

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

DANIEL DOS SANTOS ALBUQUERQUE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DETERMINAÇÃO DE Cu^{2+} EM BIOCOMBUSTÍVEIS COM USO DE ELETRODO
DE FILME DE BISMUTO, APÓS ELIMINAÇÃO DA INTERFERÊNCIA DO Bi^{3+}**

São Luís
2013

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

DANIEL DOS SANTOS ALBUQUERQUE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DETERMINAÇÃO DE Cu^{2+} EM BIOCOMBUSTÍVEIS COM USO DE ELETRODO
DE FILME DE BISMUTO, APÓS ELIMINAÇÃO DA INTERFERÊNCIA DO Bi^{3+}**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Química da
Universidade Federal do Maranhão, como
requisito para obtenção do Título de Mestre
em Química com área de concentração de
Química Analítica

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

São Luís
2013

Albuquerque, Daniel dos Santos.

Determinação de Cu^{2+} em Biocombustíveis com uso de Eletrodo de Filme de Bismuto, após eliminação da interferência do Bi^{3+} / Daniel dos Santos Albuquerque – São Luís, 2013.

94 f.

Impresso por computador (fotocópia).

Orientadora: Aldaléa Lopes Brandes Marques.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Química, 2013.

1. Biocombustível. 2. Cu^{2+} . 3. Eletrodo de filme de bismuto. I. Título.

CDU 662.756.3

DANIEL DOS SANTOS ALBUQUERQUE

Determinação de Cu^{2+} em Biocombustíveis com uso de Eletrodo de Filme de Bismuto, após eliminação da interferência do Bi^{3+}

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Química com área de concentração de Química Analítica

Aprovada em: 03/06/2013

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. Dr.^a. Aldaléa Lopes Brandes Marques (Orientadora)
Departamento de Tecnologia Química – UFMA

Prof.^o Dr.^o Leonardo Sena Teixeira
Departamento de Química Analítica – UFBA

Prof.^o Dr.^o José Roberto Pereira Rodrigues
Departamento de Tecnologia Química - UFMA

Ao meu Deus, sem O qual eu não teria forças e nem coragem para terminar este trabalho.

Aos meus pais, que sempre torceram por mim e me apoiaram em cada passo da minha carreira acadêmica.

À minha noiva, por suas orações e por me mostrar que são nesses momentos que a fé precisa ser lapidada.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, eu agradeço a Deus, por me oferecer Seu amor todos os dias e me envolver com Sua graça e misericórdia, apesar de ser pecador.

Aos meus pais Antonio Braga Albuquerque e Antonia dos Santos Pereira, por todo o amor, compreensão, apoio e incentivo nos meus estudos. À minha noiva Liamara Silva de Oliveira por tornar os momentos mais trabalhosos menos árduos. Aos meus parentes por toda a força indispensável que me deram.

À professora Dr^a. Aldaléa Lopes Brandes Marques pela oportunidade, paciência, incentivo, ensinamentos e por representar uma mãe para mim no âmbito acadêmico.

Ao professor Dr. Edmar Pereira Marques pelas dicas e ensinamentos importantes que contribuíram na pesquisa.

À Prof.^a Dr.^a Gisele por seu seminário indispensável para uma compreensão básica acerca das ferramentas quimiométricas que possibilitou a realização do planejamento fatorial deste experimento.

Aos meus amigos Eduardo Vieira e Fábio Galeno, pelos momentos de descontração no transcorrer desse momento importante da minha vida.

Ao pessoal da Igreja Evangélica Comunidade Zion onde encontro aconchego espiritual, principalmente ao pastor José de Jesus pela sua compreensão nos momentos que mais precisei, e aos irmãos em Cristo Jefferson e Wagner por me motivarem e me inspirarem com suas vidas.

Ao irmão John Albert por nossas conversas sobre fé e persistência, bem como pelas suas indispensáveis orações.

Ao meu querido irmão e amigo César que esteve comigo o tempo todo em oração e sempre me deu forças com seus sábios discursos sobre fé e coragem. Aos meus saudosos amigos de graduação com os quais ainda tenho contato: Leonardo Tadeu, Luís Paulo, Alysson Penha, Jeffersson Brito, Klauber Frazão, Paulo Fernando, Isael Pereira, Evandro Cavalcante e Kênia Victória.

Aos amigos que pertencem ou pertenceram ao LPQA e que colaboraram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho: Sakae Yotsumoto, Joseane Almeida, Madson e Wendell Mesquita por terem me ajudado de forma incomensurável no decorrer de todo esse período, Alex Barradas, Isabelle

Viegas, Verônica, Jethânia, Helmara, Ediane, Augusto, Fernando, Renata, Paulina, Myrna, Eva Michelly, Érica, Janyeid, Lorena, Elmo e Nills. Aos professores do LPQA Cristina, Maira e Manuel Fernandes.

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

A todos os amigos do curso de mestrado da UFMA;

Aos professores do curso de mestrado da UFMA;

Ao PRH-39 por ter concedido a bolsa no primeiro momento desta pesquisa e pelo incentivo à pesquisa;

Enfim, a todas as pessoas que influenciaram de forma direta e indireta para a realização deste trabalho.

“Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque sou o teu Deus; eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a minha destra fiel”.

(Isaías 41:10)

RESUMO

Apesar das vantagens do Eletrodo de Filme de Bismuto (BiFE), na determinação de metais traços e compostos orgânicos, o Cu^{2+} é um elemento que apresenta problemas quando quantificado com este eletrodo, uma vez que seu potencial é muito próximo ao do Bi^{3+} , causando a sobreposição de picos. Este trabalho apresenta uma alternativa para eliminação da interferência do bismuto na determinação de Cu^{2+} em biocombustíveis (etanol e biodiesel), usando um BiFE, preparado no modo *ex situ*. As amostras de etanol combustível foram usadas sem tratamento prévio, enquanto as amostras de biodiesel foram previamente digeridas. A otimização dos parâmetros foi realizada com o uso do planejamento fatorial completo 2^3 com ponto central. Após vários experimentos voltamétricos, as condições ideais para a determinação de Cu^{2+} foram: $E_{\text{dep}} = -1,3 \text{ V}$; $t_{\text{pré}} = 120 \text{ s}$; Frequência: 60 Hertz. Os voltamogramas e suas correspondentes curvas de adição padrão indicaram que o uso do BiFE com a técnica Voltametria de Redissolução Anódica (ASV), no modo onda quadrada, indicaram que o procedimento é adequado, útil e sensível para a determinação de Cu^{2+} em biocombustíveis. Os experimentos realizados, pela adição sucessiva de alíquotas da solução padrão de Cu^{2+} proporcionaram uma resposta linear entre a corrente de pico e a concentração do íon metálico. Bons limites de detecção foram obtidos para a determinação do Cu^{2+} em Etanol combustível, biodiesel de óleo de soja e de sebo respectivamente ($4,90 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$; $5,60 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$; $1,79 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$). A exatidão foi avaliada através do teste de recuperação (recuperações de 85,6% a 97,05%). A precisão, expressa pelo coeficiente de variação (CV: entre 10% e 18%) foi considerada boa. O método foi aplicado com sucesso em amostras reais de biodiesel e Etanol combustível.

Palavras-chave: Biocombustíveis, Cu^{2+} , eletrodo de filme de bismuto, voltametria de redissolução.

ABSTRACT

Despite the advantages of bismuth film electrode for the determination of trace metals and organic compounds, the Cu^{2+} is an element that has problems when measured with this electrode, since its potential is very close to the Bi^{3+} , causing overlapping of peaks. This work presents an alternative to eliminate the interference of Bismuth in the determination of copper in using bismuth film electrodes (BiFE), prepared *ex situ* mode. The ethanol fuel samples without pre-treatment and biodiesel samples previously digested were used in order to evaluate this electroanalytical procedure. The optimization of the parameters was performed using a complete factorial design 2^3 with center point. After several voltammetric experiments, optimal conditions for the determination of Cu^{2+} were the following: $E_{\text{dep}} = -1.3 \text{ V}$; $t_{\text{pre}} = 120\text{s}$; Frequency: 60 Hertz. The voltammograms using anodic stripping voltammetry method in the square wave mode and their corresponding standard addition curves indicated that the bismuth film electrode provides a sensitive and useful procedure for the determination of Cu^{2+} in biofuels. Experiments carried out by the successive addition of aliquots of a standard solution of Cu^{2+} , yielded a linear response of peak current to the concentration of metal ion. Good detection limits have been obtained for the determination of Cu^{2+} in ethanol fuel, soybean oil and tallow biodiesels respectively (4.9×10^{-8} ; 5.60×10^{-8} , 1.79×10^{-8}). The accuracy was assessed through recovery test (recoveries of 85.6% to 97.05%) and the precision was expressed by the coefficient of variation that ranged from 10% to 18%. The method was successfully applied to two different samples of biodiesel and ethanol fuel and analyzed in triplicate.

Keywords: Biofuel, bismuth film electrode, stripping voltammetry.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Reação de transesterificação de triglicerídeos..... 5
- Figura 2:** (1) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura do potencial para o sistema ferricianeto/ferrocianeto em uma solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 . Velocidades: (a) 0,01 ; (b) 0,02; (c) 0,03; (d) 0,04; (e) 0,05; (f) 0,06 ; (g) 0,07; (h) 0,08; (i) 0,09; (j) 0,10 $V.s^{-1}$. (2) Gráfico da variação da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial..... 26
- Figura 3:** Voltamograma característico do filme de bismuto. Condições: Tampão acetato $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH 4,5); Adição de $28,7 \mu\text{mol. L}^{-1}$ de Bi^{3+} ; $E_i = -1,4 \text{ V}$; $E_f = 0,4 \text{ V}$; $E_{dep} = -1,2 \text{ V}$; $t_{dep} = 480 \text{ s}$; $v = 40 \text{ mV.s}^{-1}$; Amplitude: 100 mV 34
- Figura 4:** Avaliação da interferência do Bi^{3+} em diferentes eletrólitos suporte. Condições instrumentais:: Técnica: ASV/SW; Faixa de Potencial: $-0,6 \text{ V}$ a $0,4 \text{ V}$; $E_{dep} = -1,4 \text{ V}$; $t_{dep} = 90 \text{ s}$; $v: 0,243 \text{ V.s}^{-1}$. Condições a) Tampão Acetato $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, pH: 4,5; b) Nitrato de Sódio $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, pH:5,60; c) Nitrato de Potássio $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; pH:4,15; d) uma mistura de reagentes composta por $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido cítrico, $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ de nitrato de potássio, $0,05 \text{ M}$ de EDTA e pH 5 aferido com Hidróxido de Amônio P.A. 36
- Figura 5:** Condições Instrumentais dos voltamogramas: Faixa de Varredura: $-1,4 \text{ V}$ a $0,4 \text{ V}$; $E_{dep} = -1,4 \text{ V}$; $t_{dep} = 90 \text{ s}$; amplitude: 50 mV . Condições Experimentais: 1) Tampão Acetato $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, pH: 4,5; 2) Mistura de reagentes composta por $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido cítrico, $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ de nitrato de potássio, $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ de EDTA e pH 5 aferido com Hidróxido de Amônio de pureza analítica. 37
- Figura 6:** (1) Resposta voltamétrica para a determinação $[Cu^{2+}]$ em meio aquoso, pela técnica ASV/SW com GPU/SBA-15/BiFE. Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por ácido cítrico $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$, nitrato de potássio $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ e EDTA

0,05 mol.L⁻¹ ; pH= 5 (aferido com Hidróxido de Amônio).; [Cu²⁺]: (a) 0,0; (b) 0,1 µmol L⁻¹; (c) 0,2 µmol L⁻¹ (d) 0,3 µmol L⁻¹, (e) 0,4 µmol L⁻¹; E_{dep} = -1,4 V; t_{pré} = 90s (2): Curva analítica para [Cu²⁺]. 38

Figura 7:(a) Resposta voltamétrica para a determinação [Cu²⁺] em meio aquoso, pela ASV/SW onde o Eletrodo de Trabalho não contém filme de Bi³⁺. Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por 0,25 mol.L⁻¹ de ácido cítrico, 0,5 mol.L⁻¹ de nitrato de potássio, 0,05 mol.L⁻¹ de EDTA e pH 5 aferido com Hidróxido de Amônio de pureza analítica.; [Cu²⁺]: a) 0,0 (eletrólito suporte puro); b) 0,1 µmol L⁻¹; c) 0,2 µmol L⁻¹;d) 0,3 µmol L⁻¹; e) 0,4 µmol L⁻¹ . E_{dep} = -1,4 V; t_{pré} = 90s (b) Curva analítica para [Cu²⁺] com o uso do eletrodo sem formação do Filme de Bi³⁺ 39

Figura 8: (a) Resposta voltamétrica para a determinação [Cu²⁺] em meio aquoso, pela técnica ASV/SW com BiFE. Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por 0,25 mol.L⁻¹ de ácido cítrico, 0,5 mol.L⁻¹ de nitrato de potássio e pH 5 aferido com Hidróxido de Amônio de pureza analítica.; [Cu²⁺]: a) 0,0 (eletrólito suporte puro); b) 0,1 µmol L⁻¹; c) 0,2 µmol L⁻¹ d) 0,3 µmol L⁻¹, e) 0,4 µmol L⁻¹; f) 0,5 µmol.L⁻¹; g) 0,6µmol.L⁻¹ . E_{dep} = -1.4 V; t_{pré} = 90s (b) Curva analítica para [Cu²⁺] com o uso do eletrodo com formação do Filme de Bi³⁺ 40

Figura 9: (a) Resposta voltamétrica para a determinação [Cu²⁺] em meio alcoólico, pela técnica ASV/SW com BiFE. Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por 0,25 mol.L⁻¹ de ácido cítrico, 0,5 mol.L⁻¹ de nitrato de potássio e pH 5 aferido com Hidróxido de Amônio de pureza analítica.; [Cu²⁺]: a) 0,0 (eletrólito suporte puro); b) 0,05 µmol L⁻¹; c) 0,10 µmol L⁻¹; d) 0,15 µmol L⁻¹, e) 0,20 µmol L⁻¹; f) 0,25 µmol.L⁻¹; g) 0,30µmol.L⁻¹. E_{dep} = -1,4 V; t_{pré} = 90s (b) Curva analítica para a determinação do [Cu²⁺] em meio 20% alcoólico com o uso do eletrodo com formação do Filme de Bi³⁺ 42

- Figura 10:** Gráfico de Pareto de efeito padronizado obtido para o planejamento fatorial completo com ponto central. Os efeitos que ultrapassam a linha de $p=0,05$ são estatisticamente significativos sobre a resposta analítica com 95% de confiança..... 44
- Figura 11:** Gráficos dos efeitos principais..... 45
- Figura 12:** Ajuste linear da distribuição de resíduos para o modelo proposto para determinação de Cu^{2+} 47
- Figura 13:** (a) Superfície de Resposta para a Determinação do Cu^{2+} com potencial de deposição fixo em -1,3 V; (b) Curva de nível da superfície de resposta com E_d fixo em -1,3 V. 48
- Figura 14:** (1) Superfície de Resposta para a Determinação do Cu^{2+} com potencial de deposição fixo em -1,5 V; (2) Curva de nível da superfície de resposta com E_d fixo em -1,5 V. 49
- Figura 15:** Condições Instrumentais dos voltamogramas obtidos: Técnica: ASV/SW: Faixa de Varredura: -0,9 V a 0,4 V; $E_{\text{dep}} = -1.4$ V; $t_{\text{dep}} = 120$ s; v : 0.243 V.s^{-1} , com BiFE. Adições de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} respectivamente..... 50
- Figura 16:** (1) Resposta voltamétrica para a determinação $[\text{Cu}^{2+}]$ em meios contendo 20% de etanol combustível, pela técnica ASV/SW com BiFE. Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido cítrico, $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ de nitrato de potássio e pH 5 aferido com Hidróxido de Amônio de pureza analítica; $[\text{Cu}^{2+}]$: (a) Eletrólito suporte contendo 20% de Etanol combustível; (b) $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$; (c) $0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ (d) $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$, (e) $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$; (f) $0,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$; (g) $0,6 \mu\text{mol.L}^{-1}$. $E_{\text{dep}} = -1.3$ V; $t_{\text{pré}} = 120\text{s}$ (2) Curva analítica para $[\text{Cu}^{2+}]$ com o uso do BiFE. 52
- Figura 17:** (1a e 2a) Resposta voltamétrica para a determinação $[\text{Cu}^{2+}]$ em meio contendo 50% de biodiesel digerido, pela técnica ASV/SW com BiFE. Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido cítrico, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de nitrato de potássio e pH 5 aferido com Hidróxido de Amônio de

pureza analítica; $[\text{Cu}^{2+}]$: (a) Eletrólito suporte contendo 50% de biodiesel digerido; (b) $0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$; (c) $0,10 \mu\text{mol L}^{-1}$ (d) $0,15 \mu\text{mol L}^{-1}$, (e) $0,20 \mu\text{mol L}^{-1}$; (f) $0,25 \mu\text{mol L}^{-1}$; (g) $0,30 \mu\text{mol L}^{-1}$; (h) $0,35 \mu\text{mol L}^{-1}$; (i) $0,40 \mu\text{mol L}^{-1}$. $E_{\text{dep}} = -1,3 \text{ V}$; $t_{\text{pré}} = 120\text{s}$ (1b e 2b)
Curva analítica para $[\text{Cu}^{2+}]$ com o uso do BiFE.54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Produção de Biodiesel combustível em alguns países do ano de 2004 a 2009.	6
Tabela 2: Produção de Etanol combustível em alguns países do ano de 2004 a 2009.	10
Tabela 3: Uso de BiFE com aplicações eletroanalíticas.	13
Tabela 4: Análise de variância pelo método dos mínimos quadrados de um modelo linear.....	18
Tabela 5: Programa utilizado para a digestão das amostras biodiesel no forno micro-ondas.....	24
Tabela 6: Parâmetros eletroquímicos para a formação do filme de Bi^{+3} por ASV. ...	27
Tabela 7: Condições experimentais para a determinação de $[\text{Cu}^{2+}]$ através da técnica ASV/SW.	27
Tabela 8: Dados do planejamento experimental 2^3 do Cu^{2+}	28
Tabela 9: Efeito do Eletrólito suporte e do BiFE sobre a resposta de Cu^{2+}	40
Tabela 10: Matriz de planejamento fatorial 2^3 com ponto central.	43
Tabela 11: Matriz de Resposta do planejamento fatorial completo 2^3 com ponto central.....	43
Tabela 12: Tabela ANOVA obtida a partir dos resultados experimentais para o íon Cu^{2+}	46
Tabela 13: Parâmetros otimizados para a determinação de Cu^{2+} por ASV	50
Tabela 14: Influência de alguns metais nas correntes de pico de $3,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-7}$ do Cu^{2+} em meio aquoso nas condições otimizadas.....	51
Tabela 15: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de $[\text{Cu}^{2+}]$ em amostras de Etanol combustível por ASV/SW.	53
Tabela 16: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de Cu^{2+} em amostra de biodiesel de soja e de sebo pela SWV.	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AAS: Espectrometria de absorção atômica (Atomic absorption spectrometry)
- ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ANOVA: Análise de Varância (Analysis of Variance)
- ANP: Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
- ASTM: American Society for Testing and Materials
- ASV/SW: Voltametria de Redissolução Anódica no modo Onda Quadrada (Anodic Stripping Voltammetry / Square Wave)
- ASV: Voltametria de Redissolução Anódica (Anodic Stripping Voltammetry)
- BiFE: Eletrodo de Filme de Bismuto (Bismuth Film Electrode)
- CNPE: Conselho Nacional de Política Energética
- DOU: Diário Oficial da União
- DP: Pulso Diferencial (Differential Pulse)
- EAC: Etanol Anidrocombustível
- EU: União Europeia (Union European)
- GPU/SBA-15: Grafite Poliuretano modificado com SBA-15
- HMDE: Eletrodo de Gota Pendente de Mercúrio (Electrode Hanging Mercury Drop)
- LD: Limite de Detecção
- LQ: Limite de Quantificação
- MFE: Eletrodo de Filme de Mercúrio (Mercury Film Electrode)
- RSD: Desvio Padrão Relativo (Relative standard derivation)
- RSM: Metodologia de Superfície de Resposta (Response Surface Methodology)
- SW: Onda Quadrada (Square Wave)
- CV: Voltametria Cíclica (Cyclic Voltammetry)
- SV: Voltametria de Redissolução (Stripping Voltammetry)

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo Geral	3
2.2. Objetivos Específicos	3
3. REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1. Biodiesel	4
3.2. Metais em Biodiesel	8
3.3. Etanol combustível.....	9
3.4. Metais em Etanol Combustível	11
3.5. Eletrodo de Filme de Bismuto (BiFE)	12
3.5.1. Interferência do BiFE no sinal analítico do Cu^{2+}	15
3.6. Otimização Multivariada de Experimentos	16
3.6.1. Metodologia de Superfície de Resposta (RSM).....	19
4. PARTE EXPERIMENTAL	21
4.1. Equipamentos e Materiais	21
4.1.1. Sistema Eletroquímico	21
4.1.2. pH-metro	21
4.1.3. Eletrodos.....	21
4.1.3.1. Eletrodo de Referência.....	21
4.1.3.2. Eletrodo auxiliar	21
4.1.3.3. Eletrodo de Trabalho.....	22
4.1.4. Célula Eletroquímica	22
4.1.5. Banho Ultrassom.....	22
4.2. Reagentes e Soluções	22
4.2.1. Reagentes - Análises eletroquímicas	22
4.2.2. Solução padrão do Cu^{2+}	23
4.2.3. Amostras.....	23
4.3. Procedimentos.....	24

4.3.1.	Preparo das amostras de Biodiesel.....	24
4.3.2.	Pré-tratamento da Superfície do Eletrodo GPU/SBA-15.....	24
4.3.3.	Determinação da área ativa dos eletrodos	25
4.3.4.	Preparação do Eletrodo de Filme de Bismuto (BiFE)	26
4.3.5.	Uso eletroanalítico do Eletrodo de Filme de Bismuto (BiFE)	27
4.4.	Otimização das Condições Experimentais	27
4.5.	Validação da Metodologia Proposta.....	29
4.5.1.	Linearidade	29
4.5.2.	Sensibilidade.....	29
4.5.3.	Precisão	30
4.5.6.	Limite de detecção	31
4.5.7.	Limite de quantificação.....	32
4.5.8.	Exatidão	32
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1.	Eletrodo de Filme de Bismuto e a Resposta para Cu^{2+}	34
5.2.	Estudo da interferência do BiFE na resposta para Cu^{2+}	35
5.3.	Estudo da composição do Eletrólito Suporte	38
5.4.	Testes eletroanalíticos para determinação de Cu^{2+} em meio alcoólico	41
5.5.	Otimização Multivariada do Sistema Eletroanalítico.....	42
5.6.	Estudo de Interferência.....	50
5.7.	Aplicação Analítica.....	52
5.7.1.	Aplicação do procedimento proposto na determinação de Cu^{2+} em amostras de etanol combustível com os parâmetros otimizados	52
5.7.2.	Aplicação do procedimento Proposto na determinação de Cu^{2+} em amostras reais de biodiesel, após digestão ácida com parâmetros otimizados.....	53
6.	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS	57

1. INTRODUÇÃO

O conceito de desenvolvimento é frequentemente confundido com o crescimento econômico que depende do consumo crescente de energia e recursos naturais. Porém, essa visão tende a ser insustentável, pois leva ao esgotamento dos recursos naturais dos quais a humanidade depende. (WORLD WIDE FUND FOR NATURE, [S.N]).

Nos anos 90, em função das exigências ambientais, houve a necessidade de produção de combustíveis “limpos”, cujo objetivo era o de acabar com o paradigma de que as atividades econômicas só podem ser encorajadas em detrimento dos recursos naturais dos países (CRUZ, 2009). A partir daí, a concepção de desenvolvimento passou a buscar a qualidade em vez de quantidade, com a redução do uso de matérias-primas e produtos e o aumento da reutilização e da reciclagem.

