

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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Determinação de Cu e Fe em Biodiesel por Espectrometria de Absorção
Atômica com Atomização Eletrotérmica e Estudo do Efeito Catalítico destes
Metais sobre a Estabilidade Oxidativa do Biodiesel

MIRELA GHISI

São Luís
2011

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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Determinação de Cu e Fe em Biodiesel por Espectrometria de Absorção
Atômica com Atomização Eletrotérmica e Estudo do Efeito Catalítico destes
Metais sobre a Estabilidade Oxidativa do Biodiesel

MIRELA GHISI

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

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

São Luís
2011

2011

Ghisi, Mirela.

Determinação de Cu e Fe em biodiesel por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e estudo do efeito catalítico destes metais sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel/ Mirela Ghisi – São Luís, 2011.

91 f.

Impresso por computador (fotocópia).

Orientadora: Aldaléa Lopes Brandes Marques.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Química Analítica, 2011.

1. Biodiesel. 2. Metais. 3. Hidróxido de tetrametilamônio. 4. Cu. 5. Fe. 6. ET AAS. I. Título.

CDU 662.756

MIRELA GHISI

Determinação de Cu e Fe em Biodiesel por Espectrometria de Absorção
Atômica com Atomização Eletrotérmica e Estudo do Efeito Catalítico destes
Metais sobre a Estabilidade Oxidativa do Biodiesel

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

Aprovada em: 16 de maio de 2011

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Daniel Lázaro Gallindo Borges (UFSC)

Prof. Dr. Adeilton Pereira Maciel (UFMA)

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais Glória e Lúcio pelo amor e pela oportunidade e incentivo aos estudos e ao meu amado Marco pelo seu amor, confiança e pela companhia nos momentos de alegria e dificuldades.

AGRADECIMENTOS

À Deus, primeiramente, pela força de seguir em frente;

Aos meus pais com muito amor e carinho pela minha educação e pelo esforço;

Ao Marco, meu esposo e companheiro de todas as horas, pelo seu amor, lealdade e paciência;

À minha segunda família, Laís, Liz Regina e Vicente, pela força e carinho;

Às minhas primas, Cristiane, Andresa, Karine e Gabriela pela força nesta etapa da minha vida;

Aos meus irmãos e cunhados que de alguma forma contribuíram para este dia;

À toda minha família que sempre esteve ao meu lado nas horas alegres e nas mais difíceis também;

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

Ao Wendell Mesquita, do LPQA, por ter me ajudado quando cheguei à UFMA e sua ajuda para estudar para a prova do mestrado;

À Joseany Almeida, do LPQA, minha amiga de todas as horas, por ter me ajudado na elaboração da parte experimental deste trabalho, agradeço pelo seu tempo disponível e dedicação;

Aos amigos que pertencem ou pertenceram ao LPQA e que colaboraram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho: Verônica, Helmara, Paulina, Myrna, Eva Michelly, André, Fabiana, Fernando, Nataliane, Lucy Rose, Jethânia, Érica, Janyeid, Lorena, Jemmla, Maria, Rondinelli, Sakae, Allyson, Nills, Ana Cristina, Edmilson, Thiago, Rodrigo, Elmo, Wemeson, Débora, Laís, Cláudia;

Aos amigos do LAPQAP, Conceição, Raimunda, Marcelo, Glene Henrique, Iolândia, Marcos, Raquel, Cícero, Claudiana;

À todos os amigos do curso de mestrado da UFMA;

Aos professores do curso de mestrado da UFMA;

Ao professor Dr. Adilson José Curtius, da UFSC, pela oportunidade de desenvolver parte deste trabalho em seu laboratório e pela imensa ajuda na elaboração do artigo científico;

Ao meu amigo Eduardo Sidinei Chaves, aluno de doutorado da UFSC, amigo, paciente e incentivador deste trabalho, sempre esteve comigo em todos os momentos que

passsei em seu laboratório, verdadeiro motivador para a elaboração deste trabalho e do artigo científico;

À minha grande amiga Daiane Paula Quadros, aluna de mestrado da UFSC, pelos seus ensinamentos, amizade, paciência e ajuda na parte experimental desta dissertação;

Ao grande amigo Juliano (Julian), da UFSC, pela amizade, carinho e imensa força que me deu para não desistir quando os experimentos davam errado;

Aos demais amigos do laboratório da UFSC, Fábio, Tatiane, Jesse, Vera, Daniel, Luciano, Jairo, Rodolfo, Jean, pela amizade e carinho;

À todas as amigas e amigos da minha cidade no Sul que sempre me apoiaram em todas as decisões;

Aos meus amigos da Refinaria Alumar, especialmente ao Tiago e Kécia;

Ao CNPq por ter concedido a bolsa e pelo incentivo à pesquisa;

Enfim, a todas as pessoas que passaram na minha vida e me influenciaram de alguma forma, mas não foram citadas, tenham certeza de que vocês são importantes para mim, e também às pessoas que irão ler este trabalho, com o qual eu espero que sirva de alguma forma como fonte de conhecimento.

“O motor a diesel pode ser alimentado por óleos vegetais, e ajudará no desenvolvimento agrário dos países que vierem a utilizá-lo... O uso de óleos vegetais como combustível pode parecer insignificante hoje em dia. Mas com o tempo irão se tornar tão importante quanto o petróleo e o carvão são atualmente.”

(Rudolf Diesel, 1911)

RESUMO

A presença de metais no biodiesel está diretamente relacionada com a matéria-prima utilizada e também com o processo utilizado para a obtenção do biodiesel. Neste trabalho realizou-se uma avaliação dos principais metais presentes em amostras de biodiesel provenientes de diferentes fontes. A análise semi-quantitativa nas amostras de biodiesel foi realizada utilizando a técnica de Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado após a digestão das amostras em micro-ondas. Os principais metais identificados nas amostras de biodiesel analisadas são Al, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sr e Zn. Metais como Ag, As, Ba, Cd, Co, Tl e V não estão presentes em concentrações significativas nessas amostras. Em função de sua relevância e importância em processos oxidativos do biodiesel, selecionou-se Cu e Fe para o desenvolvimento de uma metodologia analítica para a determinação destes por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica e também a avaliação do efeito destes metais sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja. As amostras foram preparadas com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH), e as temperaturas de pirólise e atomização foram otimizadas através de curvas de pirólise e atomização. A alta temperatura de pirólise adotada, 1000 °C, certamente ajudou a minimizar possíveis interferências; porém, a calibração teve de ser realizada com padrões aquosos na presença de TMAH. Os limites de detecção (3s, n = 10), na amostra, foram baixos, 15 ng g⁻¹ e 24 ng g⁻¹ para Cu e Fe, respectivamente. Sete amostras de biodiesel, produzidas de diferentes matérias-primas, incluindo óleos vegetais, óleo de fritura e gordura animal foram analisadas. A exatidão foi avaliada através do teste de recuperação (recuperações de 105% a 120%) e através da comparação com os resultados obtidos por Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua e Atomização Eletrotérmica. A precisão, expressa pelo desvio padrão relativo foi melhor que 3% para Cu e que 7% para Fe. Cobre pôde ser quantificado em duas e Fe em três das sete amostras. A amostra de biodiesel proveniente do nabo forrageiro era especialmente rica nos analitos comparada às outras amostras. A influência dos metais Cu e Fe sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja foi avaliada pelo método Rancimat através do período de indução, de acordo com a Norma EN 14112. Os metais Cu²⁺ e Fe³⁺ foram adicionados nas amostras de biodiesel na forma de seus sais, e foram avaliados diferentes tempos de armazenamento das amostras. Devido ao efeito catalítico destes metais, a estabilidade oxidativa das amostras analisadas foi reduzida mesmo na presença de baixas

concentrações dos metais. O efeito do Fe^{3+} sobre a estabilidade do biodiesel foi significativamente maior quando comparado ao Cu^{2+} .

Palavras-chave: Biodiesel; Metais; Digestão em micro-ondas; Cu; Fe; ET AAS; Hidróxido de tetrametilamônio (TMAH); Estabilidade oxidativa; Período de indução; Rancimat.

ABSTRACT

The metals content in biodiesel is directly related with the raw material used and also with the utilized biodiesel production method. In this work, an evaluation of the main metals present in biodiesel samples from different sources was done. The qualitative analysis of the metal content was assessed using the Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry technique after sample digestion in microwave oven. The main metals identified in the analyzed biodiesel samples were Al, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sr and Zn. Metals like Ag, As, Ba, Cd, Co, Tl and V have not significant presence in the samples. Among these, Cu and Fe were selected due to their relevance and importance in oxidative process of biodiesel, to the development of an analytical methodology to be used in the determination by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry, and also evaluate the effect of these metals over the oxidative stability of the soy biodiesel. The samples were prepared with tetramethylammonium hydroxide (TMAH), and the pyrolysis and atomization temperatures were optimized pyrolysis and atomization curves. The high pyrolysis temperature adopted, 1000 °C, certainly minimized potential interferences, but calibration had to be carried out with aqueous standard solutions in the presence of the TMAH. The detection limits in the sample (3s, n=10), were quite low 15 ng g⁻¹ and 24 ng g⁻¹ for Cu and Fe, respectively. Seven biodiesel samples, produced from different raw materials, including vegetable seed, waste frying oil and animal fat were analyzed. Accuracy was validated by applying the recovery test (recoveries from 105% to 120%) and through comparison with the obtained results by High Resolution Continuum Source Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. The precision, expressed by the relative standard deviation, was better than 3% for Cu and than 7% for Fe. Copper could be quantified in two and Fe in three of the seven samples. The biodiesel sample from fodder turnip was especially rich in the analytes in comparison to the other samples. The influence of metals Cu and Fe on soy biodiesel oxidative stability was evaluated by Rancimat method through induction period, according with the Standard EN 14112. The metals Cu²⁺ and Fe³⁺ were added to the biodiesel samples in the form of their salts, and different storage times of the samples were evaluated. Due to the catalytic behaviour of these metals, the oxidative stability of the samples was affected, even under low metal concentrations. Compared to Cu²⁺, the effect over the biodiesel stability was higher when Fe³⁺ was added.

Keywords: Biodiesel; Metals; Microwave oven digestion; Cu; Fe; ET AAS; Tetramethylammonium hydroxide (TMAH); Oxidative stability; Induction period; Rancimat.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reação de transesterificação de triacilgliceróis (triglicerídeos), onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos.	26
Figura 2. Esquema de ensaio de estabilidade à oxidação (Rancimat)	52
Figura 3. Resultados obtidos por ICP-MS para os metais presentes na amostra de biodiesel de mamona utilizando calibração externa com padrão interno Rh ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$).	64
Figura 4. Resultados obtidos por ICP-MS para os metais presentes na amostra de biodiesel de babaçu utilizando calibração externa com padrão interno Rh ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$).	64
Figura 5. Resultados obtidos por ICP-MS para os metais presentes na amostra de biodiesel de soja utilizando calibração externa com padrão interno Rh ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$).	65
Figura 6. Resultados obtidos por ICP-MS para os metais presentes na amostra de biodiesel de nabo forrageiro utilizando calibração externa com padrão interno Rh ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$).	65
Figura 7. Volumes de TMAH adicionados às amostras de biodiesel de nabo forrageiro. Da esquerda para a direita: 50, 100, 200, 300, 400 e 500 μL de TMAH.	67
Figura 8. Curvas de pirólise e atomização para o Cu em (—■—) 0,4 pg do padrão aquoso e (—●—) amostra de biodiesel de nabo forrageiro tratada com 2,5% v/v de TMAH. Temperatura de atomização para a curva de pirólise: 2300 °C e temperatura de pirólise para a curva de atomização: 800 °C para padrão aquoso e amostra.....	68
Figura 9. Curvas de pirólise e atomização para o Fe em (—■—) 0,4 pg do padrão aquoso e (—●—) amostra de biodiesel de borra de soja tratada com 2,5% v/v de TMAH. Temperatura de atomização para a curva de pirólise: 2300 °C e temperatura de pirólise para a curva de atomização: 800 °C para padrão aquoso e amostra.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição de ácidos graxos (%) de alguns óleos vegetais e sebo bovino.	24
Tabela 2. Parâmetros operacionais do ICP-MS.	49
Tabela 3. Programa de temperaturas otimizado para a determinação de Cu e Fe em amostras de biodiesel por ET AAS e tratamento com TMAH.	51
Tabela 4. Programa de temperaturas otimizado para a determinação de Cu e Fe em amostras de biodiesel por HR-CS ET AAS após diluição em etanol.	51
Tabela 5. Programa utilizado para a digestão das amostras de biodiesel no forno micro-ondas.	54
Tabela 6. Parâmetros de mérito para a determinação de Cu e Fe em amostras de biodiesel por ET AAS.	70
Tabela 7. Comparação estatística entre as técnicas ET AAS e HR-CS ET AAS para determinação de Cu em amostras de biodiesel (Valor de t_{tab} com 95% de confiança).	72
Tabela 8. Comparação estatística entre as técnicas ET AAS e HR-CS ET AAS para determinação de Fe em amostras de biodiesel. (Valor de t_{tab} com 95% de confiança).	73
Tabela 9. Concentrações obtidas para Cu e Fe (ng g^{-1}) nas amostras de biodiesel após a adição de 115 e 230 ng g^{-1} dos analitos.	74
Tabela 10. Valores obtidos por ET AAS e comparação com HR-CS ET AAS (ng g^{-1} , média \pm intervalo de confiança (95%) para $n=3$) para Cu e Fe em amostras de biodiesel, utilizando calibração em meio de TMAH 2,5% v/v para Cu e Fe.	75
Tabela 11. Valores de período de indução (PI) obtidos para o biodiesel metílico de soja não adicionado e para as adições de 3, 5 e 10 mg kg^{-1} de Cu^{2+} e Fe^{3+} a 110 °C em um tempo de armazenamento de 2, 10 e 30 dias.	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AAS: Espectrometria de absorção atômica (Atomic absorption spectrometry)
- ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ANP: Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
- ASTM: American Society for Testing and Materials
- CCD: Dispositivos de carga acoplada (charge coupled device)
- CEN: *Comité Européen de Normalisation*
- CNPE: Conselho Nacional de Políticas Energéticas
- CV AAS: Espectrometria de absorção atômica com vapor frio (Cold vapour atomic absorption spectrometry)
- CV: Coeficiente de variação
- CVG: Geração química de vapor (Cold vapour generation)
- DEMON: Double echelle monochromator
- DOU: Diário Oficial da União
- DSC: Calorimetria exploratória diferencial (Differential scanning calorimetry)
- EDL: Lâmpada de eletrodos sem descarga (Electrodeless discharge lamp)
- EN: União Européia
- ET AAS: Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (Electrothermal atomic absorption spectrometry)
- ETV: Vaporização eletrotérmica (Electrothermal vaporization)
- ETV-ICP-MS: Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com introdução de amostra por 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)
- FI: Injeção em fluxo (Flow injection)
- GC: Cromatografia gasosa (Gas chromatography)
- GF: Forno de grafite (Graphite furnace)
- GL: Graus de liberdade
- HCL: Lâmpada de cátodo oco (Hollow cathode lamp)
- HDPE: Polietileno de alta densidade (High density polyethylene)

HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência (High performance liquid chromatography)

HR-CS AAS: Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (High resolution continuum source atomic absorption spectrometry)

HR-CS ET AAS: Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e atomização eletrotérmica (High resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry)

ICP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Inductively coupled plasma optical emission spectrometry)

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

LA: Ablação a laser (Laser ablation)

LD: Limite de detecção

LQ: Limite de quantificação

m/z: Razão massa/carga

NIST: Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (National Institute of Standards and Technology)

OSI: Índice de estabilidade do óleo (Oil stability index)

PDSC: Calorimetria exploratória diferencial pressurizada (Pressurized differential scanning calorimetry)

PI: Período de indução

PNPB: Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel

R: Coeficiente de correlação linear

RSD: Desvio padrão relativo (Relative standard deviation)

TG: Termogravimetria (Thermogravimetry)

TMAH: Hidróxido de tetrametilamônio (Tetramethylammonium hydroxide)

UV: Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1 Biodiesel	21
2.2 Biodiesel no Brasil e no mundo	22
2.3 Óleos vegetais	23
2.3.1 Óleo de soja	24
2.4 Processos de obtenção do biodiesel	25
2.5 Metais em biodiesel e derivados de petróleo	28
2.6 Estabilidade oxidativa do biodiesel	29
2.6.1 Método Rancimat.....	31
2.7 Técnicas de análise	34
2.7.1 Espectrometria de Absorção Atômica (AAS).....	34
2.7.1.1 Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS).....	34
2.7.1.2 Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (ET AAS).....	35
2.7.1.3 Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua (HR-CS AAS)	37
2.7.2 Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP- MS).....	39
2.8 Determinação de metais em biodiesel e derivados de petróleo	40
2.9 Preparo de amostras	45
3 OBJETIVOS	47
3.1 Objetivos específicos	47
4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS	49
4.1 Instrumentação	49
4.1.1 Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS).....	49
4.1.2 Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS).....	50
4.1.3 Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e atomização eletrotérmica (HR-CS ET AAS)	51
4.1.4 Avaliação da estabilidade oxidativa através do método Rancimat.....	52
4.2 Materiais e reagentes	52
4.3 Amostras	53
4.4 Limpeza dos materiais	53

4.5 Preparo das amostras	53
4.5.1 ICP-MS	54
4.5.2 ET AAS	54
4.5.3 HR-CS ET AAS	55
4.5.4. Síntese do biodiesel de soja	55
4.5.5 Avaliação da estabilidade oxidativa através do método Rancimat	56
4.5.5.1 Adição dos metais no biodiesel de soja e armazenamento	56
4.6 Validação da metodologia proposta	56
4.6.1 Linearidade	57
4.6.2 Sensibilidade	57
4.6.3 Precisão	57
4.6.3.1 Repetitividade	58
4.6.3.2 Reprodutibilidade	58
4.6.4 Limite de detecção	59
4.6.5 Limite de quantificação	59
4.6.6 Exatidão	59
4.6.6.1 Comparação dos resultados entre ET AAS e HR-CS ET AAS pelo teste-t de Student	60
4.6.6.2 Teste de recuperação	61
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5.1 Avaliação semi-quantitativa da concentração de metais no biodiesel	62
5.1.1 Digestão das amostras	62
5.1.2 Análise por ICP-MS	63
5.2 Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de Cu e Fe em biodiesel por ET AAS utilizando tratamento com TMAH	66
5.2.1 Otimização do preparo das amostras com TMAH	66
5.2.2 Programas de temperaturas	67
5.2.2.1 Cobre	68
5.2.2.2 Ferro	68
5.2.3 Calibração e Parâmetros de mérito	70
5.2.4 Verificação da exatidão	71
5.2.4.1 Comparação dos resultados entre ET AAS e HR-CS ET AAS pelo teste-t de Student	71
5.2.4.2 Teste de Recuperação	73

5.2.5 Aplicação Analítica.....	74
5.3 Estabilidade oxidativa - RANCIMAT.....	76
6 CONCLUSÃO.....	80
7 REFERÊNCIAS.....	81
ANEXOS	90

1. INTRODUÇÃO

Devido ao alto consumo de produtos derivados do petróleo, como a gasolina e o diesel, e o crescente esforço em reduzir o aquecimento global causado pelas emissões dos gases, combustíveis alternativos que sejam fontes renováveis e resultem em menor impacto ambiental têm atraído a atenção de mercados do mundo inteiro (LAMERS *et al.*, 2008). Na procura por novas fontes de energia, o biodiesel aparece como uma alternativa promissora (DEMIRBAS, 2008; PINTO *et al.*, 2005).

A produção do biodiesel ocorre através da reação de transesterificação de óleos vegetais ou gordura animal na presença de um catalisador em meio alcoólico, originando alquil ésteres derivados de ácidos graxos e a glicerina como co-produto (LÔBO *et al.*, 2009; RAMOS *et al.*, 2009; FELIZARDO *et al.*, 2006). Os óleos e gorduras são constituídos basicamente de moléculas de triacilglicerídeos (SOLOMONS; FRYHLE, 2006). O uso do biodiesel apresenta muitas vantagens. É uma fonte renovável de energia, biodegradável e é menos poluente do que os combustíveis derivados do petróleo, reduz as emissões de gases causadores do aquecimento global e as emissões nos escapamentos dos automóveis, incluindo gases tóxicos (DEMIRBAS, 2008; PINTO *et al.*, 2005).

O mercado do biodiesel vem crescendo consideravelmente nos últimos anos em função das preocupações de vários países com o meio ambiente e a intenção de reduzir a dependência do petróleo importado (MELLO *et al.*, 2007).

Muitos elementos metálicos podem ser incorporados em combustíveis e também no biodiesel durante as etapas de processamento, através do contato com os equipamentos utilizados durante o refino, estocagem e transporte. A determinação destes metais é importante para garantir a qualidade do produto e o controle da poluição, pois reduz a eficiência dos reatores catalíticos no sistema de escape, aumentando a emissão de gases, sendo esta uma das fontes mais comuns de metais traços no ambiente (KNOTHE, 2005; WANG *et al.*, 2003).

Para garantir a qualidade do biodiesel é necessário estabelecer padrões de qualidade, objetivando fixar teores limites dos contaminantes que não venham prejudicar a qualidade das emissões da queima, bem como o desempenho, a integridade do motor e a segurança no transporte e manuseio (LÔBO *et al.*, 2009).

Métodos analíticos baseados nas técnicas de espectrometria de absorção atômica (AAS) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) estão sendo desenvolvidos para a determinação de elementos metálicos em matrizes complexas como os

combustíveis e os biocombustíveis por serem técnicas que apresentam alta sensibilidade (CHAVES *et al.*, 2008a; JESUS *et al.*, 2008; PIERRE *et al.*, 2005). No entanto, amostras viscosas e complexas, tais como amostras de combustíveis, requerem a conversão em uma forma compatível com o instrumento utilizado, permitindo, se possível, uma calibração simples e eficiente (AUCÉLIO; CURTIUS, 2000), necessitando de um pré-tratamento antes de suas análises.

