e fazem parte do Programa de Comparação Interlaboratorial em Biodiesel da ANP e encontram-se no Relatório Preliminar – 12º Programa de Comparação Interlaboratorial em Biodiesel da ANP. Como mostra a Tabela 10.

Tabela 10. Concentrações obtidas nas amostras de biodiesel interlaboratorial usando como pré-tratamento da amostra a extração ácida e diluição em xileno

Amostra	Pré-tratamento	[Na] (mg.Kg⁻¹)	[Na] (mg.Kg⁻¹)	[Na] (mg.Kg⁻¹)	[Na] (mg.Kg⁻¹)	RSD (%)
Biodiesel	Extração ácida	1,2	1,0	1,1	1,1	0,7
Biodiesel	NBR 15556	1,2	1,0	1,1	0,9	0,8

A comparação entre os dois métodos de preparo da amostra de biodiesel mostrou que as concentrações e os valores de desvio padrão obtidos apresentaram valores bem próximos indicando que não há diferença significativa entre ambos.

Os resultados apresentados indicam que a utilização da extração ácida como preparo de amostra foi uma alternativa simples, de baixo custo e facilmente realizada para avaliação da qualidade do biodiesel em termos de concentração de sódio determinada por FAAS. O método proposto é isento de solventes orgânicos considerando que a solução ácida HNO_3 0,1 mol. L^{-1} foi o solvente usado como extrator. A extração da substância a analisar a partir do combustível é uma forma de preparo da amostra que combina as vantagens de separar a espécie a ser quantificada a partir da matriz, transferindo-a para uma fase aquosa. Além disso, a

FAAS é uma técnica que apresenta menores riscos ao analista, tempo reduzido entre as análises e pouco ruído no sinal analítico já que a fonte de radiação utilizada para as análises é específica para cada elemento.

6. CONCLUSÕES

Os biodieseis estudados nesta pesquisa foram sintetizados por rota metálica com catálise básica homogênea utilizando três oleaginosas diferentes: milho, babaçu e soja.

Não foi possível a quantificação de sódio em biodiesel através da técnica de FAAS usando a solubilização em TMAH como preparo de amostra. Mesmo após as tentativas de otimização das condições por meio do planejamento multivariado a viscosidade da solução final interferiu diretamente na aspiração.

As condições otimizadas para a extração ácida foram obtidas através do método de otimização univariada. A solução final apresentou baixa viscosidade, possibilitando a análise sem variações na taxa de aspiração, além de possibilitar o uso de soluções aquosas na curva de calibração do equipamento. Os resultados indicaram que 2 minutos de agitação, 70°C, 10 minutos de aquecimento em banho-maria e HNO_3 0,1 mol.L⁻¹ são as condições ótimas para extração de sódio em amostras de biodiesel.

Os limites de detecção e quantificação (0,02 e 0,07 mg.Kg⁻¹) apresentaram valores inferiores ao limite estabelecido pela norma oficial NBR 15556:2008. Os resultados de recuperação ficaram entre 102 e 110%, o que permitiu obtenção de bons resultados analíticos. O método apresentou boa linearidade no intervalo de 0,02 a 6,0 mg.Kg⁻¹. A precisão do método foi avaliada através do coeficiente de variação que teve um valor de 1,42%, abaixo do valor permitido pela ANVISA.

As amostras de biodiesel de soja, milho e babaçu foram analisadas com eficácia usando a extração ácida como método de preparo da amostra. Na comparação entre a extração ácida e a metodologia estabelecida na norma NBR 15556:2008, realizada com uma amostra de biodiesel interlaboratorial aceita pela ANP, foi observado que não houve diferença significativa entre os métodos. As determinações de sódio foram feitas por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama.

Assim, comparando a solubilização alcalina com TMAH e a extração ácida usando HNO_3 0,1 mol.L⁻¹ com aquecimento, o uso de ácido nítrico para extração de sódio em biodiesel mostrou-se mais eficiente. Além de ser uma alternativa rápida e viável, os resultados mostram a sensibilidade suficiente do método de extração ácida para a quantificação de sódio em biodiesel por F AAS.

REFERÊNCIAS

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

ANDRADE, L. I.; GHUIMARÃES, C. M. M.; GALVÃO, V. Rede de colaboração científica sobre oleaginosas envolvidas na produção do biodiesel. *Perspect. ciênc. inf.*, 21, 207-224, 2016.

ANP. Anuário estatístico do petróleo, gás natural e biocombustíveis: 2015. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Rio de Janeiro, 2015.