A sustentabilidade está relacionada com a busca pelo desenvolvimento econômico e social sem faltar com o respeito ao equilíbrio e às limitações dos recursos naturais. De acordo com o relatório da Comissão Mundial sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, criada pela ONU em 1983, o desenvolvimento sustentável visa "ao atendimento das necessidades do presente, sem comprometer a possibilidade de as gerações futuras atenderem às próprias necessidades". (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, [S.N]).

Ainda que a preocupação com o meio ambiente tenha se desenvolvido de forma significativa há poucas décadas, esta preocupação tem norteado o uso de energias renováveis no uso de novas tecnologias limpas, uma vez que o uso de combustíveis fósseis em larga escala tem se mostrado extremamente poluente, além de se tratarem de recursos não renováveis e, portanto, finitos (BORSATO *et. al.*, 2010),

Diante dessa busca por fontes de energias renováveis, o uso dos biocombustíveis etanol e biodiesel (TASHTOUSH *et.al.*, 2004; KAMARUDIN *et. al.*, 2012) tem se mostrado como alternativa viável para substituir os combustíveis fósseis. O Brasil está em uma posição interessante nesse cenário. O país é líder na utilização de matérias-primas renováveis para fins energéticos, tendo a indústria do

etanol como referência mundial no setor (COUTINHO, 2011), além do considerável avanço no estudo de biodiesel.

Mesmo diante do fato de que os combustíveis alternativos tenham conseguido considerável êxito na diminuição de emissões de poluentes tóxicos quando comparados aos derivados de petróleo, ainda é possível encontrar traços de íons metálicos que podem ser oriundos do processo de fabricação, bem como tanques de armazenamento e transporte que podem comprometer a sua qualidade e a integridade dos veículos automotores, e o meio ambiente, quando considerado o seu uso em larga escala (TEIXEIRA, 2004; SAINT´PIERRE, 2003).

A presença de contaminantes nos combustíveis, em pequenas concentrações torna indispensável o desenvolvimento de estudos analíticos cada vez mais sensíveis com o objetivo de oferecer ferramentas de controle de qualidade para os biocombustíveis.

Um grande interesse tem sido observado nos últimos anos, quanto ao desenvolvimento e aplicação de novos métodos de análises de espécies inorgânicas em biocombustíveis, conforme mostra a literatura. Devido à complexidade dos biocombustíveis, muitas estratégias têm sido desenvolvidas no sentido de determinar analitos nesse tipo de amostra, sem o uso de pré-tratamento exaustivo (CARDOSO *et al.*, 2007; MARTINIANO *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Entre os sensores eletroquímicos mais usados para determinação de metais em amostras em geral e também em biocombustíveis, ultimamente, estão os eletrodos a base de filme de mercúrio (MARTINIANO *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2004) e de bismuto (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Apesar do eletrodo de filme de bismuto ser um dos mais usados como substituto para o eletrodo de filme de mercúrio na determinação de metais traços (WANG *et al.*, 2000). Um dos problemas clássicos do eletrodo de bismuto é a interferência de Bi^{3+} na determinação de Cu^{2+} , quando se usa o eletrodo de filme de bismuto - BiFE (do inglês Bismuth Film Electrode) (GEORGINA *et al.*, 2011). O que torna necessário uma forma de contornar esse problema.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo geral, determinar Cu^{2+} em biocombustíveis com uso de Eletrodo de Filme de Bismuto, após eliminação da interferência de Bi^{3+} na resposta de Cu^{2+} .

2.2. Objetivos Específicos

A partir do objetivo geral proposto, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- a) Estudar a interferência de Bi^{3+} no sinal eletroanalítico de Cu^{2+} em diferentes eletrólitos;
- b) Estudar a resposta voltamétrica e otimizar as condições experimentais da solução e as condições instrumentais com o uso de tratamento multivariado para determinação de Cu^{2+} em biocombustíveis com o uso de BiFE;
- c) Validar, estatisticamente, os resultados obtidos;
- d) Aplicar em amostras de Etanol Combustível e Biodiesel.

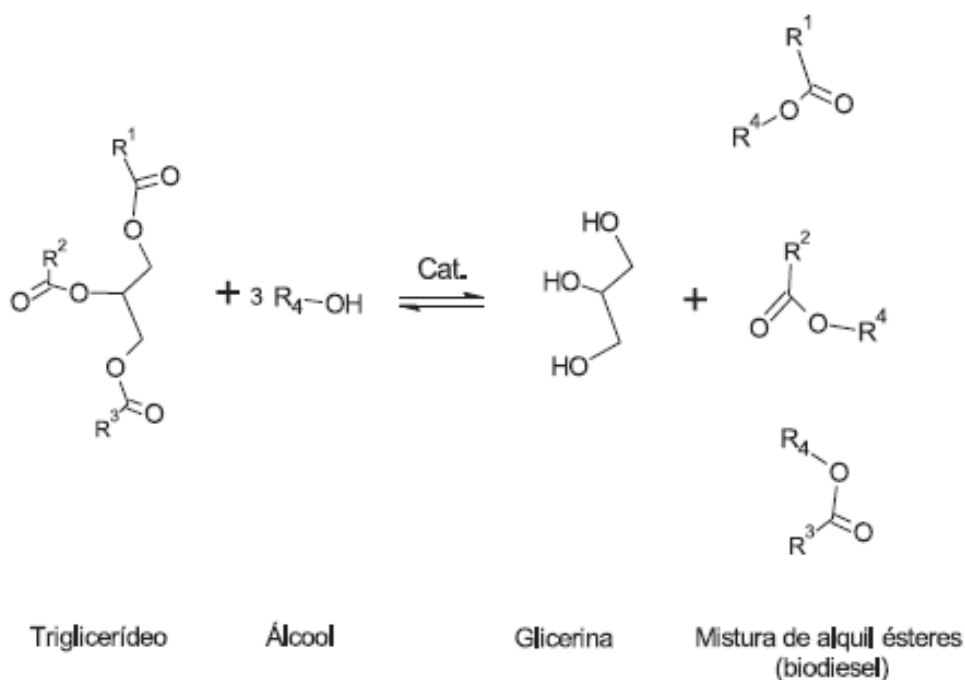
3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Biodiesel

As pesquisas com biodiesel se intensificaram nos últimos anos, por se tratar de um biocombustível para uso em motores de combustão interna, capaz de substituir parcial ou totalmente o óleo diesel derivado de petróleo, porém com vantagens ambientais, pois emite menor índice de particulados, não é tóxico, é biodegradável, oriundo de fontes renováveis e, como consequência, o mundo se beneficiará com a menor emissão de gases que contribuem para o aumento do efeito estufa (LIMA *et al.*, 2007).

O biodiesel é uma denominação genérica para combustíveis derivados de fontes renováveis, tais como óleos vegetais e gordura animal. Ele possui características similares ao diesel de petróleo em praticamente todas as propriedades (KNOTHE *et al.*, 2006) e apresenta a vantagem de reduzir a emissão de compostos de enxofre e de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos durante a sua combustão (MONYEN; VAN GERPEN, 2001; LIANG *et al.*, 2006). É biodegradável, possui ponto de fulgor mais alto que o diesel o que lhe confere segurança no seu manuseio e no seu armazenamento, além de apresentar boa lubricidade (MUDGE; PEREIRA, 1999; KNOTHE, *et al.*, 2006; SHARMA *et al.*, 2008).

Esse biocombustível é obtido a partir da transesterificação dos triglicerídeos de óleos e gorduras com alcoóis de cadeia curta como etanol ou metanol em condições controladas (Figura 1), reação esta que tem como coproduto o glicerol.

Figura 1: Reação de transesterificação de triglicerídeos.

Fonte: (CRUZ, 2009).

Ainda que a produção total de biodiesel em todo o mundo permaneça pequena em comparação com o etanol, o seu crescimento é mais elevado do que a de etanol, a uma taxa de crescimento média anual de cerca de 50% entre 2004 e 2009. Esse crescimento de 2,3 bilhões de litros em 2004 para 17 bilhões de litros em 2009 é demonstrado na Tabela 1. Alemanha, França e Itália são os maiores produtores da União Europeia, mas os EUA passaram a França para se tornar o segundo maior produtor de biodiesel, depois da Alemanha, em 2006. A produção de biodiesel em todo o mundo cresceu 43% entre 2005 e 2007, apesar do crescimento lento da União Europeia, o centro tradicional de produção de biodiesel. Este crescimento em outros países, especialmente os Estados Unidos, levou a um declínio na participação da União Europeia de produção de biodiesel global, que tinham sido mais de 90% até 2004, para menos de 60% em 2007 (EUROPEAN BIODIESEL BOARD, [S.N]). Nos últimos anos, alguns países fora da Europa e os EUA começaram a produzir biodiesel.

Por exemplo, o Brasil abriu sua primeira fábrica de biodiesel, que utiliza uma mistura de óleo vegetal e esgoto como matéria-prima, em março de 2005. E a Argentina começou a produção de biodiesel em 2007 (TIMILSINA *et al.*, 2011).

Tabela 1: Produção de Biodiesel combustível em alguns países do ano de 2004 a 2009.

PRODUÇÃO DE BIODIESEL (BILHÕES DE LITROS)							
PAÍS	PRINCIPAL MATÉRIA-PRIMA	2004	2005	2006	2007	2008	2009
EUA	Soja	0,11	0,36	0,99	1,93	2,69	2,1
Brasil	Soja	----	----	0,07	0,4	1,2	1,6
Alemanha	Colza	1,18	1,9	3,02	3,28	3,2	2,6
França	Colza	0,4	0,56	0,84	0,99	2,06	2,6
China	Soja, Colza	----	----	0,07	----	0,1	0,4
Argentina	Soja	----	----	----	0,21	0,85	1,4
Itália	Oleaginosas	0,36	0,45	0,51	0,41	0,68	0,4
Espanha	Oleaginosas	0,01	0,08	0,11	0,19	0,24	0,6
Índia	Soja, Colza	----	----	0,03	----	0,02	0,1
Canadá	Oleaginosas	----	0,1	0,05	----	0,1	0,1
PRODUÇÃO MUNDIAL		2,3	4,3	6,9	9,5	14,7	17

Fonte: Adaptado de (TIMILSINA *et al.*, 2011).

O Brasil apresenta um elevado potencial para a produção de biodiesel, devido à sua grande extensão territorial com áreas produtivas e a existência de diversas oleaginosas como opções de matérias-primas, proporcionada pela variedade de clima e solo (PEREIRA *et al.*, 2007).

Apesar da presença de biodiversidade de oleaginosas no território brasileiro, em termos de óleo vegetal, o Brasil encontra condições mais favoráveis ao uso do óleo de soja, dada a alta escala de produção dessa oleaginosa, ainda que outras espécies possam também ser utilizadas (TEIXEIRA *et al.*, 2011).

No Brasil, as especificações do biodiesel são estabelecidas através da Nº 14, de 11.5.2012 (DOU 18.5.2012), da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). A ANP tem 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 (AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS [S.N]; LOBO *et al.*, 2009).

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. Devem ser monitoradas também possíveis degradações do produto durante o processo de estocagem (LOBO *et al.*, 2009).

As análises e ensaios realizados para a caracterização do biodiesel podem ser divididos em dois grupos (MITTELBAACH, 1996):

- I) Ensaios como viscosidade, ponto de fulgor e massa específica que são empregados para a caracterização físico-química do combustível e que também são aplicados ao óleo diesel mineral;
- II) Análises que avaliam o grau de pureza do biodiesel e a presença de contaminantes.

Para determinar as características e a qualidade do produto, diferentes ensaios devem ser realizados em laboratórios cadastrados e inspecionados pela ANP, de acordo com procedimentos e técnicas estabelecidas pelas normas brasileiras da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), como também pelas normas internacionais da American Society for Testing and Materials (ASTM), International Organization for Standardization (ISO) e do European Committee for Standardization (CEN, French: Comité Européen de Normalisation). Após as análises, o biodiesel deve receber um certificado de qualidade, sem o qual não poderá ser comercializado. Deve-se considerar, contudo, que algumas dessas normas foram criadas para o biodiesel produzido nos Estados Unidos ou Europa, não refletindo necessariamente a realidade do produto desenvolvido e comercializado no Brasil (TEIXEIRA *et al.*, 2011).

Pela sua origem, o biodiesel é suscetível ao processo de oxidação e a sua estabilidade depende das condições iniciais do óleo ou gordura utilizados em sua produção, bem como das condições de armazenamento do produto final. A oxidação pode resultar na formação de peróxidos e hidroperóxidos que podem envolver-se em diferentes reações de degradação (SHARMA *et al.*, 2008).

3.2. Metais em Biodiesel

O biodiesel pode conter contaminantes inorgânicos, incluindo metais, os quais podem ser provenientes da absorção de metais nas plantas oriundos do solo, e/ou através de sua incorporação na produção, transporte e/ou armazenamento do Biodiesel. A presença de metais em combustíveis pode dar origem a uma variedade de problemas, incluindo a redução do desempenho dos motores, envenenamento catalítico e até mesmo contaminação do meio ambiente. Assim, a determinação de elementos metálicos e não-metálicos é muito importante no controle de qualidade do biodiesel, envolvendo pré-tratamento adequado de amostras para minimizar perdas, contaminação, decomposição parcial de compostos orgânicos, etc. (LOBO *et al.*, 2009).

A Resolução ANP Nº 14/2012 (ANEXO A) estabelece o teor apenas dos metais Na, K, Ca e Mg. Entretanto, já é bastante aceito que a presença de metais de transição e outros metais pesados pode afetar seriamente a qualidade do Biodiesel, principalmente, devido ao fato de que estes metais podem catalisar reações de oxidação do Biodiesel, proporcionando danos à sua qualidade e ao funcionamento do motor.

A concentração destes elementos é altamente influenciada por uma série de fatores, que vão desde as características do solo, do processo de extração e purificação da matéria-prima, do método de produção até as condições de armazenamento do biodiesel. (SNAPE *et al.*, 1996; CHAVES *et al.*, 2010). Na literatura, a concentração de metais alcalinos, tais como Na e K, e alcalinos terrosos como Ca e Mg, normalmente encontrada em diferentes amostras de biodiesel é da ordem de mg kg^{-1} (SANTOS *et al.*, 2007; CHAVES *et al.*, 2008); as concentrações de P e S encontram-se nessa mesma ordem, podendo variar em função da qualidade da matéria-prima utilizada (LYRA *et al.*, 2009; CHAVES *et al.*, 2011). No entanto, metais como Cu, Fe, Al, Mn, Ni, V, Cd e Pd estão presentes na ordem de $\mu\text{g kg}^{-1}$. (TEIXEIRA *et al.*, 2011; SOUZA *et al.*, 2008; CHAVES *et al.*, 2008). E a presença destes elementos, mesmo em baixas concentrações, pode exercer influência no processo de produção e na estabilidade do biocombustível, e também no desempenho do motor.

Segundo TEIXEIRA *et al.* (2011) a estabilidade em relação à oxidação afeta a qualidade do biodiesel, especialmente em longos períodos de

armazenamento, em decorrência da presença de ar, calor, traços de metais, e peróxidos, bem como a composição do tanque de armazenamento. Estes fatores podem acelerar os processos oxidativos e consequentemente, a degradação do biocombustível.

Estudos realizados nos últimos anos (TAGLIABUE *et al.*, 2005) mostram a avaliação através do tempo de indução, o efeito da presença de Cu, Fe, Mn, Zn, e Ni sobre a oxidação do biodiesel produzido a partir do óleo de colza, para o qual foi observado de uma maneira geral, que a presença desses metais acelerou a oxidação do biodiesel.

SARIN *et al.* (2009) avaliaram a influência de contaminantes metálicos sobre a estabilidade de oxidação do biodiesel de *Jatropha*, e seus estudos indicaram que a presença de metais tais como Fe, Ni, Mn, Co e Cu, frequentemente empregados em tanques para estocagem, resultou na aceleração do processo de oxidação do biodiesel. Os autores concluem que os metais apresentam efeito catalítico sobre a oxidação do biodiesel, sendo ativos mesmo em baixas concentrações.

O biodiesel de diferentes origens já está sendo utilizado em veículos automotores, porém, ainda não há na legislação vigente uma normatização adequada para o controle de qualidade em relação a metais pesados (NOBRE, 2010). Portanto, levando-se em consideração os danos previamente citados que tais metais causam no biodiesel, o desenvolvimento de metodologias de rotina para determinação de metais em amostras de biodiesel é de grande importância.

3.3. Etanol combustível

A crise do óleo na década de setenta teve como consequência o aumento nos preços dos produtos derivados do petróleo, o que motivou o interesse em biocombustível como alternativa para a substituição do combustível fóssil em muitos países (OLIVEIRA *et al.*, 2002). O Brasil através do programa nacional do etanol (Proálcool) investiu na sua produção e ampliou o uso do etanol como biocombustível. Daí em diante, o etanol passou a ser usado tanto na forma hidratada como na forma anidra com o uso de 20% a 25 % como aditivo em gasolina (CALLE, 2005 *apud* DIAS, 2010).

Deve-se também notar que o etanol também pode ser usado como matéria-prima para a síntese de etileno - um precursor importante na síntese orgânica industrial, de forma que há planos para aumentar a produção anual de etanol combustível de até 35 bilhões de litros (DIAS *et al.*, 2010).

A partir do ano de 2004, pôde-se observar um aumento do consumo deste combustível devido ao surgimento dos automóveis bicomcombustíveis, que podem ser abastecidos tanto com gasolina como com etanol (TEIXEIRA *et al.*, 2006). A produção mundial de etanol combustível cresceu de 30,8 bilhões de litros em 2004 para 76 bilhões de litros em 2009 a uma taxa média de crescimento anual de 20%. Os dois principais produtores, Estados Unidos e Brasil, são responsáveis por cerca de 88% do total em 2009 (TIMILSINA *et al.*, 2011). A Tabela 2 apresenta a produção de etanol por país durante o período de 2004 a 2009. Conforme podemos observar, em 2006, os EUA ultrapassaram o Brasil, que foi líder de longa data, para se tornar o principal produtor de etanol combustível no mundo, produzindo mais de 18 bilhões de litros (20% a mais do que no ano anterior). Mas ainda assim, o Brasil segue sendo um dos maiores produtores de etanol combustível do mundo.

Tabela 2: Produção de Etanol combustível em alguns países do ano de 2004 a 2009.

PRODUÇÃO DE ETANOL COMBUSTÍVEL (BILHÕES DE LITROS)							
PAÍS	PRINCIPAL MATÉRIA-PRIMA	2004	2005	2006	2007	2008	2009
EUA	Milho	13	15	18,3	24,6	34	41
Brasil	Cana-de-açúcar	15	15	17,5	19	27	26
Alemanha	Trigo	0,02	0,2	0,5		0,5	0,8
França	Beterraba, Trigo	0,1	0,15	0,25		1,2	0,9
China	Milho, Cana-de-açúcar	2	1	1	1,8	1,9	2,1
Argentina	Cana-de-açúcar	-	-	-	0,02	-	-
Itália	Cerais	-		0,13		0,13	0,1
Espanha	Trigo, Cevada	0,2	0,3	0,4		0,4	0,4
Índia	Cana-de-açúcar, trigo	-	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2
Canadá	Trigo	0,2	0,2	0,2	0,8	0,9	1,1
PRODUÇÃO MUNDIAL		31	33	39	49,6	67	76

Fonte: Adaptado de (TIMILSINA *et al.*, 2011)

O etanol combustível brasileiro é obtido a partir da fermentação da cana e esse processo agora está totalmente estabelecido (AMORIN *et al.*, 1999).

3.4. Metais em Etanol Combustível

A qualidade do etanol combustível é regulamentada pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e pelo Instituto Nacional de Metrologia, através da determinação de vários parâmetros físico-químicos e da presença de aditivos orgânicos e inorgânicos (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Íons metálicos são considerados como um grupo importante de contaminantes inorgânicos em etanol combustível.

A principal fonte de contaminação do etanol combustível por espécies metálicas são os processos corrosivos sofridos pelas colunas de destilação, reservatórios das destilarias e de postos de combustível (BRUNING, 1982).

A presença de íons metálicos no etanol combustível aumenta o poder corrosivo deste, deteriorando os componentes metálicos do motor, além de promover a formação de gomas e sedimentos em motores que utilizam a gasolina, contendo um percentual de etanol como combustível (TAYLOR *et al.*, 1993; PEREIRA *et al.*, 2005).

Visto que a presença de traços desses íons metálicos influencia no desempenho e na manutenção dos motores automotivos, uma preocupação com a qualidade do etanol combustível é pertinente, uma vez que combustíveis fora das especificações de qualidade trazem prejuízos diretos para o consumidor, através do mau funcionamento do motor automotivo, aumento do consumo de combustível e gastos com manutenção (TEIXEIRA *et al.*, 2006).

As especificações americana, em consonância com a europeia, define o limite de $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ como máxima concentração permitida para o Cu^{2+} . Não há ainda regulamentações na legislação para outras espécies metálicas como o níquel e o zinco (TEIXEIRA *et al.*, 2011).

A presença de espécies inorgânicas em etanol combustível pode ser fruto da corrosão dos equipamentos usados no processo de produção, transporte e estocagem do biocombustível, ou até mesmo, uma possível contaminação da cana-de-açúcar. A monitoração destas espécies é importante porque a presença destas pode induzir a corrosão dos componentes veiculares reduzindo, assim, o desempenho do motor (PADILHA, *et al.*, 1999).

A Resolução nº 07 de 9.2.2011 (DOU 10.2.2011), da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), estabelece que o teor máximo de Cu^{2+} no etanol anidro combustível (EAC) não deve ser superior a $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$ (www.anp.gov.br), já que a presença de traços de Cu^{2+} em etanol pode agir como um catalisador para a oxidação da gasolina, quando misturada com o álcool (MUNOZ *et al.*, 2004; KARIM *et al.*, 2003).

A mesma Portaria estabelece que as determinações dessas espécies devem ser realizadas usando-se a espectrometria de absorção atômica, através dos métodos NBR 11331 e NBR 10893 (TEIXEIRA, 2006). Entretanto, uma vez que nem sempre os laboratórios possuem um espectrômetro de absorção atômica para realização de análises de rotina, é importante que métodos alternativos, mais baratos, simples e de baixo custo sejam avaliados e validados para determinação de Cu^{2+} em biocombustíveis.

Dentre as alternativas de técnicas analíticas cada vez mais sensíveis, a eletroanalítica tem se destacado com o desenvolvimento de Eletrodos Quimicamente Modificados (SOUZA, 1996), além de apresentarem uma instrumentação de baixo custo, se comparados às técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Além disso, tais técnicas oferecem baixa sensibilidade com relação aos interferentes, o que proporciona considerável seletividade. Essas vantagens contribuíram para o seu uso em larga escala com propósitos eletroanalíticos (MACHADO *et al.*, 2003). E a técnica de ASV (ANEXO B) pode ser empregada na determinação de espécies metálicas, fornecendo alta sensibilidade e precisão com um custo instrumental relativamente baixo (BERGAMINI, 2006).

3.5. Eletrodo de Filme de Bismuto (BiFE)

Ao longo das últimas duas décadas, os eletrodos de filme de mercúrio (MFE; do Inglês Mercury Film Electrode) e de gota pendente de mercúrio (HMDE; do inglês Electrode Hanging Mercury Drop) se revelaram ferramentas úteis para eletroanalítica, devido às vantajosas propriedades analíticas do mercúrio em um intervalo de potencial negativo. No entanto, o aumento de riscos associados ao uso, manipulação e eliminação de mercúrio metálico ou sais de mercúrio tem levado a busca por outros filmes (ECOMONOU, 2005).