O biodiesel está sujeito a reações de oxidação quando exposto à luz, alta temperatura, ar, água, traços de metais e longos tempos de armazenamento. A presença de insaturação nos ácidos graxos também está diretamente relacionada com a estabilidade oxidativa do biodiesel (LÔBO *et al.*, 2009). A literatura tem mostrado que metais de transição, tais como Cu, Fe, Ni, entre outros, catalisam a oxidação do biodiesel e de suas misturas ocasionando a redução do período de indução, quando medido por Rancimat (TAGLIABUE *et al.*, 2005; SARIN *et al.*, 2009). O conhecimento dos efeitos de cada metal sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel em função de vários parâmetros, tais como tempo de armazenamento, temperatura, natureza das diferentes oleaginosas que dão origem ao combustível, pode ser uma importante ferramenta para a predição das condições e do período máximo de armazenamento do biodiesel. Por esse motivo, o monitoramento da estabilidade oxidativa do biodiesel se torna muito relevante.

Este trabalho apresenta o desenvolvimento de metodologia analítica para determinar metais em biodiesel utilizando técnica espectrométrica e estudo do efeito desses metais em diferentes concentrações sobre a estabilidade oxidativa e o tempo de armazenamento do biodiesel.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Biodiesel

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), através da Resolução nº 7 de 19/03/2008, define o biodiesel (B100) como um combustível composto de alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão, renovável e biodegradável, que possa substituir parcial ou totalmente o óleo diesel de origem fóssil. A mistura óleo diesel/biodiesel BX é o combustível comercial composto de (100-X)% em volume de óleo diesel, conforme especificação da ANP, e X% em volume do biodiesel (ANP, 2008a).

A combustão do biodiesel resulta em menos emissões de monóxido de carbono, hidrocarbonetos e materiais particulados quando comparados com o combustível de petróleo, contribuindo para a qualidade da atmosfera (PINTO *et al.*, 2005; LÔBO *et al.*, 2009). Além disso, considerando o ciclo do carbono, o CO₂ emitido pela combustão do biodiesel é fixado pelas plantas que serão usadas para a produção do biodiesel, conseqüentemente reduz o impacto no efeito estufa, quando comparado ao uso de combustíveis de origem fóssil (PETERSON; HUSTRULID, 1998). O biodiesel não contém enxofre, responsável pelas chuvas ácidas e possui maior viscosidade, proporcionando maior lubricidade que o diesel mineral, observando-se redução no desgaste das partes móveis do motor (LYRA *et al.*, 2010).

O óleo transesterificado (biodiesel) possui viscosidade inferior que o óleo *in natura*. A alta viscosidade é uma das principais propriedades pelas quais os óleos vegetais não podem ser utilizados como combustível alternativo ao diesel. A diferença entre a viscosidade do óleo e do biodiesel pode ser usada para monitorar a produção de biodiesel (KNOTHE, 2005).

Biodiesel pode ser misturado em qualquer proporção com diesel mineral para ser usado como combustível ou pode ser usado na sua forma pura. Como o diesel de petróleo, o biodiesel opera em um motor ignição-compressão (diesel), e essencialmente requer pouca ou nenhuma modificação no motor, pois possui propriedades similares ao diesel mineral (AGARWAL, 2007; BENJUMEA *et al.*, 2008).

Entretanto, o biodiesel apresenta algumas desvantagens:

a) menor estabilidade oxidativa, decorrente das ligações insaturadas nas cadeias carbônicas provenientes dos ácidos graxos, fato que pode comprometer a

armazenagem e utilização do biocombustível, porém pode ser superada pela utilização de antioxidantes que melhorem sua conservação (SARIN *et al.*, 2009);

b) Propriedades a baixa temperatura, como ponto de névoa e ponto de entupimento, pois em baixas temperaturas, o biodiesel tende a solidificar-se parcialmente ou a perder sua fluidez, implicando negativamente no funcionamento do filtro de combustível, bem como do sistema de alimentação do motor quando o mesmo é acionado sob baixas temperaturas. Quanto maior for o tamanho da cadeia e/ou o caráter saturado das moléculas do biodiesel, mais altos serão os valores destes parâmetros (LÔBO *et al.*, 2009);

c) O menor poder calorífico do biodiesel, ou seja, uma menor quantidade de energia por unidade de massa quando ele é queimado. Porém, como o biodiesel possui uma queima melhor, seu desempenho no motor será equivalente ao do diesel mineral (LÔBO *et al.*, 2009).

2.2 Biodiesel no Brasil e no mundo

O biodiesel é utilizado comercialmente nos Estados Unidos e em países da União Européia. A Alemanha é responsável por mais da metade da produção européia de combustíveis e já conta com centenas de postos que vendem o biodiesel puro (B100), com plena garantia dos fabricantes de veículos. O total de biodiesel produzido na Europa já ultrapassa um bilhão de litros por ano; entretanto, o continente tem restrições quanto à área de cultivo disponível para oleaginosas e a capacidade industrial, o que abre oportunidades ao Brasil para exportar seu combustível (BRASIL, 2004).

Em dezembro de 2004 foi instituído o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB) pelo Governo Federal, que objetiva a produção e uso do biodiesel, com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento regional, via geração de emprego e renda. A ação mais importante deste programa foi a introdução de biocombustíveis derivados de óleos e gorduras na matriz energética brasileira por meio da Lei nº 11.097, datada de 13 de janeiro de 2005. Esta lei estabelece a obrigatoriedade da adição de um percentual mínimo de biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor, em qualquer parte do território nacional. Foi previsto o uso obrigatório de B2 até o começo de 2008, ou seja, após três anos de publicação da referida Lei (BRASIL, 2004; POUSA *et al.*, 2007).

Desde 1º de janeiro de 2010, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 5% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pela Resolução nº 6/2009 do Conselho Nacional de

Política Energética (CNPE), publicada no Diário Oficial da União (DOU) em 26 de outubro de 2009, que aumentou de 4% para 5% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel (ANP, 2008b).

2.3 Óleos vegetais

O cultivo de matérias-primas e a produção industrial de biodiesel têm grande potencial de geração de empregos, promovendo, dessa forma, a inclusão social, especialmente quando se considera o amplo potencial produtivo da agricultura familiar. No semi-árido brasileiro e na região Norte, a inclusão social é ainda maior. O Brasil apresenta reais condições para se tornar um dos maiores produtores de biodiesel do mundo, por se situar em uma região tropical, dispondo de solo e clima adequados ao cultivo de oleaginosas. Assim, além de assegurar o suprimento interno, o biodiesel produzido no Brasil tem grande potencial de exportação (BRASIL, 2004).

Existe uma grande variedade de fontes de óleos vegetais produzidas de diferentes plantas no Brasil, dentre elas, o óleo de soja é a fonte mais utilizada para a produção de biodiesel (RAMADHAS *et al.*, 2004; FERRARI *et al.*, 2005; PINTO *et al.*, 2005). Entretanto, há diversas espécies vegetais que podem ser utilizadas, tais como mamona, dendê, girassol, babaçu, amendoim, pinhão manso, óleo de palma e nabo forrageiro (RAMADHAS *et al.*, 2004; CASTILHO; STRADIOTTO, 2008; CHAVES *et al.*, 2010). Além destes, óleos residuais de frituras e gorduras animais, principalmente sebo bovino, também são potenciais fontes para a produção do biodiesel (FELIZARDO *et al.*, 2006).

A estrutura e a composição dos óleos e gorduras são constituídas basicamente de triacilglicerídeos. Os triacilglicerídeos são tri ésteres provenientes de esterificações de ácidos graxos com glicerol (1,2,3-triidroxiopropano). Nos ácidos graxos saturados, os átomos de carbono estão ligados entre si por ligações simples e nos ácidos graxos insaturados por ligações duplas, podendo estes, serem denominados mono-, di-, tri- e poliinsaturados. Os ácidos graxos presentes nos óleos e gorduras são constituídos, geralmente, por ácidos carboxílicos de cadeia longa, podendo conter 4 a 30 átomos de carbono (SOLOMONS; FRYHLE, 2006).

Os óleos vegetais provenientes de diferentes fontes possuem também diferentes composições de ácidos graxos. Os ácidos graxos se diferenciam em relação ao tamanho da cadeia, grau de insaturação ou presença de outras funções químicas. Quando o biodiesel é

preparado a partir de matérias-primas contendo ácidos graxos de cadeia longa ou saturados, apresenta maior índice de cetano. Por outro lado, se o biodiesel é produzido a partir de matérias-primas ricas em ácidos graxos insaturados, irão apresentar menor índice de cetano e maior facilidade em sofrer oxidação. Normalmente, o número de cetano, calor de combustão e a viscosidade do biodiesel aumentam com o tamanho da cadeia e diminuem com o aumento do número de insaturações (PINTO *et al.*, 2005). As concentrações dos principais ácidos graxos presentes em alguns óleos vegetais e sebo bovino são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1. Composição de ácidos graxos (%) de alguns óleos vegetais e sebo bovino.

Óleo Vegetal	Palmítico 16:0	Estearíco 18:0	Oléico 18:1	Linoléico 18:2	Ricínico 12-OH-oléico	Láurico 12:0	Referência
Mamona	-	3,0	3,0	1,2	89,5	-	PINTO <i>et al.</i> , 2005
Sebo	29,0	24,5	44,5	-	-	-	PINTO <i>et al.</i> , 2005
Algodão	28,6	0,9	13,0	57,2	-	-	PINTO <i>et al.</i> , 2005
Girassol	6,0	3,0	17,0	74,0	-	-	SRIVASTAVA <i>et al.</i> , 2000
Soja	12,0	3,0	23,0	55,0	-	-	SRIVASTAVA <i>et al.</i> , 2000
Milho	12,0	2,0	25,0	6,0	-	-	SRIVASTAVA <i>et al.</i> , 2000
Babaçu	8,0	4,5	14,0	2,0	-	44,0	SANTOS, 2008
Pinhão manso	14,2	6,9	43,1	34,4	-	-	SARIN <i>et al.</i> , 2009
Colza	5,9	2,3	50,0	33,6	-	-	TAGLIABUE <i>et al.</i> , 2005

2.3.1 Óleo de soja

Dentre os produtos agrícolas que alimentam a população mundial, a soja vem mostrando grande expansão e ocupando uma posição de destaque. Esta leguminosa é um alimento que apresenta alto valor nutricional, tem uma composição química rica que inclui óleos, vitaminas e alguns sais minerais como cálcio e ferro, contém mais de 34% de proteína e é fonte de antioxidantes como as isoflavonas (SOUCI *et al.*, 1994).

O Brasil é responsável por cerca de 28% da produção mundial de soja (ABIOVE, 2011), com a safra de 2009/2010 de 68,7 milhões de toneladas, e safra 2010/2011 estimada em 75,0 milhões de toneladas (CONAB, 2011). O país é o segundo maior produtor e exportador mundial de soja em grão, farelo e óleo de soja (ABIOVE, 2011). O Maranhão é o

segundo maior produtor de soja da região Nordeste com uma produção anual de 1,3 milhões de toneladas de grãos, ano base 2010 (CONAB, 2010). O óleo de soja é utilizado na indústria alimentícia e recentemente foi introduzido como matéria-prima para a produção de biodiesel. O óleo de soja pode ser obtido por prensagem mecânica e/ou por extração com solvente. (BRANDÃO, 2006).

2.4 Processos de obtenção do biodiesel

Biodiesel é um combustível que pode ser obtido por diferentes processos tais como o craqueamento, a esterificação ou pela transesterificação, sendo este último o processo mais utilizado atualmente (BRASIL, 2004; DEMIRBAS, 2008).

O craqueamento térmico, também chamado de pirólise, é o processo que provoca a quebra de moléculas por aquecimento a altas temperaturas, isto é, pelo aquecimento da substância na ausência de ar ou oxigênio a temperaturas superiores a 450 °C. Este processo forma uma mistura de compostos químicos com propriedades muito semelhantes às do diesel de petróleo, chamado de bio-óleo, um combustível que pode ser utilizado em qualquer motor a diesel. Diferentemente do craqueamento de frações de petróleo, o craqueamento de ácidos graxos leva à formação de moléculas de hidrocarbonetos de diferentes tamanhos e de gás carbônico e água, devido à presença do grupo carboxila nos ácidos graxos (BIODIESELBR, 2011).

A esterificação é uma das reações utilizadas para a obtenção do biodiesel, que consiste na reação entre os ácidos carboxílicos, encontrados nos óleos vegetais, com metanol ou etanol para formar ésteres metílicos ou etílicos, respectivamente e água. Geralmente, a reação de esterificação é catalisada por ácidos inorgânicos como o ácido sulfúrico. A reação de esterificação é reversível e o ácido catalisa tanto a reação direta (a esterificação) como a reação inversa (a hidrólise do éster) (FABIANO *et al.*, 2007).

O processo de transesterificação do biodiesel envolve uma reação com óleos vegetais ou gordura animal, novos ou usados, com um álcool de cadeia curta, geralmente metanol ou etanol. NaOH ou KOH são geralmente utilizados como catalisadores. Esta reação produz alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa e glicerina como um subproduto, como mostrado na Figura 1 (LÔBO *et al.*, 2009; RAMOS *et al.*, 2009; FELIZARDO *et al.*, 2006; GERPEN, 2005). Além da glicerina, a cadeia produtiva do biodiesel gera uma série de outros co-produtos que podem agregar valor e se constituir em outras fontes de renda importantes para os produtores, como torta, farelo, etc. (BRASIL, 2004).

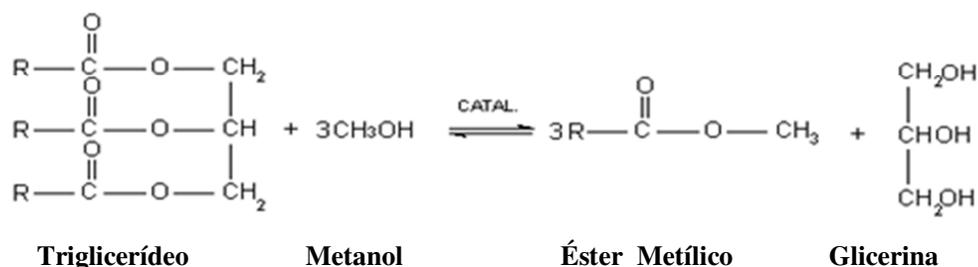


Figura 1. Reação de transesterificação de triacilgliceróis (triglicerídeos), onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos.

O processo global da reação de transesterificação é uma seqüência de três reações reversíveis e consecutivas, em que os triglicerídeos são primeiramente reduzidos à diglicerídeos, depois estes são reduzidos à monoglicerídeos, os quais são finalmente reduzidos aos ésteres de ácidos graxos (DEMIRBAS, 2008). Nesta reação, são necessários três moles de álcool para cada mol de triglicerídeos (VARGAS *et al.*, 1998). Na prática, é sempre utilizado álcool em excesso de modo a deslocar o equilíbrio da reação para o lado dos produtos, aumentando o rendimento em ésteres e ao mesmo tempo facilitando a separação do glicerol formado (FERRARI *et al.*, 2005a).

Os principais fatores que afetam a transesterificação são a razão molar dos triglicerídeos para o álcool, o catalisador utilizado, a temperatura da reação e a pressão, o tempo de reação, e o conteúdo de ácidos graxos livres e água nos óleos e gorduras. A escolha dos óleos ou gorduras a serem utilizados na produção do biodiesel é um aspecto importante do processo de tomada de decisão. O custo dos óleos ou gorduras afeta diretamente o custo do biodiesel em 70 a 80% (DEMIRBAS, 2008).

Os processos de produção que utilizam catalisadores podem ser homogêneos ou heterogêneos, sendo que nos processos homogêneos, a catálise é normalmente ácida ou alcalina. Na catálise alcalina, são mais utilizados os hidróxidos ou metóxidos de sódio e potássio (PHAN; PHAN, 2008).

O biodiesel produzido por reações de transesterificação pode ser catalisado por bases, ácidos ou enzimas e a escolha do processo geralmente está relacionada com as características da matéria-prima e custo de produção. Porém, a reação catalisada por base tem recebido mais atenção devido ao curto tempo de reação e baixo custo quando comparadas com a catálise enzimática. A maior parte do biodiesel produzido hoje é feita com catálise básica por muitas razões: catalisadores básicos são mais efetivos do que os catalisadores ácidos e as enzimas;

envolve baixa temperatura e pressão; alta taxa de conversão (98%) com mínima reação paralela e tempo de reação menor que a catálise ácida, permitindo uma conversão direta a biodiesel sem nenhum composto intermediário e não requer sofisticados materiais de construção de reatores e separadores (DEMIRBAS, 2008).

Nos processos de catálise ácida, a transesterificação é catalisada por um ácido, preferencialmente o ácido sulfônico ou sulfúrico. O rendimento obtido pode ser satisfatório (acima de 96%), porém a reação é lenta, sendo necessárias condições extremas durante a reação, temperaturas elevadas (acima de 100 °C) e mais de 8 horas para completar a reação. (SHEEHAN *et al.*, 1998). A transesterificação catalisada por ácido é mais favorável para óleos não refinados. O processo não ganhou muita atenção como a reação catalisada por base devido à reação mais lenta e alta razão molar óleo/álcool requerida (RAMADHAS *et al.*, 2005). Diferentes ácidos podem ser utilizados como catalisadores, entretanto, ácidos de Lewis ou Brønsted são os mais utilizados, em sistemas homogêneos ou heterogêneos (SREEPRASANTH *et al.*, 2006). Complexos contendo Cd, Mn, Pb, Sn e Zn têm apresentado uma grande eficiência na transesterificação de óleos vegetais. Complexos de dois metais, tais como Zn-Fe, estão sendo utilizados para obtenção do biodiesel. Na catálise heterogênea a separação do catalisador é facilitada (SORIANO *et al.*, 2009).

Nos óleos vegetais brutos estão presentes, em menor quantidade, compostos não glicéridos tais como fitoesteróis, ceras, carotenóides, tocoferóis e fosfatídeos. A transesterificação do óleo bruto pode aumentar a estabilidade frente à oxidação, por causa da presença dos tocoferóis, que são antioxidantes. Entretanto, a presença dos fosfatídeos pode fazer com que o biodiesel apresente altas concentrações de fósforo, o que pode resultar no envenenamento dos catalisadores empregados para o controle das emissões nos motores a diesel (KNOTHE, 2007). Óleos vegetais também contêm alguns ácidos graxos livres. Estes são removidos em um processo de refino (DEMIRBAS, 2008). Durante a transesterificação de um óleo bruto, altas quantidades de ácidos graxos livres atrapalham a purificação dos ésteres e resultam em grande formação de sabão, já que os ácidos graxos livres reagem com o catalisador básico, via reação de saponificação (MARCHETTI *et al.*, 2007).

Apenas os álcoois simples tais como o metanol, etanol, propanol, butanol e o álcool amílico podem ser utilizados para produção de biodiesel. Dentre estes, o metanol e o etanol são os mais utilizados (SHEEHAN *et al.*, 1998).

O álcool mais utilizado na produção de biodiesel é o metanol, devido às razões econômicas e simplicidade do processo, ou seja, reduzido tempo de reação, alta conversão dos triglicéridos em ésteres e por ser utilizado em pequeno excesso no processo. De fato, o

metanol é mais barato que o etanol anidro e possui uma cadeia mais curta e uma maior polaridade. Esta última propriedade torna mais fácil a separação entre os ésteres e a glicerina. Contudo, a utilização de etanol é atrativa do ponto de vista ambiental, uma vez que este álcool pode ser produzido a partir de fonte renovável (cana-de-açúcar) e, ao contrário do metanol, apresenta baixa toxicidade. Além disso, a utilização do etanol é uma alternativa economicamente viável para o Brasil, o qual já é produzido em larga escala. No entanto, a utilização de etanol implica que este esteja isento de água, assim como o óleo, pois caso contrário a separação da glicerina será dificultada (FUKUDA *et al.*, 2001; VARGAS *et al.*, 1998).

2.5 Metais em biodiesel e derivados de petróleo

Muitos elementos metálicos podem estar presentes em várias matrizes da indústria do petróleo, como a gasolina e o diesel, inclusive nos biocombustíveis. Metais podem ser incorporados em combustíveis e também no biodiesel durante o processo de produção, por contato com equipamentos de refino ou destilação, estocagem e transporte, e alguns compostos metálicos podem ser adicionados para melhorar as características dos produtos. Com exceção dos aditivos específicos para melhorar as características dos combustíveis, a presença de elementos metálicos é indesejável, mesmo em baixas concentrações (KNOTHE, 2005; WANG *et al.*, 2003). O biodiesel reduz o desgaste das partes do motor em função da redução da quantidade de resíduos metálicos, tais como Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn, presentes principalmente nos óleos lubrificantes (AGARWAL, 2007).

No caso do biodiesel, a presença de metais pode também ser atribuída à absorção dos metais do solo pelas plantas das quais o biodiesel é produzido (ANSARI *et al.*, 2009). A maioria dos metais presentes nos óleos vegetais vem das sementes, a composição mineral das sementes depende da presença e disponibilidade dos metais no solo onde as plantas cresceram e outras fontes como pesticidas e fertilizantes usados na colheita (CHAVES *et al.*, 2010). Os metais contidos nas sementes podem ser transferidos para o óleo vegetal e para o biodiesel durante o processamento (SNAPE; NAKAJIMA, 1996). A formação de depósitos nos filtros dos veículos pode ocorrer se houver a presença de elementos como o Na ou K devido à formação de sabões insolúveis (JESUS *et al.*, 2008).

No Brasil, as especificações do biodiesel são estabelecidas pela ANP, através da Resolução nº 7 de 2008. A ANP assumiu a atribuição de regular e fiscalizar as atividades relativas à produção, controle de qualidade, distribuição, revenda e comercialização do

biodiesel e da mistura óleo diesel-biodiesel – BX. Contaminantes procedentes da matéria prima, como Ca, Mg, P e S, e contaminantes provenientes do processo produtivo, como Na e K podem ser encontrados no biodiesel. A ANP estabelece limites para as concentrações desses elementos no biodiesel. O valor máximo de P aceito no biodiesel é de 10 mg kg^{-1} e de S é de 50 mg kg^{-1} . O valor máximo para a soma das concentrações de Ca e de Mg é de 5 mg kg^{-1} , o mesmo valor estabelecido para a soma das concentrações de Na e K (ANP, 2008a; LÔBO *et al.*, 2009). Para outros elementos ainda não há limites de concentração no biodiesel; entretanto, o monitoramento de Cu, Fe e de outros metais é também importante para garantir a qualidade do produto, uma vez que a presença de metais no biodiesel pode acelerar processos catalíticos levando à degradação do combustível (TAGLIABUE *et al.*, 2005; SARIN *et al.*, 2009). A estabilidade oxidativa do biodiesel é diminuída e, conseqüentemente, diminui o tempo de armazenamento quando metais estão presentes no biodiesel. Isso será detalhado mais adiante no item estabilidade oxidativa.