ANP - Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustível. Resolução nº. 7, de 19 de março de 2008 (DOU 20.3.2008). Regulamento Técnico nº 01/ 2008. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2008.

ANP. Resolução ANP nº 45, de 25 de agosto de 2014 - DOU 26.08.2014. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 2014. Disponível em: <http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2014/agosto/ranp%2045%20-%202014.xml>. Acesso em: 21 outubro 2014.

BARROS. A. I. et al. 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.

BEMERT, L.; ENGELSKIRCHEN, S.; SIMON, C. and STREY, R. Low emissions with microemulsionsfuels. *Prepr. Pap.-Am. Chem. Soc., Div. Fuel Chem.* 54, 290, 2009.

BORGES, D. L. G.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Fundamentos da Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua. *Revista Analytica*, 18: 58-67, 2005.

BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: Estratégia e Discussão. *Pesticidas: R. Ecotoxicol e Meio Ambiente*, 13, 129-146, 2003.

CALAND, L. B. de; CARDOSO, E. L.; 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. et al. Determination of Na and K in biodiesel by flame atomic emission spectrometry and microemulsion sample preparation. *J. Braz. Chem. Soc.*, 10(5), 856-861, 2008.

CHAVES, E. S. et al. 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. et al Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel e biodiesel sample by ETV ICP MS. *J. Environ Monit.*, 10(10), 1211-1216, 2008.

CLASEN, D. C. et al. Evaluation by atomic spectrometry of solubilization methods for the determination of metals in glycerin from biodiesel production. *Química Nova*, 5(8), 327-345, 2014.

CRUZ, Y.R. Combustíveis alternativos: Mistura de Etanol Anidro ao Óleo Diesel para Motores de Ciclo Diesel com Sistema de Injeção de Bomba Rotativa. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

CURTIUS, A.; FIEDLER, H. D. Meio ambiente e carvão, impactos da exploração e utilização. In: FEPAM. *Análise de metais e qualidade analítica*, 2002.

DANTAS, M. B. et al. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. *Fuel*, 90, 773-778, 2011.

DERMIBAS, A. Political, economic and environmental impacts of biofuels: A review. *Applied Energy*, 86, 108-S117, 2009.

DUYCK, C. et al. The determination of trace elements in crude oil and its heavy fractions by atomic spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectrometry*, 62(9), 939-951, 2007.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. D. S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja - Taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. *Química Nova*, 28, n. 1, 2005. 19-23.

GERIS, Regina et al. Reação de Transesterificação para Aulas Práticas de Química Orgânica. *Química Nova*, 30(05), 1369-1373, 2007.

GHISI, M. et al. Simple method for the determination of Cu and Fe by electrothermal atomic absorption spectrometry in biodiesel treated with tetramethylammonium hydroxide. *Microchemical Journal*, 98, 62-65, 2011.

IUPAC; HORWITZ, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies. *Pure & Appl. Chem.*, 67(2): 331-343, 1995.

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

KAMINSKI, J.; KURZYDLOWSKI, K. J. Use of impedance spectroscopy on testing corrosion resistance of carbon steel and stainless in water – biodiesel configuration. *Journal of Corrosion Measurements*, 6, 1-5, 2008.

KNOTHE, G.; DUNN, R. O. Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, 80(10), 1021-1026, 2003.

KNOTHE, Gerhard, et al. Manual do Biodiesel, São Paulo: Edgard Blucher, 1^o ed., 2006.

KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. Fuel Process, 24(8), 1681-1691, 2007.

KORN, M. Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels – A review. Talanta, 73(1), 1-11, 2007.

KORN, M. G. A. et al. 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(12), 2278-2284, 2010.

LEGLI, C. V. S. Flame and graphite furnace atomic absorption spectrometry for trace element determination in vegetable oils, margarine and butter after sample emulsification. Food Additives & Contaminants, 28(5), 640-648, 2011.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; DA CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. Química Nova, 32, n. 6, 1596-1608, 2009.

LQBAL, J. et al. Metals determination in biodiesel (b 100) by ICP OES with microwave assisted acid digestion. Open Anal. Chem. J., 4, 18-26, 2010.

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

MAGALHÃES, M. R. L. et al. Dissolution in ethanol as a sample preparation procedure for determination of metals in biodiesel by F AAS. Current Analytical Chemistry, 10, 166-171, 2014.

MENDONÇA, C. R. B.; BICA, C. I. D.; PIATNICKI, C. M. S. Water in soybean oil microemulsions as medium for electrochemical measurements. J. Braz. Chem. Soc., 14(4), 628-636, 2003.