O BiFE foi introduzido por volta do ano 2000 como um substituto do MFE para a determinação de metais traços (WANG *et al.*, 2000) e de compostos orgânicos (HUTTON *et al.*, 2001). Os BiFEs, além de serem materiais ambientalmente amigáveis e com amplo intervalo de potencial negativo de trabalho, apresentam baixas correntes capacitivas, boa precisão, boa reprodutibilidade dos filmes formados, melhor sensibilidade e seletividade para diversos cátions metálicos. Outra característica dos BiFEs, de alta relevância, é não responderem ao oxigênio, podendo ser aplicados em determinações *in loco*, uma vez que não há a necessidade de se utilizar nitrogênio para a desoxigenação da solução (FILHO *et al.*, 2011).

O BiFE pode ser preparado pelo método *in situ* e *ex situ*. No processo *in situ* o Bi é adicionado à célula eletroquímica e formado como a primeira etapa do processo de determinação. Durante a formação do filme, em geral, o analito é pré-concentrado. A concentração de Bi a ser utilizada deve ser otimizada, pois existe uma relação entre esta e o sinal analítico dos analitos que serão determinados. No processo *ex situ*, o filme é formado separadamente em uma célula eletroquímica para depois ser usado em outra célula de trabalho contendo o analito (ECONOMOU, 2005).

Atualmente na literatura vários trabalhos são apresentados com o uso do BiFE para determinação de metais- traço em diversas amostras. A Tabela 3 apresenta alguns exemplos recentes destas aplicações.

Tabela 3: Uso de BiFE com aplicações eletroanalíticas.

TÉCNICA	ANALITO(S)	APLICAÇÃO	REFERÊNCIA
ASV/SW	Pb ²⁺	Própolis Cru	Pierini, <i>et al.</i> , (2013)
ASV/SW	Sn ⁴⁺ e Bi ³⁺	Biodiesel	Frena <i>et al.</i> , (2011)
CSV/DP	Se ⁴⁺	Multivitaminas e cabelo humano	Zhang <i>et al.</i> (2010)
ASV/SW	Vitamina B ₁₂	Produtos farmacêuticos	Kreft <i>et al.</i> (2012)
CSV/SW	Ni ²⁺	Amostras reais de água	Segura <i>et al.</i> (2011)

Fonte: Próprio autor.

Pierini, *et al.* (2013) usaram BiFEs para determinar chumbo em própolis cru da Argentina. O filme de bismuto foi depositado *in situ* com um tempo de deposição de 120 s a -1,40 V, sob agitação constante em tampão acetato 0,1 M, pH 4,5 contendo $30 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb^{2+} e $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de Bi^{3+} . Os voltamogramas foram obtidos por meio da ASV/SW, os quais mostravam dois picos bem definidos por volta de -0,60 V e -0,12 V para o chumbo e o Bismuto respectivamente. Após cada medida os resquícios de chumbo e do filme de Bi^{3+} foram retirados após uma aplicação de potencial de 0,2V durante 30s sob agitação. O coeficiente de correlação linear obtido foi de 0,9963, e os limites de detecção e de quantificação foram de $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,84 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente.

Frena *et al.* (2011) aplicaram o BiFE usando ASV/SW, a fim de determinar Sn^{4+} em amostras de biodiesel. A deposição simultânea *in situ* de estanho e bismuto a -1,2 V por 90 s foi realizado em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em (pH 4,5) contendo e $1,73 \text{ mmol L}^{-1}$ de ácido caféico, como agente complexante. A curva analítica apresentou um limite de detecção de $0,14 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,9990$).

Zhang *et al.* (2010) estudaram a determinação de selênio com BiFEs e aplicaram em amostras de multivitaminas e cabelo humano. O filme de bismuto foi formado através da eletrodeposição do mesmo no eletrodo de carbono vítreo pela aplicação de -1,0V durante 5 minutos em tampão acetato contendo 100mg L^{-1} de bismuto. Os voltamogramas foram obtidos por meio da voltametria de redissolução catódica no modo pulso diferencial com um tempo de pré-concentração do analito de 120s. O coeficiente de correlação linear obtido foi de 0,998 e apresentou uma taxa de recuperação de 96,1% a 100,3%.

Kreft *et al.* (2012) estudaram a aplicação eletroanalítica, bem como seu comportamento eletroquímico, do BiFE na determinação de Vitamina B_{12} em produtos farmacêuticos. O filme de bismuto foi formado *ex situ*, em uma célula eletroquímica contendo $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ e 1mol.L^{-1} de HCl, onde foi aplicado um potencial de deposição de -0,3V durante 10s. Para a realização dos voltamogramas, os pesquisadores utilizaram o Britton-Robinson como eletrólito suporte para o estudo eletroanalítico. Os voltamogramas foram obtidos por meio da ASV/SW com um potencial de pré-concentração de -1,2 V durante 30s sob agitação. O sistema apresentou um coeficiente de correlação linear de 0,998, com um limite de detecção de $33,1 \text{ nmol L}^{-1}$ e um limite de quantificação de 165 nmol L^{-1} .

Segura *et al.* (2011) investigaram a determinação de níquel em amostras de água com BiFE, formado *ex situ*, usando como complexante 1-nitroso-2-naftol. O filme de bismuto foi formado com o uso de um eletrodo de carbono vítreo como substrato, o qual foi submetido a uma eletrodeposição de -1,0V durante 120s, em uma célula eletrolítica contendo 100 mg L⁻¹ de bismuto em tampão acetato 0,1mol L⁻¹, pH 5,0. Para a obtenção dos voltamogramas, os pesquisadores utilizaram o Britton-Robinson 0,1mol L⁻¹, pH 7,5, como eletrólito suporte para o estudo eletroanalítico. Os voltamogramas foram obtidos por meio da voltametria de redissolução catódica no modo onda quadrada, com um potencial de pré-concentração de -0,30V durante 10s. O sistema estudado apresenta um limite de detecção de 0,1 µg L⁻¹.

3.5.1. Interferência do BiFE no sinal analítico do Cu²⁺

Apesar das vantagens do BiFE na determinação de metais traços e compostos orgânicos, o Cu²⁺ é um elemento que apresenta problemas quando quantificado diretamente por ASV usando BiFE, uma vez que o seu potencial é muito próximo ao Bi³⁺, causando muitas vezes a sobreposição dos picos. Alguns estudos que relatam análises de amostras contendo Cu²⁺ e outros metais indicam a dificuldade da realização da determinação direta deste elemento com o uso de BiFE (PACHECO *et al.*, 2008). Entretanto, a determinação de Cu²⁺ tem sido obtida separadamente com o uso de eletrodos de Filme de mercúrio (CARVALHO *et al.*, 2007; BALDO *et al.*, 2004).

A interferência do Bi³⁺ na determinação do Cu²⁺, com o BiFE, é bem documentada. Porém, a descrição de abordagens mostrando uma forma de contornar este problema ainda é relativamente escassa.

Wang *et al.* (2000) apresentam uma proposta de eliminação da interferência do filme de bismuto no sinal analítico do Cu²⁺ através de um ajuste nas condições instrumentais e diminuição da concentração do Bi³⁺. Porém apesar de conseguirem a separação do pico de Bi³⁺ do pico do Cu²⁺, observaram que há a perda da sensibilidade para o Cu²⁺, formação de duplo pico para o analito e diminuição do pico de Bi³⁺, indicando que ainda há uma competição entre o Cu²⁺ e o

Bi^{3+} , o que pode indicar falta de robustez para a determinação de Cu^{2+} ou mesmo outros metais (PACHECO *et al.*, 2008).

Uma elegante proposta para solução deste problema da determinação do Cu^{2+} sem a interferência do Bi^{3+} foi relatado por (PRIOR *et al.*, 2007). O sinal interferente do Bi^{3+} no sinal analítico do Cu^{2+} foi resolvido através da adição de Ga^{3+} . Foi observado que o Ga^{3+} e o Cu^{2+} formam uma espécie intermetálica que é depositada no filme, sendo redissolvida em posição mais anódica eliminando a competitividade do Bi^{3+} .

Pacheco *et al.* (2008) propuseram a solução do problema através da adição de peróxido de hidrogênio ao eletrólito suporte (tampão acetato pH 4,5), onde conseguiram um deslocamento do pico do Cu^{2+} para um potencial mais positivo, minimizando a interferência do pico de redissolução do Bi^{3+} .

3.6. Otimização Multivariada de Experimentos

A Quimiometria envolve a aplicação de métodos matemáticos, estatísticos e computacionais para investigar, interpretar, classificar e fazer previsão de conjuntos de dados de interesse químico, sendo atualmente considerada como uma disciplina da Química e inserida na grade curricular de diversos cursos de graduação e de pós-graduação em universidades brasileiras (BARROS 2006 *apud* POPPI *et al.*, 2011).

As metodologias de otimização utilizadas em química analítica são usualmente baseadas em procedimentos univariados. Apesar da interpretação dos resultados obtidos ser simples, as interações entre as variáveis não são detectadas. Consequentemente, um falso valor de máximo pode ser obtido, ou seja, certa condição na qual a combinação das variáveis não é a que provê a melhor resposta analítica.

Uma das ferramentas multivariadas mais utilizadas é o planejamento fatorial completo em dois níveis. Este é usado para verificar a significância preliminar das variáveis sobre a resposta no sistema em estudo. Neste procedimento, os efeitos principais e de interação das variáveis no intervalo estudado são estimados sendo esta uma das maiores vantagens da otimização multivariada comparada a univariada. Outra vantagem é que o número de experimentos é consideravelmente reduzido, uma vez que somente dois níveis de cada variável são avaliados.

Entretanto, se o número de variáveis a serem investigadas se tornar grande, isto também aumentará o número de experimentos. Planejamentos fatoriais fracionados podem ser utilizados nestes casos, onde o número de experimentos é dado por $2^{k-p} + C$, onde k é o número de variáveis, C é o número de replicatas no ponto central e p é um número inteiro que indica o quão fracionado será o planejamento experimental. Quando o valor de p é zero, o planejamento é completo. As variáveis que se mostram estatisticamente significantes podem ser novamente submetidas a um planejamento experimental, porém agora com uma menor diferença entre os níveis, escolhidas de acordo com os resultados do primeiro planejamento, ou otimizadas através de alguma metodologia de superfície de resposta (NETO *et al.*, 1995).

A metodologia de superfície de resposta (RSM, Response Surface Methodology) é uma técnica de otimização baseada no emprego de planejamentos fatoriais (NETO *et al.*, 1995) e tem sido usada com grande sucesso na modelagem de diversos processos. Uma superfície de resposta é um gráfico que mostra o comportamento da resposta como função de dois ou mais fatores. A superfície de resposta oferece uma maneira conveniente de visualizar como fatores afetam as medidas do sistema (BEZERRA, 2008). Para obter dados que devem ser empregados no modelo, os planejamentos com composto central (CCD, Central Composite Design) são muito convenientes para ajustar o modelo polinomial completo de segunda ordem (MASSART *et al.*, 1990). A análise estatística do planejamento central múltiplo é mais elaborada que análise de um planejamento fatorial, pois permite detectar alguma impropriedade do modelo que está sendo ajustado (OLIVERO *et al.*, 1995).

Na área de planejamento de experimentos busca-se encontrar quais as variáveis que mais afetam um determinado processo, assim como a interação entre elas. No reconhecimento de padrões, a partir de uma vasta gama de informações (medidas químicas ou espectrais, por exemplo) sobre uma série de objetos, pretende-se encontrar agrupamentos de amostras (objetos) que são similares entre si e, assim, detectar tendências nos dados. Na calibração multivariada, busca-se estabelecer um modelo que relacione uma série de medidas (químicas ou espectrais) realizadas em amostras com uma determinada propriedade (concentração, por exemplo). Na literatura podem ser encontrados diversos experimentos didáticos em calibração multivariada (HOUGHTON *et al.*, 2000; WANG

et al., 2009; LIMA et al., 2008) reconhecimento de padrões (CAZAR et al., 2003; RUSAK et al., 2003) e planejamento de experimentos (OLES, 1998).

A análise de variância pelo método dos mínimos quadrados de um modelo linear nos parâmetros é descrito resumidamente na Tabela 4.

Tabela 4: Análise de variância pelo método dos mínimos quadrados de um modelo linear.

Fonte de variação	Soma Quadrática	graus de liberdade	Média Quadrática	Valor de F
Regressão	$SQ_R = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	p-1	$MQ_R = \frac{SQ_R}{p-1}$	$F = \frac{MQ_R}{MQ_r}$
Resíduos	$SQ_r = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$	n-p	$MQ_r = \frac{SQ_r}{n-p}$	-
Falta de ajuste	$SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	m-p	$MQ_{faj} = \frac{SQ_{faj}}{m-p}$	$F = \frac{MQ_{faj}}{MQ_{ep}}$
Erro Puro	$SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	n-m	$MQ_{ep} = \frac{SQ_{ep}}{n-m}$	-
Total	$SQ_T = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	n-1	-	-

i e j = níveis de experimentação

n_i = número de repetições no nível i

m = número de níveis distintos da variável independente

n = $\sum n_i$ = número total de observações

p = número de parâmetros do modelo

$\hat{y}_i$ = valor estimado ou previsto pelo modelo ajustado, para a variável resposta em função do nível do fator

y_i = valor experimental observado na variável resposta ou variável dependente, em função do nível da variável independente

$\bar{y}_i$ = valor médio de y_i

F = distribuição F de Snedecor com graus de liberdade das somas de quadrados envolvidos.

Fonte: (Trindade, 2009).

Para facilitar a leitura da Tabela 3, faz-se necessário definir alguns parâmetros:

- Soma Quadrática da Regressão (SQ_R): representa a soma dos desvios das previsões feitas pelo modelo, em relação à média global.

- Soma Quadrática Residual (SQ_r): representa a soma das diferenças entre os valores observados e os valores previstos.
- Soma Quadrática Total (SQ_T): representa a soma dos desvios dos valores observados, em relação à média global. A Soma Quadrática Total pode ser expressa pela Equação 1:

$$SQ_T = SQ_R + SQ_r \quad \textbf{(Equação 1)}$$

Conclui-se pela Equação 2 que em um modelo bem ajustado, a SQT deve ser aproximadamente igual à SQR. O coeficiente de determinação do modelo (R^2) é dado pela Equação 2, e o seu valor percentual representa a variação explicada pelo modelo aplicado.

$$R^2 = \frac{SQ_R}{SQ_T} \quad \textbf{(Equação 2)}$$

Os valores de F calculados e F tabelados (ANEXO C) para a regressão e a falta de ajuste, indicam a qualidade do modelo utilizado.

3.6.1. Metodologia de Superfície de Resposta (RSM)

A RSM é essencialmente um conjunto de técnicas estatísticas usadas em pesquisas, com a finalidade de determinar as melhores condições e dá maior conhecimento sobre a natureza de certos fenômenos.

A RSM vem sendo estudada por estatísticos desde 1970, sendo utilizada na etapa de otimização propriamente dita. Sua aplicação permite selecionar a combinação de níveis ótimos na obtenção da melhor resposta para uma dada situação. Então, usando a metodologia, é possível aproximar um modelo empírico a uma relação (inicialmente desconhecida ou conhecida) entre os fatores e as respostas do processo.

Neste método são realizados planejamentos fatoriais para cujos resultados são ajustados modelos matemáticos. Estas etapas, conhecidas como etapas de deslocamento e modelamento, podem ser repetidas quantas vezes forem necessárias até que se atinja uma região ótima (máximo ou mínimo) da superfície estudada. A modelagem normalmente é feita ajustando-se modelos lineares ou quadráticos a resultados experimentais obtidos a partir de planejamentos experimentais. O modelamento ocorre em busca do caminho de máxima inclinação de um determinado modelo, sendo o caminho onde a resposta varia de forma mais pronunciada (NETO *et al.*, 2010).

O relacionamento entre as respostas e os níveis de fatores busca atingir um dos objetivos: estabelecer uma descrição de como uma resposta é afetada por um número de fatores em alguma região de interesse; estudar e explorar a relação entre várias respostas; localizar e explorar a vizinhança de resposta (TRINDADE, 2009).

A RSM é útil quando o pesquisador não conhece a relação exata entre os fatores. Dentre as vantagens da metodologia, a principal é que seus resultados são resistentes aos impactos de condições não ideais, como erros aleatórios e pontos influentes, porque a metodologia é robusta. Outra vantagem é a simplicidade analítica da superfície de resposta obtida, pois a metodologia gera polinômios, em geral, de duas ou mais variáveis. Assim, torna-se absolutamente fácil o uso de métodos tradicionais de otimização em processos ou sistemas modelados por superfícies de resposta. Principalmente quando o processo tem muitas variáveis afetando a resposta. A técnica do planejamento fatorial, junto com a metodologia da superfície de resposta vem se mostrando eficiente para quantificar o impacto das incertezas dos reservatórios na previsão da produção. O método do planejamento fatorial possibilita estimar o impacto das incertezas e é útil para a melhor compreensão do sistema, permitindo a análise individual do efeito de cada variável na resposta desejada (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Equipamentos e Materiais

4.1.1. Sistema Eletroquímico

As medidas voltamétricas foram realizadas em um analisador voltamétrico Autolab (Metrohm) modelo PGSTAT 302 acoplado a um computador Celeron D Intel, para registro dos dados.

O preparo do filme de bismuto (BiFE) foi realizado através da eletrodeposição do mesmo com o uso de cronoamperometria. A ASV/DP foi utilizada no primeiro momento para visualização do pico do bismuto. A técnica utilizada para a determinação de Cu^{2+} foi a ASV/SW.

4.1.2. pH-metro

As medidas de pH foram realizadas em um pHmetro digital Quimis modelo Q400A, com eletrodo combinado de vidro à uma temperatura de 25 ° C.

4.1.3. Eletrodos

4.1.3.1. Eletrodo de Referência

As medidas voltamétricas foram feitas utilizando-se um eletrodo de referência de Ag/AgCl.

4.1.3.2. Eletrodo auxiliar

O eletrodo auxiliar empregado nas medidas voltamétricas foi um fio de platina de 1 cm de comprimento, soldado a um fio de Cu^{2+} para contato elétrico. O conjunto foi fixado em um tubo de vidro preenchido com resina epóxi SILAEX.

4.1.3.3. Eletrodo de Trabalho

Foi usado um eletrodo compósito de grafite poliuretano modificado com SBA-15 (GPU/SBA-15) em uma proporção de 57,5% de grafite, 37,5% de poliuretano e 5% do SBA-15, preparado no laboratório de Análise Térmica, Eletroanalítica e Química de Soluções – LATEQS do Instituto de Química de São Carlos / USP.

4.1.4. Célula Eletroquímica

Todas as medidas foram feitas em uma célula de vidro com capacidade total de 50 mL, contendo o eletrodo compósito (trabalho), o eletrodo de platina (contraeletrodo) e o eletrodo de referência Ag/AgCl, ligados ao potenciostato.

4.1.5. Banho Ultrassom

Foi utilizado para a remoção das impurezas no eletrodo de trabalho, um banho ultrassom Ultra Cleaner 750 Unique com frequência de 25 Hz.

4.2. Reagentes e Soluções

4.2.1. Reagentes - Análises eletroquímicas

Todos os reagentes usados foram de pureza analítica P.A. e a água utilizada para limpeza de vidrarias e preparo de soluções foi destilada e em seguida, deionizada por meio da passagem desta através do sistema de purificação da NANOPURE modelo D11901 (BARNSTEAD).

A solução estoque de Cu^{2+} foi preparada a partir de uma solução padrão de Cloreto de Cobre II (CuCl_2) estoque 1000 mg L^{-1} de procedência Merck.

A solução de tampão acetato foi preparada a partir de 0,1 mol L^{-1} de ácido acético e 0,1 mol L^{-1} de acetato de sódio para um volume de 1L. A mistura de reagentes composta por 0,25 mol L^{-1} de ácido cítrico, 0,5 mol L^{-1} de nitrato de

potássio e $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA teve o pH 5 aferido gota a gota com hidróxido de amônio (24% - 30%) de procedência Merck.

Foi utilizada uma solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para o cálculo da área do eletrodo.

Etanol 99,5% (Merck) foi usada para testar a viabilidade do eletrodo em solventes orgânicos.

O ácido nítrico 65% (Merck) e o peróxido de hidrogênio 30% (Isofar) foram utilizados para a abertura da amostra, uma vez que esses reagentes não apresentam impurezas do analito em estudo na sua composição.

A solução de ácido nítrico foi preparada na concentração de 10% v/v com água deionizada. Esta solução foi usada para limpeza das vidrarias utilizadas. Foi usada a solução padrão de nitrato de bismuto $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ (Merck) com concentração de 1000 mg L^{-1} para o preparo do filme BiFE.

Durantes as análises, a remoção de oxigênio das soluções usadas nas medidas voltamétricas foi através do gás nitrogênio super seco de pureza 99,9% (WHITE MARTINS).

4.2.2. Solução padrão do Cu^{2+}

A partir de uma solução padrão de 1ppm de Cu^{2+} , foi preparada uma solução padrão estoque deste metal a uma concentração de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ através de diluição com água deionizada.

As alíquotas necessárias dos metais para o preparo dessas soluções foram medidas com micropipetas “Digipet” com capacidades nas faixas de 10 a 100 μL e 100 a 1000 μL .

4.2.3. Amostras

A amostra de etanol combustível foi adquirida em postos de gasolina na cidade de São Luís do Maranhão. As duas amostras de biodiesel foram provenientes do programa interlaboratorial da ANP cedidas pelo laboratório da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

4.3. Procedimentos

4.3.1. Preparo das amostras de Biodiesel

As determinações via ASV/SW foram realizadas após a decomposição ácida das amostras de biodiesel em sistema fechado em forno micro-ondas.

Para o tratamento das amostras foi realizado a digestão via úmida por radiação micro-ondas em sistema fechado. As amostras foram preparadas diretamente em tubos de quartzo de 15 mL, pela adição de 300 mg de amostra de biodiesel, 4 mL de ácido nítrico ultrapuro (HNO_3), 2 mL de peróxido de hidrogênio P.A. (H_2O_2) e 1 mL de água deionizada. Posteriormente, os frascos foram devidamente fechados e levados ao aquecimento de acordo com a programação otimizada neste mesmo laboratório (ALMEIDA, 2013). Ao final, as amostras foram armazenadas sob refrigeração e em tubos Falcon de 15 mL.

O programa de aquecimento do forno micro-ondas, otimizado para a digestão das amostras de biodiesel é apresentado na Tabela 5.

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

Etapa	Potência (W)	Rampa (W/min)	Tempo (min)
1	300	10	10
2	450	5	5
3	0		20

Fonte: (ALMEIDA, 2013)

4.3.2. Pré-tratamento da Superfície do Eletrodo GPU/SBA-15

Para deixar a superfície do eletrodo de trabalho limpa, foi realizado o polimento manual com suspensão de alumina 0,3 μm e posteriormente limpo com água deionizada e submetido ao banho no ultrassom para remoção de possíveis resíduos de alumina.