2.6 Estabilidade oxidativa do biodiesel

Óleos e gorduras são produtos susceptíveis ao processo de oxidação, devido à sua composição química. Entre os fatores que afetam ou catalisam a oxidação desses lipídios, os mais importantes são: presença de insaturação nos ácidos graxos, luz, temperatura, presença de antioxidantes e pró-oxidantes (como metais e clorofila), enzimas, metaloproteínas, microorganismos e condições de armazenamento (NAWAR, 1985).

O biodiesel é um combustível derivado de óleos e gorduras e, portanto, está sujeito à oxidação, também chamada auto-oxidação, quando é submetido a longos tempos de armazenamento, alta temperatura, exposição ao ar, presença de água, traços de metais ou peróxidos, afetando a qualidade do combustível (LÔBO *et al.*, 2009). Apesar do biodiesel não conter metais de transição, em níveis significativos, a literatura recente afirma que estes elementos podem ser introduzidos no combustível, principalmente durante o armazenamento, e sua principal origem é o material de tanques e “containers” (SARIN *et al.*, 2009). Durante o armazenamento pode ocorrer ainda a formação de peróxidos e ácidos carboxílicos de cadeia curta, além da presença de água, devido a processos de degradação oxidativa e absorção de umidade (LÔBO *et al.*, 2009).

Os produtos insolúveis, decorrentes da oxidação, causam corrosão nas peças do motor e formação de depósitos ocasionando obstrução nos filtros e sistema de injeção. Portanto,

quanto menos sujeito à oxidação, melhor a qualidade do biodiesel no decorrer do seu ciclo útil (SARIN *et al.*, 2009). O tempo de vida comercial de um biodiesel geralmente é avaliado em seis meses (TAGLIABUE *et al.*, 2005).

Como o biodiesel é um éster, existe uma possibilidade real que em presença de ar ou oxigênio seja hidrolisado a álcool e ácido. A presença de álcool levará à redução no ponto de fulgor e a presença de ácido aumentará o índice de acidez do biodiesel (SARIN *et al.*, 2009).

Durante o processo de oxidação, os ésteres metílicos de ácidos graxos geralmente formam um radical próximo à dupla ligação. Este radical rapidamente reage com o oxigênio do ar, o qual é um bi-radical. Este forma o radical peróxido. O ciclo de rápida destruição radicalar se inicia. Este radical peróxido imediatamente cria um novo radical a partir do éster metílico de ácido graxo, o qual, por sua vez, se liga com o oxigênio do ar. Durante este processo, até 100 novos radicais são criados rapidamente de um único radical, demonstrando que a decomposição ocorre a uma rápida taxa exponencial e resulta na formação de uma série de co-produtos. Estes co-produtos formados durante o processo de oxidação causam ao combustível uma eventual deterioração (HUI, 1996).

A estabilidade oxidativa é definida como a resistência da amostra à oxidação e é expressa pelo período de indução (PI) – tempo que decorre até que apareçam os produtos de reação secundários (ANTONIASI, 2001). A estabilidade oxidativa do biodiesel está diretamente relacionada com o grau de insaturação dos alquilésteres presentes (MEHER *et al.*, 2006). Quanto maior o número de insaturações, mais susceptível está a molécula à degradação, tanto térmica quanto oxidativa. A concentração de alquilésteres com alto grau de insaturação varia de acordo com a matéria-prima utilizada na produção do biodiesel. Existem antioxidantes naturais nos óleos vegetais, como os tocoferóis, os quais promovem uma maior estabilidade à oxidação, porém estes podem ser perdidos durante o processo de refino ou por degradação térmica (FERRARI *et al.*, 2005b).

Os triacilglicerídeos de ácidos graxos insaturados, tais como linoléico e linolênico, apresentam sítios reativos sensíveis à oxidação, devido às suas duplas ligações metilênicas intercaladas. Já os ésteres de ácidos graxos saturados são muito estáveis oxidativamente (KNOTHE, 2008). Dependendo do número e da posição das ligações duplas, a auto-oxidação de substâncias graxas insaturadas ocorre em diferentes velocidades (KNOTHE, 2005). Knothe estimou as taxas relativas de oxidação de ésteres metílicos de ácidos graxos saturados e insaturados e confirmou que as taxas relativas de oxidação são 1 para oleatos, 41 para linoleatos e 98 para linolenatos (KNOTHE, 2008).

O uso de aditivos antioxidantes é comum para melhorar a estabilidade oxidativa do biodiesel. A estabilidade oxidativa é geralmente monitorada por métodos baseados na formação de compostos voláteis, que são medidos pelo aumento de condutividade elétrica, como o método Rancimat (EN 14112) ou o método do índice de estabilidade do óleo (OSI-AOCS); entretanto, o teste Rancimat é o único estabelecido em ambas as Normas de biodiesel da American Society for Testing and Materials (ASTM) e EN. Ambos os testes usam o mesmo princípio, medindo o tempo de indução de uma solução aquosa com os produtos de decomposição voláteis da amostra. Ambos os métodos são baseados no uso da massa (não os moles) da amostra (3 g para o Rancimat e 5 g para o OSI) (KNOTHE, 2008).

2.6.1 Método Rancimat

A degradação oxidativa do biodiesel durante o período de estocagem pode ser monitorada pelo período de indução através do teste de oxidação acelerada pelo método Rancimat. Este método é aceito como padrão na Norma EN 14214, a qual estabelece que a estabilidade à oxidação do biodiesel deve ser determinada à 110 °C pelo método Rancimat, exigindo um tempo mínimo de 6 h para o período de indução. Neste método, uma amostra de biodiesel é mantida em um vaso de reação a uma temperatura de 110 °C e sob um fluxo de ar. Na primeira fase de oxidação do biodiesel são formados os peróxidos, a partir da reação lenta com o oxigênio. A segunda fase do processo de oxidação é caracterizada pela rápida reação de dissociação dos peróxidos sob a influência de altas temperaturas. Durante esta reação são formados compostos orgânicos voláteis, como aldeídos, cetonas e ácidos orgânicos de baixa massa molecular, como o ácido fórmico. Estes compostos são então transportados pelo fluxo de ar para outro recipiente contendo água destilada ou deionizada e um eletrodo para a medida da condutividade. A presença dos ácidos orgânicos é então detectada pelo aumento da condutividade no sistema. O fim do período de indução corresponde ao aparecimento dos produtos de oxidação secundários (BIODIESEL STANDARD, 2003; LÔBO *et al.*, 2009).

No Rancimat, a partir da curva de condutividade elétrica *versus* tempo constroem-se duas paralelas que se interceptam num ponto que corresponde na escala de tempo ao período de indução ou índice de estabilidade oxidativa. Abaixo deste ponto, praticamente, não existe formação de compostos secundários de oxidação, enquanto que acima do mesmo ocorre rápido aumento da taxa de oxidação, do índice de peróxido, da absorção de oxigênio e de

formação de voláteis. O Rancimat apresenta o resultado já calculado do período de indução (ANTONIASSI, 2001).

Além do método Rancimat, as técnicas termoanalíticas, tais como Termogravimetria (TG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Calorimetria Exploratória Diferencial Pressurizada (PDSC) e PetroOXY têm sido encontradas na literatura e aplicadas na análise da oxidação de biodiesel (ALBUQUERQUE *et al.*, 2010; GALVÃO *et al.*, 2010).

O PDSC mede a liberação de energia da reação de oxidação ao invés de qualquer produto químico específico de oxidação, pois a análise é realizada diretamente na amostra (DUNN, 2006). O PDSC avalia a estabilidade oxidativa usando um fluxo de calor diferencial entre a amostra e o termopar de referência sob variações de temperaturas e pressões. Esta técnica se diferencia do Rancimat por ser um método rápido e porque contém uma variável a mais, a pressão, possibilitando trabalhar a temperaturas baixas e utilizar pouca quantidade da amostra (CANDEIA, 2008).

No método PetroOXY o tempo de análise é registrado como o tempo necessário para que a amostra absorva 10% da pressão de oxigênio à qual foi submetida no procedimento. No PetroOXY, induz-se na amostra a oxidação através de fluxo intenso de oxigênio, manipulando desta forma as condições de estabilidade pelo uso de aparelhagem específica (GALVÃO, 2007).

FERRARI *et al.* (2005b) avaliaram a estabilidade oxidativa do biodiesel etílico dos óleos de soja neutro, refinado, usado em fritura, e óleo parcialmente hidrogenado usado em fritura. A avaliação foi feita através do equipamento Rancimat, nas temperaturas de 100 e 105 °C, com fluxo de ar de 20 L h⁻¹. O óleo de soja neutro, o refinado e o usado em fritura apresentaram índices de iodo próximos; porém, a estabilidade oxidativa do biodiesel comportou-se de maneira distinta, e a temperatura utilizada também teve bastante influência nas análises. O biodiesel de óleo de soja neutro apresentou maior estabilidade, seguido pelo refinado e usado em fritura. Por conter antioxidantes naturais em sua composição, o óleo neutro de soja proporcionou uma estabilidade oxidativa maior ao biodiesel. O biodiesel proveniente de óleo refinado, que perde parte destes antioxidantes pelo processo de desodorização, apresentou menor estabilidade do que o biodiesel de soja neutro. O processo térmico degrada os antioxidantes, resultando em menor estabilidade ao biodiesel de óleo de fritura, ocorrendo o mesmo com o biodiesel de óleo hidrogenado usado em fritura, embora este apresentasse índice de iodo inferior aos demais.

O monitoramento da estabilidade oxidativa no armazenamento de biodiesel metílico de soja/mamona e blendas em recipientes de vidro fechados com luz foi proposto por MELO

(2009). A estabilidade oxidativa das amostras foi avaliada através da Norma EN 14112, através do Rancimat, durante o período de armazenamento de 60 dias. As blendas foram feitas nas proporções variando de 10, 20 e 30% v/v de biodiesel de mamona ao biodiesel de soja. O tempo de indução para o biodiesel de soja puro e blendas e a viscosidade cinemática para o biodiesel de mamona apresentaram valores fora dos limites estabelecidos pela ANP. O biodiesel metílico de soja e suas blendas em t=0, não atingiram o período de indução superior a 6 horas. O biodiesel metílico de mamona ultrapassou o período de indução. Após 60 dias de armazenamento, o biodiesel de mamona apresentou um decréscimo acentuado, não atendendo mais a regulamentação. Em todas as amostras foram observadas uma diminuição no período de indução e um provável ganho na estabilidade do biodiesel de soja, à medida que aumentou o percentual de biodiesel de mamona nas blendas, mas não suficiente para atender às especificações vigentes. A exposição à luz (fotooxidação) provavelmente é um fator que colabora para diminuição do tempo de indução.

TAGLIABUE *et al.* (2005) adicionaram os metais Cu^{2+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Mn^{4+} , Zn^{2+} e Ni^{2+} em duas amostras de biodiesel, sendo biodiesel de colza refinado e bruto nas concentrações de 1 e 4 mg kg⁻¹ dos metais, fazendo leituras em t=0 e t=3 meses. A adição de Fe^{3+} teve forte efeito sobre a estabilidade oxidativa e a presença combinada de Cu^{2+} e Zn^{2+} no biodiesel provocou uma redução no período de indução para ambas as amostras. Pode-se afirmar que, no decorrer do trabalho, os contaminantes metálicos Fe^{3+} e Cu^{2+} , sendo este particularmente ativo na presença de Zn^{2+} , exerceram um maior impacto sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel.

SARIN *et al.* (2009) avaliaram a influência de contaminantes metálicos na estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de pinhão manso através do método Rancimat. O biodiesel de pinhão manso sem adição de metais exibiu estabilidade oxidativa abaixo da estabelecida pela Norma EN 14112. Com a adição dos metais Fe, Ni, Mn, Co e Cu, foi observada uma influência catalítica na estabilidade oxidativa, mostrando um maior efeito para a amostra adicionada com Cu. De acordo com os autores, um período de indução mínimo de 6 h é muito difícil de ser encontrado para biodiesel derivado de diferentes óleos vegetais, a menos que antioxidantes sejam adicionados ao biodiesel. Foram utilizados dois antioxidantes fenólicos denominados de AO-1 (2,6-di-terc-butil hidroxitolueno) e AO-2 (bis-2,6-di-terc-butil derivado de fenol) e um antioxidante amínico, AO-3 (difenilamina octil butílica). Todos os três antioxidantes foram adicionados nas amostras com concentrações variadas (ppm) e os correspondentes PI foram medidos no Rancimat para observar a eficácia dos diferentes antioxidantes. A estabilidade oxidativa do biodiesel aumentou com o aumento na dosagem

dos antioxidantes. Foi encontrado que o antioxidante AO-1 é o mais eficiente entre todos os antioxidantes usados. Uma dosagem mínima de 200 ppm de AO-1 foi necessária para aumentar o PI do biodiesel de pinhão manso de 3,95 h para aproximadamente 6 h, como requerido pela Norma.

Assim, a presença de metais como Fe^{3+} e Cu^{2+} (sozinho ou em presença de Zn^{2+}) no biodiesel, reduz a estabilidade oxidativa do biodiesel. Entretanto, existe uma grande dificuldade em encontrar amostras de biodiesel que apresentem valores de período de indução acima de 6 horas pelo teste Rancimat, exigido pela Norma EN 14112. Nesse sentido, o uso de antioxidantes neste caso favorece o aumento do período de indução, atendendo a regulamentação. O biodiesel feito a partir do óleo vegetal bruto proporciona maior estabilidade oxidativa ao biodiesel, por conter antioxidantes naturais como os tocoferóis, em relação ao biodiesel feito a partir de óleos refinados, que perdem parte destes antioxidantes no processo de refino (FERRARI *et al.*, 2005b; MELO, 2009; TAGLIABUE *et al.*, 2005; SARIN *et al.*, 2009).

2.7 Técnicas de análise

2.7.1 Espectrometria de Absorção Atômica (AAS)

A espectrometria de absorção atômica (AAS) é uma técnica que utiliza o princípio de que átomos livres no estado gasoso, gerados em um atomizador, são capazes de absorver radiação de frequência específica que é emitida por uma fonte (BORGES *et al.*, 2005). A AAS proporciona alta seletividade com poucas interferências, pois utiliza fontes de radiação específicas para cada elemento. Estas fontes são as lâmpadas de cátodo oco (HCL) ou as lâmpadas de descarga sem eletrodos (EDL). A lâmpada de cátodo oco é a fonte de radiação mais utilizada e esta consiste de um ânodo de tungstênio e um cátodo cilíndrico selado em um tubo de vidro, contendo um gás inerte, como o argônio, a pressões de 1 a 5 torr. O cátodo é fabricado com o metal do analito ou serve de suporte para um recobrimento desse metal (SKOOG; LEARY, 1992).

2.7.1.1 Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS)

A espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS) é provavelmente a técnica mais amplamente utilizada para a determinação de metais em combustíveis, em razão de sua simplicidade, alta velocidade analítica, efetividade e custo relativamente baixo. A técnica foi introduzida em 1955 por Walsh na Austrália e por Alkemade e Milatz na Holanda. O primeiro espectrômetro de absorção atômica comercial foi introduzido em 1959 e, depois disso, o uso da técnica cresceu muito (SKOOG; LEARY, 1992). A F AAS é uma técnica monoelementar na qual uma chama é utilizada como fonte de atomização dos analitos na amostra. A solução da amostra é aspirada por um nebulizador, o qual converte a solução da amostra em uma névoa ou aerossol, e é introduzida na chama de ar/acetileno ou N₂O/acetileno onde se evapora o solvente, e os sólidos remanescentes se separam em átomos (CURTIUS, 1982). O limite de detecção de elementos traço em combustíveis está na faixa de $\mu\text{g kg}^{-1}$ (JESUS, 2008). Entretanto, mesmo sendo uma técnica que apresenta vantagens, especialmente no reduzido tempo de análise, a F AAS apresenta algumas desvantagens como a baixa sensibilidade devido ao curto tempo de permanência dos átomos no caminho ótico, aumentando o limite de detecção; requer um maior volume de amostra, na ordem de mililitros, pois apenas 5% da amostra aspirada chega ao atomizador, sendo a maior parte da amostra descartada para o dreno do nebulizador (PIERRE, 2004). Além disso, a técnica de calibração requer atenção, pois a F AAS está sujeita a algumas interferências não-espectrais, podendo resultar em medidas errôneas (BORGES *et al.*, 2005).

2.7.1.2 Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (ET AAS)

Boris V. L'vov propôs em 1959 o uso de um forno de grafite (GF) como atomizador, (CURTIUS, 1982) que deu origem à chamada espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) ou espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) (PIERRE, 2004). A idéia de L'vov era que a amostra deveria ser completamente vaporizada, e a absorvância total, associada com o elemento de interesse, deveria ser usada para quantificação. Nesta técnica, a amostra é introduzida em um forno de grafite através de um orifício no forno com auxílio de um amostrador automático, ou manualmente com o uso 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 (CURTIUS, 1982).

- *Secagem*: consiste na evaporação do solvente presente na amostra, feita em torno da temperatura de ebulição do solvente e de maneira lenta e controlada para evitar respingos. A temperatura varia em função do tipo de solvente e da amostra a ser empregada;
- *Pirólise*: usada para eliminar o quanto possível da matriz antes da atomização, diminuindo as interferências e reduzindo a magnitude do sinal de fundo, sem perder o analito a ser determinado. A temperatura de pirólise, portanto, depende da matriz e do analito;
- *Atomização*: etapa na qual ocorre a produção de átomos livres no estado vapor e quando é feita a medida de absorvância. A temperatura deve ser alta o suficiente para garantir a completa e rápida volatilização do analito. Idealmente deve ser a temperatura mínima na qual se obtenha o maior valor de absorvância sem perdas do analito (CURTIUS, 1991).

Duas etapas complementares também são necessárias: a etapa de limpeza, na qual serão eliminados resíduos do analito e da matriz da amostra que ainda possam estar presentes no forno, minimizando assim efeitos de memória, e o resfriamento para garantir que a plataforma esteja à temperatura ambiente antes da introdução de uma nova amostra. Cada estágio pode ser constituído de mais de uma etapa de temperatura (CURTIUS, 1991).

Durante a etapa de atomização, podem surgir interferências no atomizador devido ao gradiente de temperatura entre as paredes do forno e a atmosfera no interior do mesmo (PIERRE, 2004; CURTIUS; FIEDLER, 2002), pois as paredes do forno aquecem mais rapidamente. Com isso, quando a superfície do forno atinge a temperatura de atomização, o analito é atomizado e encontra uma atmosfera mais fria podendo condensar ou recombinar-se formando moléculas na fase gasosa (CURTIUS, 1982).

O uso da plataforma de L'vov, montada dentro do forno, normalmente construída com grafite pirolítico, pouco poroso, ou de grafite eletrolítico recoberto com grafite pirolítico, tem a finalidade de retardar o aquecimento da amostra (CURTIUS, 1982). A plataforma deve ser adotada rotineiramente para a determinação de elementos voláteis e medianamente voláteis. Porém, com a utilização do forno com plataforma, as temperaturas da maioria das etapas do programa utilizado deverão ser mais altas do que as temperaturas do programa em fornos sem o uso da plataforma (CURTIUS; FIEDLER, 2002).

O aquecimento resistivo do forno pode ser variado pelo controle da corrente elétrica, de modo que podem ser obtidas temperaturas até o limite de resistência do grafite, em torno de 3000 °C. Durante o programa de temperatura, são mantidos dois fluxos de gás inerte: de

proteção e de purga, que geralmente é o argônio de alta pureza. O fluxo externo passa em torno do forno de grafite e serve para protegê-lo da combustão devido ao contato com o oxigênio sob altas temperaturas, enquanto o fluxo interno arrasta para fora do forno concomitantes da matriz da amostra antes da etapa de atomização, diminuindo as interferências nesta etapa. O fluxo de gás de purga é mantido durante todo o programa de temperatura, exceto na etapa de atomização, na qual é interrompido para um maior tempo de residência do analito no atomizador, a fim de aumentar a sensibilidade (CURTIUS, 1982).

Entre as vantagens da GF AAS podem ser citadas: a alta sensibilidade, superior à obtida com atomização em chama em até três ordens de magnitude, pois toda a amostra introduzida é utilizada para propósitos analíticos e o tempo de residência dos átomos no caminho óptico é superior; as pequenas quantidades de amostra requeridas, na ordem de 5-50 microlitros; e a possibilidade de automação usando-se um pipetador automático, sem que o funcionamento exija a presença do operador. Além disso, possibilita a introdução de amostras com alto conteúdo de matéria orgânica, sólidos dissolvidos, suspensões e amostras sólidas, uma vez que a matriz da amostra pode ser separada e/ou eliminada antes da etapa de atomização do analito (CURTIUS, 1982).

Na maioria dos fornos, introduz-se uma quantidade discreta de amostra e à medida que a mesma é atomizada, o valor da absorvância aumenta até um máximo. Após a atomização completa, os átomos migram para fora do forno por difusão de temperatura e o valor da absorvância diminui, obtendo-se então, um sinal transiente. Se a amostra é totalmente atomizada, a integral da absorvância em relação ao tempo é proporcional ao número total de átomos no atomizador (CURTIUS, 1982).

2.7.1.3 Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua (HR-CS AAS)

A técnica de AAS é uma técnica bastante utilizada em análises de rotina e já existe há mais de meio século. Na década de 1990, no sentido de aprimorá-la e contornar algumas desvantagens, como por exemplo, a necessidade de se utilizar uma lâmpada de cátodo oco para cada elemento a ser determinado e a ocorrência de algumas interferências difíceis de serem eliminadas, desenvolveu-se a técnica de espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) (BORGES *et al.*, 2005). A espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua constitui uma redefinição da técnica AAS tradicionalmente conhecida, sendo uma ferramenta extremamente ampla e valiosa para

análises de diversos tipos de amostras, principalmente daquelas de matriz complexa (DITTERT, 2009).