NBR 15553/2008- Fat and oil derivatives, fatty acid methyl esters (FAMES) – determination of Ca, K, Mg and Na content by optical emission spectral analysis with inductively coupled plasma (ICP OES).

NÓBREGA, J. A. et al. Sample preparation in alkaline media- Review. Spectrochimica Acta Part B, 61, 465–495, 2006.

NOROUZI, S.; HAZERI, K.; WYSZYNSKI, L. M.; TSOLAKIS, A. Investigation on the effects of temperature, dissolved oxygen and water on corrosion behavior of aluminium and copper exposed to diesel-type liquid fuels. Fuel Processing, 128, 220-231, 2014.

NUNES, L.S. et al. Multielement determination of Cu, Fe, Ni and Zn content in vegetable oils samples by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry in a microemulsion sample preparation. *Food Chemistry*, 127, 780-783, 2011.

OKUMURA F., E. T. G.; CAVALHEIRO, J. A. Experimentos simples usando fotometria de chama para ensino de princípios de espectrometria atômica em cursos de química analítica, *Química Nova*, 27, 832-836, 2004.

OLIVEIRA, A. A.; NÓBREGA, J. A.; PEREIRA-FILHO, E. R. Avaliação de icp oes com configuração axial ou radial para determinação de iodo em sal de cozinha. *Quim. Nova*, 35(7), 1299-1305, 2012.

OLIVEIRA, A. P. et al. Determination of sodium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry using dry decomposition for the sample preparation. *Fuel*, 88(4), 764-766, 2009.

OLIVEIRA, L. C.C et al. Determination of Na, K, Mg and Ca in Biodiesel by LS FAAS and HR-CS FAAS: Studies that Supported the Proposal of the ABNT NBR 15556 Norm. *J. Braz. Chem. Soc.*, 23(7), 1400-1408, 2012.

PARENTE, L. R. JR., *Blendas de Biodiesel Usando Diferentes Fontes de Biomassa. 1º Congresso Brasileiro de Tecnologia de Biodiesel: Artigos Técnico Científicos*, 2, 268-271, 2006.

PIOVEZAN, M. et al. Development of a fast capillary electrophoresis method to determine inorganic cations in biodiesel samples. *Analytica Chimica Acta*, 673, 200-205, 2010.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. *Quim. Nova*, 24(1), 68-76, 2001.

RAMADHAS, A. S.; JAYARA, S. j.; MURALEEDHARAN, C. Use of vegetable oils as I.C. engine fuels - A review, *Renewable Energy*, 29, 727-742, 2004.

RAMOS, L. P.; KUCEK, T.K.; WILHEM, M.H. Biodiesel: um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*. Ed. 31, 2003.

RAPOSO, D. J.; COSTA, L. M.; BARBEIRA, P. J. Simultaneous Determination of Na, K and Ca in biodiesel by flame atomic emission spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.*, 26(1), 327-245, 2015.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, 27(5), 771-780, 2004.

RIBEIRO, A.S.; CURTIUS, A.J.; POZEBON, D., Determination of As, Cd, Ni and Pb in human hair by electrothermal atomic absorption spectrometry after sample treatment with tetramethylammonium hydroxide. *Microchem. J.* 64, 105-110, 2000.

SANTOS, J. E. et al. Simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 22(10), 1300-1303, 2007.

SANTOS, A. L.; TAKEUCHI, R.M.; MUÑOZ, R. A. A. Electrochemical determination of inorganic contaminants in automotive fuels. *Electroanalysis*, 24, 1681-1691, 2012.

SARINA, A. et al. Influence of metal contaminants on oxidation stability of jathopa biodiesel. *Energy*, 34(9), 1271-1275, 2009.

SUARES, Paulo e MENEGHETTI, Simoni, 70º Aniversário do Biodiesel em 2007: Evolução histórica e situação atual no Brasil, Brasília – DF, vol. 30(8). 2068-2071, 2007.

SKOOG, D. A, West, D. M., Holler, F. J. Crouch, S. R. *Fundamentos de Química Analítica*, Editora Thomson, tradução da 8ª edição, 2006.

TÁVORA, F. L. História e economia dos biocombustíveis no Brasil. Brasília, DF: Senado Federal, 2011. (Centro de Estudos da Consultoria do Senado. Textos para discussão, 89.

VANHAECKE, F. ICP–MS - Alternative means for the elimination of interferences. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 372, 20–21, 2002.