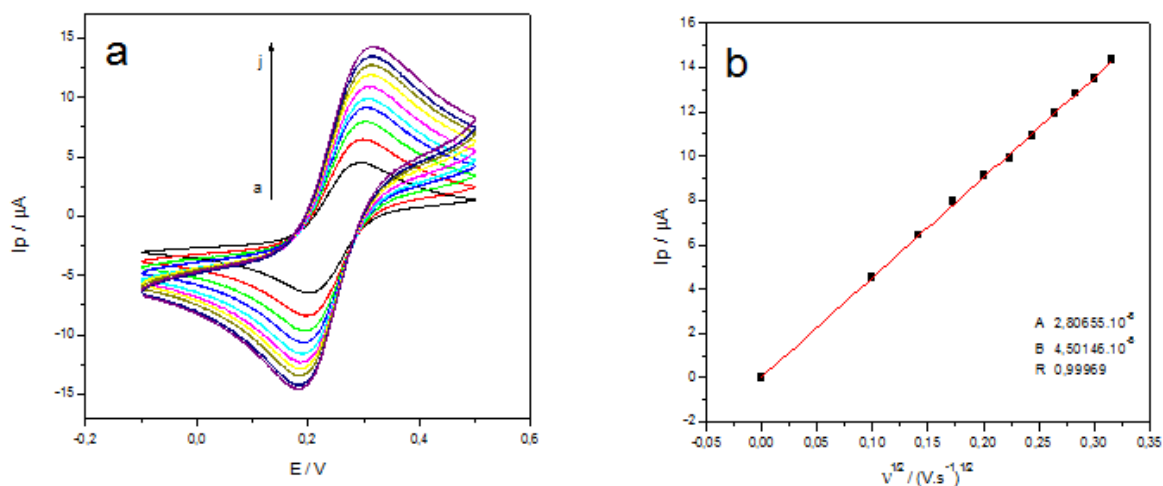
4.3.3. Determinação da área ativa dos eletrodos

O eletrodo de trabalho, construído no Laboratório de Análise Térmica, Eletroanalítica e Química de Soluções – LATEQS Instituto de Química de São Carlos/USP, teve a área efetiva determinada através de experimentos eletrocatalítico utilizando o sistema redox ferricianeto/ferrocianeto. Os voltamogramas cíclicos foram obtidos em uma solução $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, em diferentes velocidades de varreduras do potencial, conforme Figura 2. Assumindo que o sistema redox apresente comportamento nerstiano ideal, sob condições de controle difusional das espécies eletroativas próximas à superfície do eletrodo, a corrente máxima de pico, I_p (A) é relacionada com a velocidade de varredura do potencial v (V s^{-1}) pela Equação 3 (BARD, 2001):

$$I_p = 2,687 \cdot 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2} \quad \text{Equação 3}$$

Onde n é o número de elétrons envolvidos na reação eletroquímica, A (cm^2) é a área do eletrodo, D ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$) é o coeficiente de difusão e C ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$) é a concentração das espécies eletroativas na solução. Esta equação tem comportamento linear, ou seja, o de uma reta passando pela origem e com coeficiente angular dado pela expressão ($2,687 \times 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} C$).

Figura 2 - (a) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura do potencial para o sistema ferricianeto/ferrocianeto em uma solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 1×10^{-3} mol.L $^{-1}$ em KCl 0,5 mol L $^{-1}$, saturada com N_2 . Velocidades: a) 0,01 ; b) 0,02; c) 0,03; d) 0,04; e) 0,05; f) 0,06 ; g) 0,07; h) 0,08; i) 0,09; j) 0,10 V.s $^{-1}$. (b) Gráfico da variação da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial.



Fonte: Próprio autor.

Na parte (b) da Figura 2 é mostrado o gráfico de I_p versus $v^{1/2}$, construído com valores extraídos do voltamograma da parte (1) da mesma. As observações feitas acima para a Equação 3 são obedecidas, com um coeficiente angular resultante da ordem de $4,50 \times 10^{-5} \text{ A V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$. A partir deste valor e utilizando a Equação 3 com $n=1$, $C=1 \times 10^{-6} \text{ mol cm}^{-3}$ e $D=6,32 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, foi encontrado um valor para a área do eletrodo da ordem de $0,066 \text{ cm}^2$.

4.3.4. Preparação do Eletrodo de Filme de Bismuto (BiFE)

A deposição do filme foi feita através da adição de 60 μL de solução padrão de Bi^{3+} de concentração 1000 mg L^{-1} diluída a um volume final de 10 mL com uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão acetato pH 4,5, resultando em uma solução de concentração final de $28,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ em íons de Bi^{3+} . Posteriormente, a solução foi desaerada com nitrogênio por 10 minutos para remoção do oxigênio dissolvido. Em seguida, foi aplicado um potencial de deposição de $-1,2 \text{ V}$ por 8 minutos. Os parâmetros experimentais usados no preparo do BiFE são apresentados na Tabela 5. Após a formação do filme, o eletrodo foi imediatamente transferido para outra célula contendo a solução suporte e/ou as amostras.

Tabela 6: Parâmetros eletroquímicos para a formação do filme de Bi^{3+} por ASV.

PARÂMETROS INSTRUMENTAIS	PARÂMETROS EXPERIMENTAIS
DPV	Tampão Acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$
Potencial de Deposição: $-1,2 \text{ V}$	pH: 4,5
Tempo de Deposição: 480 s	Conc.: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$
Faixa de varredura: $-1,4 \text{ V}$ a $1,0 \text{ V}$	Bismuto padrão 1ppm
Amplitude de Pulso: 100 mV	$[\text{Bi}^{3+}]$ na célula: $28,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$
Velocidade de Varredura: 40 mV s^{-1}	

Fonte: (GUIMARÃES, 2011)

4.3.5. Uso eletroanalítico do Eletrodo de Filme de Bismuto (BiFE)

Foi adicionada na célula eletroquímica 20% de etanol PA como solvente. Foi utilizada a ASV/SW como técnica eletroanalítica, com os mesmos parâmetros utilizados no estudo da interferência do filme de bismuto (Tabela 7).

Tabela 7: Condições experimentais para a determinação de Cu^{2+} pela técnica ASV/SW.

PARÂMETROS INSTRUMENTAIS	PARÂMETROS EXPERIMENTAIS
ASV/SW	Mistura de reagentes composta por: $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido cítrico; $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de nitrato de potássio;
Potencial de Deposição: $-1,2 \text{ V}$	pH 5 (aferido com hidróxido de Amônio P.A)
Tempo de Deposição: 480 s	Conc.: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$
Faixa de varredura: $-1,4 \text{ V}$ a $1,0 \text{ V}$	$[\text{Cu}^{2+}]$ estoque: $1 \cdot 10^{-4} \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$;
Amplitude de Pulso: 50 mV	$[\text{Cu}^{2+}]$ alíquota de $10 \text{ } \mu\text{L}$ na Célula: $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.
Velocidade de Varredura: 200 mV s^{-1}	

Fonte: Próprio autor.

4.4. Otimização das Condições Experimentais

Antes de iniciar a determinação de Cu^{2+} foi necessário avaliar as melhores condições experimentais que pudesse amenizar ou evitar a interferência do Bi^{3+} no sinal eletroanalítico do Cu^{2+} . Portanto realizaram-se várias análises em quatro diferentes eletrólitos suporte e avaliou-se o comportamento do sinal eletroanalítico do cobre em cada solução estudada. E, uma vez que foi obtido o

melhor eletrólito, buscou-se uma forma de melhorar a resolução do voltamograma com um estudo da composição do eletrólito escolhido para então procedermos com a otimização instrumental com o objetivo de aumentar o desempenho do BiFE, em termos de sensibilidade. Assim, os fatores estudados, que possivelmente influenciam no sinal analítico, foram: tempo de deposição, potencial de deposição e frequência.

Para otimização do sistema voltamétrico foi realizado um planejamento experimental com o software STATISTICA 10.0. O modelo escolhido foi o fatorial completo com ponto central. Alguns fatores independentes são considerados de maior importância na influência do sinal analítico. Foram escolhidos os seguintes parâmetros como dados de entrada: tempo de deposição, Frequência e potencial de deposição, utilizando-se um planejamento fatorial em dois níveis mínimo (-) e máximo (+) e usando a corrente de pico do Cu^{2+} como a variável dependente. Para a escolha dos valores dos níveis dos fatores em estudo escolheu-se os valores aplicados na Tabela 8 abaixo:

Tabela 8: Dados do planejamento experimental 2^3 para Cu^{2+}

Ensaio	Frequência (Hertz)	Potencial de deposição (V)	Tempo de deposição (s)
Mínimo (-)	15	-1,5	60
Máximo (+)	60	-1,3	120
Central (0)	37,5	-1,4	90

Fonte: Próprio autor.

Para a avaliação da influência de cada variável na região experimental estudada, foi aplicada a análise de variância (ANOVA ; do inglês Analysis of Variance) nos dados obtidos, tendo como respostas a corrente do Cu^{2+} . O objetivo do uso da ANOVA foi comparar a variação devido à mudança dos níveis das variáveis com a variação devida ao acaso (erro experimental) ou resíduos. Sendo assim, para um nível de confiança de 95%, qualquer variável que apresentar um valor de p maior de 0,05 (5%) apresenta efeito significativo.

4.5. 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 Ca em amostras de biodiesel por SWV utilizando tratamento com digestão via úmida por radiação micro-ondas em sistema fechado, 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.

4.5.1. 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 avaliada 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 para cinco concentrações diferentes do Cu^{2+} .

4.5.2. 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).

4.5.3. Precisão

Precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. A precisão costuma ser expressa como repetibilidade, precisão intermediária ou reprodutibilidade. A repetibilidade constitui a precisão estudada no mesmo laboratório, em pequeno intervalo de tempo (mesmo dia, analista e equipamento). A precisão intermediária é expressa pela variação entre resultados obtidos em dias diferentes pelo mesmo laboratório. A reprodutividade é estudada entre diferentes laboratórios, em diversas localidades do mundo, utilizando o mesmo conjunto de amostras (BARROS, 2002).

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 4 (HARRIS, 2001).

$$RSD = \frac{s}{\bar{X}} * 100 \quad (\text{Equação 4})$$

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.

4.5.4. 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.

4.5.5. 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, 2013). Neste trabalho não foi realizado o estudo de reprodutibilidade.

4.5.6. Limite de detecção

Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas (BARROS, 2002).

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 5.

$$LD = \frac{3 * s}{b} \qquad \text{Equação 5}$$

Onde *s* representa o desvio padrão de dez medidas do branco e *b* a inclinação da curva de calibração. O número 3 corresponde a um valor estatístico eleito de acordo com o nível de confiabilidade de 99,7% (TRINDADE, 2009).

4.5.7. 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 6.

$$LQ = \frac{10 * s}{b} \quad \text{Equação 6}$$

Onde s representa o desvio padrão de dez medidas do branco e b a inclinação da curva de calibração. O número 10 corresponde a um valor estatístico eleito de acordo com o nível de confiabilidade de 99,7% (TRINDADE, 2009).

4.5.8. Exatidão

Exatidão do método analítico é o grau de concordância entre o valor médio obtido de uma série de resultados e o valor de referência aceito. Exatidão pode ser demonstrada pela comparação dos resultados obtidos com material de referência certificado ou com outro método validado cujo erro sistemático é sabidamente não significativo. Outra forma de investigação é comparar a média dos resultados obtidos com a média obtida do programa interlaboratorial, ou ainda por meio de estudos de recuperação de quantidades conhecidas do analito adicionado na matriz limpa da amostra ou ainda na matriz da amostra (BARROS, 2002).

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 7 (MARTINIANO, 2013).

$$R(\%) = \frac{\text{Média do valor obtido}}{\text{Média do valor adicionado}} * 100 \quad (\text{Equação 7})$$

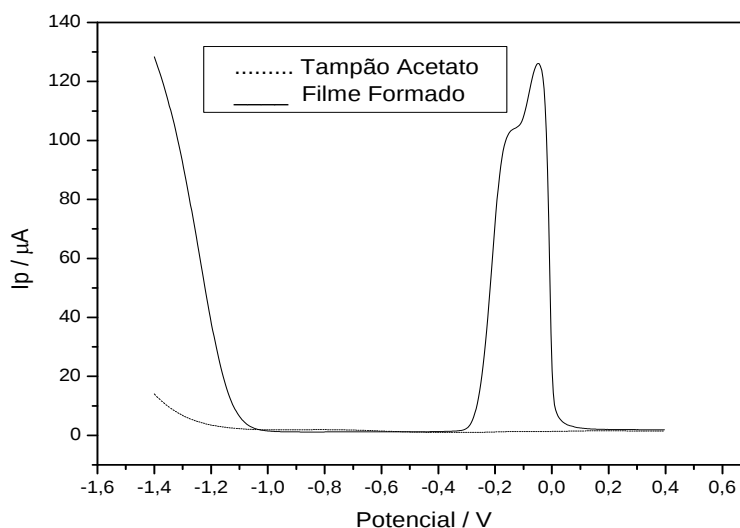
A exatidão do método foi avaliada através de comparação com os resultados obtidos através de testes de recuperação para duas amostras de biodiesel e uma amostra de etanol combustível, enriquecendo as amostras com concentrações diferentes de Cu^{2+} . No estudo de recuperação, concentrações conhecidas do metal foram adicionadas nas amostras de biodiesel e no etanol combustível.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Eletrodo de Filme de Bismuto e a Resposta para Cu^{2+}

A Figura 3 mostra o voltamograma referente ao BiFE, onde se pode observar uma boa resposta eletroquímica quanto a formação do filme de bismuto.

Figura 3: Voltamograma característico do filme de bismuto. Condições: Tampão acetato $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH 4,5); Adição de $28,7 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$ de Bi^{3+} ; $E_i = -1,4 \text{ V}$; $E_f = 0,4 \text{ V}$; $E_{\text{dep}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{dep}} = 480 \text{ s}$; $v = 40 \text{ mV.s}^{-1}$; Amplitude: 100 mV .



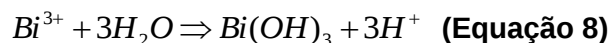
Fonte: Próprio autor.

Uma vez observado que o filme formado apresentou o perfil característico descrito na literatura (GUIMARÃES, 2011), buscou-se as melhores condições de eletrodeposição na formação do filme, o que era verificado através de teste voltamétrico para o analito em estudo, Cu^{2+} .

As melhores condições, confirmadas com experimentos feitos anteriormente (GUIMARÃES, 2011), foram as seguintes: $[\text{Bi}^{3+}] = 28,7 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$ potencial eletrólito suporte: tampão acetato (pH 4,5), potencial de deposição: $-1,2 \text{ V}$; tempo de deposição: 480 s ; técnica de deposição: cronoamperometria,

Uma condição experimental importante no preparo do BiFE é o pH da solução de eletrodeposição. Somente o meio reacional ácido (HCl, HNO_3 e tampão acetato) é indicado como eletrólito suporte na eletrodeposição de Bi^{3+} , pois permite que os íons Bi^{3+} estejam mais suscetíveis a redução. Em meio aquoso neutro e

levemente alcalino estes íons são facilmente hidrolisáveis, formando complexos pouco solúveis em meio aquoso (Equação 8), dificultando a redução dos íons Bi^{3+} e consequentemente a formação do filme (CAMPESTRINI, 2010).

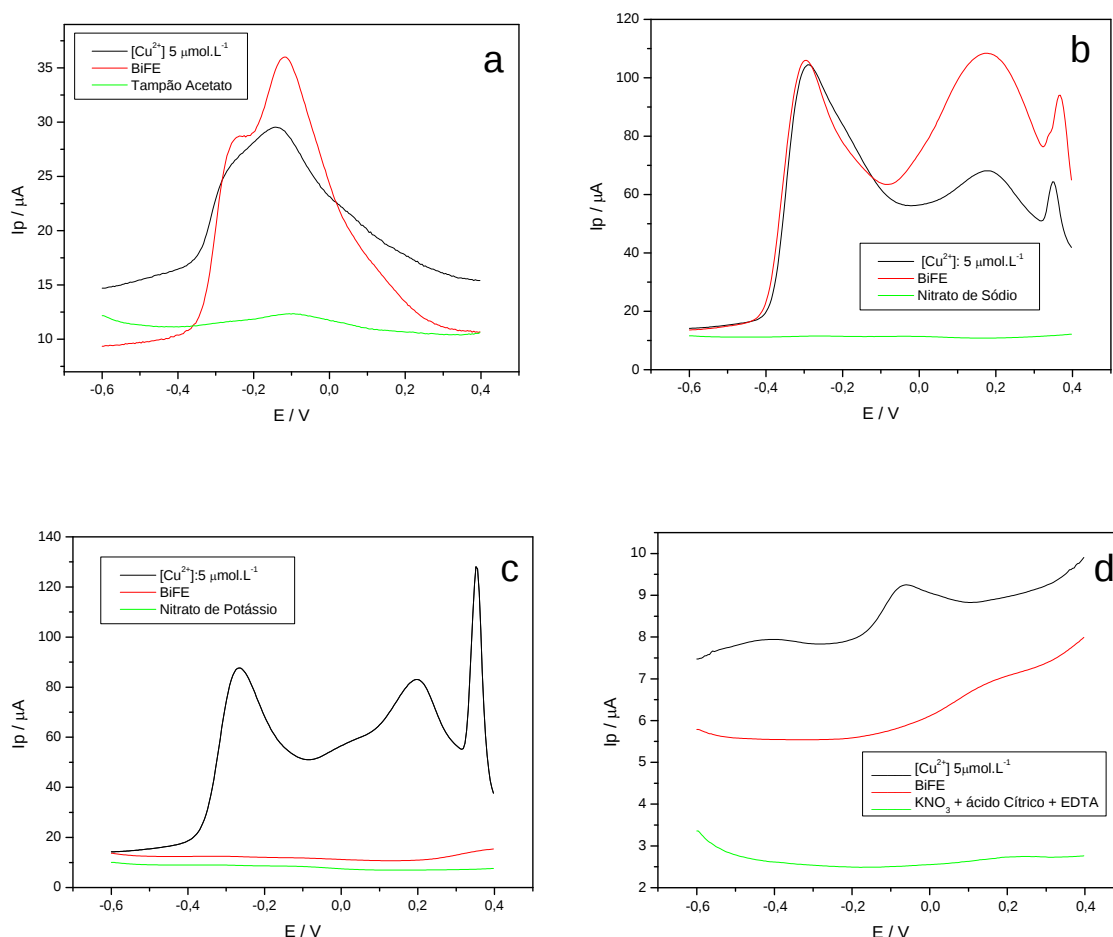


Posteriormente, o BiFE foi usado para avaliar a melhor resposta para Cu^{2+} , conforme é apresentado no próximo item.

5.2. Estudo da interferência do BiFE na resposta para Cu^{2+}

Antes da aplicação do BiFE na determinação voltamétrica de Cu^{2+} , fez-se a avaliação de alguns eletrólitos suporte com o objetivo de se estudar a interferência do pico do Bi^{3+} no sinal do Cu^{2+} . As varreduras realizadas para a avaliação foram obtidas pela técnica ASV/SW. Primeiramente, formou-se o filme de bismuto nas condições previamente otimizadas. Realizou-se, em seguida, uma varredura voltamétrica para observação do pico de Bi^{3+} na mesma solução de pré-concentração do bismuto. Logo depois, o BiFE foi transferido para outra célula, onde adicionou-se uma alíquota de 50 μL de $[\text{Cu}^{2+}] 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, correspondente a uma concentração de 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de $[\text{Cu}^{2+}]$. Nesta célula, foram feitas medidas voltamétricas, primeiro, com o eletrodo suporte sem o filme de bismuto depositado e, depois, com o eletrodo contendo o BiFE (para se observar o pico de Bi^{3+}) antes da adição de Cu^{2+} . Depois, foi feita a medida voltamétrica, com o BiFE referente ao ion Cu^{2+} . Este experimento, denominado de avaliação da interferência do pico de Bi^{3+} sobre o pico de Cu^{2+} , foi realizado, conforme apresentado na Figura 4, em diferentes eletrólitos.

Figura 4: Avaliação da interferência do Bi^{3+} no sinal eletroanalítico do Cu^{2+} em diferentes eletrólitos suporte. Condições instrumentais: Técnica: ASV/SW; Faixa de Potencial: -0,6 V a 0,4 V; $E_{\text{dep}} = -1,4$ V; $t_{\text{dep}} = 90$ s; v : 0,243 V s^{-1} . Condições a) Tampão Acetato 0,1 mol L^{-1} , pH: 4,5; b) Nitrato de Sódio 0,1 mol L^{-1} , pH: 5,60; c) Nitrato de Potássio 0,1 mol L^{-1} , pH: 4,15; d) uma mistura de reagentes composta por 0,25 mol L^{-1} de ácido cítrico, 0,5 mol L^{-1} de nitrato de potássio, 0,05 M de EDTA e pH 5 ajustado com Hidróxido de Amônio P.A.



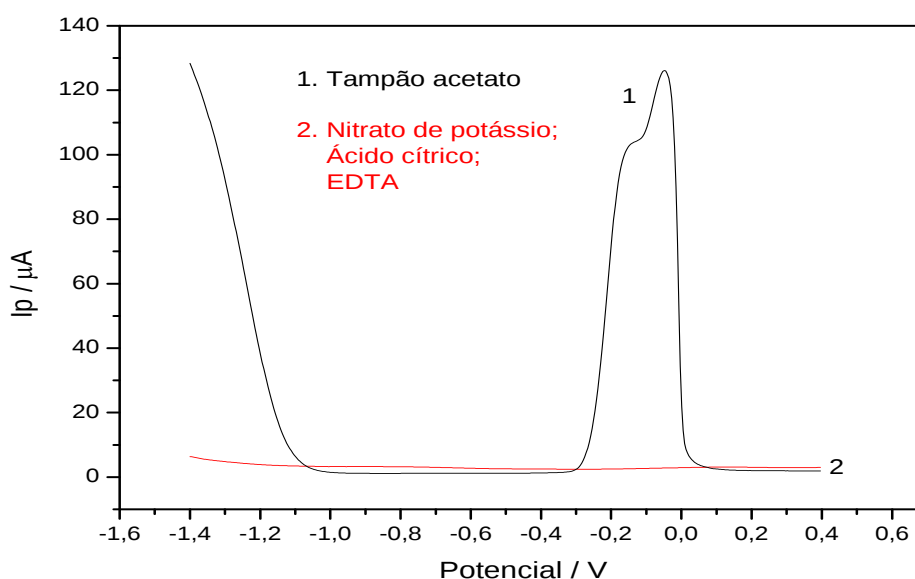
Fonte: Próprio autor.

Conforme podemos observar nos voltamogramas da Figura 4, as medidas feitas para cada eletrólito suporte revelam que há uma grande interferência do pico de Bi^{3+} quando se usa os eletrólitos tampão acetato (Figura 4a) e nitrato de sódio (Figura 4b), pois o pico de Bi^{3+} (curva de cor vermelha) e o pico de Cu^{2+} (curva de cor preta) apresentam picos na mesma região, mostrando sobreposição da resposta analítica, o que caracteriza, nitidamente, a interferência. Já a Figura 4c, mostra que o BiFE em nitrato de potássio (curva de cor vermelha) não apresenta qualquer pico, apesar do filme de bismuto está depositado na superfície do eletrodo. Entretanto, a resposta para Cu^{2+} (curva de cor preta), da Figura 4c neste meio é deformada, apresentando 3 picos, o que não é adequado, do ponto de vista analítico. A Figura

4d mostra o uso de um eletrólito misto contendo o eletrólito nitrato de potássio. O eletrólito misto contém ácido cítrico ($0,25 \text{ mol L}^{-1}$), nitrato de potássio ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) e EDTA ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$). O pH da mistura foi ajustado para o valor 5,0, com hidróxido de amônio, de alta pureza analítica (FURTADO, 2004). Conforme pode se observar, os resultados foram muito satisfatórios em termos de eliminação da interferência de Bi^{3+} (curvas de cores vermelha e preta), uma vez que o pico do Bi^{3+} não foi observado, enquanto o de Cu^{2+} é bem definido.

Portanto, com base no estudo apresentado acima, confirma-se que a interferência do pico de Bi^{3+} no pico de Cu^{2+} , usando o BiFE, é eliminado quando se usa o eletrólito misto contendo ácido cítrico, nitrato de potássio e EDTA. Abaixo (Figura 5), apresenta-se a resposta voltamétrica que caracteriza a eliminação da interferência: a curva 1 mostra a resposta do BiFE no tradicional eletrólito suporte tampão acetato e a curva 2, a resposta voltamétrica no eletrólito misto. Como em ambos os experimentos, existe o filme de bismuto na superfície do eletrodo, isto comprova que a interferência foi eliminada pelo eletrólito misto.