As principais mudanças instrumentais em relação ao equipamento de AAS convencional são: as lâmpadas de cátodo oco foram substituídas por uma única lâmpada de arco curto de xenônio, similar às lâmpadas utilizadas na iluminação de estádios; foram desenvolvidos monocromadores duplos de alta resolução denominados DEMON (Double Echelle Monochromator) e é utilizado um detector constituído por um arranjo linear de dispositivos de carga acoplada (CCD) (WELZ, 2005). A lâmpada de xenônio é formada por eletrodos de tungstênio em uma atmosfera de xenônio a alta pressão, aos quais é aplicada uma corrente contínua que produz um arco de emissão de alta temperatura (aproximadamente 10000 K) e pequena dimensão (150 μm), chamado “hot spot”, emitindo radiação de alta intensidade na região do UV-visível. A radiação transmitida é novamente focalizada e entra em um monocromador double-echelle através de uma fenda. Esse equipamento permite a cobertura de uma faixa espectral desde o visível (900 nm) até a região do ultravioleta (190 nm), com largura da linha espectral de 1,8 a 8,6 pm (por pixel) (BORGES *et al.*, 2005). O DEMON é constituído basicamente por um prisma e uma rede de difração echelle em arranjo de Littrow. O prisma desempenha o papel de pré-dispersor, selecionando a parte do espectro de interesse e o monocromador echelle fornece a alta resolução do intervalo espectral selecionado. O detector CCD utilizado é similar aos dispositivos utilizados em câmeras fotográficas digitais, com 512 pixels, os quais atuam como 512 detectores independentes (WELZ, 2005).

Com essa nova configuração, é possível obter-se uma técnica robusta com diversas vantagens, entre elas, a observação do espectro tridimensional, o qual relaciona a absorvância com tempo e o comprimento de onda, a melhora na razão sinal/ruído devido à alta intensidade da fonte que é de até três ordens de grandeza maior do que as lâmpadas tradicionalmente utilizadas em AAS, e também a possibilidade de se usar linhas secundárias, que normalmente são pouco intensas quando se utiliza lâmpadas monoelementares (HCL e EDL). Da mesma forma, elementos para os quais não existem lâmpadas monoelementares, como o caso de elementos radioativos, por exemplo, podem ser determinados por HR-CS AAS. Além disso, informações a respeito de interferências espectrais podem ser obtidas, pois o detector permite a visualização do espectro nas vizinhanças da linha analítica de interesse e, dessa forma, também, a correção do fundo, simultaneamente à determinação. A técnica possibilita o armazenamento no software de informações de espectros de referência, como por exemplo, espectros de possíveis interferentes para poderem ser posteriormente subtraídos dos espectros

de amostras, fazendo assim a correção do fundo sobre a linha analítica. Além disso, a utilização de um detector bidimensional permitiria a determinação multielementar simultânea, o que representaria uma revolução em absorção atômica (BORGES *et al.*, 2005).

2.7.2 Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP- MS)

A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) é uma das técnicas mais amplamente difundidas para a determinação de elementos traço, apresentando como principal vantagem a possibilidade de análise multielementar seqüencial rápida, ampla faixa linear de trabalho e alta sensibilidade. A técnica combina a alta energia do plasma com o espectrômetro de massa, obtendo-se assim um analisador isotópico e elementar em um mesmo instrumento, no qual cerca de 90% dos elementos podem ser determinados com limites de detecção na ordem de 0,001 a 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ utilizando a nebulização pneumática. Os principais sistemas para interfaceamento com ICP-MS são a vaporização eletrotérmica (ETV), a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), a cromatografia gasosa (GC), a geração química de vapor (CVG), a ablação a laser (LA) e a análise por injeção em fluxo (FI) (HOUK *et al.*, 1992). As etapas de uma análise incluem resumidamente, a introdução da amostra na fonte de íons e a geração dos íons a partir dos compostos da amostra, separação destes íons de acordo com a sua razão massa carga (m/z) através de um analisador de massa e a posterior detecção destes íons (BECKER, 2007).

Em ICP-MS utiliza-se o plasma como fonte geradora de íons. 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 (normalmente o argônio), onde é formado o plasma. As amostras são normalmente aspiradas por um nebulizador sob a forma de solução líquida e introduzidas no plasma como um fino aerossol. No ambiente do plasma, a alta temperatura (5500 – 10000 K) ocasiona a vaporização, decomposição, atomização, excitação e a ionização dos átomos do analito (A), predominantemente como íons monovalentes (A^+) (HOUK *et al.*, 1992).

Os íons produzidos dessa forma são amostrados e direcionados para o espectrômetro de massa através de uma interface, no qual são selecionados de acordo com sua razão massa-carga e na seqüência detectados. O ambiente nesta interface entre o ICP e o espectrômetro de massa apresenta um vácuo na ordem de 10^{-3} atm, e a amostragem e transporte dos íons se dá

pela diferença de pressão, uma vez que na região do plasma a pressão é atmosférica. A interface geralmente consiste em dois cones metálicos, denominados cone amostrador (*sampler*) e *skimmer*. O feixe iônico entra na interface através do orifício do cone amostrador, que tem aproximadamente 1 mm de diâmetro, atingindo velocidades supersônicas. Nessa região, grande parte das partículas neutras e carregadas negativamente, e também parte dos íons positivos são eliminados do sistema pelas bombas responsáveis pelo vácuo. Os íons positivos passam para a região de alto vácuo do quadrupolo (10^{-6} atm) através do orifício de um segundo cone, chamado *skimmer*, onde na seqüência o feixe iônico é colimado por lentes iônicas e direcionado para o analisador de massa, neste caso um quadrupolo. Na região entre o cone *skimmer* e a lente iônica, está posicionado o parador de fótons, que é uma barreira física de pequena dimensão com o objetivo de impedir que os fótons atinjam e causem danos ao detector (HOUK *et al.*, 1992; PIERRE, 2004; SKOOG; LEARY, 1992). O espectro de massas é um gráfico dos íons produzidos *versus* a razão massa-carga (SKOOG; LEARY, 1992).

Uma interferência é um efeito que faz com que o sinal do analito tenha comportamento diferente na amostra e nas soluções de calibração. As interferências espectrais em ICP-MS são causadas por íons atômicos ou moleculares que apresentam a mesma massa nominal do analito, resultando em maiores contagens e um maior sinal para a razão m/z de interesse. As interferências não-espectrais ocorrem durante a análise, em alguma etapa do processo, desde a introdução da amostra até a chegada dos analitos no detector, e está sempre relacionada com concomitantes da matriz da amostra (EVANS; GIGLIO, 1993). Essas interferências não-espectrais podem ser contornadas através da diluição da amostra, utilização de padrão interno ou utilizando técnicas de calibração como a técnica de adição do analito e calibração por diluição isotópica (VANHAECKE, 2002). A utilização de calibração com padrão interno minimiza os efeitos de matriz, pois permite normalizar o sinal do analito em função de um segundo elemento, o padrão interno, o qual é adicionado em concentração conhecida e igual em todas as soluções de calibração, amostras e brancos. O sinal do analito é dividido pelo sinal do padrão interno e esta razão é usada como sinal analítico (SALIN *et al.*, 2004).

2.8 Determinação de metais em biodiesel e derivados de petróleo

A espectrometria de absorção atômica é amplamente utilizada para a determinação de elementos traço em matrizes complexas. A F AAS tem sido empregada para a determinação

de Ca, Mg e Zn em óleos lubrificantes após a formação de uma solução de três componentes (ZMOZINSKI *et al.*, 2010). A determinação direta de Cu em gasolina por GF AAS foi desenvolvida (SOUSA *et al.*, 2008). A HR-CS ET AAS foi empregada para a determinação simultânea de Cr e Fe em petróleo por análise direta da amostra (DITTERT *et al.*, 2009). A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado e atomização eletrotérmica (ETV-ICP MS) foi utilizada com sucesso na determinação de Ag, As, Cd, Cu, Co, Fe, Mn, Ni, Pb, Sn e Tl em amostras de álcool combustível utilizando calibração externa (PIERRE *et al.*, 2005).

A ANP adota normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e do *Comité Européen de Normalisation* (CEN) para a determinação de Na, K, Ca, Mg e P em biodiesel por técnicas espectrométricas. A determinação das concentrações de Ca, Mg, Na, P e K, de acordo com a Norma NBR 15553, é feita por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). A determinação de Na, K, Ca e Mg também é feita por AAS conforme a Norma NBR 15556. As concentrações de Na e de K são determinados pelas Normas NBR 15554 e NBR 15555, respectivamente, por AAS. Os procedimentos oficiais da União Européia (EN) utilizam ICP OES para a determinação de P (EN 14107) e determinação de Ca, K, Mg e Na (EN 14538). A AAS é utilizada para a determinação das concentrações de Na e K de acordo com as normas EN 14108 e EN 14109, respectivamente. De acordo com as Normas européias, o biodiesel é diluído em querosene na Norma EN 14538 e em xileno nas demais. Todos esses procedimentos utilizam calibração com padrões organometálicos, sendo procedimentos que consomem tempo e dificultam a análise (ANP, 2008a).

Alguns métodos já foram propostos para a determinação de elementos metálicos em amostras de biodiesel por AAS. As técnicas de espectrometria de absorção atômica com chama e espectrometria de emissão atômica com chama (F AES) são técnicas muito utilizadas para a determinação de Na, K, Ca e Mg em biodiesel, por serem técnicas simples e de baixo custo.

CHAVES *et al.* (2008b) desenvolveram um método para a determinação de Na e K em biodiesel por F AES, após a formação de microemulsão das amostras e uso de padrões inorgânicos para a calibração. As microemulsões foram preparadas com propan-1-ol e solução ácida aquosa, sem surfactante. Nesse caso, n-propanol foi utilizado como cossolvente, sendo este o responsável pela homogeneidade do sistema. Foram comparadas a introdução discreta e aspiração contínua da amostra, apresentando LDs semelhantes, na ordem de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ para

ambos analitos. A exatidão do método foi avaliada por testes de recuperação e comparação dos resultados obtidos por ICP OES.

Uma preparação similar das amostras de biodiesel e óleos vegetais por microemulsão, mas com a presença de surfactante, utilizando padrões aquosos microemulsionados para calibração foi aplicada para a determinação de Na, K, Ca e Mg por F AAS por JESUS *et al.* (2008; 2010). Os valores obtidos para os LDs foram na ordem de 0,1 e 0,06 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Na e K, respectivamente, e 0,04 e 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Ca e Mg, respectivamente. Para avaliar a exatidão do método, esta determinação foi feita também de acordo com as Normas Européias EN 14108 (Na), EN 14109 (K) e NBR 15556 (Ca e Mg), além de testes de recuperação.

LYRA *et al.* (2010) propuseram um método para a determinação de Na, K, Ca e Mg em amostras de biodiesel por F AAS usando microemulsão sem a presença de surfactante. A microemulsão foi obtida pela mistura de biodiesel, HNO_3 , uma solução supressora de ionização e n-propanol. As curvas de calibração foram obtidas usando soluções de padrões organometálicos e os LDs encontrados foram de 0,1; 0,01; 0,04 e 0,004 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Na, K, Ca e Mg, respectivamente. A exatidão do método proposto foi verificada pela norma NBR 15556 e testes de recuperação.

A F AES também foi utilizada por OLIVEIRA *et al.* (2009) para a determinação de Na em amostras de biodiesel utilizando o tratamento da amostra por decomposição seca. Para a preparação da amostra, aproximadamente 0,5 g foi pesada e aquecida em um forno mufla a 250 °C por 1 h e depois disso a temperatura foi aumentada para 600 °C, mantendo a amostra nessa temperatura por 4 h. Os resíduos foram dissolvidos e avolumados para 100 mL com 1% v/v de HNO_3 . A calibração externa foi escolhida para as determinações. O método apresentou LD de 1,3 $\mu\text{g g}^{-1}$. A exatidão do método foi confirmada por testes de recuperação.

Técnicas mais sensíveis como a ET AAS, ICP-MS e ICP OES têm sido usadas para a determinação de metais em biodiesel. SANTOS *et al.* (2007) propuseram um método simples e rápido para a determinação simultânea de Ca, P, Mg, K e Na em biodiesel por ICP OES por diluição direta da amostra em etanol após otimização multivariada. A calibração foi feita com soluções padrão em etanol, usando Ítrio como padrão interno. Os LDs obtidos foram de 0,03; 0,5; 0,005; 0,3 e 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Ca, P, Mg, K e Na, respectivamente. Testes de recuperação foram feitos para comprovar a exatidão do método proposto.

CHAVES *et al.* (2008a) determinaram Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V em amostras de diesel e biodiesel por ETV-ICP MS usando emulsão como preparo da amostra. As emulsões foram preparadas pela mistura de 1,0 g de amostra (diesel ou biodiesel) com 2,0 mL de Triton X-100 5% (m/v) e 0,5 mL de HNO_3 concentrado. As determinações foram feitas com padrões

aquosos de calibração e Rh foi usado como padrão interno. Os LDs obtidos foram de 0,5; 1,5; 3; 0,3; 0,5 e 1 ng g⁻¹ para Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V, respectivamente. A exatidão do método foi verificada através de análise de óleo combustível residual de referência NIST 1634-c, testes de recuperação e comparação dos resultados com aqueles obtidos por GF AAS.

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

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

A ET AAS tem sido utilizada com sucesso, devido a sua alta sensibilidade e à capacidade de eliminação da matriz através de um programa de temperatura. SILVA *et al.* (2010) usaram microemulsão como preparação da amostra para avaliar diferentes técnicas de calibração e modificadores para a determinação de Cd, Pb e Tl em biodiesel por GF AAS. As microemulsões foram preparadas pela mistura de 2 g de biodiesel, 1 mL de solução aquosa de HNO₃ 10% (v/v) e *n*-propanol para um volume final de 10 mL. Paládio foi utilizado como modificador permanente para Cd, Tl e Ru como modificadores permanentes para Pb. A calibração aquosa não corrigiu as interferências não-espectrais, mas a calibração com simulação de matriz produziu resultados exatos. Os LDs obtidos foram de 0,5; 6 e 1 ng g⁻¹ para Cd, Pb e Tl, respectivamente. Os resultados obtidos usando-se calibração por adição de analito e por simulação de matriz foram concordantes, confirmando a exatidão do procedimento proposto e padrões organometálicos não foram necessários.

LOBO *et al.* (2009) propuseram uma comparação de métodos univariados e multivariados na otimização de condições experimentais para a determinação de Cu, Pb, Ni e Cd em biodiesel por GF AAS, usando dois procedimentos de preparo da amostra, formação de microemulsão e digestão ácida total em forno micro-ondas. No método de microemulsão,

as amostras foram preparadas pela mistura do biodiesel com o surfactante (Triton X-100) e o volume foi completado com HNO₃ 1% (v/v). O procedimento de digestão em micro-ondas foi feito com HNO₃ concentrado, H₂O₂ e V₂O₅ como catalisador. Diferentes modificadores químicos foram utilizados, como Pd + Mg e W. Os resultados obtidos para Cu e Pb indicaram que as variáveis de preparo da amostra para a digestão em micro-ondas foram o mais importante para os dois analitos.

Em outro trabalho, LOBO *et al.* (2010) propõem um método para determinar Ni e Cd em amostras de biodiesel por GF AAS. Tungstênio foi usado como modificador químico permanente e as amostras foram preparadas na forma de microemulsão pela mistura de aproximadamente 0,5 g de biodiesel com 5,0 g de surfactante (Triton X-100) e completando o volume com HNO₃ 1% (v/v). Os LDs obtidos para Ni e Cd foram de $\leq 0,9$ e $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A exatidão foi confirmada por testes de recuperação. Como vantagens desse método, podem ser citadas a rápida e fácil preparação das amostras e o uso de padrões inorgânicos para a calibração.

Na literatura há outros métodos para a determinação de elementos traço em biodiesel empregando diferentes técnicas analíticas, como por exemplo, potenciometria e voltametria. CASTILHO e STRADIOTTO (2008) propuseram um novo método para a determinação de íons potássio em biodiesel usando um eletrodo modificado de hexacianoferrato de Ni (II) por potenciometria. O eletrodo modificado exibiu uma resposta linear para íons potássio na faixa de concentração de $4,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $1,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O método desenvolvido foi comparado com fotometria de chama e a concentração de K encontrada no biodiesel mostrou que o método do eletrodo modificado apresentou resultados similares àqueles obtidos por fotometria de chama.

MARTINIANO (2009) desenvolveu um método envolvendo voltametria de redissolução anódica usando eletrodo de carbono vítreo com filme de mercúrio preparado *ex situ* para determinação de chumbo em microemulsão de gasolina (gasolina: propan-1-ol: ácido nítrico) e *in situ* para determinação simultânea de chumbo e cobre em microemulsão de gasolina e biodiesel (biodiesel: propan-1-ol: ácido nítrico). A técnica foi escolhida devido ao baixo custo, alta sensibilidade e considerável seletividade. Com o objetivo de eliminar a etapa de pré-tratamento da amostra, uma microemulsão de gasolina foi avaliada como meio alternativo para o acesso aos metais pelas técnicas voltamétricas, apresentando boa precisão e exatidão. Dessa forma, obteve-se um LD de $2,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ para Pb (II) e foram determinadas concentrações de Pb (II) na faixa de $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ quando se utiliza o eletrodo de filme de mercúrio *ex situ* em microemulsões de gasolina. O LD para Pb (II) foi de $3,7 \times 10^{-8}$

mol L⁻¹ e para Cu (II) foi de 4,2 x 10⁻⁸ mol L⁻¹ e as concentrações encontradas de Pb (II) e Cu (II) foram na faixa de 10⁻⁷ e 10⁻⁶ mol L⁻¹, respectivamente, quando se utiliza o eletrodo de filme de mercúrio *in situ* em microemulsões de gasolina e biodiesel.

FRAZÃO (2010) desenvolveu um procedimento de determinação simultânea de Cd²⁺, Pb²⁺ e Cu²⁺ em biodiesel por voltametria de redissolução nos modos pulso diferencial e onda quadrada, usando eletrodos de filme de mercúrio, preparados no modo *ex-situ* e *in-situ*. As amostras foram diluídas em uma solução de ácido acético em metanol para uma concentração final de 3,3 x 10⁻¹ mol L⁻¹. Os resultados obtidos indicam que a voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada apresentou resultados mais sensíveis (concentração de metais no nível de 10⁻⁹ mol L⁻¹) do que os resultados obtidos no modo de pulso diferencial (concentração de metais no nível de 10⁻⁸ mol L⁻¹). A voltametria de redissolução no modo de varredura linear não apresentou sensibilidade suficiente nas condições estudadas. Foram obtidos limites de detecção na ordem de 10⁻⁹ mol L⁻¹ nas análises no modo de pulso diferencial e de 10⁻¹⁰ mol L⁻¹ para o modo onda quadrada. O metal Cd²⁺ não foi detectado nas amostras analisadas. Testes de recuperação foram realizados para avaliar a exatidão do método proposto.

Recentemente, LEPRI *et al.* (2010) fizeram uma revisão da literatura sobre a determinação de elementos traço em óleos vegetais e biodiesel por técnicas espectrométricas atômicas como AAS, ICP OES e ICP-MS. Neste artigo são citados problemas relacionados ao pré-tratamento das amostras para a introdução e calibração apropriada assim como as estratégias para superá-las. Tendências recentes com o objetivo de simplificar a manipulação das amostras foram apresentadas.

2.9 Preparo de amostras

Muitas técnicas analíticas necessitam de um pré-tratamento da amostra. A digestão ácida de óleos tem sido usada para eliminar a matéria orgânica da amostra e solubilizar o analito que pode estar presente sob a forma de partículas metálicas, e, além disso, converter as espécies presentes, como as organometálicas, em íons metálicos. Este tipo de digestão requer o uso de ácidos fortes concentrados e, em muitos casos, estes métodos são longos, tediosos e envolvem muitas etapas (VIEIRA *et al.*, 2009). Emulsificação da amostra é uma alternativa interessante, mas problemas com a instabilidade da emulsão e calibração podem surgir (SILVA *et al.*, 2010; JESUS *et al.*, 2010; LOBO *et al.*, 2009). Diluição com um solvente

orgânico pode ser rápida (SANTOS *et al.*, 2007), porém, aumenta o limite de detecção, não permitindo a determinação de concentrações muito baixas.

O tratamento de amostras de biodiesel com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) é também uma alternativa interessante, a qual tem sido empregada com sucesso na solubilização de amostras biológicas como leite em pó, músculo bovino, tecido de mexilhão, músculo de peixe, cabelo humano, sangue humano e amostras de unha antes de suas análises (MARTINS *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2003; VIEIRA *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2009; BATISTA *et al.*, 2008). Geralmente, o tratamento é muito simples e rápido.

O TMAH é uma base orgânica forte, solúvel em água ou álcoois resultando em soluções incolores com odor de amina, sendo capaz de complexar e estabilizar elementos voláteis. Amostras biológicas em geral podem ser facilmente solubilizadas com esta base em temperatura ambiente, sem a necessidade de aplicação de energias para o aquecimento, como as micro-ondas ou ultra-sônicas. Como inconvenientes, podemos citar o odor e a alta viscosidade da solução resultante do preparo da amostra, assim os procedimentos de análise precisam estar bem otimizados para evitar possíveis interferências não-espectrais (RIBEIRO *et al.*, 2003; MARTINS *et al.*, 2002). Um método para a solubilização de leite em pó e café solúvel usando TMAH foi proposto na literatura por RIBEIRO *et al.* (2003). As concentrações de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Se, Sn e Zn foram determinadas por ICP OES e o método mostrou bons resultados. TORRES *et al.* (2009) propuseram um método para determinar mercúrio total e inorgânico em amostras de referência certificadas biológicas por espectrometria de absorção atômica com vapor frio (CV AAS), após as amostras terem sido tratadas com TMAH à temperatura ambiente. A simplicidade aliada à alta eficiência sem o uso de técnicas cromatográficas são algumas das qualidades do método proposto.

A metilação direta de ácidos carboxílicos e seus ésteres usando TMAH combinado com aquecimento é conhecida desde 1963 por Robb e Westbrook (VAN DEN BERG; BOON, 2001). O reagente alcalino TMAH é eficiente na hidrólise e derivatização de ácidos graxos, ambos como ácidos livres e em diferentes ésteres. Ácidos graxos poliinsaturados, como o linoléico e o linolênico, são isomerizados a um número de diferentes ácidos octadecadienóicos e trienóicos, devido às fortes condições alcalinas do TMAH. O TMAH quebra completamente ésteres de ácidos graxos devido à sua alta alcalinidade. Os ésteres de ácido graxo são hidrolisados por álcalis ao correspondente sal de ácido graxo e álcool (HARDELL; NILVEBRANT, 1999), possibilitando assim, a solubilização deste em meio aquoso.

3. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é o desenvolvimento de um método analítico simples para a determinação de Cu e Fe em amostras de biodiesel produzidas de diferentes matérias-primas por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) após o tratamento das amostras com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) e também o estudo do efeito desses metais em diferentes concentrações sobre a estabilidade oxidativa e o tempo de armazenamento do biodiesel através do período de indução, medido pelo método Rancimat.

3.1. Objetivos específicos

Avaliar qualitativamente os principais metais presentes em amostras de biodiesel de diferentes fontes.

- Fazer uma análise semi-quantitativa das amostras de biodiesel provenientes de babaçu, mamona, nabo forrageiro e soja por ICP-MS e identificar os principais metais presentes nestas;
- Selecionar dois metais, com significativa importância para o processo de produção e qualidade do biodiesel, para o desenvolvimento de um método analítico para a determinação destes utilizando ET AAS.

Desenvolver uma metodologia analítica para a determinação de Cu e Fe em amostras de biodiesel por ET AAS utilizando tratamento das amostras com hidróxido de tetrametilamônio.

- Otimizar as condições para o preparo das amostras de biodiesel com TMAH e também o programa de temperaturas para Cu e Fe;
- Avaliar diferentes técnicas de calibração para a determinação de Cu e Fe em biodiesel;
- Definir os parâmetros de mérito e verificar a exatidão do método proposto através de comparação com os resultados obtidos por HR-CS ET AAS e testes de recuperação;

- Aplicar a metodologia proposta em sete amostras de biodiesel obtidas de diferentes fontes, tais como: algodão, borra de soja, mamona, nabo forrageiro, óleo de fritura, sebo bovino e soja.

Sintetizar o biodiesel e avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel puro (B100) sintetizado e após a adição dos metais Cu e Fe em diferentes concentrações e tempos de armazenamento, através de medidas do período de indução medido pelo método Rancimat (Norma EN 14112).

- Sintetizar o biodiesel a partir de óleo vegetal de soja comercial através da transesterificação alcalina utilizando KOH em meio de metanol;
- Monitorar o parâmetro período de indução para as amostras de biodiesel com e sem adição de Cu e Fe em diferentes tempos de armazenamento;
- Correlacionar os resultados obtidos de período de indução, tempo, natureza do metal e concentração do metal para o biodiesel de soja.

4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

4.1 Instrumentação

4.1.1 Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)

Para a análise semi-quantitativa das amostras de biodiesel foi utilizado um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado, modelo Elan 6000 (Perkin Elmer-Sciex, Thornhill, ON, Canadá) do Laboratório de Espectrometria Atômica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Gás argônio 99,996% de pureza (White Martins, Brasil) foi utilizado como gás nebulizador nos experimentos. Utilizando nebulização pneumática convencional o instrumento foi otimizado (*daily performance*) para máxima sensibilidade para íons M^+ e a dupla ionização e os óxidos foram monitorados através das razões entre Ba^{2+}/Ba^+ e Ce^+/CeO^+ , respectivamente, sendo estas sempre menores que 3%. Para a digestão das amostras utilizou-se a digestão por micro-ondas (Milestone – Microwave Laboratory Systems, Sorisole, Itália) MLS 1200 MEGA. Os parâmetros operacionais utilizados para o ICP-MS estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros operacionais do ICP-MS.

Potência de radiofrequência	1100 W
Cones da interface – amostrador e <i>skimmer</i>	Pt
Modo de varredura	<i>Peak Hopping</i>
Medida do sinal	Área de pico
Resolução	0,7 amu (10% altura pico)
Varreduras por leitura	1
Leituras por replicata	55
Replicatas	3
<i>Dwell time</i>	25 ms
Tempo morto	65 ns
Modo de operação do detector	Dual
Vazão do gás	
Principal	15 L min ⁻¹
Secundário	1,2 L min ⁻¹
Nebulizador	1,0 L min ⁻¹

4.1.2 Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS)

As medidas foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica AAnalyst 100 (Perkin Elmer, Norwalk, CT, EUA) do Laboratório de Espectrometria Atômica da UFSC, equipado com corretor de fundo de lâmpada de arco de deutério, um atomizador eletrotérmico aquecido longitudinalmente HGA 800 e um amostrador automático AS-72, todos da Perkin Elmer. O equipamento foi controlado por um microcomputador com programa AA Winlab em ambiente operacional Windows[®]. Áreas de pico corrigidas do sinal de fundo foram usadas para avaliar o sinal analítico. Lâmpadas de cátodo oco da Perkin Elmer foram operadas com uma corrente de 15 mA, comprimento de onda em 324,8 nm e usando uma largura de fenda de 0,7 nm para o Cu e em 30 mA, comprimento de onda em 248,3 nm, e largura de fenda de 0,2 nm para o Fe.

Alíquotas de 20 µL das amostras tratadas e soluções de calibração foram injetadas diretamente no forno de grafite. Argônio, com uma pureza de 99,996% (White Martins, Brasil) foi usado como gás inerte de proteção e purga. Tubos de grafite cobertos piroliticamente (Part Number B0109322) com plataforma de grafite pirolítico (Part Number B0109324) da Perkin Elmer foram usados em todas as medidas.

O programa de temperaturas do forno de grafite otimizado para as determinações de Cu e Fe nas amostras de biodiesel é apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Programa de temperaturas otimizado para a determinação de Cu e Fe em amostras de biodiesel por ET AAS e tratamento com TMAH.

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo de rampa (s)	Tempo de permanência (s)	Vazão interna de Ar (mL min⁻¹)
Secagem	90	10	10	250
Secagem	150	8	10	250
Secagem	300	10	15	250
Pirólise	1000	10	15	250
Resfriamento	20	1	3	250
Atomização	2300	0	5	0
Limpeza	2400	1	3	250

4.1.3 Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e atomização eletrotérmica (HR-CS ET AAS)

Para verificar a exatidão do método proposto as amostras foram diluídas em etanol e analisadas por HR-CS ET AAS. Utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua contra AA 700 (Analytik Jena, Alemanha) do Laboratório de Espectrometria Atômica da UFSC, equipado com forno de grafite aquecido transversalmente. O programa de temperaturas do forno de grafite otimizado para as determinações de Cu e Fe nas amostras de biodiesel é apresentado na Tabela 4.

Tabela 4. Programa de temperaturas otimizado para a determinação de Cu e Fe em amostras de biodiesel por HR-CS ET AAS após diluição em etanol.

Etapa	Temperatura (°C)	Taxa de Aquecimento (°C s⁻¹)	Permanência (s)
Secagem	90	6	20
Secagem	150	3	20
Secagem	300	5	10
Pirólise	1000	300	20
Atomização	2400	1500	4
Limpeza	2450	500	4

4.1.4 Avaliação da estabilidade oxidativa através do método Rancimat

O equipamento utilizado nos ensaios foi o Rancimat (Metrohm, modelo 743) do Laboratório de Análises e Pesquisa em Química Analítica de Petróleo e Biocombustíveis (LAPQAP) da Universidade Federal do Maranhão.

Para avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel de soja, utilizou-se o método padronizado pela norma EN 14112, adotado no Brasil pela ANP. Um fluxo de ar (10 L/h a 110 °C) em célula de medição abastecida por água deionizada foi usado. O tempo de indução foi determinado pela medida da condutividade. No Brasil, o limite adotado pela ANP é no mínimo 6 h de ensaio. A Figura 2 mostra o esquema do funcionamento do equipamento Rancimat.

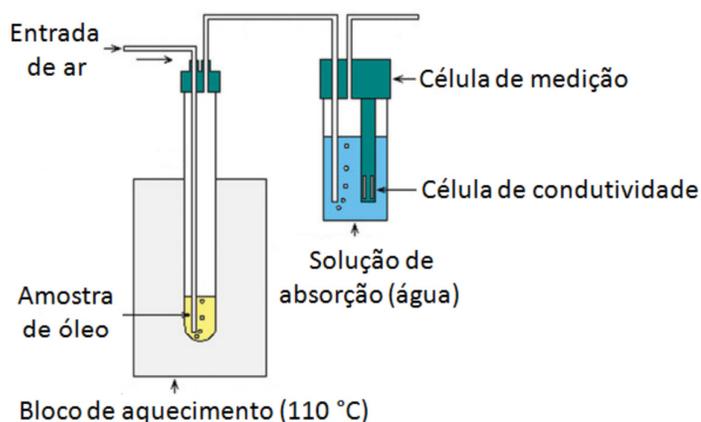


Figura 2. Esquema de ensaio de estabilidade à oxidação (Rancimat)

4.2 Materiais e reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. A água utilizada foi destilada e posteriormente deionizada a uma resistividade de 18,2 MΩ cm em um sistema Milli-Q Millipore (Bedford, MA, EUA). Ácido nítrico P.A. (Carlo Erba Reagenti, Itália) foi bidestilado abaixo do seu ponto de ebulição em um destilador de quartzo da Kürner Analystechnik (Rosenheim, Alemanha).

Foram utilizadas soluções multielementares ICP Multi Element da Merck (Darmstadt, Alemanha), solução de Rh 500 µg L⁻¹ (Merck), solução de TMAH 25% m/v em metanol (Sigma, EUA). Soluções estoque contendo 1000 ± 0,002 mg L⁻¹ de Cu e Fe foram preparadas

por diluição de ampolas de Titrisol da Merck. Peróxido de hidrogênio (Merck) e etanol PA (J.T. Baker, México).

Foi utilizado óleo vegetal comercial (Soya, Brasil), álcool metílico P.A. (Quimex), hidróxido de potássio P.A. (Neon, Brasil) e ácido clorídrico fumegante 37% (Merck). Sulfato de cobre pentahidratado 99,0-100,5% de pureza ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{PM}=249,28 \text{ g mol}^{-1}$) e cloreto férrico hexahidratado 99,0-102% de pureza ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{PM}=270,33 \text{ g mol}^{-1}$), ambos de procedência da Merck, foram utilizados.

4.3 Amostras

Foram utilizadas nove amostras de biodiesel provenientes de diferentes fontes sendo estas: algodão, babaçu, borra de soja, mamona, nabo forrageiro, óleo de fritura, sebo bovino e duas de soja. Todas as amostras foram procedentes de processos catalíticos utilizando catálise alcalina. As análises por ICP-MS foram realizadas com as amostras de biodiesel de babaçu, mamona, nabo forrageiro e soja; ET AAS com as amostras de biodiesel de algodão, borra de soja, mamona, nabo forrageiro, óleo de fritura, sebo bovino e soja. Para avaliação da estabilidade oxidativa através do Rancimat foi sintetizada amostra de biodiesel de soja. As demais amostras de biodiesel foram gentilmente fornecidas pelo Núcleo de Biodiesel da Universidade Federal do Maranhão e pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR).

4.4 Limpeza dos materiais

Os materiais utilizados nos experimentos (vidrarias, frascos de polietileno, ponteiros, copos amostradores, etc.) foram previamente lavados com água de torneira e deixados em contato com uma solução de Extran® diluído a 10% v/v por pelo menos 24 h, removendo assim os resíduos orgânicos destes materiais. Posteriormente, os mesmos materiais foram lavados com água destilada e então deixados em contato, por no mínimo 48 h, em uma solução de HNO_3 10% v/v e em seguida, foram lavados com água deionizada por três vezes consecutivas e levados à capela de fluxo laminar para secagem.

4.5 Preparo das amostras

4.5.1 ICP-MS

As determinações via ICP-MS foram realizadas após a decomposição ácida das amostras de biodiesel em sistema fechado em forno micro-ondas. Uma alíquota de 0,25 g de biodiesel foi pesada diretamente em frascos de Teflon® e adicionados 3 mL de HNO₃ e 1,5 mL de H₂O₂, procedimento adaptado de KORN *et al.* (2010). Em seguida submetidos ao programa de digestão apresentado na Tabela 5.

Tabela 5. Programa utilizado para a digestão das amostras de biodiesel no forno micro-ondas.

Etapa	Tempo (min)	Potência (W)
1	5	80
2	5	0
3	5	100
4	5	0
5	10	250
6	7	0
7	10	250
8	5	0
9	10	500
10	0	0

Após a solubilização completa das amostras, elas foram diluídas com água deionizada na proporção de 1:5 v/v para a realização das análises por ICP-MS.

As determinações foram realizadas com calibração com padrões aquosos e Rh (2,5 µg L⁻¹) como padrão interno. A faixa de concentração da curva de calibração foi de 1 a 50 µg L⁻¹.

4.5.2 ET AAS

As amostras foram preparadas em frascos de polietileno de 15 mL, pela mistura de 500 mg de amostra de biodiesel com 500 µL de solução de TMAH 25% v/v. O volume de TMAH a ser adicionado e o tempo de aquecimento foram otimizados para a amostra de biodiesel de nabo forrageiro. Após a mistura, os frascos contendo as amostras e o TMAH foram aquecidos em chapa aquecedora a 90 °C por 5 minutos, em seguida as amostras foram avolumadas com água deionizada para um volume final de 5 mL.

As curvas de calibração para os analitos Cu e Fe foram feitas com soluções padrão contendo 5; 10; 20; 30 e 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito e 2,5% v/v de TMAH. Curvas de calibração em água sem a presença de TMAH e curvas de adição de analito também foram realizadas. As curvas de adição de analito foram obtidas pela adição de 5; 10; 20; 30 e 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito para a amostra tratada com TMAH.

4.5.3 HR-CS ET AAS

As amostras de biodiesel, aproximadamente 600 μL , foram diluídas diretamente em frascos de polietileno na proporção de 30% v/v em etanol e acidificadas em 1% v/v com ácido nítrico bi-destilado. As curvas de calibração com padrões aquosos foram feitas com soluções padrão contendo 5; 10; 20; 30 e 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos Cu e Fe e 1% v/v de HNO_3 .

4.5.4. Síntese do biodiesel de soja

Foi utilizada uma massa de aproximadamente 700 g de óleo de soja comercial. Para cada 100 g do óleo de soja, foram utilizados 35 mL de metanol e 1,5 g do catalisador KOH. A produção do biodiesel foi feita no Laboratório de Pesquisa em Química Analítica (LPQA) na Universidade Federal do Maranhão.

Primeiramente, o óleo de soja foi seco em estufa durante 2 horas a 80 °C. A síntese foi realizada da seguinte forma: inicialmente foi obtido o metóxido de potássio misturando o álcool metílico com o hidróxido de potássio, sob agitação constante até a homogeneização completa. Adicionou-se ao óleo de soja o metóxido de potássio, misturando-se por 2 horas sob agitação constante em agitador mecânico. Ao final da reação, a mistura foi transferida para um funil de decantação, com a finalidade de separar as fases.

Após o repouso, observaram-se duas fases bem distintas: uma contendo ésteres, menos densa e mais clara, e outra rica em glicerina, mais densa e mais escura. Após o repouso de 24 h, a glicerina foi retirada e o biodiesel foi purificado pelo processo de lavagem. O biodiesel foi neutralizado com solução aquosa de HCl 0,5% v/v e em seguida lavado três vezes com água destilada. A cada adição de água, o biodiesel foi deixado em repouso, decantando, por 30 minutos para que houvesse a separação da fase aquosa e orgânica. Em seguida, o biodiesel purificado, com pH próximo de 7,0, foi levado para a estufa por aproximadamente 4 horas a

100 °C para eliminar traços de água e álcool que ainda poderiam estar presentes no biodiesel de soja.

4.5.5 Avaliação da estabilidade oxidativa através do método Rancimat

4.5.5.1 Adição dos metais no biodiesel de soja e armazenamento

A partir da amostra de biodiesel de soja produzida, foi preparada uma série de amostras em seis frascos de polietileno de alta densidade (HDPE) contendo os metais individuais Cu^{2+} ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e Fe^{3+} ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) nas concentrações de 3, 5 e 10 mg kg^{-1} .

Em três frascos foram pesados aproximadamente 100 g de biodiesel para posterior adição de Cu^{2+} e outros três frascos foram usados para a adição de Fe^{3+} , sendo que foram pesados aproximadamente 50 g de biodiesel. Para a adição, os sais foram pesados de maneira que se obtivessem as concentrações previstas de cada metal.

Além da presença de metais, fatores como oxigênio, temperatura, luz, entre outros, podem aumentar a oxidação do biodiesel, por isso alguns cuidados foram tomados no armazenamento das amostras a fim de reduzir a influência destes fatores sobre a estabilidade do biodiesel. Assim, todas as amostras foram armazenadas em frascos vedados e acondicionadas em geladeira (10 ± 3 °C) protegidas da luz durante 2 dias, em seguida realizou-se o primeiro ensaio de estabilidade oxidativa, segundo a Norma EN 14112. Uma amostra de biodiesel de soja não adicionado foi separada em um frasco de HDPE e mantida sob as mesmas condições de armazenamento para que ela fosse a amostra de referência.

Alíquotas de 3 g de amostra foram pesadas em cada frasco para as análises no Rancimat, sendo estas realizadas após 2, 10 e 30 dias de armazenamento na amostra sem a presença de metais e após a adição dos metais.

4.6 Validação da metodologia proposta

Um processo analítico pode ser dividido em desenvolvimento de método, sua validação e fase de aplicação. O objetivo de uma análise é gerar informações confiáveis, exatas e interpretáveis sobre a amostra e garantir que o método analítico preencha estes requisitos (RIBANI *et al.*, 2004).

A validação da metodologia analítica desenvolvida para determinar Cu e Fe em amostras de biodiesel por ET AAS utilizando tratamento com TMAH foi feita com base nos seguintes parâmetros estatísticos: linearidade, sensibilidade, precisão, repetitividade, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão. Os critérios de validação estudados são apresentados a seguir.

4.6.1 Linearidade

É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um determinado intervalo. É recomendado que a linearidade seja determinada pela determinação de, no mínimo, cinco concentrações diferentes. A relação matemática entre o sinal e a concentração ou massa da espécie de interesse é chamada de curva, também conhecida como curva de calibração, e é um gráfico que mostra a resposta de um método analítico como uma função de uma quantidade conhecida do constituinte a ser medida (RIBANI *et al.*, 2004).

A linearidade foi verificada pelo coeficiente de correlação linear, R, resultante da linha de regressão de cinco concentrações diferentes, para Cu e Fe, individualmente. As concentrações utilizadas para as curvas de calibração foram: 5; 10; 20; 30 e 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito.

4.6.2 Sensibilidade

A sensibilidade de um método indica sua capacidade de discriminar, com uma fidelidade estabelecida, concentrações próximas de um analito. Essa grandeza pode ser determinada por intermédio da inclinação do gráfico da curva de calibração. No caso de uma reta, quanto maior o ângulo de inclinação da reta, mais sensível será o método (LEITE, 1996).

4.6.3 Precisão

A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas (RIBANI *et al.*, 2004). A precisão pode ser expressa através da estimativa do desvio padrão relativo

(RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV) em termos percentuais, de acordo com a Equação 1 (HARRIS, 2001).

$$RSD = \frac{s}{\bar{X}} * 100$$

Equação 1

Onde s= desvio padrão absoluto;

\bar{X} = média das determinações.

Normalmente, métodos que quantificam compostos em macro quantidades requerem um RSD de 1 a 2%. Em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos RSD de até 25%, dependendo da complexidade da amostra (MENDHAM *et al.*, 2000). A precisão das medidas foi avaliada pelo teste da repetitividade das leituras.

4.6.3.1 Repetitividade

Um mesmo procedimento; mesmo analista; mesmo instrumento usado sob as mesmas condições; mesmo local e repetições em um curto intervalo de tempo determinam a repetitividade de um método. A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de medição, chamadas condições de repetitividade (FRAZÃO, 2010). Neste trabalho o estudo de repetitividade foi realizado pela leitura em triplicata de três replicatas de cada amostra de biodiesel.

4.6.3.2 Reprodutibilidade

Mudança de operador; laboratório; equipamentos, etc, determinam a reprodutibilidade de um método. A reprodutibilidade é o grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra, efetuada sob condições variadas (MARTINIANO, 2009). Neste trabalho não foi realizado o estudo de reprodutibilidade.

4.6.4 Limite de detecção

O limite de detecção (LD) corresponde à menor quantidade de um analito detectada. Na prática, é determinado como a menor concentração do analito a qual pode ser diferenciada do ruído do sistema, com segurança (SKOOG *et al.*, 2002).

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

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

Equação 2

Onde s representa o desvio padrão de dez medidas do branco e b a inclinação da curva de calibração.

4.6.5 Limite de quantificação

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

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

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

Equação 3

Onde s representa o desvio padrão de dez medidas do branco e b a inclinação da curva de calibração.

4.6.6 Exatidão

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

4.6.6.1 Comparação dos resultados entre ET AAS e HR-CS ET AAS pelo teste-t de Student

Para verificar se dois grupos de medidas obtidas por técnicas distintas fornecem resultados “idênticos” ou “diferentes” dentro de um determinado nível de confiança, utiliza-se o teste-t de *Student*.

Para dois grupos de dados constituídos em n_1 e n_2 , médias (\bar{X}_1 e \bar{X}_2) calculamos um valor de t utilizando a Equação 4. As Equações 4 e 5 são utilizadas quando o desvio padrão populacional não é o mesmo para ambos os grupos de medidas. O número de graus de liberdade é calculado de acordo com a Equação 5 e arredondando-se o resultado para o número inteiro mais próximo (HARRIS, 2001).

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

Equação 4

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

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

s_1 = desvio padrão do método proposto

s_2 = desvio padrão do método de comparação

n_1 = número de replicatas do método proposto

n_2 = número de replicatas do método de comparação

$$\text{Graus de Liberdade} = \left\{ \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2} \right)^2}{\left(\frac{(s_1^2/n_1)^2}{n_1 + 1} + \frac{(s_2^2/n_2)^2}{n_2 + 1} \right)} \right\} - 2$$

Equação 5

O valor de t_{cal} obtido a partir da equação 4 é comparado com o valor de t_{tab} para o número de graus de liberdade calculado na Equação 5. Se o valor de t_{cal} for maior que o valor de t_{tab} os dois resultados são considerados diferentes. Em ambos os métodos as determinações foram feitas em triplicadas, logo, $n_1 = n_2 = 3$.