Figura 5: Condições Instrumentais dos voltamogramas: Faixa de Varredura: $-1,4 \text{ V}$ a $0,4 \text{ V}$; $E_{\text{dep}} = -1,4 \text{ V}$; $t_{\text{dep}} = 90 \text{ s}$; amplitude: 50 mV . Condições Experimentais: 1) Tampão Acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH: 4,5; 2) Mistura de reagentes composta por $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido cítrico, $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ de nitrato de potássio, $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA e pH 5 ajustado com hidróxido de amônio.

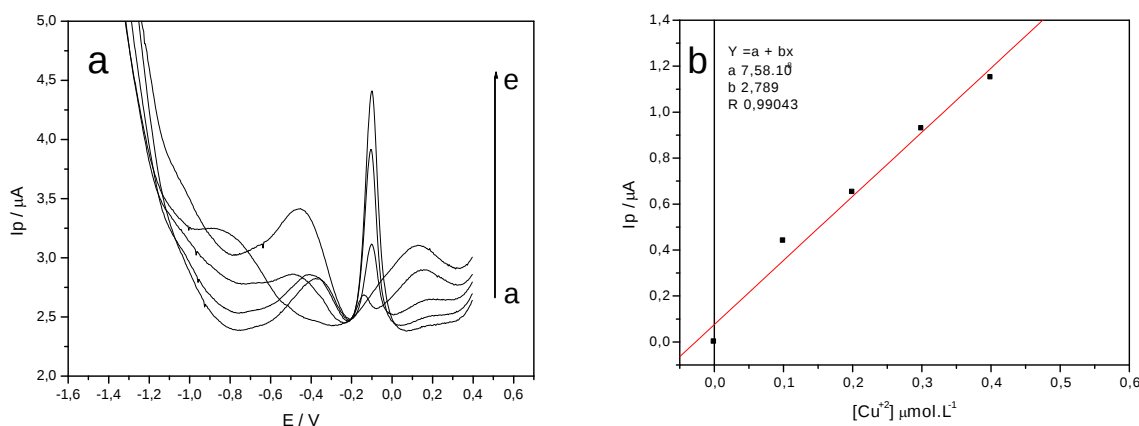


Fonte: Próprio autor.

5.3. Estudo da Composição do Eletrólito Suporte

As Figuras 6, 7, 8 e 9 mostram um estudo complementar sobre as melhores condições analíticas, referentes ao eletrodo e ao eletrólito suporte, quanto a resposta voltamétrica (ASV/SW) para Cu^{2+} usando o eletrólito misto e o BiFE. A Figura 6 compreende a resposta voltamétrica para $[\text{Cu}^{2+}]$ com BiFE. A Figura 7 mostra a mesma resposta voltamétrica para $[\text{Cu}^{2+}]$ nas mesmas condições, sendo que o eletrodo suporte não contém o filme de bismuto. A Figura 8 mostra a mesma resposta voltamétrica para $[\text{Cu}^{2+}]$ nas condições da Figura 7, sendo que o eletrólito suporte não contém o EDTA.

Figura 6: (a) Resposta voltamétrica para a determinação $[\text{Cu}^{2+}]$ em meio aquoso, pela técnica ASV/SW com GPU/SBA-15/BiFE. Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por ácido cítrico $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$, nitrato de potássio $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ e EDTA $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$; pH= 5 (aferido com Hidróxido de Amônio).; $[\text{Cu}^{2+}]$: a) 0,0; b) $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; c) $0,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ d) $0,3 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, e) $0,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; $E_{\text{dep}} = -1,4 \text{ V}$; $t_{\text{pré}} = 90 \text{ s}$ (b): Curva analítica para $[\text{Cu}^{2+}]$.

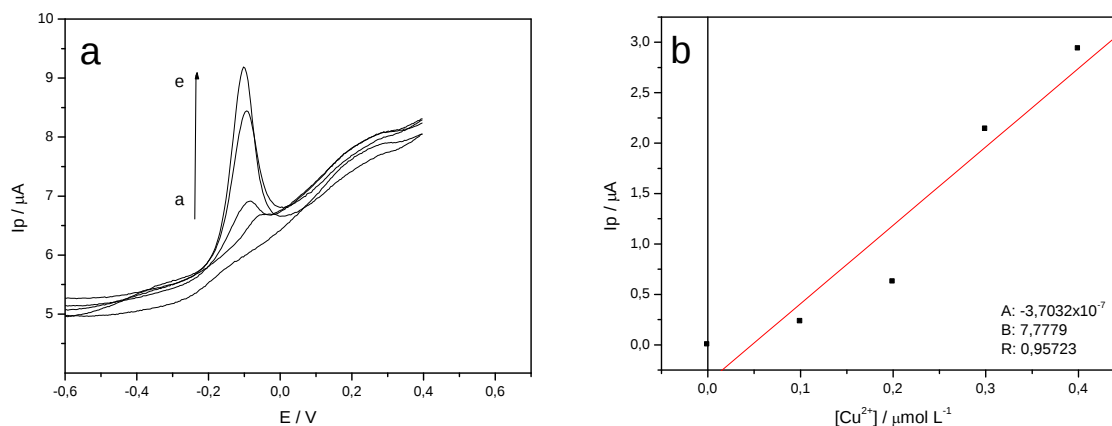


Fonte: Próprio autor.

Apesar do Bi^{3+} não interferir no sinal analítico do Cu^{2+} , observou-se a presença de outros picos para menores concentrações de Cu^{2+} , que vão diminuindo conforme a concentração do analito é aumentada na célula. Com o objetivo de eliminar a presença de outros picos eletroanalíticos, além de estudar a possibilidade do EDTA presente na solução influenciar de forma positiva ou negativa na determinação do analito, realizou-se vários testes eletroanalíticos, com ou sem a presença do filme de bismuto e do EDTA. Primeiro, utilizou-se o eletrodo de trabalho GPU/SBA-15 sem a formação do filme de bismuto, para avaliarmos a possível interferência do EDTA na determinação do Cu^{2+} .

A Figura 7 mostra o estudo sobre o efeito do EDTA na resposta eletroanalítica do Cu^{2+} .

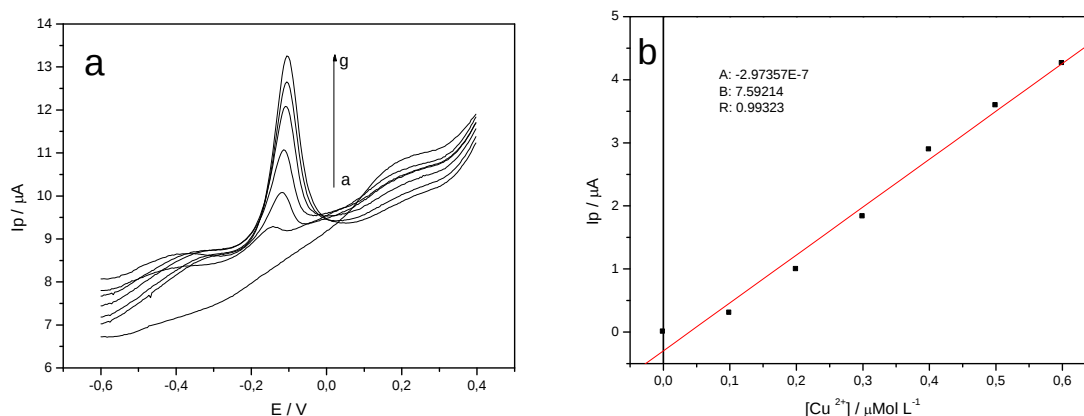
Figura 7: (a) Resposta voltamétrica para a determinação de $[\text{Cu}^{2+}]$ em meio aquoso, pela ASV/SW onde o Eletrodo de Trabalho não contém filme de Bi^{3+} . Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido cítrico, $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ de nitrato de potássio, $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA e pH 5 aferido com hidróxido de amônio; $[\text{Cu}^{2+}]$: a) $0,0$ (eletrólito suporte puro); b) $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; c) $0,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; d) $0,3 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; e) $0,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. $E_{\text{dep}} = -1,4 \text{ V}$; $t_{\text{pré}} = 90 \text{ s}$ (b) Curva analítica para $[\text{Cu}^{2+}]$ com o uso do eletrodo sem formação do Filme de Bi^{3+} .



Fonte: Próprio autor.

Como se pode observar, a retirada do filme de Bismuto não impediu a determinação do Cu^{2+} , mesmo em concentrações relativamente pequenas, além de eliminar os picos anteriormente presentes no voltamograma e apresentar um coeficiente angular relativamente alto, mas o coeficiente de correlação do sistema ($R=0,9572$) demonstra que o perfil analítico do sensor eletroanalítico é prejudicado. Então, realizou-se o mesmo teste, na ausência do EDTA e com formação de filme de Bi^{3+} (figura 8).

Figura 8- (a) Resposta voltamétrica para a determinação $[Cu^{2+}]$ em meio aquoso, pela técnica ASV/SW com BiFE. Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido cítrico, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de nitrato de potássio e pH 5 aferido com hidróxido de amônio; $[Cu^{2+}]$: a) $0,0$ (eletrólito suporte puro); b) $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; c) $0,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; d) $0,3 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; e) $0,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; f) $0,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; g) $0,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. $E_{\text{dep}} = -1,4 \text{ V}$; $t_{\text{pré}} = 90 \text{ s}$ (b) Curva analítica para $[Cu^{2+}]$ com o uso do eletrodo com formação do Filme de Bi^{3+} .



Fonte: Próprio autor.

A Figura 8 demonstra que a resposta analítica do sistema é mais adequada na ausência do EDTA, com eliminação dos picos na linha de base, além de apresentar melhor desempenho analítico, demonstrado pelo coeficiente de correlação da curva analítica ($R=0,993$). Como o EDTA influencia de forma negativa, prejudicando a sensibilidade e o comportamento analítico do sistema, fica evidente que a retirada deste é o mais adequado para o sistema eletroanalítico.

A Tabela 9 mostra um resumo das condições e resultados do estudo apresentado nas Figuras 6-8.

Tabela 9: Efeito do Eletrólito suporte e do BiFE sobre a resposta de Cu^{2+}

Nº	Eletrólito Suporte	Eletrodo	Curva Analítica Faixa de $[Cu^{2+}]$ / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Coeficiente Angular (sensibilidade) ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	Figura	Coeficiente de correlação linear - R^2
1	Ácido cítrico $0,25 \text{ M}$, KNO_3 $0,5 \text{ M}$, EDTA $0,05 \text{ M}$, pH= 5 (c/ NH_3)	GPU/SBA- 15/BiFE	0,1 - 0,4	2,74	6	0,99
2	Ácido cítrico $0,25 \text{ M}$, KNO_3 $0,5 \text{ M}$, EDTA $0,05 \text{ M}$, pH= 5 (c/ NH_3)	GPU/SBA- 15	0,1 - 0,4	7,77	7	0,95
3	Ácido cítrico <u>$0,25 \text{ M}$</u> , <u>KNO_3 $0,5 \text{ M}$</u> , pH= 5(c/ NH_3)	GPU/SBA- 15/BiFE	0,1 - 0,4	7,59	8	0,99

Fonte: Próprio autor.

Pela comparação entre os três experimentos apresentados nas Figuras 6 a 8, e resumidos na Tabela 8 vê-se claramente que os melhores resultados, em termos de sensibilidade, resolução e eliminação da interferência de Bi^{3+} referem-se, portanto, ao uso do eletrodo contendo o filme de bismuto (GPU/SBA-15/BiFE) e na ausência de EDTA (item 3 da Tabela 8 e Figura 8). Este eletrodo foi, então, escolhido para todos os experimentos subsequentes.

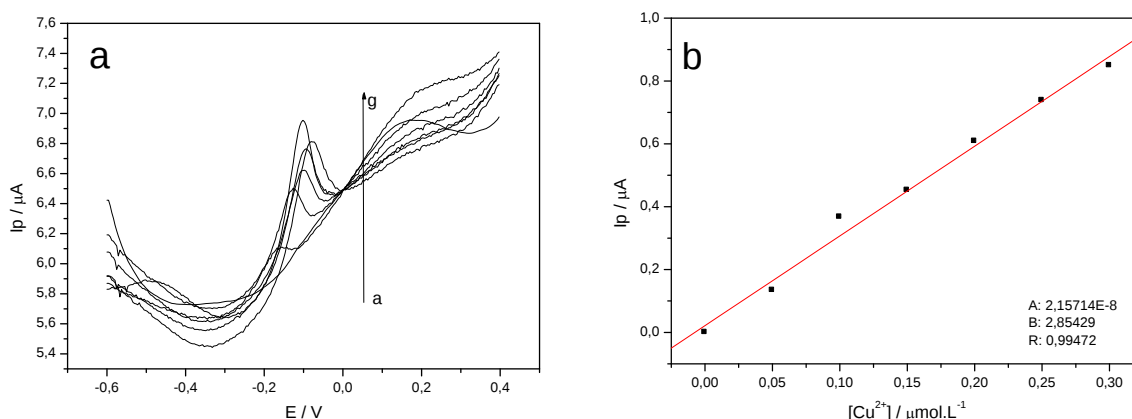
5.4. Testes eletroanalíticos para determinação de Cu^{2+} em meio alcoólico

Após otimização das melhores condições de solução e do eletrodo, para eliminar a interferência $\text{Bi}^{3+}/\text{Cu}^{2+}$, foram realizados os testes eletroanalíticos para verificar o comportamento do eletrodo em meio orgânico, com vistas a sua viabilidade para análise de etanol combustível.

Na Figura 9 (a) é mostrada a resposta do eletrodo GPU/SBA-15/BiFE em meio etanólico, e uso do eletrólito misto sem o EDTA. Observa-se um pico característico do íon Cu^{2+} , que aparece em torno de -150 mV. A Figura 9 (b) mostra a curva analítica referente à Figura 9 (a). Observa-se um deslocamento do pico no sentido anódico, fato que não causou qualquer problema, tendo em vista que a curva analítica obtida (Figura 9 (b)) foi considerada muito boa, em termos de linearidade (0,995) e sensibilidade ($2,85 \mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$) para Cu^{2+} .

Apesar da sensibilidade em meio orgânico ser inferior à sensibilidade em meio aquoso, o experimento confirma a viabilidade de aplicação do sensor em estudo para determinação de Cu^{2+} em etanol, combustível.

Figura 9: (a) Resposta voltamétrica para a determinação $[Cu^{2+}]$ em meio alcoólico, pela técnica ASV/SW com BiFE. Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido cítrico, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de nitrato de potássio e pH 5 aferido com hidróxido de amônio; $[Cu^{2+}]$: a) $0,0$ (eletrólito suporte puro); b) $0,05 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; c) $0,10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; d) $0,15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; e) $0,20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; f) $0,25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; g) $0,30 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. $E_{\text{dep}} = -1,4 \text{ V}$; $t_{\text{pré}} = 90 \text{ s}$ (b) Curva analítica para a determinação do $[Cu^{2+}]$ em meio 20% alcoólico com o uso do eletrodo com formação do Filme de Bi^{3+} .



Fonte: Próprio autor.

5.5. Otimização Multivariada do Sistema Eletroanalítico

O sistema eletroanalítico é influenciado por diferentes parâmetros operacionais, como por exemplo os selecionados para estudo neste trabalho. Com o objetivo de melhorar a sensibilidade e garantir que todo o potencial eletroanalítico do sensor seja explorado, procedeu-se com a otimização multivariada dos parâmetros. Construiu-se uma matriz de planejamento como mostrada Tabela 9, onde se observa as combinações dos níveis das variáveis independentes. Seguindo-se a ordem aleatória dos experimentos obtiveram-se as respostas eletroanalíticas (corrente do pico) para o Cu^{2+} em diferentes combinações de variáveis independentes, como pode ser observado na Tabela 11, na qual o nível 1 representa o módulo do nível máximo e do nível mínimo e o nível 0 representa o ponto central.

Tabela 10: Matriz de planejamento fatorial 2^3 com ponto central.

Ensaio	VARIÁVEIS INDEPENDENTES		
	Td (s)	F (Hertz)	Ed (V)
1	60	60	-1,3
2	60	15	-1,3
3	60	60	-1,5
4	60	15	-1,5
5	120	60	-1,3
6	120	15	-1,3
7	120	60	-1,5
8	120	15	-1,5
9	90	37,5	-1,4

Fonte: Próprio autor.

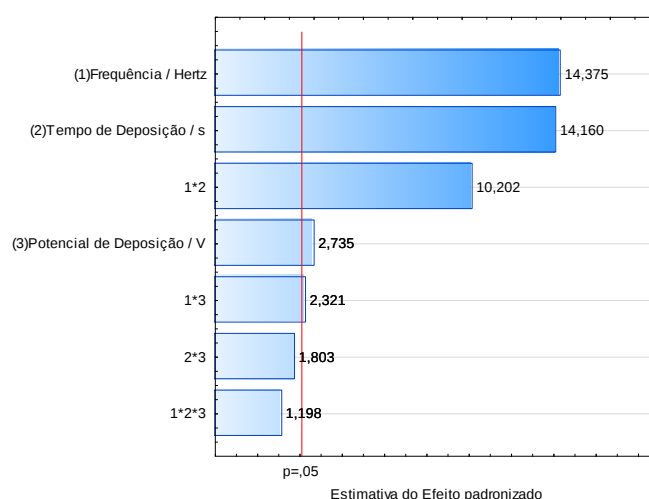
Tabela 11: Matriz de Resposta do planejamento fatorial completo 2^3 com ponto central.

REPLICATA	NÍVEL	VARIÁVEIS INDEPENDENTES			VARIÁVEL DEPENDENTE
		Td (s)	F (Hertz)	Ed (V)	Ip (A)
1	1	15,0	60	-1,5	$5,44 \cdot 10^{-7}$
1	1	15,0	60	-1,3	$4,36 \cdot 10^{-7}$
1	1	15,0	120	-1,5	$1,97 \cdot 10^{-6}$
1	1	15,0	120	-1,3	$2,18 \cdot 10^{-6}$
1	1	60,0	60	-1,5	$1,71 \cdot 10^{-6}$
1	1	60,0	60	-1,3	$2,24 \cdot 10^{-6}$
1	1	60,0	120	-1,5	$9,93 \cdot 10^{-6}$
1	1	60,0	120	-1,3	$1,57 \cdot 10^{-5}$
1	0	37,5	90	-1,4	$2,47 \cdot 10^{-6}$
2	1	15,0	60	-1,5	$5,67 \cdot 10^{-7}$
2	1	15,0	60	-1,3	$4,74 \cdot 10^{-7}$
2	1	15,0	120	-1,5	$1,83 \cdot 10^{-6}$
2	1	15,0	120	-1,3	$2,37 \cdot 10^{-6}$
2	1	60,0	60	-1,5	$1,93 \cdot 10^{-6}$
2	1	60,0	60	-1,3	$2,99 \cdot 10^{-6}$
2	1	60,0	120	-1,5	$1,00 \cdot 10^{-5}$
2	1	60,0	120	-1,3	$1,24 \cdot 10^{-5}$
2	0	37,5	90	-1,4	$2,33 \cdot 10^{-6}$
3	1	15,0	60	-1,5	$5,27 \cdot 10^{-7}$
3	1	15,0	60	-1,3	$5,01 \cdot 10^{-7}$
3	1	15,0	120	-1,5	$1,82 \cdot 10^{-6}$
3	1	15,0	120	-1,3	$2,28 \cdot 10^{-6}$
3	1	60,0	60	-1,5	$1,62 \cdot 10^{-6}$
3	1	60,0	60	-1,3	$2,47 \cdot 10^{-6}$
3	1	60,0	120	-1,5	$1,07 \cdot 10^{-5}$
3	1	60,0	120	-1,3	$1,21 \cdot 10^{-5}$
3	0	37,5	90	-1,4	$2,08 \cdot 10^{-6}$

Fonte: Próprio autor.

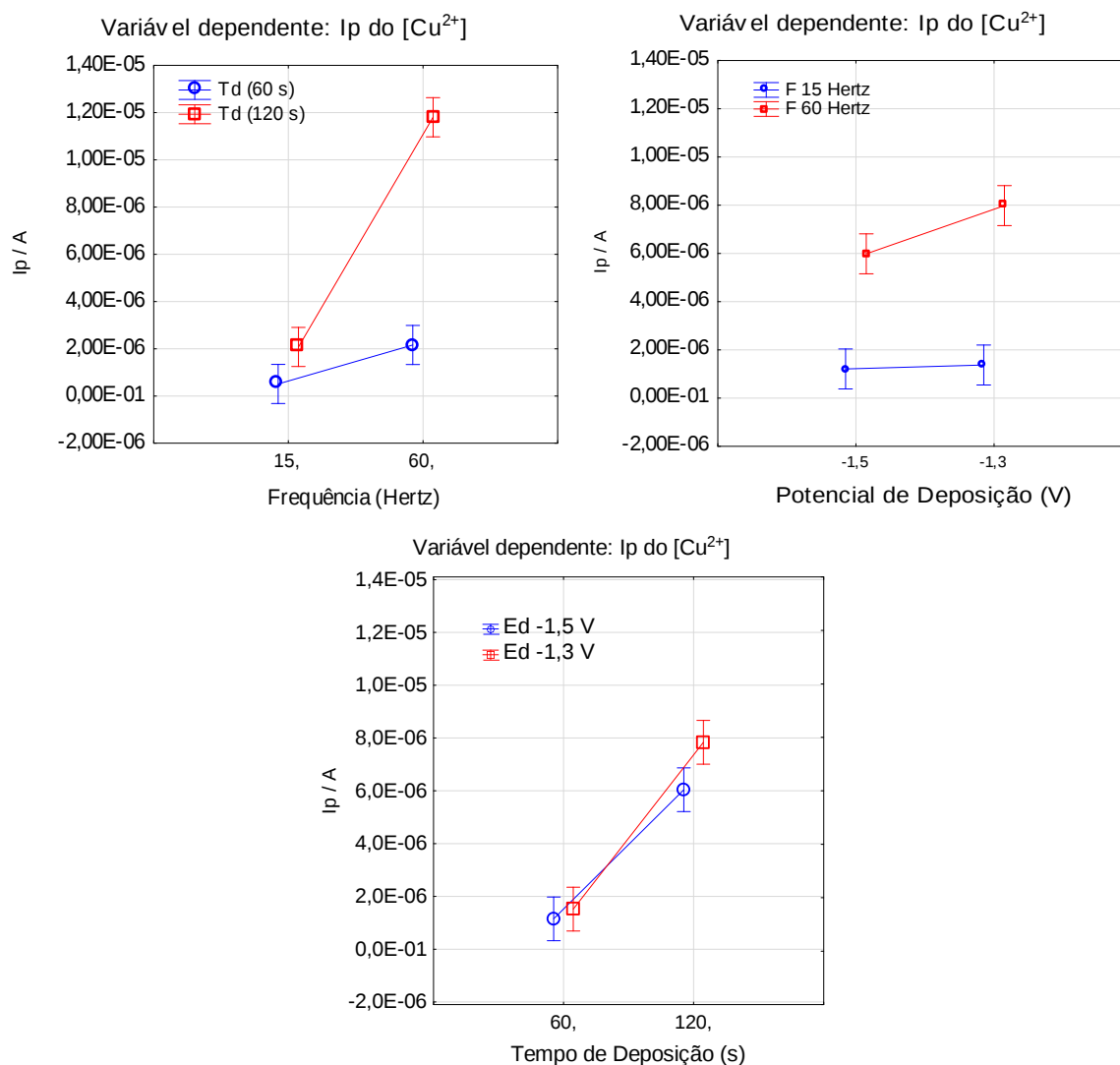
A partir dos resultados da matriz de planejamento (Tabela 9) demonstrados na Matriz de reposta da Tabela 10, construiu-se um gráfico de Pareto onde podemos visualizar o grau de significância dos efeitos dos parâmetros independentes na resposta eletroanalítica (Figura 10).