4.6.6.2 Teste de recuperação

A exatidão pode ser calculada como porcentagem de recuperação de uma quantidade conhecida do analito adicionado à amostra, ou como a diferença percentual entre as médias e o valor verdadeiro aceito (LEITE, 1996). A relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica experimental correspondente determina a exatidão expressa pelos ensaios de recuperação, conforme a Equação 6 (MARTINIANO, 2009).

$$R (\%) = \frac{\textit{média do valor obtido}}{\textit{média do valor adicionado}} \times 100$$

Equação 6

A exatidão do método foi avaliada através de comparação com os resultados obtidos através da análise por HR-CS ET AAS, além de testes de recuperação para duas amostras de biodiesel, enriquecendo as amostras com duas concentrações diferentes de Cu e Fe. No estudo de recuperação, concentrações conhecidas dos metais foram adicionadas nas amostras de biodiesel, cuja concentração original, foi previamente determinada.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação semi-quantitativa da concentração de metais no biodiesel

5.1.1 Digestão das amostras

Devido à complexidade da matriz do biodiesel e seu alto conteúdo orgânico, a digestão desse tipo de amostra é muitas vezes dificultada. Com isso, para a digestão das amostras de biodiesel foi utilizada a digestão da amostra por via úmida em forno micro-ondas, onde ocorre o aquecimento da amostra na presença de uma mistura de ácido mineral oxidante concentrado (HNO_3) com peróxido de hidrogênio. O poder oxidante de um ácido aumenta pela utilização de um agente oxidante auxiliar, como no caso do H_2O_2 . Quando adicionado ao HNO_3 auxilia a remoção de vapores de óxidos nítricos e acelera a digestão das amostras orgânicas pelo aumento da temperatura. Neste tipo de digestão geralmente ocorre a oxidação completa das amostras e os elementos a serem determinados permanecem na solução ácida, na sua forma inorgânica simples, sendo ideal para a determinação. Com a presença de HNO_3 os metais são convertidos em nitratos solúveis, permitindo determinações quantitativas. A decomposição em micro-ondas é útil para a determinação de baixas concentrações de metais em vários tipos de amostras.

Porém, algumas vezes podem ocorrer perdas de amostra e dos analitos devido à volatilização e vazamentos provocados pela alta pressão resultante da decomposição da matéria orgânica ou também resultando, em muitas vezes, na incompleta decomposição da amostra. Assim, a fim de evitar esses problemas foi aplicado um programa de digestão em várias etapas e de maneira lenta e controlada, inicialmente utilizando potências baixas e intercalando com etapas de resfriamento, garantindo assim a completa decomposição das amostras e evitando perdas dos analitos e danos no equipamento. As etapas de resfriamento entre as etapas de aquecimento são fundamentais para evitar vazamentos durante o processo de digestão. Assim as amostras foram completamente digeridas resultando em uma solução de aspecto límpido e homogêneo.

5.1.2 Análise por ICP-MS

A presença de metais no biodiesel está diretamente relacionada com a matéria-prima utilizada e também com o processo utilizado para a obtenção do biodiesel. Nesse sentido, a concentração de metais pode variar de amostra para amostra. Assim, com o objetivo de investigar os metais presentes em amostras de biodiesel, provenientes de diferentes origens, realizou-se uma análise semi-quantitativa nas amostras. As amostras analisadas foram biodiesel de babaçu, mamona e soja, provenientes do núcleo de biodiesel da UFMA e biodiesel de nabo forrageiro, proveniente da TECPAR. Porém, não desenvolveu-se uma metodologia específica para determinação de metais em amostras de biodiesel.

Devido à alta concentração de ácido utilizada, as amostras digeridas devem ser diluídas adequadamente para evitar a introdução de altas concentrações de ácido e também reduzir problemas com interferências. As interferências podem ser contornadas através da diluição da amostra, utilização de padrão interno ou com técnicas de calibração alternativas, como a adição de analito (VANHAECKE, 2002). Geralmente, amostras de biodiesel contêm metais em quantidades relativamente baixas, uma diluição muito alta pode fazer com que a concentração do analito fique muito abaixo do limite de quantificação da técnica, gerando dúvidas nos resultados. Assim, depois de digeridas, as amostras foram diluídas na proporção de 1:5 v/v e as determinações foram realizadas utilizando calibração externa com uso de padrão interno Rh ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$), possibilitando correção de interferências não espectrais.

Os resultados obtidos para as amostras de biodiesel de mamona, babaçu, soja e nabo forrageiro, estão apresentados nos gráficos das Figuras 3, 4, 5 e 6, respectivamente.

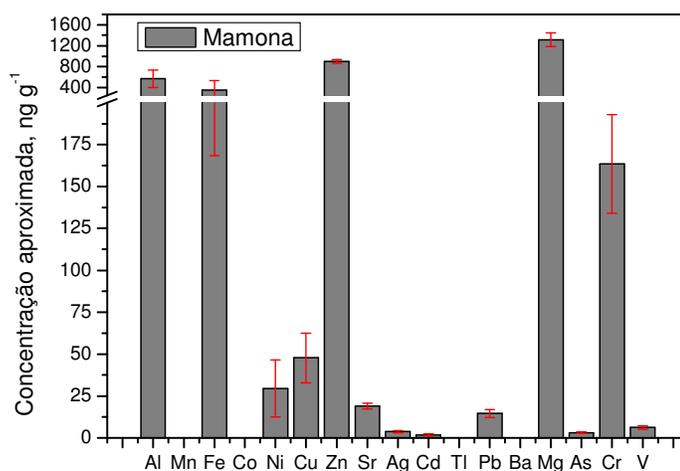


Figura 3. Resultados obtidos por ICP-MS para os metais presentes na amostra de biodiesel de mamona utilizando calibração externa com padrão interno Rh ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$).

De acordo com a Figura 3, o metal que está mais presente na amostra de biodiesel de mamona é o Mg, outros metais como Al, Cr, Cu, Fe, Ni e Zn também estão presentes. Metais como Ag, As, Ba, Cd, Co, Tl e V não possuem presença significativa nesta amostra.

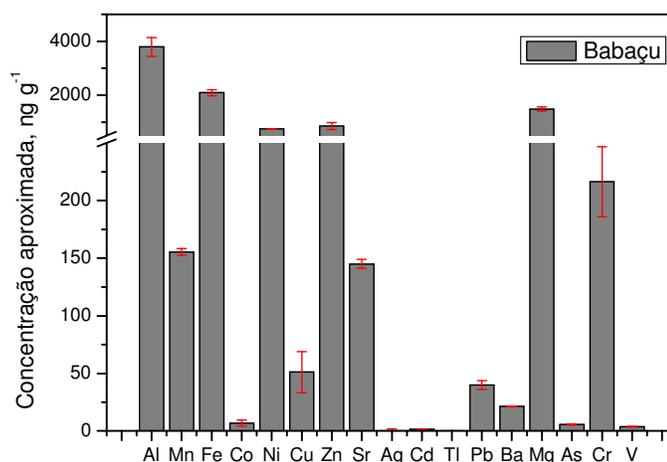


Figura 4. Resultados obtidos por ICP-MS para os metais presentes na amostra de biodiesel de babaçu utilizando calibração externa com padrão interno Rh ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$).

De acordo com a Figura 4, o metal que está mais presente na amostra de biodiesel de babaçu é o Al, outros metais como Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sr e Zn também estão presentes. Metais como Ag, As, Cd, Co, Tl e V não possuem presença significativa nesta amostra.

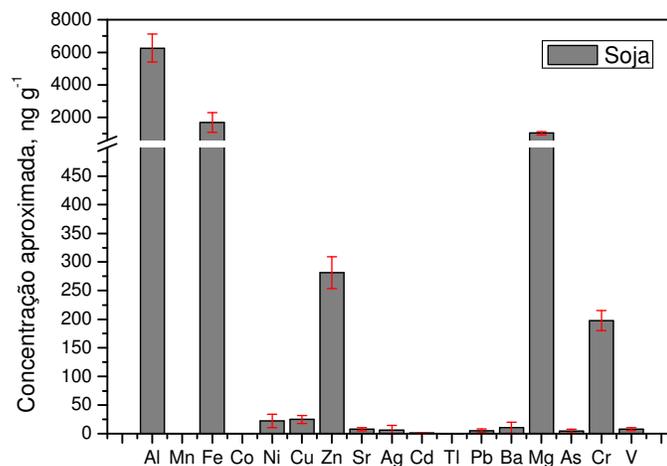


Figura 5. Resultados obtidos por ICP-MS para os metais presentes na amostra de biodiesel de soja utilizando calibração externa com padrão interno Rh ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$).

De acordo com a Figura 5, Al é o metal que está mais presente na amostra de biodiesel de soja, outros metais como Cr, Fe, Mg e Zn também estão presentes. Entretanto, metais como Ag, As, Ba, Cd, Co, Pb, Sr, Tl e V não possuem presença significativa nesta amostra.

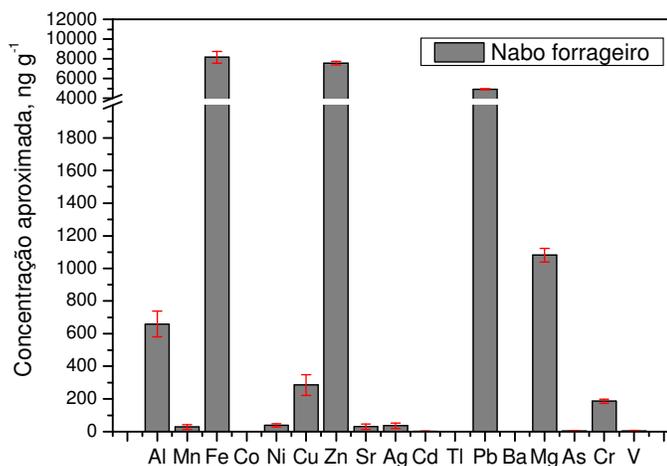


Figura 6. Resultados obtidos por ICP-MS para os metais presentes na amostra de biodiesel de nabo forrageiro utilizando calibração externa com padrão interno Rh ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$).

De acordo com a Figura 6, os metais que estão mais presentes na amostra de biodiesel de nabo forrageiro são Fe e Zn, outros metais como Al, Cu, Mg e Pb também estão presentes. Metais como Ag, As, Ba, Cd, Co, Mn, Ni, Sr, Tl e V estão presentes em baixas concentrações.

A presença destes diferentes metais nas amostras de biodiesel, em maior ou menor concentração, varia em função da disponibilidade dos metais no solo onde as plantas foram cultivadas. Os metais são absorvidos do solo pelas plantas e com isso são transferidos para os óleos vegetais extraídos das mesmas para a produção de biodiesel.

Estudos comprovam que metais presentes no biodiesel como Co, Mn, Ni, Zn, Cu e Fe participam de processos de degradação do biodiesel, diminuindo sua estabilidade oxidativa e o tempo de armazenamento devido à ação catalítica nos processos de oxidação do biodiesel (TAGLIABUE et al., 2005 e SARIN et al., 2009), justificando a importância do monitoramento da concentração destes metais. Assim, para os estudos posteriores, selecionaram-se dois metais, Cu e Fe para o desenvolvimento de uma metodologia para a determinação destes metais por ET AAS e também para posterior avaliação da sua influência sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel, avaliado pelo método Rancimat através do período de indução.

5.2 Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de Cu e Fe em biodiesel por ET AAS utilizando tratamento com TMAH

5.2.1 Otimização do preparo das amostras com TMAH

Para a otimização do tratamento das amostras de biodiesel com TMAH, a quantidade de amostra foi fixada em 500 mg e foram avaliados a influência do volume de TMAH adicionado e o tempo de aquecimento a uma temperatura fixa de 90 ± 3 °C. Os volumes de 50, 100, 200, 300, 400 e 500 μ L de solução de TMAH 25% v/v foram adicionados a uma amostra de biodiesel de nabo forrageiro e submetidos ao aquecimento a 90 ± 3 °C por 5 min e em seguida avolumados com água deionizada até o volume de 5 mL. Observou-se, para volumes inferiores a 500 μ L, com adição de água ao meio a solução tornava-se turva, indicando uma solubilização parcial da amostra. Porém, para um volume de 500 μ L de TMAH, foi observada uma completa solubilização da amostra atestada pela obtenção de uma solução clara e límpida. Com isso, o volume de TMAH otimizado foi de 500 μ L. O tempo de aquecimento foi também otimizado, avaliando tempos de 0; 1; 2,5; 5; 10 e 15 minutos, observando-se que, para tempos inferiores a 5 minutos, as amostras não solubilizaram completamente tornando-se soluções turvas. Por outro lado, amostras submetidas aos tempos de 10 e 15 min, após a adição de água apresentaram um aspecto gelatinoso, o qual era difícil

de solubilizar mesmo levando novamente ao aquecimento. Com isso, o tempo de 5 minutos foi otimizado para o preparo das amostras de biodiesel.

Quando o mesmo procedimento foi aplicado às outras amostras de biodiesel, mesmo usando o volume de TMAH otimizado, a solução não ficou límpida para o biodiesel de mamona, borra de soja e algodão, mas a suspensão final permaneceu bastante estável e homogênea, permitindo a realização das medidas. Esse fato ocorre possivelmente devido a diferentes interações entre o TMAH e os ésteres presentes na amostra, uma vez que a composição dos ésteres presentes varia em função da origem animal ou vegetal. Além disso, no caso do biodiesel proveniente de óleos vegetais a composição também depende da matéria prima utilizada (CHAVES *et al.*, 2010). A Figura 7 mostra os diferentes volumes de TMAH adicionado às amostras de biodiesel de nabo forrageiro.



Figura 7. Volumes de TMAH adicionados às amostras de biodiesel de nabo forrageiro. Da esquerda para a direita: 50, 100, 200, 300, 400 e 500 µL de TMAH.

5.2.2 Programas de temperaturas

O programa de temperaturas a ser aplicado na calibração do instrumento e na determinação dos analitos Cu e Fe nas amostras de biodiesel, foi otimizado através de curvas de pirólise e atomização para padrões aquosos dos analitos e para as amostras de nabo forrageiro ou borra de soja tratadas com TMAH.

5.2.2.1 Cobre

As curvas de pirólise e atomização para o analito Cu em padrão aquoso ($20 \mu\text{g L}^{-1}$) e na amostra de biodiesel de nabo forrageiro em meio de TMAH são mostradas na Figura 8.

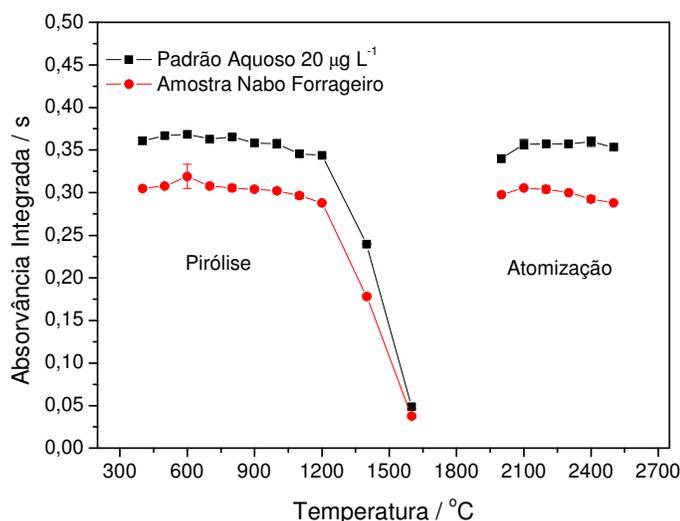


Figura 8. Curvas de pirólise e atomização para o Cu em (—■—) $0,4 \mu\text{g}$ do padrão aquoso e (—●—) amostra de biodiesel de nabo forrageiro tratada com 2,5% v/v de TMAH. Temperatura de atomização para a curva de pirólise: $2300 \text{ }^\circ\text{C}$ e temperatura de pirólise para a curva de atomização: $800 \text{ }^\circ\text{C}$ para padrão aquoso e amostra.

De acordo com a Figura 8, observa-se um comportamento similar nas curvas de pirólise e atomização para o padrão aquoso e amostra. A temperatura máxima de pirólise obtida foi de $1200 \text{ }^\circ\text{C}$ para padrão aquoso e amostra. Temperaturas de pirólise mais altas do que a adotada como máxima resultaram em diminuição do valor da absorvância integrada, provocada por perdas significativas de Cu durante esta etapa. Uma temperatura de pirólise de $1000 \text{ }^\circ\text{C}$ foi adotada, pois esta alta temperatura foi o bastante para reduzir a presença da matriz durante a atomização.

Uma temperatura ótima de atomização de $2300 \text{ }^\circ\text{C}$ foi adotada para o padrão aquoso e para a amostra, devido ao compromisso entre a forma do sinal transiente obtido e a diminuição de sensibilidade sob temperaturas de atomização mais elevadas.

5.2.2.2 Ferro

As curvas de pirólise e atomização para o analito Fe em padrão aquoso ($20 \mu\text{g L}^{-1}$) e na amostra de biodiesel de borra de soja em meio de TMAH são mostradas na Figura 9. Devido à alta concentração de Fe encontrada no biodiesel de nabo forrageiro, para otimização do programa de temperaturas essa amostra foi substituída pelo biodiesel de borra de soja. Eliminou-se, assim, a necessidade de diluir a amostra, o que por consequência reduziria o conteúdo orgânico do meio podendo interferir na interpretação do perfil das curvas.

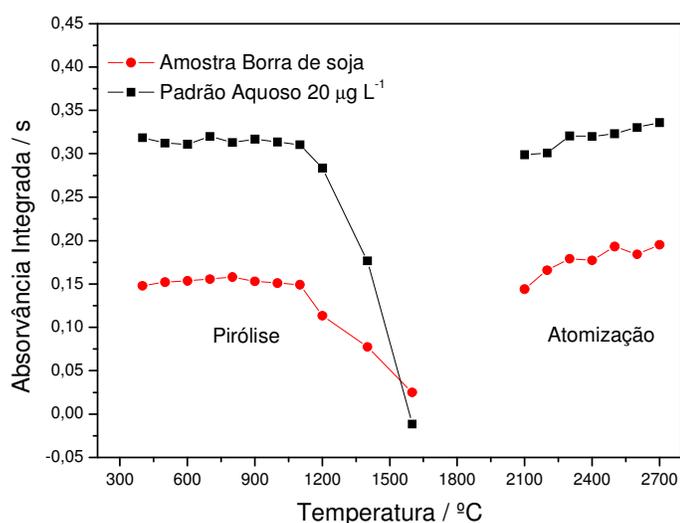


Figura 9. Curvas de pirólise e atomização para o Fe em (—■—) 0,4 pg do padrão aquoso e (—●—) amostra de biodiesel de borra de soja tratada com 2,5% v/v de TMAH. Temperatura de atomização para a curva de pirólise: 2300 °C e temperatura de pirólise para a curva de atomização: 800 °C para padrão aquoso e amostra.

De acordo com a Figura 9, observa-se um comportamento similar nas curvas de pirólise e atomização para o padrão aquoso e amostra. A estabilidade para este analito permanece até a temperatura de pirólise de 1100 °C para padrão aquoso e amostra. Temperaturas de pirólise mais altas do que a adotada como máxima resultaram em diminuição do valor da absorvância integrada, provocada por perdas significativas de Fe durante esta etapa. Uma temperatura de pirólise de 1000 °C foi adotada, pois esta alta temperatura foi o bastante para reduzir a presença da matriz durante a atomização.

Uma temperatura ótima de atomização de 2300 °C foi adotada para o padrão aquoso e para a amostra, novamente, devido ao compromisso entre a forma do sinal transiente obtido e a diminuição de sensibilidade sob temperaturas de atomização mais elevadas.

5.2.3. Calibração e Parâmetros de mérito

Para a determinação de Cu e Fe em amostras de biodiesel por ET AAS utilizando solubilização com TMAH, foram aplicadas três estratégias de calibração: calibração usando padrões aquosos sem e com TMAH 2,5% v/v e adição de analito. A Tabela 6 apresenta os parâmetros de mérito para as três técnicas de calibração estudadas.

Tabela 6. Parâmetros de mérito para a determinação de Cu e Fe em amostras de biodiesel por ET AAS.

Cu				
Calibração (5-40 µg L ⁻¹)	Inclinação* (s L µg ⁻¹)	R	LD (ng g ⁻¹)	LQ (ng g ⁻¹)
Sem TMAH	0,0142 ± 0,0006	0,9997	12	37
TMAH 2,5% v/v	0,0119 ± 0,0001	0,9999	15	46
Adição do analito	0,0109 ± 0,0004	0,9991	16	49
Fe				
Calibração (5-40 µg L ⁻¹)	Inclinação* (s L µg ⁻¹)	R	LD (ng g ⁻¹)	LQ (ng g ⁻¹)
Sem TMAH	0,0169 ± 0,0007	0,9999	22	67
TMAH 2,5% v/v	0,0151 ± 0,0007	0,9993	24	73
Adição do analito	0,0152 ± 0,0008	0,9999	24	73

* Inclinação ± intervalo de confiança a 95%

Como mostrado na Tabela 6, as inclinações das curvas de calibração obtidas com padrões aquosos na presença de TMAH foram próximas das inclinações das curvas de adição de analito, indicando que a calibração adotada deve ser feita na presença de TMAH, usado para o tratamento das amostras. As inclinações das curvas de calibração sem a presença de TMAH foram aproximadamente 15% maiores que aquelas na presença de TMAH. Os valores das inclinações para cada metal e para cada tipo de calibração são descritos com seus respectivos intervalos de confiança. Os intervalos de confiança das inclinações das curvas de calibração foram calculados pela equação 7:

$$b \pm t_{(n-2)} * S_b \quad \text{Equação 7}$$

Onde b é o coeficiente angular (inclinação); t é o valor tabelado com 95% de confiança para $n-2$ graus de liberdade e S_b é o erro do coeficiente angular (MILLER & MILLER, 2000).

Como também é mostrado na Tabela 6, todas as curvas de calibração avaliadas tiveram coeficientes de correlação (R) maiores que 0,999 para ambos os analitos, indicando boa linearidade.

Foram calculados os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), de acordo com as Equações 2 e 3. Os limites obtidos para cada analito e para as três estratégias de calibração, mostrados na Tabela 6, são da mesma ordem de magnitude, sendo menores para a calibração na ausência de TMAH. Os limites de detecção obtidos para a calibração adotada, ou seja, na presença de TMAH, e para a calibração por adição de analito são aproximadamente os mesmos, em torno de 15 ng g^{-1} para Cu e em torno de 24 ng g^{-1} para Fe nas amostras de biodiesel. E os limites de quantificação foram de 46 ng g^{-1} para Cu e 73 ng g^{-1} para Fe.

Recentemente, o Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) introduziu dois materiais de referência certificados para biodiesel (NIST 2772 e NIST 2773); contudo, as concentrações de Cu e Fe não são certificadas e os valores informados são abaixo dos seus limites de detecção (NIST, 2011). Como estes materiais não podem ser usados para a validação da exatidão do método proposto, esta foi avaliada através de comparação com os resultados obtidos através da análise por HR-CS ET AAS, além de testes de recuperação para duas amostras de biodiesel, enriquecendo as amostras com duas concentrações diferentes de Cu e Fe.

5.2.4 Verificação da exatidão

5.2.4.1 Comparação dos resultados entre ET AAS e HR-CS ET AAS pelo teste-t de Student

A Tabela 7 mostra as médias (\bar{X}_1 e \bar{X}_2) das concentrações de Cu nas amostras de biodiesel de borra de soja e nabo forrageiro, determinadas pelo método proposto ET AAS e pelo método de comparação HR-CS ET AAS e seus respectivos desvios padrões (s_1 e s_2), além da comparação entre o t_{tab} e o t_{cal} . O número de graus de liberdade e o valor de t_{tab} no nível de confiança de 95% também são dados na Tabela 7.

Tabela 7. Comparação estatística entre as técnicas ET AAS e HR-CS ET AAS para determinação de Cu em amostras de biodiesel (Valor de t_{tab} com 95% de confiança).

Amostra	ET AAS		HR-CS ET AAS		GL*	t_{tab}	t_{cal}	Relação entre t_{cal} e t_{tab}
	\bar{X}_1 (ng g ⁻¹)	s_1	\bar{X}_2 (ng g ⁻¹)	s_2				
Borra de soja	129,9	1,61	126,1	0,16	2	4,30	4,07	$t_{\text{tab}} > t_{\text{cal}}$
Nabo forrageiro	182,4	4,43	193,5	1,86	3	3,18	4,00	$t_{\text{tab}} < t_{\text{cal}}$

*GL = Graus de liberdade

Os resultados obtidos pelo teste- t de *Student* para ambas as técnicas, ET AAS e HR-CS ET AAS, foram estatisticamente concordantes para o analito Cu na amostra de biodiesel de borra de soja, onde o valor de t_{cal} foi de 4,07, sendo este abaixo do valor tabelado, de 4,30 para um nível de confiança de 95% e para 2 graus de liberdade, calculado pela Equação 5. Já para o biodiesel de nabo forrageiro, o valor de t_{cal} , = 4,0 foi maior que o valor de $t_{\text{tab}} = 3,18$ para 3 graus de liberdade para um nível de confiança de 95%. Esta distinção estatística entre as duas técnicas para a amostra de nabo forrageiro pode ser devida ao número insuficiente de replicatas utilizadas pelos dois métodos, que foram três para ambos. E o valor do desvio padrão para o método de comparação, no valor de 1,86 é bem pequeno, fazendo com que o valor da média de concentração varie pouco para cima ou para baixo.

A Tabela 8 mostra as médias (\bar{X}_1 e \bar{X}_2) das concentrações de Fe nas amostras de biodiesel de borra de soja, mamona e nabo forrageiro, determinadas pelo método proposto ET AAS e pelo método de comparação HR-CS ET AAS e seus respectivos desvios padrões (s_1 e s_2), além da comparação entre o t_{tab} e o t_{cal} . O número de graus de liberdade e o valor de t_{tab} no nível de confiança de 95% também são dados na Tabela 8.

Tabela 8. Comparação estatística entre as técnicas ET AAS e HR-CS ET AAS para determinação de Fe em amostras de biodiesel. (Valor de t_{tab} com 95% de confiança)

Amostra	ET AAS		HR-CS ET AAS		GL*	t_{tab}	t_{cal}	Relação entre t_{cal} e t_{tab}
	\bar{X}_1 (ng g ⁻¹)	s_1	\bar{X}_2 (ng g ⁻¹)	s_2				
Borra de soja	86,0	2,42	86,4	1,49	5	2,57	0,24	$t_{\text{tab}} > t_{\text{cal}}$
Mamona	1350,0	64,45	1477,2	73,31	6	2,45	2,26	$t_{\text{tab}} > t_{\text{cal}}$
Nabo forrageiro	4940,0	261,82	5183,8	321,03	6	2,45	1,02	$t_{\text{tab}} > t_{\text{cal}}$

*GL = Graus de liberdade

Os resultados obtidos pelo teste- t de *Student* para ambas as técnicas, ET AAS e HR-CS ET AAS, foram estatisticamente concordantes para o analito Fe nas três amostras de biodiesel. Os valores de t_{cal} foram de 0,24; 2,26 e 1,02 para biodiesel de borra de soja, mamona e nabo forrageiro, respectivamente, sendo estes valores abaixo dos valores tabelados, como é mostrado na Tabela 8 para um nível de confiança de 95% e para o número de graus de liberdade, calculado pela Equação 5.

Os resultados obtidos no teste- t de *Student* a 95% de confiança demonstram a boa exatidão do método proposto.

5.2.4.2 Teste de Recuperação

A fim de garantir uma boa verificação da exatidão do método proposto, além da comparação dos resultados obtidos por HR-CS ET AAS, realizou-se também testes de recuperação em duas das sete amostras de biodiesel analisadas solubilizadas com TMAH. Os testes de recuperação foram realizados através da adição dos analitos em dois diferentes níveis de concentração, sendo estes de 115 e 230 ng g⁻¹ para Cu e Fe. As amostras selecionadas foram óleo de fritura e soja. Na Tabela 9 são apresentados os resultados dos testes de recuperação para Cu e Fe nas amostras de biodiesel por ET AAS.

Tabela 9. Concentrações obtidas para Cu e Fe (ng g^{-1}) nas amostras de biodiesel após a adição de 115 e 230 ng g^{-1} dos analitos.

Amostras	Cu		Fe	
	115 ng g^{-1}	230 ng g^{-1}	115 ng g^{-1}	230 ng g^{-1}
Soja	128 ± 2	262 ± 1	130 ± 5	276 ± 9
Óleo de Fritura	128 ± 8	269 ± 1	121 ± 8	244 ± 4
Recuperação (%)	111	114 - 117	105 - 113	106 - 120

Os resultados obtidos a partir da Equação 4, que são mostrados na Tabela 9, confirmam a exatidão do método proposto para ambos os analitos, considerando que as recuperações ficaram na faixa de 111% - 117% para Cu e 105% - 120% para Fe. Sem as adições, as concentrações determinadas dos analitos nas amostras de óleo de fritura e soja foram menores que seus LQs.

5.2.5 Aplicação Analítica

Para a determinação de Cu e Fe nas amostras de biodiesel, foram construídas curvas de calibração com padrões aquosos na presença de TMAH. As curvas de calibração para ambos os analitos foram feitas com soluções padrão contendo 5; 10; 20; 30 e 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito e 2,5% v/v de TMAH. As curvas de calibração apresentaram inclinações de 0,01050 $\text{s L } \mu\text{g}^{-1}$ para o Cu e 0,01311 $\text{s L } \mu\text{g}^{-1}$ para o Fe. As duas curvas de calibração apresentaram bons coeficientes de correlação, com $R > 0,999$, demonstrando boa linearidade e sendo adequadas para a determinação de Cu e Fe nas amostras de biodiesel.

Sete amostras de biodiesel, obtidas de diferentes matérias-primas, foram analisadas, após o tratamento com TMAH e calibração na presença deste reagente. Uma das amostras de biodiesel foi produzida a partir de gordura animal, que é a amostra de sebo bovino. Outras cinco amostras utilizadas foram produzidas a partir de óleos vegetais obtidos de diferentes fontes, como algodão, borra de soja, mamona, nabo forrageiro e soja. Uma amostra de óleo residual de fritura também foi utilizada, porém a origem dela é desconhecida. Os resultados obtidos (ng g^{-1} , média ± intervalo de confiança (95%) para $n=3$) para Cu e Fe nas amostras de biodiesel analisadas por ET AAS e os valores obtidos para comparação por HR-CS ET AAS são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Valores obtidos por ET AAS e comparação com HR-CS ET AAS (ng g^{-1} , média \pm intervalo de confiança (95%) para $n=3$) para Cu e Fe em amostras de biodiesel, utilizando calibração em meio de TMAH 2,5% v/v para Cu e Fe.

AMOSTRAS	Cu (ng g^{-1})		Fe (ng g^{-1})	
	ET AAS	HR CS-ET AAS	ET AAS	HR CS-ET AAS
Algodão	< 46	10,0 \pm 1,9	< 73	28,9 \pm 1,3
Borra de soja	129,9 \pm 4,0	126,1 \pm 0,40	86,0 \pm 6,0	86,4 \pm 3,7
Mamona	< 46	15,1 \pm 1,0	1350 \pm 160	1477 \pm 182
Nabo forrageiro	182,4 \pm 11,0	193,5 \pm 4,63	4940 \pm 650	5184 \pm 797
Óleo de fritura	< 46	20,3 \pm 3,9	< 73	30,2 \pm 5,0
Sebo bovino	< 46	ND	< 73	ND
Soja	< 46	< LQ	< 73	23,4 \pm 1,2

ND: não determinado

As faixas de concentração para ambos os analitos determinados por ET AAS são amplas, de menos de 46 ng g^{-1} a 182 ng g^{-1} para o Cu e de menos de 73 ng g^{-1} a 4940 ng g^{-1} para o Fe. Cobre pôde ser quantificado somente em duas amostras de biodiesel, borra de soja e nabo forrageiro, as outras cinco amostras analisadas apresentaram valores abaixo do LQ, ou seja, abaixo de 46 ng g^{-1} . Enquanto o Fe pôde ser determinado em três das sete amostras de biodiesel, borra de soja, mamona e nabo forrageiro, as outras quatro amostras analisadas apresentaram valores abaixo do LQ, ou seja, abaixo de 73 ng g^{-1} . As concentrações de Fe para as amostras de mamona e nabo forrageiro ficaram maiores em relação às demais amostras, sendo que as amostras de mamona e de nabo forrageiro foram diluídas 5 e 50 vezes, respectivamente, em meio aquoso para realização das medidas. Além disso, a amostra proveniente do nabo forrageiro apresentou o maior valor de Cu. Essas concentrações de Cu e Fe encontradas na amostra de biodiesel de nabo forrageiro podem ser explicadas pelo fato de que esta planta é usada para fitorremediação dos solos, que é a capacidade de absorver metais do solo através das raízes da planta a fim de diminuir a contaminação dos solos (COUTINHO; BARBOSA, 2007; KAPOURCHAL *et al.*, 2009).

A precisão do método proposto foi avaliada através do desvio padrão relativo (RSD, %), de acordo com a Equação 1, de três medidas de concentração de três replicatas de cada amostra. Os valores de RSD calculados ficaram na faixa de 2 a 3% para o Cu, sendo para a amostra de borra de soja e nabo forrageiro, respectivamente, e de 3 a 7% para o Fe, sendo para a amostra de borra de soja e nabo forrageiro, respectivamente, para calibração com padrões em meio de TMAH 2,5% v/v. Esses valores demonstraram uma boa precisão para

ambos os analitos com RSDs adequados para as determinações no biodiesel. O método proposto é adequado para a determinação de Cu e Fe em amostras de biodiesel solubilizadas com TMAH e análise por ET AAS.

É interessante comparar este simples procedimento proposto com aquele usado pelo NIST, onde as análises foram feitas por ICP OES, após uma longa e complexa digestão ácida da amostra, envolvendo ácidos nítrico e perclórico, como descrito no Certificado de Análise para NIST 2772. Além disso, foi usada calibração com adição de analito para Fe, que também consome muito tempo. Seus limites de detecção de $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ para Cu e Fe, são aproximadamente uma ordem de magnitude maior que os limites de detecção do procedimento proposto, porque a amostra de biodiesel foi digerida, ou seja, diluída, o que contribui para o baixo limite de detecção.

5.3 Estabilidade oxidativa - RANCIMAT

A Norma Européia (EN 14112), utilizada pela ANP, trata do Teste de Estabilidade Oxidativa Acelerada, método Rancimat. Dois parâmetros foram avaliados pelo Rancimat com o objetivo de verificar qual a influência no período de indução do biodiesel: diferentes concentrações dos metais Cu^{2+} e Fe^{3+} adicionadas ao biodiesel de soja sintetizado e o tempo de armazenamento deste biodiesel. Os dados do período de indução (PI) obtidos para o biodiesel metílico de soja não adicionado (referência) e com as adições de 3, 5 e 10 mg kg^{-1} de Cu^{2+} e Fe^{3+} e após 2, 10 e 30 dias de armazenamento, estão dispostos na Tabela 11.

Tabela 11. Valores de período de indução (PI) obtidos para o biodiesel metílico de soja não adicionado e para as adições de 3, 5 e 10 mg kg^{-1} de Cu^{2+} e Fe^{3+} a $110 \text{ }^\circ\text{C}$ em um tempo de armazenamento de 2, 10 e 30 dias.

Período de Indução (h, $110 \text{ }^\circ\text{C}$)	t = 2 dias	t = 10 dias	t = 30 dias
Biodiesel não adicionado	5,17	5,09	5,09
Cu^{2+} (mg kg^{-1}) 3	2,96	2,51	2,40
5	2,82	2,38	2,39
10	3,05	2,52	2,49
Fe^{3+} (mg kg^{-1}) 3	0,52	0,59	0,60
5	0,14	0,18	0,18
10	0,14	0,18	0,18

O valor do período de indução encontrado para o biodiesel de soja não adicionado no primeiro ensaio foi de 5,17 h, como é mostrado na Tabela 11. Este biodiesel não atingiu o período de indução mínimo de 6 horas descrito pelo método Rancimat. Deste modo não se encontra em conformidade com as normas da ANP. Outros trabalhos da literatura que avaliaram a estabilidade oxidativa do biodiesel de pinhão manso, colza e soja, obtidos a partir de óleos refinados, indicaram que a maioria das amostras também apresentou resultados inferiores a 6 h para o período de indução (SARIN *et al.*, 2009; TAGLIABUE *et al.*, 2005; FERRARI *et al.*, 2005b).

A baixa estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de soja lhe confere um tempo de indução baixo. A presença de ácido linoléico (C18:2), lhe confere menor estabilidade oxidativa, devido ao alto conteúdo de ésteres metílicos de ácidos graxos insaturados. Porém, o valor encontrado, de 5,17 h está de acordo com a Norma ASTM D6751, que recentemente estabeleceu o limite mínimo para a estabilidade oxidativa pelo Rancimat de 3 horas (KNOTHE, 2008; SARIN *et al.*, 2009).

De acordo com a Tabela 11, no segundo ensaio, após 10 dias de armazenamento e no último ensaio, após 30 dias de armazenamento, foi verificada uma pequena redução no PI para o biodiesel de soja não adicionado, sendo de 5,09 h para ambos os ensaios.

A presença de metais no biodiesel resulta em aceleração da oxidação dos radicais livres devido a uma reação de iniciação mediada por metal (SARIN *et al.*, 2009). Os metais de transição que foram adicionados ao biodiesel, Cu^{2+} e Fe^{3+} são comumente encontrados em tanques e containers metálicos onde o biodiesel é armazenado. De acordo com a Tabela 11, as amostras que foram adicionadas com Cu^{2+} e Fe^{3+} apresentaram uma redução na estabilidade oxidativa do biodiesel em relação à amostra de biodiesel sem adição de metais. Entretanto, o efeito do Fe^{3+} sobre a estabilidade do biodiesel foi significativamente maior quando comparado ao Cu^{2+} . Uma significativa redução na estabilidade oxidativa foi observada quando os metais foram adicionados na menor concentração (3 mg kg^{-1}), sendo o PI de 0,52 h para o Fe^{3+} e 2,96 h para o Cu^{2+} , em $t=2$ dias. Porém, aumentando as concentrações de metais adicionados (5 e 10 mg kg^{-1}), o período de indução não foi significativamente diferente para o Cu^{2+} em relação a 3 mg kg^{-1} , contudo este foi levemente menor para o Fe^{3+} . Isso mostra o efeito catalítico destes metais, que reduz a estabilidade oxidativa do biodiesel mesmo em baixas concentrações. Provavelmente, existe uma concentração mínima que afeta significativamente a estabilidade oxidativa do biodiesel e, acima dessa concentração, os valores de PI não se alteram significativamente. O período de indução para o biodiesel de soja

adicionado de 5 e 10 mg kg⁻¹ de Fe³⁺ foi o mesmo para cada tempo de armazenamento: 0,14 para o primeiro ensaio e 0,18 para os outros dois ensaios.

Em um trabalho recente na literatura, os autores observaram que para todos os contaminantes metálicos adicionados ao biodiesel de pinhão manso, como, Fe, Ni, Mn, Co e Cu, os valores de período de indução no Rancimat tornaram-se praticamente constantes quando as concentrações dos metais foram aumentadas de 1,5 ppm a 3,0 ppm. Isto provou que a influência dos metais foi catalítica, já que mesmo pequenas concentrações de metais tiveram quase o mesmo efeito sobre a estabilidade oxidativa como grandes concentrações (SARIN *et al.*, 2009).

Na maioria das amostras onde foram adicionados os metais Cu²⁺ e Fe³⁺, foi observada uma diminuição no PI com o aumento da concentração de metal adicionado, isto é, uma perda na estabilidade frente à oxidação do biodiesel, exceto para o biodiesel de soja adicionado de 10 mg kg⁻¹ de Cu²⁺ para todos os períodos de armazenamento, 2, 10 e 30 dias, no qual o PI ficou um pouco maior do que para o biodiesel de soja adicionado de 3 mg kg⁻¹ e 5 mg kg⁻¹. De acordo com a literatura, quando se aumenta a concentração dos metais no biodiesel, o período de indução tende a diminuir até uma certa concentração (SARIN *et al.*, 2009).

Com o passar do tempo de armazenamento, as amostras adicionadas com Fe³⁺ tiveram valores de PI aumentados de 0,52; 0,59 e 0,60 h em 2, 10 e 30 dias de armazenamento, respectivamente, usando como exemplo a adição de 3 mg kg⁻¹ do metal. Porém, este aumento no PI não foi significativo, permanecendo praticamente constante. Um fato similar, mas com um aumento maior no PI, foi observado por TAGLIABUE *et al.* (2005), no qual os autores adicionaram o metal Fe³⁺ em duas amostras de biodiesel de colza nas concentrações de 1 e 4 mg kg⁻¹. Os autores puderam observar que as amostras adicionadas de Fe³⁺ tiveram imediatamente um efeito sobre a estabilidade oxidativa em t=0 e tal efeito se demonstrou diretamente proporcional à concentração de metal adicionado em ambas as amostras. Após 3 meses de conservação, ambas as amostras adicionadas de Fe³⁺ revelaram um comportamento anômalo, apresentando um aumento no tempo de indução e, com isso, um aumento da resistência à oxidação.

Outras análises físico-químicas, como índice de acidez, teor de água, entre outras, as quais fazem parte dos parâmetros de qualidade do biodiesel conforme normas da ANP, EN e ASTM não foram realizadas, pois o objetivo desta parte do trabalho foi mostrar o efeito catalítico dos metais Cu e Fe na estabilidade oxidativa, não levando em conta outros ensaios de especificação do biodiesel que são feitos antes e após sua produção e durante a estocagem. O biodiesel de soja produzido pode não estar dentro das especificações da Norma EN 14112

devido ao teor de água e ao índice de acidez que podem estar fora dos limites permitidos pela legislação. Como o biodiesel apresenta certo grau de higroscopicidade, o teor de água pode ser monitorado durante o armazenamento, pois a água, além de promover a hidrólise do biodiesel resultando em ácidos graxos livres, também está associada à proliferação de microorganismos e à corrosão em tanques de estocagem com deposição de sedimentos. O monitoramento da acidez no biodiesel durante a estocagem também é realizado, pois qualquer alteração dos valores neste período pode significar a presença de água. A absorção de umidade e os processos de degradação oxidativa durante o armazenamento do biodiesel contribuem para a presença de água, peróxidos e ácidos carboxílicos de baixa massa molecular (LÔBO *et al.*, 2009).

A dependência da estabilidade oxidativa com o tipo de metal em diferentes concentrações e tempos de armazenamento confirmou que o método Rancimat é um teste de laboratório adequado e rápido para correlacionar a estabilidade a longo prazo servindo como um teste de estocagem acelerada.

6 CONCLUSÃO

A análise semi-quantitativa das amostras de biodiesel de babaçu, mamona, nabo forrageiro e soja por ICP-MS após digestão das amostras em micro-ondas mostrou que os principais metais identificados nas matrizes de biodiesel analisadas são Al, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sr e Zn. Metais como Ag, As, Ba, Cd, Co, Tl e V não estão presentes em concentrações significativas nessas amostras.

A metodologia proposta para a determinação de Cu e Fe por ET AAS mostrou-se precisa e exata. O tratamento das amostras de biodiesel com TMAH é simples e eficiente, e possibilitou a calibração com padrões aquosos inorgânicos contendo a mesma quantidade de TMAH usado para o tratamento das amostras. Como uma alta temperatura de pirólise foi adotada, a maioria da matriz da amostra pôde ser eliminada antes da atomização, evitando interferências, como foi demonstrado pelo teste de recuperação. O método apresentou baixos limites de detecção apresentando uma alta sensibilidade e a precisão apresentou-se adequada para as determinações em biodiesel. Certamente, outros analitos podem ser determinados em biodiesel por ET AAS usando o procedimento de tratamento da amostra proposto.