Figura 10: Gráfico de Pareto de efeito padronizado obtido para o planejamento fatorial completo com ponto central. Os efeitos que ultrapassam a linha de $p=0,05$ são estatisticamente significativos sobre a resposta analítica com 95% de confiança.



Fonte: Próprio autor.

Utilizando a corrente do Cu^{2+} como resposta, observa-se que todos os parâmetros independentes apresentaram efeitos significativos acima do valor de $p=0,05$ o que indica que sua significância possui 95% de confiança, ou seja, os melhores valores de corrente do pico de $[\text{Cu}^{2+}]$ são obtidos no nível maior da faixa de investigação estabelecida no planejamento. Podemos observar também que, dentre os parâmetros dependentes, o potencial de deposição apresentou menor efeito quando comparado aos outros parâmetros.

Figura 11: Gráficos dos efeitos principais

Fonte: Próprio autor.

Na Figura 11 são ilustradas graficamente as variações dos efeitos principais: potencial de deposição, tempo de deposição e frequência em função de seus níveis máximos e mínimos. Os gráficos dos efeitos ajudam a perceber melhor as variáveis que são significativas nas respostas analíticas e também o comportamento na faixa dos níveis estudados. Como podemos perceber com estes gráficos, toda vez que o potencial de deposição é levado em consideração na investigação da magnitude dos efeitos, a diferença de inclinação das retas é muito pequena, o que indica que esse parâmetro possui um efeito de pequena magnitude quando comparado aos outros. Para a observação dos melhores valores encontrados de cada efeito tem-se como indicador a maior corrente do pico Cu^{2+} . Observa-se que as maiores correntes são obtidas para tempo de deposição igual a

120 s e a frequência igual a 60 s (nível maior estabelecido) e também que estas variáveis apresentam um efeito significativo devido a grande inclinação da reta mostrando uma variação acentuada na resposta analítica.

A correlação matemática entre a resposta analítica e as variáveis foi realizada por regressão linear. A significância dos efeitos foi realizada por análise de variância a um nível de significância de 95% ($p=0,05$). A Tabela 12 mostra os coeficientes do modelo linear estimados pelo software, bem como o erro padrão dos coeficientes, o valor total de F, os valores de p e os limites de $\pm 95\%$ dos valores dos coeficientes da regressão.

Tabela 12: Tabela ANOVA obtida a partir dos resultados experimentais para o íon Cu^{2+} .

Fatores	Soma dos Quadrados (SQ)	Graus de liberdade	Média dos quadrados (MQ)	F	p
Modelo	$4,97 \cdot 10^{-10}$	1	$4,97 \cdot 10^{-10}$	528,818	0,378
Resíduo	$1,79 \cdot 10^{-11}$	19	$9,40 \cdot 10^{-13}$		
R^2	0,96532				

Fonte: Próprio autor.

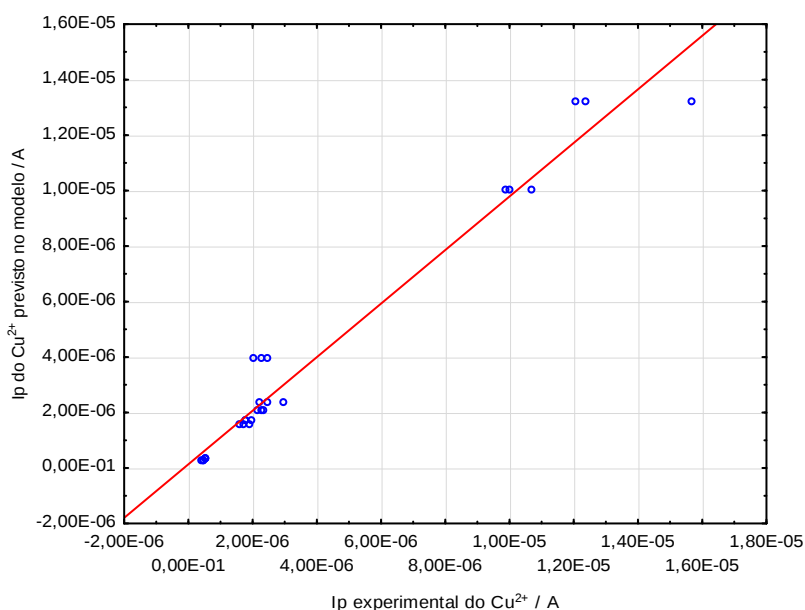
O coeficiente de determinação R^2 é determinado pelo quociente entre a soma quadrática da regressão e a soma quadrática total. Quanto mais perto de 1 estiver o valor de R^2 melhor será o modelo. Conforme podemos ver na tabela 12, o coeficiente de determinação para o Cu^{2+} é de 0,96532. Isso quer dizer que 96,53% da variação total em torno da média é prevista pelo modelo, restando apenas 3,47% para os resíduos (NETO *et al.*, 2010).

Quando a razão entre as médias dos quadrados do modelo e a média dos quadrados do resíduo é muito maior do que o F tabelado, isso significa que há uma relação linear entre as variáveis independentes e as variáveis dependentes (NETO *et al.*, 2010). O quociente entre as médias dos quadrados do modelo e do resíduo foi de 528,8 enquanto o valor tabelado para o F para 95% de confiança pode ser lido no ANEXO C, na intersecção da coluna v1 com a linha v19, onde 1 e 19 são os graus de liberdade do modelo e do resíduo respectivamente. Conforme se pode observar, o F tabelado é 4,38, sendo muito menor do que o F calculado, o que mostra que a equação do modelo é altamente significativa (NETO *et al.*, 2010). Segundo BOX, WETZ, 1973; BOX; DRAPER, 1987 *apud* NETO *et al.*, 2010 uma regra prática que podemos empregar é considerar a regressão como útil para fins de previsão se o

valor do quociente das médias dos quadrados do modelo e do resíduo for, pelo menos, cerca de dez vezes o valor da distribuição F com o número apropriado de graus de liberdade, no nível de confiança escolhido. No planejamento realizado esse valor foi mais de 120 vezes superior ao tabelado, o que indica que o modelo é adequado.

Conforme pode ser observado no gráfico da Figura 12, foram plotados os valores das alturas dos picos da corrente do Cu^{2+} versus os valores das alturas dos picos da corrente do Cu^{2+} previstos pelo modelo, podemos visualizar que se mostra adequada, visto que os valores estão próximos da reta vermelha e os desvios entre eles estão distribuídos normalmente, ou seja, desvios positivos e negativos estão na mesma proporção, não havendo um comportamento tendencioso.

Figura 12: Ajuste linear da distribuição de resíduos para o modelo proposto para determinação de Cu^{2+} .



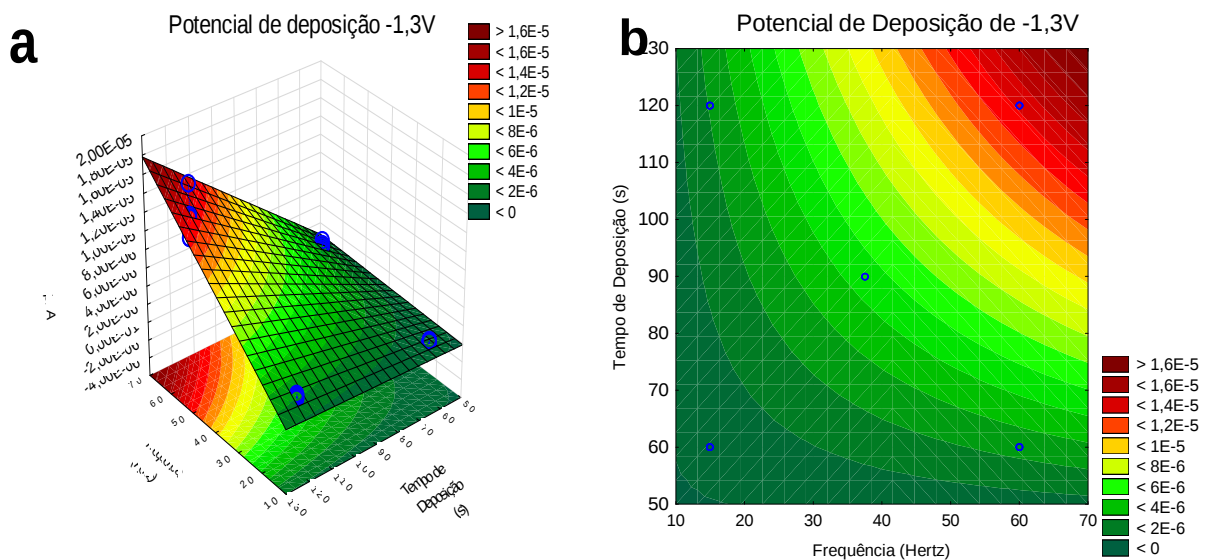
Fonte: Próprio autor.

Utilizando o “software” Statistic 10, um modelo ajustado é construído para a superfície de resposta para a corrente do Cu^{2+} . A superfície do modelo não pode ser obtida diretamente devido à presença de três fatores independentes e mais um fator dependente, desta maneira, fixou-se a variável que possui menor significância na resposta eletroanalítica, um correspondendo ao nível mais alto do planejamento e outro ao nível mais baixo e foram obtidas, portanto, duas superfícies de resposta para cada variável fixada.

O potencial de deposição (E_d) é a variável que apresenta menor significância (Figura 10), portanto quando é fixado o valor do potencial de deposição em seu nível mais alto (-1,3 V) do planejamento o modelo, representado pela Equação 9 que representa a relação do tempo de deposição (T_d), Frequência (Freq.) e corrente de pico (I_p) que caracteriza a superfície de resposta do modelo (Figura 13).

$$I_p [Cu^{2+}] = -6,5 \times 10^{-7} - 2,997 \times 10^{-7} \times \text{Freq} - 3,67 \times 10^{-8} \times T_d + 7,91 \times 10^{-9} \times \text{Freq} \times T_d - 1,12 \times 10^{-7} \times (-1,3) \times \text{Freq} - 1,28 \times 10^{-8} \times (-1,3) \times T_d + 3,51 \times 10^{-9} \times \text{Freq} \times T_d \times (-1,3) + 1,42 \times 10^{-6} \text{ (Equação 9).}$$

Figura 13: (a) Superfície de Resposta para a Determinação do Cu^{2+} com potencial de deposição fixo em -1,3 V; (b) Curva de nível da superfície de resposta com E_d fixo em -1,3 V.

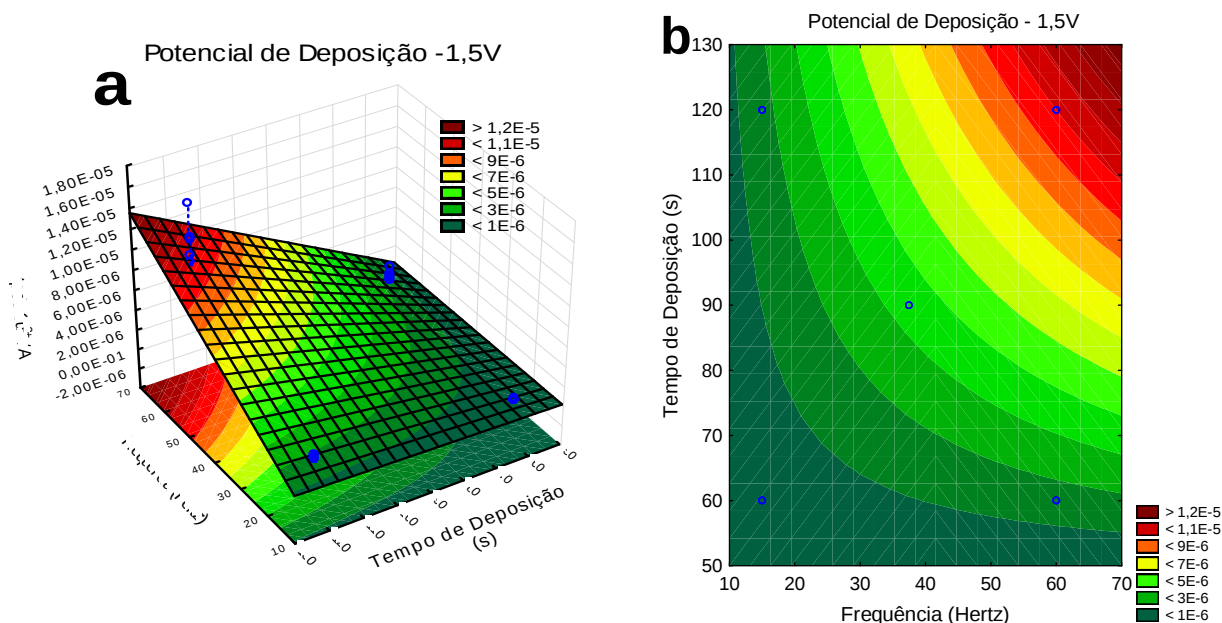


Fonte: Próprio autor.

Quando é fixado o valor do potencial de deposição em seu nível mais baixo do planejamento obtém-se o modelo, conforme representado pela Equação 10, que representa a relação do tempo de deposição (T_d), Frequência (Freq) e corrente do pico (I_p) que descreve a superfície de resposta do modelo (Figura 14).

$$I_p [Cu^{2+}] = -6,50 \times 10^{-7} - 2,997 \times 10^{-7} \times \text{Freq} - 3,67 \times 10^{-8} \times T_d + 7,91 \times 10^{-9} \times \text{Freq} \times T_d - 1,12 \times 10^{-7} \times (-1,5) \times \text{Freq} - 1,28 \times 10^{-8} \times (-1,5) \times T_d + 3,51 \times 10^{-9} \times \text{Freq} \times T_d \times (-1,5) + 1,64 \times 10^{-6} \text{ (Equação 10)}$$

Figura 14: (a) Superfície de Resposta para a Determinação do Cu^{2+} com potencial de deposição fixo em -1,5 V; (b) Curva de nível da superfície de resposta com Ed fixo em -1,5 V.



Fonte: Próprio autor.

Conforme podemos perceber com a comparação das superfícies de respostas, a corrente de pico do sinal eletroanalítico do Cu^{2+} apresenta valores mais altos na região de tempo de deposição em seu maior nível e a frequência estão em seus maiores níveis enquanto o potencial de deposição não apresenta significância acentuada na resposta, pois o modelo apresentado pelas Equações 11 e 12 e as suas respectivas superfícies de respostas não apresentam muita diferença quando o potencial de deposição é mudado do nível maior para o nível menor.

Os resultados da superfície de resposta mostraram que os parâmetros independentes utilizados no planejamento fatorial são potencialmente capazes de aumentar a resposta voltamétrica na determinação eletroanalítica do Cu^{2+} . E os valores fornecidos pela análise de variância (Tabela 11) como o R^2 , a comparação do F tabelado com o F do modelo e o gráfico de ajuste linear que compara os valores previstos com os valores obtidos (Figura 12) evidenciaram que a modelagem é adequada e bem ajustada. Portanto, escolheu-se a região da superfície que apresentou a maior inclinação favorável ao parâmetro dependente, no caso a corrente do Cu^{2+} , obtendo-se os valores ótimos dentro da área de investigação da otimização (Tabela 13).

Tabela 13: Parâmetros otimizados para a determinação de Cu^{2+} por ASV

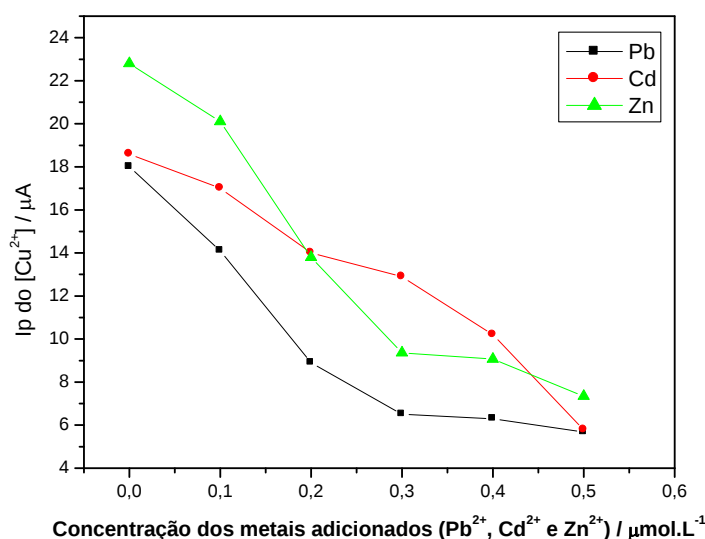
PARÂMETROS	VALORES ÓTIMOS
Potencial de Deposição	- 1,3 V
Frequência	60 Hertz
Tempo de Deposição	120 s

Fonte: Próprio autor.

5.6. Estudo de Interferência

Para a avaliação da possível interferência de outros metais, investigou-se o comportamento do sinal eletroanalítico do Cu^{2+} mediante a presença do Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} no eletrólito suporte contendo a mistura de reagentes composta por 0,25 M de ácido cítrico, 0,5 M de nitrato de potássio e pH 5 aferido com hidróxido de amônio. O estudo foi feito através da medida da corrente de pico inicial do analito em relação às correntes obtidas após as adições dos íons interferentes (adição de sucessivas alíquotas de 10 μL de cada íon metálico na concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A concentração final de cada interferente na célula eletroquímica era de $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Esse estudo foi realizado separadamente para cada íon metálico. Os resultados desse estudo são apresentados na Figura 15.

Figura 15: Condições Instrumentais dos voltamogramas obtidos: Técnica: ASV/SW: Faixa de Varredura: -0,9 V a 0,4 V; $E_{\text{dep}} = -1.4 \text{ V}$; $t_{\text{dep}} = 120 \text{ s}$; $v: 0.243 \text{ V.s}^{-1}$, com BiFE. Adições de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} respectivamente.



Fonte: Próprio autor.

Conforme a Figura 15, podemos observar que à medida que a concentração dos interferentes aumenta há uma diminuição significativa da corrente do analito, devido a interferência do Pb^{2+} de até 68,44%, do Zn^{2+} de até 66,64% e de Cd de até 68,87%, isto corresponde, em termos de concentração dos interferentes, valores de concentração, de 1,6 vezes maior do que a concentração do analito Cu^{2+} . Vale ressaltar que em concentrações de $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ até $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, o Pb^{2+} e o Zn^{2+} a variação da interferência não é tão significativa quanto em concentrações iniciais, conforme podemos observar na inclinação que não é tão íngreme quanto no início, o que não acontece com o Cd^{2+} que segue interferindo com mais significância do que os outros metais. A Tabela 14 mostra uma visão geral do estudo de interferência realizado.

Tabela 14: Influência de alguns metais nas correntes de pico de $3,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ do Cu^{2+} em meio aquoso nas condições otimizadas.

*I_{p0} (μA) de Cu^{2+}	Interferentes	Concentração na célula ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	**I_p (μA) de Cu^{2+}	*** ΔI_p (%) de Cu^{2+}
18	Pb^{2+}	0,10	14,10	-21,67
		0,20	8,90	-50,56
		0,30	6,50	-52,27
		0,40	6,30	-65,00
		0,50	5,68	-68,44
18,6	Cd^{2+}	0,10	17,00	-8,60
		0,20	14,00	-24,73
		0,30	12,90	-30,65
		0,40	10,20	-45,16
		0,50	5,79	-68,87
22	Zn^{2+}	0,10	20,10	-8,64
		0,20	13,80	-37,27
		0,30	9,36	-57,45
		0,40	9,07	-58,77
		0,50	7,34	-66,64

*Corrente de pico inicial do Cu^{2+} sem adição dos íons metálicos; **Corrente de pico do Cu^{2+} após a adição dos íons metálicos; ***Diferença percentual entre a corrente inicial do Cu^{2+} e após a adição dos íons metálicos.

Fonte: Próprio autor.

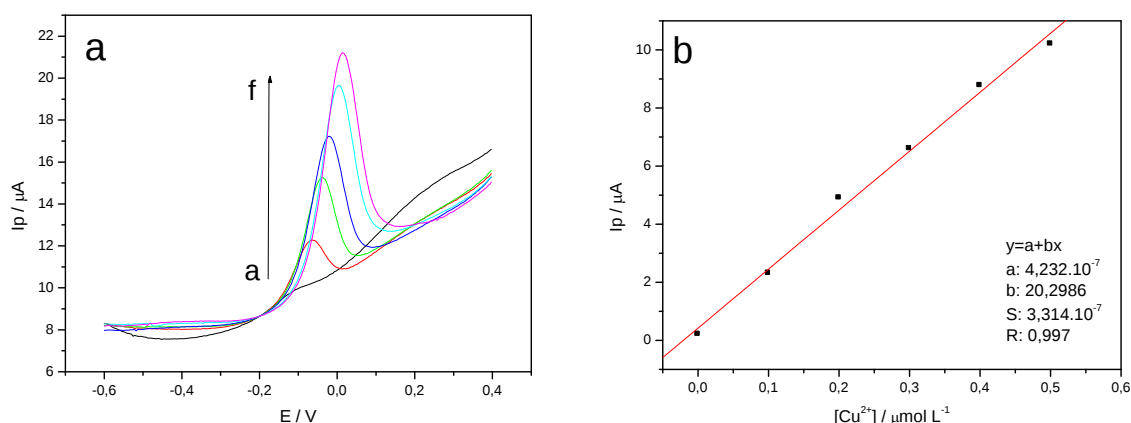
De acordo com a Tabela 14 o método pode sofrer interferências de alguns íons metálicos, onde o íon Cd^{2+} apresentou maior grau de interferência.

5.7. Aplicação Analítica

5.7.1. Aplicação do procedimento proposto na determinação de Cu^{2+} em amostras de etanol combustível com os parâmetros otimizados

Após a formação do BiFE, o procedimento otimizado para a determinação de Cu^{2+} foi aplicado em amostra de etanol combustível, utilizando como eletrólito suporte a mistura de reagentes composta por $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido cítrico, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de nitrato de potássio e o pH 5 aferido gota a gota com hidróxido de amônio. Como mostrado na figura 16, as respostas voltamétricas, mostram um excelente desempenho analítico. Observa-se um pico em um potencial próximo de $-0,02 \text{ V}$, que corresponde ao íon Cu^{2+} . À medida que se adicionava alíquotas dos metais, o pico crescia linearmente, obtendo-se, assim, a curva analítica (Figura 16) correspondente.

Figura 16: (a) Resposta voltamétrica para a determinação $[\text{Cu}^{2+}]$ em meios contendo 20% de etanol combustível, pela técnica ASV/SW com BiFE. Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido cítrico, $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ de nitrato de potássio e pH 5 aferido com Hidróxido de Amônio de pureza analítica; $[\text{Cu}^{2+}]$: a) Eletrólito suporte contendo 20% de etanol combustível; b) $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$; c) $0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$; d) $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$; e) $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$; f) $0,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$; g) $0,6 \mu\text{mol.L}^{-1}$. $E_{\text{dep}} = -1.3 \text{ V}$; $t_{\text{pré}} = 120\text{s}$ (b) Curva analítica para $[\text{Cu}^{2+}]$ com o uso do BiFE.



Fonte: Próprio autor.

O procedimento mostrou-se viável e adequado no ponto de vista analítico. Conforme podemos observar na Tabela 15, o sistema desenvolvido pode ser aplicado em amostras de etanol combustível 20% sem pré-tratamento, além de apresentar baixos valores para os limites de detecção e limites de quantificação.

Tabela 15: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de Cu^{2+} em amostras de Etanol combustível por ASV/SW.

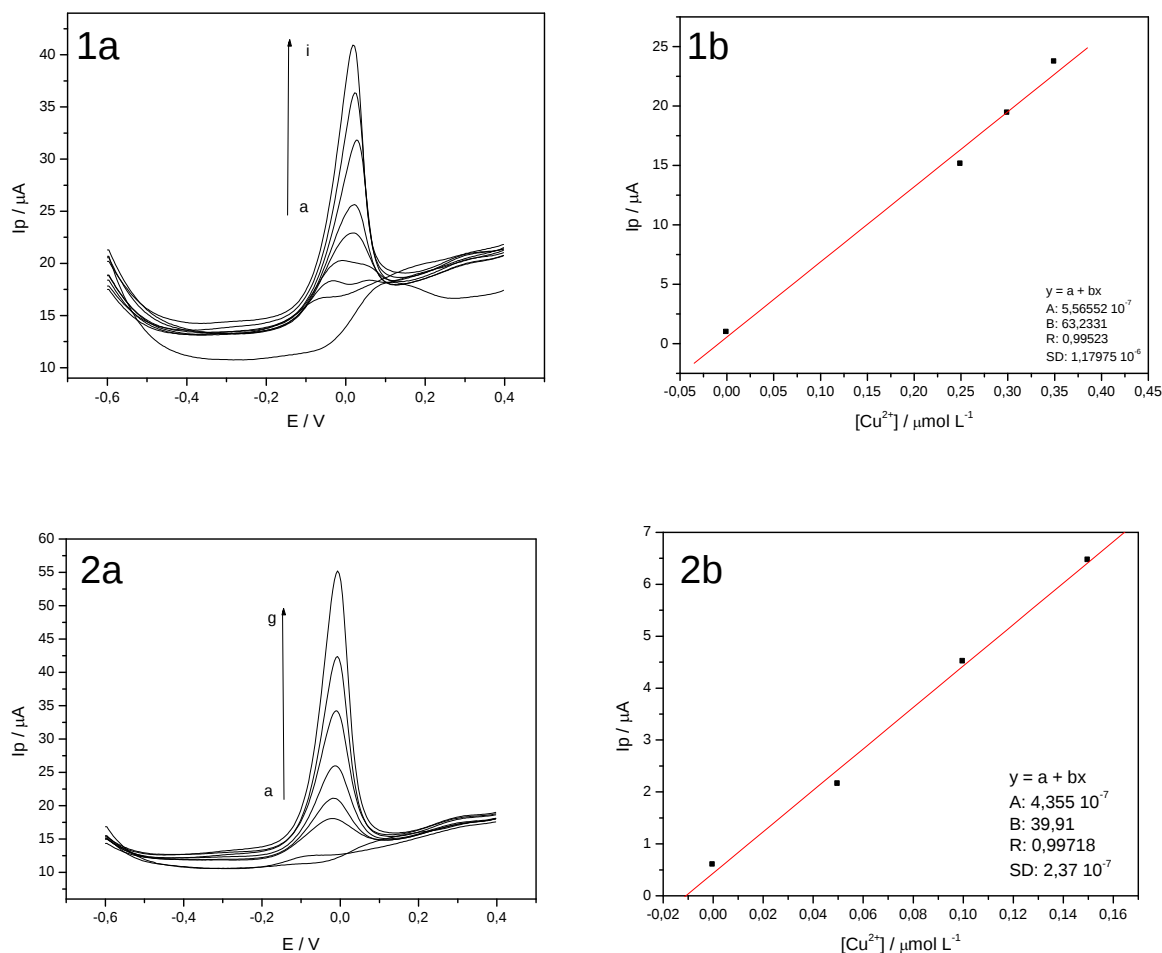
PARÂMETROS	ETANOL COMBUSTÍVEL [Cu^{2+}] (Mol L^{-1})
X, média	$1,90 \times 10^{-7}$
CV (%)	10,47
(LD)	$4,90 \times 10^{-8}$
(LQ)	$1,63 \times 10^{-7}$
Coeficiente de correlação	0,997
μ (95%)	$1,90 \times 10^{-7} \pm 4,90 \times 10^{-8}$
(SD)	$1,99 \times 10^{-8}$
Sensibilidade ($\mu\text{A/mol L}^{-1}$)	20,298
Recuperação	85,6%

Fonte: Próprio autor.

5.7.2. Aplicação do procedimento Proposto na determinação de Cu^{2+} em amostras reais de biodiesel, após digestão ácida com parâmetros otimizados

A Figura 17 apresenta os voltamogramas referentes à determinação de Cu^{2+} em amostra digerida de biodiesel de soja e sebo utilizando como eletrólito suporte misto (ácido cítrico $0,25 \text{ mol L}^{-1}$, nitrato de potássio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 5, aferido gota a gota com hidróxido de amônio) pela técnica ASV no modo SW. Os voltamogramas foram obtidos pela adição sucessiva de alíquotas de solução padrão de Cu^{2+} , no nível de concentração de $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Conforme mostra (Figura 17) a resposta voltamétrica apresentou picos com boa resolução, próximos de 0 V, característicos do íon Cu^{2+} , os quais apresentaram boa sensibilidade.

Figura 17: (1a e 2a) Resposta voltamétrica para a determinação $[Cu^{2+}]$ em meio contendo 50% de biodiesel digerido, pela técnica ASV/SW com BiFE. Condições experimentais: Eletrólito suporte: Mistura de reagentes composta por $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido cítrico, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de nitrato de potássio e pH 5 aferido com Hidróxido de Amônio de pureza analítica; $[Cu^{2+}]$: (a) Eletrólito suporte contendo 50% de biodiesel digerido; (b) $0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$; (c) $0,10 \mu\text{mol L}^{-1}$ (d) $0,15 \mu\text{mol L}^{-1}$, (e) $0,20 \mu\text{mol L}^{-1}$; (f) $0,25 \mu\text{mol L}^{-1}$; (g) $0,30 \mu\text{mol L}^{-1}$; (h) $0,35 \mu\text{mol L}^{-1}$; (i) $0,40 \mu\text{mol L}^{-1}$. $E_{\text{dep}} = -1,3 \text{ V}$; $t_{\text{pré}} = 120 \text{ s}$ (1b e 2b) Curva analítica para $[Cu^{2+}]$ com o uso do BiFE.



Fonte: Próprio autor.

As curvas analíticas obtidas pelo método de adição padrão na Figura 17 (1b e 2b) mostra uma boa relação linear entre a concentração de Cu^{2+} e a corrente de pico. Essa relação é representada pela regressão linear obtendo-se um coeficiente de correlação de 0,99 para as duas curvas o que comprova a boa resposta eletroanalítica do método.

O procedimento mostrou-se viável e adequado no ponto de vista analítico. Conforme podemos observar na Tabela 16, o sistema desenvolvido pode ser aplicado em amostras de biodiesel digerido 50%, além de apresentar baixos valores para os limites de detecção e limites de quantificação.

Tabela 16: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de Cu^{2+} em amostra de biodiesel de soja e de sebo pela SWV.

Parâmetros	Biodiesel de soja [Cu^{2+}] (mol L^{-1}) *	Biodiesel de sebo [Cu^{2+}] (mol L^{-1})*
X, média	$7,72 \times 10^{-7}$	$5,07 \times 10^{-7}$
SD	$9,54 \times 10^{-8}$	$9,07 \times 10^{-8}$
CV (%)	12,35	17,89
(LD)	$5,60 \times 10^{-8}$	$1,79 \times 10^{-8}$
(LQ)	$1,87 \times 10^{-7}$	$5,95 \times 10^{-8}$
Coefficiente de correlação	0,995	0,997
μ (95%)	$7,72 \times 10^{-7} \pm 4,4 \times 10^{-7}$	$5,07 \times 10^{-7} \pm 2,25 \times 10^{-7}$
Sensibilidade ($\mu\text{A/mol L}^{-1}$)	63,23	39,91
Recuperação (%)	97,05	96,80

*Não foi possível detectar Cu^{2+} na amostra de biodiesel, portanto contaminou-se a amostra com $5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para mostrar a viabilidade da aplicação.

Fonte: Próprio autor.

A precisão foi estimada com o coeficiente de variância (CV%), e os valores encontrados (12,35 % e 17,89 %) para as amostras de biodiesel indicam uma boa precisão. O limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), são definidos como $3s_D / b$ e $10s_D / b$, respectivamente, calculados considerando-se o desvio padrão e o coeficiente angular da curva analítica. Os valores encontrados de LDs ($5,60 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,79 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$), e de LQs ($1,87 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,95 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) mostram, respectivamente, boa sensibilidade da técnica para estas amostras. Conforme podemos observar, o percentual de recuperação para as amostras de biodiesel foram de 97,05% e 96,80 %, o que indica que o método proposto apresenta boa exatidão.

6. CONCLUSÃO

- O sensor GPU/SBA-15/BiFE mostrou-se bastante adequado para a detecção de Cu^{2+} em meio etanólico;
- A interferência de Bi^{3+} na determinação voltamétrica de Cu^{2+} com BiFE é considerado um problema clássico da literatura. O estudo do melhor eletrólito tampão mostrou que, com o uso de um eletrólito suporte à base de ácido cítrico $0,25 \text{ mol L}^{-1}$, EDTA $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e nitrato de potássio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 5, aferido com hidróxido de amônio é possível eliminar a interferência de Bi^{3+} na determinação de Cu^{2+} por ASV/SW;
- O eletrodo GPU/SBA-15/BiFE mostrou maior sensibilidade para Cu^{2+} quando se retira o EDTA do eletrólito misto (item acima);
- Após otimização multivariada dos parâmetros instrumentais, o sensor eletroquímico (GPU/SBA-15/BiFE) foi testado de maneira satisfatória, em termos de resposta eletroanalítica, para a determinação de Cu^{2+} em etanol combustível (sem pré-tratamento) e em biodiesel (após digestão ácida das amostras);
- A validação estatística do procedimento apresentou baixos limites de detecção ($4,9 \times 10^{-8}$; $5,60 \times 10^{-8}$; $1,79 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) para uma amostra de etanol combustível, uma de biodiesel de soja e outra de biosiesel de sebo respectivamente, boa sensibilidade (20,29; 63,23; 39,91, respectivamente), boa linearidade (0,997 e 0,995 e 0,997, respectivamente) e boa exatidão (recuperações de 85,6%, 97,05% e 96,80%, respectivamente).

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Competências da ANP**. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>; atualizado dia 21/05/2012; [S.N]. Acesso em 19 de fevereiro de 2013.

ALEIXO, Luiz Manoel. **Voltametria: Conceitos e Técnicas**. Chemkeys. Universidade estadual de Campinas, Instituto de Química, CP 6154, 13084 – 862, Campinas, São Paulo- Brasil, 2003.

BALDO, M.A.; DANIELE, S. **Anodic Stripping Voltammetry at Bismuth-Coated and Uncoated Carbon Microdisk Electrodes: Application to Trace Metals Analysis in Food Samples**. *Analytical Letters*, Vol. 37, p. 995, 2005.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R.; **Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications**; John Wiley & Sons; New York, 2001.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E.; **25 anos de Quimiometria no Brasil**. *Quim. Nova*, Vol. 29, p. 1401, 2006.

BARROS, C. B. **Validação de Métodos Analíticos**. *Biológico*, São Paulo, Vol. 64, n.2, p.175-177, 2002.

BERGAMINI, M.F. ; VITAL, S. ; SANTOS, A. L. ; STRADIOTTO, N. R. . **Determinação de chumbo em álcool combustível por voltametria de redissolução anódica utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado com resina de troca iônica Amberlite IR 120**. *Eclética Química*. Vol. 31, p. 45-52, 2006.

BEZERRA, M. A. *et al.* **Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry**. *Talanta*, Vol. 76, p. 965, 2008.

BORSATO, D. ; MOREIRA, I; PINTO, J.P.; MOREIRA, M.B.; NOBREGA, M.M.; CONSTANTINO, L.V. **Análise Físico-Química de diesel interior em mistura com biodiesel**. *Acta Scientiarum Technology*, Vol. 32, n.2, p.187-192, 2010.

BRUNING , I. M. R. A.; MALM; E. B., Boletim Técnico Petrobrás. Vol. 25, p. 217, 1982.

CAMPESTRINI, I. **Preparação e aplicação de um eletrodo de filme de bismuto para determinação eletroanalítica de Sn(IV) e sulfadiazina**. Dissertação (Mestrado em Química Analítica)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

CARDOSO, C. E. ;PACHECO, Wagner Felipe ; SARUBI, Rangel ; RIBEIRO, Márcio L. N. ; FARIAS, Pércio Augusto Mardini ; AUCÉLIO, R. Q. **Voltammetric Determination of Copper and Lead in Gasoline Using Sample Preparation as Microemulsions**. *Analytical Sciences*, Vol. 23, p. 1065-1069, 2007.

CARVALHO, L.M.; NASCIMENTO, P.C.; KOSCHINSKY,A.; BAU, M.; STEFANELLO, R.F.; SPENGLER, C.; BOHRER D.; JOST C., **Simultaneous Determination of Cadmium, Lead, Copper, and Thallium in Highly Saline Samples by Anodic Stripping Voltammetry (ASV)Using Mercury-Film and Bismuth-Film**. *Electrodes Electroanalysis*. Vol. 19, p.1719, 2007.

CAZAR, R. A.; J. **An Exercise on Chemometrics for a Quantitative Analysis Course**. *J. Chem. Educ.* Vol. 80, p. 1026, 2003.

CHAVES, E. S. ; LEPRI, F. G., SILVA, J. S. A., QUADROS, D. P. C.; SAINT'PIERRE, T. D. ; CURTIUSA A. J. **Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS**. *Journal of Environmental Monitoring*, Vol. 10, p. 1211–1216, 2008.

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

CHAVES, E. S.; SAINT'PIERRE, T. D. ; SANTOS, E. J. ; TORMEN, L. ; BASCUÑAN, V. L. A. F; CURTIUS, A. J. **Determination of Na and K in Biodiesel by Flame Atomic Emission Spectrometry and Microemulsion Sample Preparation.** *Journal Braziliense Chemical Society*, Vol. 19, n. 5, p. 856-861, 2008.

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 and ICP-MS.** *Microchemical Journal*, Vol. 96, p. 71–76, 2010.

COUTINHO, P.; BOMTEMPO, J. V. **Roadmap tecnológico em matérias-primas renováveis: uma base para a construção de políticas e estratégias no Brasil.** *Química Nova*, Vol. 34, No. 5, p. 910-916, 2011.

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

DIAS, J. C.; KUBOTA, L. T. ; NESTERENKO, P. N. ; DICINOSKI, G. W.; HADDAD, P. R. **New high-performance chelation ion chromatographic system for the direct determination of trace transition metals in fuel ethanol.** *Analytical Methods*, Vol. 2, p. 1565–1570, 2010.

EBB. Statistics - EU biodiesel industry. **European Biodiesel Board**. Disponível em:< [http:// www.ebb-eu.org/stats.php](http://www.ebb-eu.org/stats.php) ; 2008. Acesso em 13 de fevereiro de 2013.

ECONOMOU, A. **Bismuth-film electrodes: recent developments and potentialities for electroanalysis.** *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 24, n. 4, p. 334-340, 2005.

FILHO, L. C. S. F.; JANEGITZ B. C.; FARIA, R. C.; FILHO, O. F.; JUNIOR, L. H. M. JUNIOR; CAETANO, F. R.; MATTOS, I. L. **Construção e aplicação de um minissensor de filme de bismuto utilizando materiais de baixo custo para determinações voltamétricas in loco.** Química Nova, Vol. 35, n. 5, p.1016-1019, 2012.

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. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal do Maranhão, 2010.

FRENA, M.; CAMPESTRINI, I.; BRAGA, O. C. ; SPINELLI, A. **In situ bismuth-film electrode for square-wave anodic stripping voltammetric determination of tin in biodiesel.** Electrochimica Acta, Vol.56, p. 4678–4684, 2011.

FURTADO, J. L. B. **Otimização de procedimentos eletroanalíticos para a determinação de espécies tóxicas em amostra e tiquira.** Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2004.

GEORGINA, M. S. A.; JFFLLIA M, C. S. M.; HELENA, M. V. M. S. **Simultaneous Determination of Copper(II), Lead(II) and Zinc(II) at Bismuth Film Electrode by Multivariate Calibration.** *Electroanalysis*, Vol. 23, n. 6, 1410 – 1417, 2011.

GUIMARÃES, M. B. **Determinação de Cádmio e Chumbo em Biodiesel por Voltametria de Pulso Diferencial e de Redissolução Anódica usando Eletrodo de Filme de Bismuto em Meio Etanólico.** Dissertação (Mestrado em Química Analítica)- Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.

HARRIS, Daniel C. **Análise química quantitativa.** 5ª Ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos, 2001.

HOUGHTON, T. P.; KALIVAS, J. H. **Implementation of Traditional and Real-World Cooperative Learning Techniques in Quantitative Analysis Including Near Infrared Spectroscopy for Analysis of Live Fish.** *J. Chem. Educ.*, Vol. 77, p. 1314, 2000.

HUTTON, E.A.; OGOREVC, B.; HOCEVAR, S.B.; WELDON, F.; SMYTH, M.R, WANG, J. **An introduction to bismuth film electrode for use in cathodic electrochemical detection.** *Electrochemistry Communications*. Vol.3, p. 707-711, 2001.

ALMEIDA, J. de M.S. **Estudo de Abordagens e Desenvolvimento de Método Voltamétrico para a Determinação de cálcio em Biodiesel baseado na reação com o Ácido Etilenodiaminotetracético.** Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2013.

KAMARUDIN, M. Z. F. ; KAMARUDIN, S. K. ; MASDAR, M. S. ; DAUD, W.R.W. **Review: Direct ethanol fuel cells.** *Journal of Hydrogen Energy* XXX, p. 1-16, 2012.

KARIM , K. J. A.; JIN , JI-YE, TAKEUCHI , T. **Simultaneous separation of inorganic anions and cations by using anion-exchange and cation-exchange columns connected in tandem in ion chromatography.** *Journal of Chromatography A*, Vol. 995, p. 153–160, 2003.

KNOTHE, G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel.** São Paulo: Edgar Blücher, 2006.

KREFT, G.L.; BRAGA, O.C.; SPINELLI, A. **Analytical electrochemistry of vitamin B12 on a bismuth-film electrode surface.** *Electrochimica Acta*, Vol. 83, p. 125–132, 2012.

LEITE, F. **Validação em análise química.** Campinas: Átomo, 1996.

LIANG, Y.C.; MAY, C.; FOON, C.S; NGAN, M. A.; HOCK, C. C.; BASIRON, Y. **The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm diesel.** *Fuel*, Vol. 85, n.5, p. 867-879, 2006.

LIMA, J. R. O. ; SILVA, R. B.; SILVA, C. C. M.; SANTOS, L. S. S.; JÚNIOR, J. R. S. S.; MOURA, E. M.; MOURA, C. V. R. **Biodiesel de babaçu (*orbignya sp.*) obtido por via etanólica.** *Química Nova*, Vol. 30, N. 3, p. 600-603, 2007.

LIMA, K. M. G.; TREVISAN, M. G.; POPPI, R. J.; DE ANDRADE J. C. **Determinação não destrutiva do nitrogênio total em plantas por espectroscopia de reflectância difusa no infravermelho próximo.** *Química Nova*, Vol. 31, p.700, 2008.

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

LYRA, F. H. ; CARNEIRO, M. T. W. D. ; BRANDÃO, G. P. , PESSOA, H. M.; CASTRO, E. V. R. **Direct determination of phosphorus in biodiesel samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry using a solid sampling accessory.** *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, Vol. 24, p. 1262–1266, 2009.

MACHADO, S. A. S; SOUZA, D. ; AVACA, L. A. **voltametria de onda quadrada: primeira parte: aspectos teóricos.** *Química Nova*, Vol. 26, N. 1, p. 81-89, 2003.

MARTINIANO, L. C. ; GONÇALVES, V.R.A. ; NETO, S.Y ; MAQUES, E. P.; FONSECA, T. C. O.; PAIM,L. ; GOUVEIA, A. S.; STRADIOTTO, N. R. ; AUCELIO, R.Q.;CAVALCANTE, G. H. R. ; MARQUES, A. L. B. **Direct simultaneous determination of Pb(II) and Cu(II) in biodiesel by anodic stripping voltammetry at a mercury-film electrode using microemulsions.** *Fuel* p. 1164-1167, 2013.

MASSART, D. L. *et al.*, **Chemometrics: a textbook**, Elsevier, NY, 3^a ed., Vol.2. 1990.

MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. **Análise química quantitativa**. VOGEL. 6ª Ed., Londres: LTC, 2000.

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

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Desenvolvimento Sustentável**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel>; [S.D], [S.N]. Acesso em 12 de fevereiro de 2013.

MITTELBAACH, M. **Diesel Fuel derived from vegetable oils, VI: Specifications and Quality Control of Biodiesel**. *Bioresource Technology*, Vol.56, n. 7, 1996.

MONYEM, A.; VAN GERPEN, J.H. **The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions**. *Biomass and Bioenergy*, Vol. 20, n.4, p.317-325, 2001.

MUDGE, S. M.; PEREIRA, G. **Stimulating the biodegradation of crude oil with biodiesel preliminary results**. *Spill Science and Technology Bulletin, Falls Church-USA*, Vol. 5, n.5-6, p. 353-355, 1999.

MUNOZ, R. A.A.; ANGNES, L. **Simultaneous determination of copper and lead in ethanol fuel by anodic stripping voltammetry**. *Microchemical Journal*. Vol. 77, p. 157– 162, 2004.

NETO,B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E, **Como fazer experimentos**; 4ª Ed., Bookman, São Paulo, 2010.

NETO,B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E., **Planejamento e Otimização de Experimentos**; Editora da Unicamp: Campinas, 1995.

NOBRE, E. M. C. **Procedimento voltamétrico otimizado para determinação de N^{2+} em amostras pré-tratadas de biodiesel, usando eletrodo modificado com**

filme de Mercúrio. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.

OLES, P. J.; **Fractional Factorial Experimental Design as a Teaching Tool for Quantitative Analysis.** J. Chem. Educ., Vol. 75, p. 357, 1998.

OLIVEIRA, M. F.; SACZK, A. A. ; OKUMURA, L. L. ; FERNANDES, A. P. ; MORAES, M. ; STRADIOTTO, N. R. **Simultaneous determination of zinc, copper, lead and cadmium in fuel ethanol by anodic stripping voltammetry using a glass carbon-mercury-film electrode.** *Anal. Bioanal. Chem.*, Vol. 22, p. 71-79, 2004.

OLIVEIRA, M.F.; SACZK, A.A.; OKUMURA, L.L.; STRADIOTTO, N.R. **Determinação de zinco em álcool combustível por voltametria de redissolução anódica.** *Eclética Química*, Vol.27, 2002.

OLIVERO, R. A.; NOCERINO, J.M.; DEMING, S.N. **Chemometrics in enviromental chemistry.** *Bayreuth(Germany): Springer*, , Vol. 2 part. G, editado por J.Elnax,1995.

PACHECO, W.F.; MIGUEL, E.M.; RAMOS, G.V.; CARDOSO, C.E.; FARIAS, P.A.M, AUCÉLIO, R.Q.**Use of hydrogen peroxide to achieve interference-free stripping voltammetric determination of copper at the bismuth-film electrode.** *Analytica Chimica Acta*, Vol. 6 2 5, p. 22–27, 2008.

PADILHA, P.M.; PADILHA, C.C.F.; ROCHA, J.C. **Flame AAS determination of metal ions in fuel ethanol after preconcentration on acid carboxymethylcellulose (CMCH).** *Quim. Anal*, Vol..18, p.299-303, 1999.

PEREIRA, R. C. C.; PASA, V. M. D. **Effect of Alcohol and Copper Content on the Stability of Automotive Gasoline.** *Energy & Fuels*, Vol.19, p. 426-432, 2005.

PEREIRA, R.G.; OLIVEIRA, C.D., OLIVEIRA, J.L. OLIVEIRA, P.S.P., FELLOWS, C. E., PIAMBA, O.E; **Exhaust emissions and electric energy generation in a stationary engine using blends of diesel and soybean biodiesel.** *Renewable Energy*. Vol. 32 , p. 2453–2460, 2007.