O biodiesel de soja utilizado para avaliar a estabilidade oxidativa pelo método Rancimat foi sintetizado com sucesso a partir do óleo de soja comercial por transesterificação alcalina utilizando KOH em meio de metanol. Entretanto, constatou-se, através do período de indução encontrado, que a estabilidade oxidativa deste biodiesel ficou abaixo do valor especificado pela Norma EN 14112. A adição de Cu^{2+} e Fe^{3+} às amostras de biodiesel resultou em uma redução na estabilidade oxidativa destas amostras. Além disso, comprovou-se que esses metais apresentam um efeito catalítico sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel.

7 REFERÊNCIAS

AGARWAL, A. K. Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines. *Progress in Energy and Combustion Science* **33** (3): 233–271, 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP)- Resolução n°. 7, de 19.3.2008 (DOU 20.3.2008). Regulamento Técnico n° 01/ 2008. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2008a.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP)- Biodiesel: introdução. 2011. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?pg=40787&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1296084306559>>. Acesso em 26 jan. 2011b.

ALBUQUERQUE, M. H. O.; GONDIM, A. D.; MARTINS, A. F.; BRASIL, R. C. O. D.; ARAÚJO, A. S. de; FERNANDES Jr., V. J. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel metílico de girassol com adição de diferentes concentrações de BHT pelo método rancimat e PDSC. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 4 & SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS, 1, 2010, João Pessoa. Inclusão Social e Energia: Anais... Campina grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 18-23.

AMAI, R. S.; GARCIA, E. E.; MONTEIRO, M. R.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Direct analysis of biodiesel microemulsions using an inductively coupled plasma mass spectrometry. *Microchemical Journal* **96**: 146-150, 2010.

ANSARI, R.; KAZI, T. G.; JAMALI, M. K.; ARAIN, M. B.; WAGAN, M. D.; JALBANI, N.; AFRIDI, H. I.; SHAH, A. Q. Variation in accumulation of heavy metals in different varieties of sunflower seed oil with the aid of multivariate technique. *Food Chemistry* **115**: 318–323, 2009.

ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras, Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (CEPPA), **19** (2): 353-380, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÓLEOS VEGETAIS (ABIOVE) - A ABIOVE. 2011. Disponível em: <http://www.abiove.com.br/abiove_br.html>. Acesso em 11 mar. 2011.

AUCÉLIO, R. Q.; CURTIUS, A. J. Comparative study of electrothermal atomic absorption spectrometric methods for the determination of silver in used lubricating oils. *Analyst* **125**: 1673-1679, 2000.

BATISTA, B. L.; RODRIGUES, J. L.; NUNES, J. A.; TORMEN, L.; CURTIUS, A. J.; BARBOSA Jr., F. Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature: Comparison with ETAAS. *Talanta* **76**: 575–579, 2008.

- BECKER, J. S. *Inorganic mass spectrometry – Principles and applications*. Weinheim, Alemanha: WILEY-VCH, 2007.
- BENJUMEA, P.; AGUDELO, J.; AGUDELO, A. Basic properties of palm oil biodiesel–diesel blends. *Fuel* **87**: 2069–2075, 2008.
- BIODIESELBR. Craqueamento – Biodiesel. 2011. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/biodiesel/processo-producao/craqueamento.htm>>. Acesso em: 10 jun. 2011.
- BIODIESEL STANDARD EN 14112, Fat and oil derivatives - Fatty acid methyl esters (FAME), Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test), 2003.
- 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, ago./set. 2005.
- BRANDÃO, K. S. R.; SILVA, F. C.; NASCIMENTO, U. M.; SOUSA, M. C.; MOUZINHO, A. M. C.; SOUZA, A. G.; CONCEIÇÃO, M. M.; MOURA, K. R. M. Produção de biodiesel por transesterificação do óleo de soja com misturas de metanol-etanol. 141-146, 2006. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/producao/Biodiesel10.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2011.
- BRASIL. Comissão Executiva Interministerial. Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel – O Programa. 2004. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br>>. Acesso em: 05 dez. 2010.
- CANDEIA, Roberlucia Araújo. *Biodiesel de Soja: Síntese, Degradação e Misturas Binárias*. João Pessoa, 2008. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba.
- CASTILHO, M. S.; STRADIOTTO, N. R. Determination of potassium ions in biodiesel using a nickel (II) hexacyanoferrate-modified electrode. *Talanta* **74**: 1630-1634, 2008.
- CHAVES, E. S.; LEPRI, F. G.; SILVA, J. S. A.; QUADROS, D. P. C.; PIERRE, T. D. S.; CURTIUS, A. J. Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS. *Journal of Environmental Monitoring* **10**: 1211-1216, 2008a.
- CHAVES, E. S.; PIERRE, T. D. S.; SANTOS, E. J. dos; TORMEN, L.; BASCUÑAN, V. L. A. F.; CURTIUS, A. J. Determination of Na and K in biodiesel by flame atomic emission spectrometry and microemulsion sample preparation. *Journal Brazilian Chemical Society* **19** (5): 856-861, 2008b.
- CHAVES, E. S.; SANTOS, E. J.; ARAUJO, R. G. O.; OLIVEIRA, J. V.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Metals and phosphorus determination in vegetable seeds used in the production of biodiesel by ICP OES e ICP-MS. *Microchemical Journal* **96**: 71-76, 2010.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2009/2010 –

- Décimo Segundo Levantamento – Setembro/2010. 2010. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/7e05515f8222082610088f5a2376c6a f..pdf>>. Acesso em: 26 jan. 2011.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Soja - Brasil – Série Histórica de Área Plantada. 2011. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_06_10_09_55_32_sojaseriehist..xls>. Acesso em: 24 jun. 2011.
- COUTINHO, H. D.; BARBOSA, A. R. Fitorremediação: Considerações gerais e características de utilização. *Silva Lusitana* **15** (1): 103–117, 2007.
- CURTIUS, A. J. Espectrometria de Absorção Atômica. Parte I: Princípios da técnica por forno de grafite. *Revista de Química Industrial* **681**: 20-25, 1982.
- CURTIUS, A. J. Espectrometria de Absorção Atômica. Parte IV: Aspectos práticos e perspectivas futuras. *Revista de Química Industrial* **685**: 20-22, 1991.
- CURTIUS, A.; FIEDLER, H. D. *Meio ambiente e carvão, impactos da exploração e utilização*. In: FEPAM. Análise de metais e qualidade analítica, 2002.
- DEMIRBAS, Ayhan. *Biodiesel: a realistic fuel alternative for diesel engines*. London: Springer-Verlag, 2008.
- DITTERT, I. M.; SILVA, J. S. A.; ARAUJO, R. G. O.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B.; BECKER-ROSS, H. Direct and simultaneous determination of Cr and Fe in crude oil using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* **64**: 537–543, 2009.
- DITTERT, Ingrid Maria. *Desenvolvimento de métodos para a determinação simultânea de cromo e ferro e de cobalto e vanádio em óleo cru usando análise direta por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e atomização em forno de grafite*. Florianópolis, 2009. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina.
- DUNN, R. O. Oxidative stability of biodiesel by dynamic mode pressurized-differential scanning calorimetry (P-DSC). *American Society of Agricultural and Biological Engineers* **49** (5): 1633-1641, 2006.
- EVANS, E. H.; GIGLIO, J. J. Interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry, A review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **8**: 1-18, 1993.
- FABIANO, D. P.; ROSA, C. A. da; MARCINIUK, L. L.; CARDOSO, D. Simulação da reação de esterificação para obtenção do biodiesel. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2007/producao/60.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2011.

- FELIZARDO, P.; CORREIA, M. J. N.; RAPOSO, I.; MENDES, J. F.; BERKEMEIER, R.; BORDADO, J. M. Production of biodiesel from waste frying oils. *Waste Management* **26**: 487–494, 2006.
- FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja – Taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. *Química Nova* **28** (1): 19-23, 2005a.
- FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Oxidative stability of biodiesel from soybean oil fatty acid ethyl esters. *Scientia. Agrícola* **62** (3): 291-295, May/June 2005b.
- FRAZÃO, Érica Vanessa Pereira. *Determinação simultânea de metais em biodiesel (B100), por voltametria de redissolução anódica usando eletrodo de filme de mercúrio em meio alcoólico*. São Luís, 2010. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal do Maranhão.
- FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Review: biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **92** (5): 405-416, 2001.
- GALVÃO, L. P. F. C.; SILVA, E. F. B.; GONDIM, A. D.; FERNANDES Jr., V. J.; ARAUJO, A. S. Estudo comparativo da influência do antioxidante na estabilidade oxidativa do biodiesel por termogravimetria e petroOXY. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 4 & SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS, 1, 2010, João Pessoa. Inclusão Social e Energia: Anais... Campina grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 76-80.
- GALVÃO, Luzia Patrícia Fernandes de Carvalho. *Avaliação termoanalítica da eficiência de antioxidantes na estabilidade oxidativa do biodiesel de mamona*. Natal, 2007. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. *Fuel Processing Technology* **86**: 1097–1107, 2005.
- HARDELL, H. L.; NILVEBRANT, N.O. A rapid method to discriminate between free and esterified fatty acids by pyrolytic methylation using tetramethylammonium acetate or hydroxide. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **52**: 1–14, 1999.
- HARRIS, Daniel C. *Análise química quantitativa*. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos, 2001.
- HOUK R. S.; JARVIS K. E.; GRAY A. L. *Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry*. 1 ed., USA: Chapman and Hall, Blackie & Son Ltd., 1992.
- HUI, Y. H. *Bailey's industrial oil and fat products*. 5 ed. vol. 4. USA: John Wiley & Sons, Inc., 1996.
- JESUS, A.; SILVA, M. M.; VALE, M. G. R. The use of microemulsion for determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* **74**: 1378-1384, 2008.

- JESUS, A.; ZMOZINSKI, A. V.; BARBARÁ, J. A.; VALE, M. G. R.; SILVA, M. M. Determination of calcium and magnesium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry using microemulsions as sample preparation. *Energy Fuels* **24** (3): 2109-2112, 2010.
- JESUS, Alexandre. *Desenvolvimento de método analítico para determinação de metais em biodiesel e óleo vegetal por espectrometria de absorção atômica com chama*. Porto Alegre, 2008. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- KAPOURCHAL, So. A.; KAPOURCHAL, Sa. A.; PAZIRA, E.; HOMAEE, M. Assessing radish (*Raphanus sativus* L.) potential for phytoremediation of lead-polluted soils resulting from air pollution. *Plant Soil Environmental* **55** (5): 202–206, 2009.
- KNOTHE, G. “Designer” Biodiesel: Optimizing Fatty Ester Composition to Improve Fuel Properties. *Energy & Fuels* **22**: 1358–1364, 2008.
- KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Processing Technology* **86**: 1059-1070, 2005.
- KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability- Review. *Fuel Processing Technology* **88**: 669–677, 2007.
- KORN, M. G. A.; SANTOS, D. C. M. B.; GUIDA, M. A. B.; BARBOSA, I. S.; PASSOS, M. L. C.; SARAIVA, M. L. M. F. S.; LIMA, J. L. F. C. Evaluation of digestion procedures for simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **21** (12): 2278-2284, 2010.
- LAMERS, P.; McCORMICK, K.; HILBERT, J. A. The emerging liquid biofuel market in Argentina: Implications for domestic demand and international trade. *Energy Policy* **36**: 1479–1490, 2008.
- LEITE, F. *Validação em análise química*. Campinas: Átomo, 1996.
- LEPRI, F. G.; CHAVES, E. S.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; CURTIUS, A. J.; OLIVEIRA, L. C. C.; CAMPOS, R. C. Determination of trace elements in vegetable oils and biodiesel by atomic spectrometric techniques – A Review. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2010.
- LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; OLIVEIRA, A. P.; PEREIRA-FILHO, E. R.; FRACETO, L. F.; DIAS, N. L. F.; ROSA, A. H. Comparison of the univariate and multivariate methods in the optimization of experimental conditions for determining Cu, Pb, Ni and Cd in biodiesel by GF AAS. *Fuel* **88**: 1907-1914, 2009.
- LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; OLIVEIRA, A. P.; ROMÃO, L. P. C.; FRACETO, L. F.; DIAS, N. L. F.; ROSA, A. H. Development of a method to determine Ni and Cd in biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Fuel* **90**: 142-146, 2011.

- LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: Parâmetros de Qualidade e Métodos Analíticos. *Química Nova* **32** (6): 1596-1608, 2009.
- 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.
- MARCHETTI, J. M.; MIGUEL, V. U.; ERRAZU, A. F. Heterogeneous esterification of oil with high amount of free fatty acids. *Fuel* **86**: 906–910, 2007.
- MARTINIANO, Lorena de Carvalho. *Validação de um método para determinação de metais em microemulsões de combustíveis por voltametria de redissolução*. João Pessoa, 2009. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba.
- MARTINS, P.; POZEBON, D.; DRESSLER, V. L.; KEMIECIKI, G. A. Determination of trace elements in biological materials using tetramethylammonium hydroxide for sample preparation. *Analytica Chimica Acta* **470**: 195–204, 2002.
- MEHER, L. C.; SAGAR, D. V.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification - a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **10**: 248-268, 2006.
- MELLO, F. O. T.; PAULILLOS, L. F.; VIAN, C. E. de F. O Biodiesel no Brasil: panorama, perspectivas e desafios. *Informações Econômicas, SP* **37** (1): 2007.
- MELO, Marco Aurélio Rodrigues de. *Monitoramento da estabilidade oxidativa no armazenamento de biodiesel metílico de soja/mamona e blendas em recipientes de vidro*. João Pessoa, 2009. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba.
- MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. *Análise química quantitativa*. VOGEL. 6 ed., Londres: LTC, 2000.
- MILLER & MILLER. *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*. 4. ed., Prentice Hall, 2000.
- NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (NIST) – Certificate of Analysis. 2011. Disponível em:
<http://www.nist.gov/mml/analytical/organic/biodiesel_srm.cfm> Acesso em: 21 mar. 2011.
- NAWAR, W.W. Lipids in fennema, *O. R. Food Chemistry*, **2**: 176, 1985.
- OLIVEIRA, A. P. de; VILLA, R. D.; ANTUNES, K. C. P.; MAGALHÃES, A. de; SILVA, E. C. Determination of sodium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry using dry decomposition for the sample preparation. *Fuel* **88**: 764-766, 2009.
- PETERSON, C. L.; HUSTRULID, T. Carbon cycle for rapeseed oil biodiesel fuels. *Biomass and Bioenergy* **14**: 91-101, 1998.

- PHAN, A. N.; PHAN, T. M. Biodiesel production from waste cooking oils. *Fuel* **87**: 3490–3496, 2008.
- PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P. de; ANDRADE, J. B. Biodiesel: An Overview. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **16**: 1313-1330, 2005.
- POUSA, G. P. A. G.; SANTOS A. L. F.; SUAREZ P. A. Z. History and policy of biodiesel in Brazil. *Energy Policy* **35**: 5393-5398, 2007.
- RAMADHAS, A. S.; JAYARAJ, S.; MURALEEDHARAN, C. Use of vegetable oils as I.C. engine fuels – a review. *Renewable Energy* **29**: 727–742, 2004.
- RAMADHAS, A. S.; JAYARAJ, S.; MURALEEDHARAN, C. Biodiesel production from high FFA rubber seed oil. *Fuel* **84**: 335-340, 2005.
- RAMOS, M. J.; FERNÁNDEZ, C. M.; CASAS, A.; RODRÍGUEZ, L.; PÉREZ, Á. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresource Technology* **100**: 261–268, 2009.
- RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova* **27** (5): 771-780, 2004.
- RIBEIRO, A. S.; MORETTO A. L.; ARRUDA M. A. Z.; CADORE S. Analysis of powdered coffee and milk by ICP OES after sample treatment with tetramethylammonium hydroxide. *Microchimica Acta* **141** (3-4): 149-155, 2003.
- RODRIGUES, J. L.; TORRES, D. P.; SOUZA, V. C. O.; BATISTA, B. L.; SOUZA, S. S.; CURTIUS, A. J.; BARBOSA Jr., F. Determination of total and inorganic mercury in whole blood by cold vapor inductively coupled plasma mass spectrometry (CV ICP-MS) with alkaline sample preparation. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **24**: 1414–1420, 2009.
- SAINT' PIERRE, T. D.; MARANHÃO, T. A.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. The development of a method for the determination of trace elements in fuel alcohol by electrothermal vaporization–inductively coupled plasma mass spectrometry using external calibration. *Spectrochimica Acta Part B* **60**: 605– 613, 2005.
- SAINT' PIERRE, Tatiana Dillenburg. *Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de metais traço em álcool combustível e gasolina por espectrometrias de absorção atômica e de massa com plasma indutivamente acoplado*. Florianópolis, 2004. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina.
- SALIN, E. D.; ANTHER, M.; BORT, G. Evaluation of the simultaneous use of standard additions and internal standards calibration techniques for inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **19**: 1498-1500, 2004.
- SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B.; CHAVES, E. S.; VECHIATTO, W. W. D.; SCHOEMBERGER, A. C.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Simultaneous

determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **22**: 1-4, 2007.

SANTOS, Nataly Albuquerque dos. *Propriedades termo-oxidativas e de fluxo do biodiesel de babaçu (Orbignya phalerata)*. João Pessoa, 2008. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba.

SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N. P.; SHARMA, M.; MALHOTRA, R. K. Influence of metal contaminants on oxidation stability of Jatropha biodiesel. *Energy* **34**: 1271–1275, 2009.

SHEEHAN, J.; CAMOBRECO, V.; DUFFIELD, J.; GRABOSKI, M.; SHAPOURI, H. An overview of biodiesel and petroleum diesel life cycles. National Renewable Energy Laboratory. 1998. Disponível em: <<http://www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24772.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2011.

SILVA, J. B. B.; BORGES, D. L. G.; VEIGA, M. A. M. S; CURTIUS, A. J.; WELZ, B. Determination of cadmium in biological samples solubilized with tetramethylammonium hydroxide by electrothermal atomic absorption spectrometry, using ruthenium as permanent modifier. *Talanta* **60**: 977–982, 2003.

SILVA, J. S. A.; CHAVES, E. S.; SANTOS, E. J.; PIERRE, T. D. S; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Calibration techniques and modifiers for the determination of Cd, Pb and Tl in biodiesel as microemulsion by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **21**: 620-626, 2010.

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

SKOOG, D. A.; LEARY, J. J. *Principles of instrumental analysis*. 4 ed., USA: Saunders College Publishing, 1992.

SNAPE, J. B.; NAKAJIMA, M. Processing of agricultural fats and oils using membrane technology. *Journal of Food Engineering* **30**: 1-41, 1996.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. *Química orgânica*. 8 ed., Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SORIANO Jr., N. U.; VENDITTI, R.; ARGYROPOULOS, D. S. Biodiesel synthesis via homogeneous Lewis acid-catalyzed transesterification. *Fuel* **88**: 560–565, 2009.

SOUCI, S.W.; FACHMANN, W.; KRAUT, H. *Food Composition and Nutrition Tables*. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994.

SOUSA, J. K. C.; DANTAS, A. N. S.; MARQUES, A. L. B.; LOPES, G. S. Experimental design applied to the development of a copper direct determination method in gasoline samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Fuel Processing Technology* **89** (11): 1180-1185, 2008.

- SREEPRASANTH, P. S.; SRIVASTAVA, R.; SRINIVAS, D.; RATNASAMY, P. Hydrophobic, solid acid catalysts for production of biofuels and lubricants. *Applied Catalysis A: General* **314**: 148-159, 2006.
- SRIVASTAVA, A.; PRASAD, R. Triglycerides-based diesel fuels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **4**: 111-133, 2000.
- TAGLIABUE, S.; GASPAROLI, A.; DELLA BELLA, L.; BONDIOLI, P., Influenza della contaminazione metallica sulla stabilità térmico ossidativa del biodiesel. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse* **82**: 93-96, mar./apr. 2005.
- TORRES, D. P.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Simple mercury fractionation in biological samples by CV AAS following microwave-assisted acid digestion or TMAH pre-treatment. *Microchemical Journal* **93**: 206–210, 2009.
- VAN DEN BERG, J. D. J.; BOON, J. J. Unwanted alkylation during direct methylation of fatty (di)acids using tetramethyl ammonium hydroxide reagent in a Curie-point pyrolysis unit. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **61**: 45–63, 2001.
- VANHAECKE, F. ICP–MS - Alternative means for the elimination of interferences. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **372**: 20–21, 2002.
- VARGAS, R. M.; SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R. Transesterification of vegetable oils: a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **9** (1): 199-210, 1998.
- VIEIRA, M. A.; OLIVEIRA, L. C. C.; GONÇALVES, R. A.; SOUZA, V.; CAMPOS, R. C. Determination of As in vegetable oil and biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Energy Fuels* **23**: 5942–5946, 2009.
- VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; CURTIUS, A. J.; STURGEON, R. E. Determination of total mercury and methylmercury in biological samples by photochemical vapor generation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **388**: 837–847, 2007.
- WANG, Y.; HUANG, K.; LI, C.; MI, H.; LUO, J.; TSAI, P. Emissions of fuel metals content from a diesel vehicle engine. *Atmospheric Environment* **37**: 4637–4643, 2003.
- WELZ, B.; High-resolution continuum source AAS: the better way to perform atomic absorption spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **381**: 69–71, 2005.
- WOODS, G. D.; FRYER, F. I. Direct elemental analysis of biodiesel by inductively coupled plasma-mass spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **389**: 753-761, 2007.
- ZMOZINSKI, A. V.; JESUS, A.; VALE, M. G. R.; SILVA, M. M. Determination of calcium, magnesium and zinc in lubricating oils by flame atomic absorption spectrometry using a three-component solution. *Talanta* **83**: 637-643, 2010.

ANEXOS

Artigo Publicado

**Simple method for the determination of Cu and Fe by electrothermal atomic
absorption spectrometry in biodiesel treated with
tetramethylammonium hydroxide**

Mirela Ghisi, Eduardo S. Chaves, Daiane P.C. Quadros, Edmar P. Marques,

Adilson J. Curtius, Aldaléa L.B. Marques

Microchem. J., 98 (2011) 62-65