PIERINI,G.D.; GRANERO,A.M.; NEZIO, M.S.; CENTURIÓN, M.E.; ZON, M.A.; FERNÁNDEZ, H. **Development of an electroanalytical method for the determination of lead in Argentina raw propolis based on bismuth electrodes.** *Microchemical Journal*. Vol. 106, p. 102–106, 2013.

POPPI, R.J.; SOUZA, A.M.; **Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: Um tutorial, parte I.** *Química Nova*, Vol. 35, n.1, p. 223-229, 2012.

PRIOR,C.; LENEHAN, C.E.; WALKER, G.S.; **Utilising gallium for enhanced electrochemical copper analysis at the bismuth film electrode.** *Analytica Chimica Acta*. Vol. 598, p. 65–73, 2007.

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*, Vol. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RODRIGUES, M. I., IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia seqüencial de planejamentos.** *Casa do Pão Editora*. Campinas, SP. 2005.

ROSILLO-CALLE, F.; BAJAY, S. V.; ROTHMAN, H. **Uso da biomassa para produção de energia na indústria brasileira,** *Editora da Unicamp*, Campinas, 2005.

RUSAK, D. A.; BROWN, L. M.; MARTIN, S. D.; **Classification of Vegetable Oils by Principal Component Analysis of FTIR Spectra.** *J. Chem. Educ.*, Vol. 80, p. 541, 2003.

SAINT'PIERRE T., AUCÉLIO , R. Q. , CURTIUS, A. J. **Trace elemental determination in alcohol automotive fuel by electrothermal atomic absorption spectrometry.** *Microchemical Journal* , Vol.75, p. 59–67, 2003.

SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B. H. ; 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*, Vol. 22, p. 1300–1303, 2007.

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

SEGURA, R.; PRADENA, M.; PINTO, D.; GODOY, F.; NAGLES, E. ; ARANCIBIA, V. **Adsorptive stripping voltammetry of nickel with 1-nitroso-2-naphthol using a bismuth film electrode.** *Talanta*. Vol. 85, p. 2316– 2319, 2011.

SHARMA, Y.C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S.N. **Advancements in development and characterization of biodiesel: a review.** *Fuel*, Vol. 87, n. 12, p. 2355-2373, 2008.

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

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**, 8ª ed, Editora Thomson, 2005.

SNAPE, J. B. ; NAKAJIMA, M. **Processing of Agricultural Fats and Oils using Membrane Technology.** *Journal of Foods Engineering*. Vol.30, p.1-41, 1996.

SOUZA, M. F. B. **Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem.** *Química Nova*, Vol. 20, n. 2, p.191-195, 1997.

SOUZA, R.M; LEOCÁDIO, L. G. ; SILVEIRA, C. L. **ICP OES Simultaneous Determination of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na and P in Biodiesel by Axial and Radial**

Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry. *Analytical Letters*, Vol. 41, p. 1615-1622, 2008.

TAGLIABUE, S.; GASPAROLI, A.; DELLA BELLA, L.; BONDIOLI, P. **Influence of metal contamination on biodiesel thermo-oxidation stability.** *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, Vol. 82, n. 2, p. 93-96, 2005.

TASHTOUSH, G.M; AL-WIDYAN, M.I; AL-JARRH, M.M. **Experimental study on evaluation and optimization of conversion of waste animal fat into biodiesel.** *Energy Conversion and Management*, Vol. 45, n.17, p. 2697-2711, 2004.

TAYLOR , D. B.; SYNOVEC , R. E. **Chromatographic determination of copper speciation in jet fuel.** *Talanta*, Vol. 40, n. 4, p. 495-501, 1993.

TEIXEIRA, L. S. G.; BORGES, J. F.; JÚNIOR, M. M. B.; CORDEIRO, P. W. L.; ROCHA, S. A. N., COSTA, A. C. S. **Determinação espectrofotométrica simultânea de cobre e ferro em álcool etílico combustível com reagentes derivados da ferroína.** *Química Nova*, Vol. 29, N. 4, p. 741-745, 2006.

TEIXEIRA, L. S. G.; QUADROS, D. P, C.; CHAVES, E. S.; SILVA, J. S. A.; CURTIUS, A. J. ; PEREIRA, P. A. P. **Contaminantes em Biodiesel e Controle de Qualidade.** *Revista Virtual de Química*, Vol. 3, n. 5, p. 376-384, 2011.

TEIXEIRA, L.S.G; LEÃO, E.S; DANTAS, A.F.; PINHEIRO, H.L.C; COSTA, A.C.S; ANDRADE, J.B. **Determination of formaldehyde in Brazilian alcohol fuels by flow-injection solid phase spectrophotometry.** *Talanta*, vol. 64, p. 711–715, 2004.

TIMILSINA, G. R., SHRESTHA, A. **How much hope should we have for biofuels?** *Energy*, Vol. 36, p. 2055 – 2069, 2011.

TRINDADE, J.M. **Otimização de um procedimento eletroanalítico usando planejamento experimental para determinação de metais em gasolina comum.** Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

WANG, J.; LU, J., **Bismuth film electrodes for adsorptive stripping voltammetry of trace nickel.** *Electrochemistry Communications*, Vol. 2, n.2, p. 390–393, 2000.

WANG, J.; LU, J.; HOCEVAR, S.B.; FARIAS, P.A.M. **Bismuth-Coated Carbon Electrodes for Anodic Stripping Voltammetry.** *Anal. Chem.*, Vol. 72, p. 3218-3222, 2000.

WANG, L. Q.; MIZAIKOFF, B.; KRANZ, C. **Quantification of Sugar Mixtures with Near-Infrared Raman Spectroscopy and Multivariate Data Analysis. A Quantitative Analysis Laboratory Experiment.** *J. Chem. Educ.*, Vol. 86, p. 1322, 2009.

WHEALS, A. E.; BASSO, L. C.; ALVES, D. M. G.; AMORIM H. V. **Fuel ethanol after 25 years.** *Trends Biotechnology*, Vol. 17, p. 482–7, 1999.

WORLD WIDE FUND FOR NATURE. **Desenvolvimento Sustentável.** Disponível em: < http://www.wwf.org.br/natureza_brasileira/reducao_de_impactos2/amazonia/; [S.D], [S.N]. Acesso em 12 de fevereiro de 2013.

ZHANG, Q.; LI, X.; SHI, H.; HONGZHOU, YUAN, Z. **Determination of trace selenium by differential pulse adsorptive stripping voltammetry at a bismuth film electrode.** *Electrochimica Acta*. Vol. 55, p. 4717–4721, 2010.

ANEXO A - RESOLUÇÃO ANP Nº 14, DE 11.5.2012 - DOU 18.05.2012**Tabela I: Especificação do Biodiesel BRASIL**

CARACTERISTIC	UNITY	LIMIT	MÉTODO
Aspecto	-	LII (1)	-
Density, 20° C	kg/m³	850 a 900	NBR 7148; NBR 14065 ASTM D 1298 ASTM D 4052 EN ISO 3675 EN ISO 12185
kinematic viscosity a 40°C	mm²/s	3,0 a 6,0	NBR 10441 ASTM D 445 EN ISO 3104
Water content , máx.	mg/kg	(2)	ASTM D 6304 EN ISO 12937
Total contamination, máx.	mg/kg	24	EN ISO 12662 NBR 15995
Flash Point , mín. (3)	°C	100,0	NBR 14598 ASTM D 93 EN ISO 3679
Ester content, mín	% massa	96,5	NBR 15764 EN 14103
Resíduo de carbono, máx. (4)	% massa	0,050	NBR 15586 ASTM D 4530
Cinzas sulfatadas, máx.	% massa	0,020	NBR 6294 ASTM D 874 EN ISO 3987
Enxofre total, máx.	mg/kg	10	NBR 15867 ASTM D 5453 EN ISO 20846 EN ISO 20884
Sódio + Potássio, máx.	mg/kg	5	NBR 15554 NBR 15555 NBR 15553 NBR 15556 EN 14108 EN 14109 EN 14538
Cálcio + Magnésio, máx.	mg/kg	5	NBR 15553 NBR 15556 EN 14538
Fósforo, máx.	mg/kg	10	NBR 15553 ASTM D 4951 EN 14107

Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx.	-	1	NBR 14359 ASTM D 130 EN ISO 2160
Cetane number (5)	-	Anotar	ASTM D 613 ASTM D 6890 (6) EN ISO 5165
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.	°C	(7)	NBR 14747 ASTM D 6371 EN 116
Índice de acidez, máx.	mg KOH/g	0,50	NBR 14448 ASTM D 664 EN 14104 (8)
Glicerol livre, máx.	% massa	0,02	NBR 15341 (8) NBR 15771 ASTM D 6584 (8) EN 14105 (8) EN 14106 (8)
Glicerol total, máx. (9)	% massa	0,25	NBR 15344 NBR 15908 ASTM D 6584 (8) - EN 14105 (8)
Monoacilglicerol, máx.	% massa	0,80	NBR 15342 (8) NBR 15344 NBR 15908 ASTM D 6584 (8) EN 14105 (8)
Diacilglicerol, max.	% massa	0,20	NBR 15342 (8) NBR 15344 NBR 15908 ASTM D 6584 (8) EN 14105 (8)
Triacilglicerol, máx.	% massa	0,20	NBR 15342 (8) NBR 15344 NBR 15908 ASTM D 6584 (8) EN 14105 (8)
Methanol and/or Ethanol, máx.	% massa	0,20	NBR 15343 EN 14110 (8)
Índice de Iodo	g/100g	Anotar	EN 14111 (8)
Estabilidade à oxidação a 110°C, mín. (10)	h	6	EN 14112 EN 15751 (8)

ANEXO B – Voltametria

B.1 Métodos Voltamétricos

As técnicas eletroanalíticas empregam as propriedades elétricas mensuráveis tais como corrente, potencial e carga, resultantes de reações de oxirredução de um analito quando este é submetido a um estímulo elétrico sobre os eletrodos imersos em uma célula eletroquímica. Estas medidas podem estar relacionadas com algum parâmetro químico intrínseco deste analito e assim, são técnicas amplamente utilizadas na identificação, na determinação e no estudo eletroquímico de qualquer composto capaz de sofrer reações químicas de redução e/ou oxidação (ALEIXO, 2003).

Estudos de processos de oxidação e redução em vários meios, de adsorção em superfícies e de mecanismo de transferência de elétrons, inclusive com a utilização de eletrodos modificados, exemplificam algumas das numerosas aplicações atuais das chamadas técnicas eletroanalíticas (MACHADO *et al.*, 2003).

A magnitude da corrente obtida pela transferência de elétrons, durante um processo de oxirredução (Equação B1), está relacionada com a quantidade do analito presente na interface do eletrodo e conseqüentemente na célula eletroquímica e o registro da corrente em função do potencial aplicado é denominado voltamograma.



Onde O e R são, respectivamente, as formas oxidada e reduzida do analito (CAMPESTRINI, 2010).

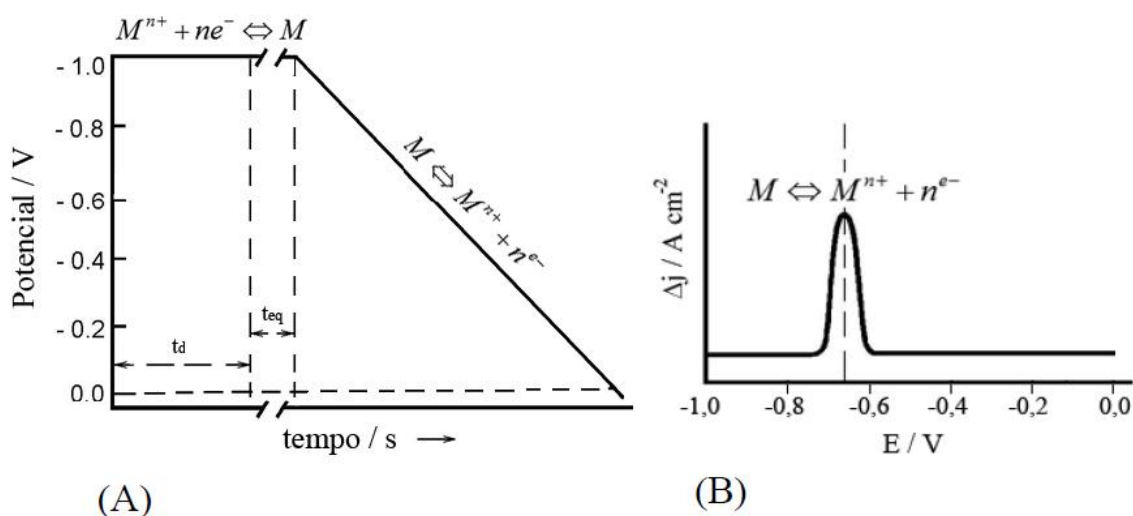
B.1.1 Voltametria de Redissolução Anódica (ASV)

A técnica ASV é constituída essencialmente de duas etapas. A primeira etapa ou etapa de deposição (pré-concentração) consiste na acumulação do analito sobre o eletrodo (Equação B2), pela aplicação de uma redução do potencial de um

intervalo pré-estabelecido do eletrodo de trabalho, cujo tempo dependerá da espécie eletroativa, conforme ilustrado na parte 1 da Figura B1.



Figura B1: (A) Etapas envolvidas na ASV. (a) programação E x t mostrando os tempos de deposição (Td); Potenciais de deposição (Ed) para a espécie M^{n+} ; Tempo de repouso (Tr); Etapa de redissolução. (2): Voltamograma hipotético obtido na etapa da redissolução para M^{n+} .



Fonte: (Aleixo, 2003).

Na segunda parte da Figura B1 está ilustrada a segunda etapa ou etapa de redissolução, após um tempo de equilíbrio, onde é aplicado um potencial de varredura de oxidação, sendo obtida uma corrente anódica resultante da dependência linear com a concentração dos metais (Equação B3), obtendo a dissolução do depósito (SKOOG *et al.*, 2005).



B.1.2 Voltametria de Onda Quadrada

Dentre os métodos eletroanalíticos, a voltametria, nos seus diversos modos, é uma técnica eletroquímica onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas a partir do registro de curvas corrente-potencial, feitas durante a eletrólise dessa espécie em uma célula eletroquímica

constituída de três eletrodos, sendo um deles um microeletrodo (o eletrodo de trabalho), um eletrodo de referência e um eletrodo auxiliar (ALEIXO, 2003). O potencial é aplicado entre os dois eletrodos (trabalho e de referência) em forma de varredura, isto é, variando-o a uma velocidade constante em função do tempo. O potencial e a corrente resultante são registrados simultaneamente. A curva corrente vs. potencial obtida é chamada de voltamograma. O terceiro eletrodo é chamado de eletrodo auxiliar, podendo ser de platina, ouro, carbono vítreo, etc. Ele foi introduzido na célula voltamétrica para assegurar o sistema potenciostático (ALEIXO, 2003).

Uma das principais limitações da polarografia/voltametria clássica em relação à sensibilidade é a chamada corrente capacitiva, que é uma das principais componentes da corrente de fundo, que constitui a corrente residual mostrada nos voltamogramas. Essa corrente surge devido a fenômenos relacionados à dupla camada elétrica. Quando um potencial é aplicado a um microeletrodo ele adquire uma carga tipo condensador, devido ao carregamento e descarregamento da dupla camada elétrica. Como em voltametria usa-se varredura de potencial, a cada etapa de potencial aplicado o eletrodo apresentará esse carregamento e descarregamento da dupla camada, desenvolvendo uma corrente, que, por esta razão, é chamada de corrente capacitiva ou de condensador. A outra componente da corrente de fundo ou residual é uma corrente do tipo faradaica, que ocorre devido a impurezas presentes no eletrólito de suporte, em outros reagentes utilizados e ao oxigênio dissolvido. Essa corrente pode ser reduzida ou mesmo eliminada usando-se reagentes mais puros e removendo-se o oxigênio pela passagem de um gás inerte (ALEIXO, 2003).

Assim, ficou claro que a principal componente da corrente de fundo que limita a sensibilidade é a corrente capacitiva. Então a pesquisa científica direcionou-se na busca de procurar reduzir essa corrente para que a sensibilidade da técnica pudesse ser melhorada (ALEIXO, 2003).

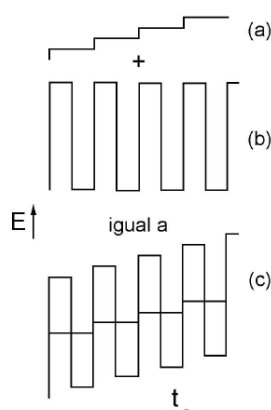
No conjunto de técnicas voltamétricas, a Voltametria de Onda Quadrada - SWV (do inglês, Square Wave Voltammetry) é uma técnica de varredura rápida que tem sido incorporada em diversos instrumentos comerciais. Ainda que a SWV tenha surgido em 1957 devido aos estudos de Baker, a utilização da técnica era limitada pela tecnologia eletrônica. Com os progressos da tecnologia analógica e digital, ela passou a ser incorporada nos polarógrafos a partir dos anos 80, principalmente, na sua forma de varredura rápida (ALEIXO, 2003) e é uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápidas e sensíveis. Os limites de detecção podem ser comparados

aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Além disso, a análise dos parâmetros característicos desta técnica também possibilita a avaliação cinética e mecanística do processo eletródico em estudo (SOUZA *et al.*, 2003).

Esta técnica pode ser usada para realizarem-se experimentos de um modo bem mais rápido do que se usando a técnica de pulso diferencial, com sensibilidade semelhante ou um pouco melhor, pois aqui também ocorrem compensações da corrente capacitiva. Um experimento típico que requer cerca de três minutos para ser feito pela voltametria de pulso diferencial (DPV; do inglês Differential Pulse Voltammetry) pode ser feito em segundos pela SWV (ALEIXO, 2003).

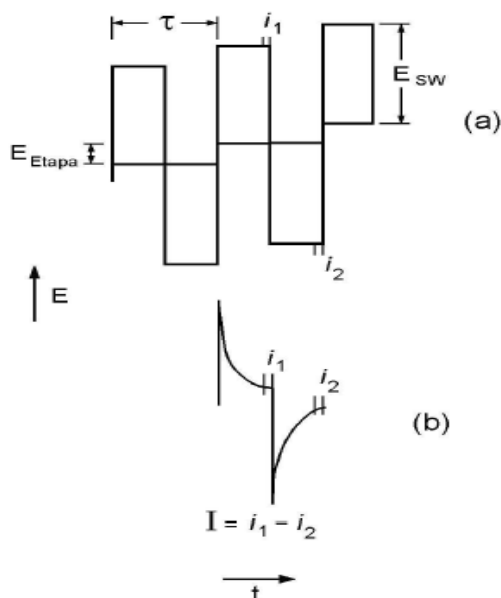
A programação de potencial usada na SWV pode ser vista na Figura B2. Uma onda quadrada simétrica (Figura B2 (a)) é superposta sobre uma rampa de potencial em forma de degraus (Figura B2 (b)) de tal forma que o pulso direto da onda quadrada coincida com o início do degrau da rampa (Figura B2(c)). O pulso reverso da onda quadrada por sua vez coincide com a metade da etapa da rampa em degraus. Os parâmetros tempo e potencial aplicado são mostrados na Figura B3, onde τ é o tempo de um ciclo de onda quadrada e também de um ciclo da rampa em degraus. A frequência da onda quadrada em Hz é $1/\tau$. E_{sw} é a amplitude do pulso de onda quadrada em mV, onde $2 \times E_{sw}$ é a amplitude pico a pico (amplitude do pico direto ao reverso) (ALEIXO, 2003).

Figura B2: Aplicação do potencial na SWV.



Fonte: (ALEIXO, 2003).

Figura B3: Parâmetros da SWV: onde: τ = tempo de um ciclo de onda quadrada; $1/\tau$ = frequência da onda quadrada em Hz; E_{SW} = amplitude de pulso da onda quadrada em mV; Etapa = potencial em mV da etapa de rampa de potencial em degraus e $2E_{SW}$ é a amplitude de pico a pico da onda quadrada em mV



Fonte: (ALEIXO, 2003).

A medida de corrente (I) na SWV é feita amostrando-se a mesma duas vezes durante cada ciclo da onda quadrada, uma vez no final do pulso direto e a outra no final do pulso reverso. A técnica discrimina a corrente capacitiva em razão de sua diminuição mais rápida do que a corrente faradaica, e fazendo-se a amostragem da corrente perto do final da duração do pulso, como no caso da técnica de pulso reverso. A técnica discrimina a corrente capacitiva em razão de sua diminuição mais rápida do que a corrente faradaica, e fazendo-se a amostragem da corrente perto do final da duração do pulso, como no caso da técnica de pulso diferencial (ALEIXO, 2003).

ANEXO C – Tabela de distribuição F (5%).

Pontos de percentagem da distribuição F, 5% (continuação)																			
$\frac{v_1}{v_2}$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5	241,9	243,9	245,9	248,0	249,1	250,1	251,1	252,2	253,3	254,3
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38	19,40	19,41	19,43	19,45	19,45	19,46	19,47	19,48	19,49	19,50
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81	8,79	8,74	8,70	8,66	8,64	8,62	8,59	8,57	8,55	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,91	5,86	5,80	5,77	5,75	5,72	5,69	5,66	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,68	4,62	4,56	4,53	4,50	4,46	4,43	4,40	4,36
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,00	3,94	3,87	3,84	3,81	3,77	3,74	3,70	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,57	3,51	3,44	3,41	3,38	3,34	3,30	3,27	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,28	3,22	3,15	3,12	3,08	3,04	3,01	2,97	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,07	3,01	2,94	2,90	2,86	2,83	2,79	2,75	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,91	2,85	2,77	2,74	2,70	2,66	2,62	2,58	2,54
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,85	2,79	2,72	2,65	2,61	2,57	2,53	2,49	2,45	2,40
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,69	2,62	2,54	2,51	2,47	2,43	2,38	2,34	2,30
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,60	2,53	2,46	2,42	2,38	2,34	2,30	2,25	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,53	2,46	2,39	2,35	2,31	2,27	2,22	2,18	2,13
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,48	2,40	2,33	2,29	2,25	2,20	2,16	2,11	2,07
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,42	2,35	2,28	2,24	2,19	2,15	2,11	2,06	2,01
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,38	2,31	2,23	2,19	2,15	2,10	2,06	2,01	1,96
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,34	2,27	2,19	2,15	2,11	2,06	2,02	1,97	1,92
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,31	2,23	2,16	2,11	2,07	2,03	1,98	1,93	1,88
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,28	2,20	2,12	2,08	2,04	1,99	1,95	1,90	1,84
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,25	2,18	2,10	2,05	2,01	1,96	1,92	1,87	1,81
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34	2,30	2,23	2,15	2,07	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,78
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32	2,27	2,20	2,13	2,05	2,01	1,96	1,91	1,86	1,81	1,76
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30	2,25	2,18	2,11	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,79	1,73
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28	2,24	2,16	2,09	2,01	1,96	1,92	1,87	1,82	1,77	1,71
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,15	2,07	1,99	1,95	1,90	1,85	1,80	1,75	1,69
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25	2,20	2,13	2,06	1,97	1,93	1,88	1,84	1,79	1,73	1,67
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,12	2,04	1,96	1,91	1,87	1,82	1,77	1,71	1,65
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,10	2,03	1,94	1,90	1,85	1,81	1,75	1,70	1,64
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,09	2,01	1,93	1,89	1,84	1,79	1,74	1,68	1,62
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2,00	1,92	1,84	1,79	1,74	1,69	1,64	1,58	1,51
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,92	1,84	1,75	1,70	1,65	1,59	1,53	1,47	1,39
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96	1,91	1,83	1,75	1,66	1,61	1,55	1,50	1,43	1,35	1,25
∞	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88	1,83	1,75	1,67	1,57	1,52	1,46	1,39	1,32	1,22	1,00

Fonte: NETO et al., 2010