

3

Materiais e métodos

3.1

Equipamentos

3.1.1

Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado

Para as medidas instrumentais empregou-se um espectrômetro de emissão óptica, com fonte de plasma indutivamente acoplado, ICP OES, Plasma P1000 da Perkin-Elmer, equipado com um monocromador Ebert (1 m), e gerador de RF de 27,12 MHz. Utilizou-se rede holográfica com 2400 linhas mm^{-1} com resolução de 0,012 nm. A tocha de ICP usada é desmontável e consiste de três tubos de quartzo concêntricos, sendo o tubo mais externo envolvido, na parte superior, por uma bobina de indução de 4 espiras, conectada a um gerador de alta frequência. Para transportar o analito, na forma de aerossol, até o coração do plasma, foi utilizado um tubo injetor, de alumina, de 2,0 mm de diâmetro interno para o procedimento da extração ácida e de 0,8 mm de diâmetro interno para os demais procedimentos.

As análises foram realizadas com as potências de compromisso otimizadas, para aplicação dos procedimentos de microemulsão, emulsão e diluição direta (1500 W); e de (1000 W), para o procedimento da extração ácida. O sistema de introdução de amostra utilizado consiste do nebulizador concêntrico Meinhard TR-30-K3 (36 psig) com bomba peristáltica de vazão de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$, câmara de nebulização tipo ciclônica de vidro (Glass Expansion), e volume 20 mL para os procedimentos de microemulsão, emulsão e diluição direta; para o procedimento da extração ácida, utilizou-se o sistema de introdução para aquosos, o qual consiste de nebulizador do tipo vazão cruzado (Cross-flow) da Perkin-Elmer, com bomba peristáltica de vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, câmara de nebulização tipo Scott-Fassel de Ryton (Perkin-Elmer) e volume 100 mL. Todas as leituras foram feitas com correção de fundo automática, vazão do gás argônio de 99,99 % de pureza (AGA), de 15,0; 1,0; $0,7 \text{ L min}^{-1}$ respectivamente para o plasma,

auxiliar e carreador, este foi diferente apenas para o procedimento da extração ácida que foi de $1,0 \text{ L min}^{-1}$, para a introdução de todas as amostras. Oxigênio (99,5 %) foi utilizado como gás auxiliar ($0,047 \text{ L min}^{-1}$) e na vazão do carreador ($0,0018 \text{ L min}^{-1}$), concomitantemente com o argônio, para minimização de fundo e de depósito de carbono sobre o tubo injetor, quando da introdução da amostra via microemulsão com n-propanol e diluição direta.



Figura 1 – Espectrômetro de Emissão Óptica, P1000 (Perkin Elmer), do laboratório de ICP OES da PUC - Rio.

A homogeneização completa da emulsão e microemulsão, bem como a extração ácida, foram realizadas por meio de um banho ultra-sônico, Ultra-som USB 124,

operando na potência de 50 W e frequência de 40 kHz com temporizador programável e volume total de 1,7 L. Foi usado um volume de água de 1 L dentro do banho. Os tubos foram colocados dentro de um recipiente metálico (parte removível do sistema) em posição vertical. O aquecimento das amostras foi realizado em um banho termostático modelo NT 247 (Nova Técnica, Brasil). Os tubos de centrifuga utilizados de 50 e 15 mL (TPP, Suíça) mostraram-se resistentes ao procedimento completo da extração ácida assistida por ultra-som. Para decomposição ácida das amostras utilizou-se um digestor de micro-ondas DGT 100 Plus – Provecto Analítica, potência 1000 W, e bombas de Teflon PTFE operando a 120 atm de pressão máxima. O vórtex (Phoenix) foi utilizado para favorecer a homogeneização na extração ácida e para um estudo comparativo de desempenho entre a agitação por vórtex e por banho ultra-sônico.

3.1.2

Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado

O espectrômetro de massa, normalmente utilizado em ICP-MS, apresenta uma configuração clássica de quadrupolo. Uma combinação de voltagem de radiofrequência e potencial DC é aplicada nas barras, de forma que os íons focalizados por lentes iônicas que precedem o quadrupolo, são conduzidos através do centro das barras. Para uma combinação de radiofrequência e voltagem de corrente DC, apenas íons de uma determinada razão massa/carga podem atravessar as barras do quadrupolo e alcançar o detector, sendo os demais íons refletidos e perdidos ao longo do caminho e retirados pelo sistema de vácuo. O uso de uma velocidade eletrônica adequada permite a separação de massas da faixa de 3 até 250 u em alguns milisegundos. Os instrumentos que utilizam o quadrupolo (como o utilizado neste trabalho) são relativamente mais simples e baratos quando comparados aos instrumentos de setor magnético-elétrico (duplo foco), entretanto, possuem menor resolução de energia (tipicamente 0,7 u) e por isso, são mais sujeitos às interferências espectrais.

A interface entre a fonte geradora de íons e o quadrupolo do espectrômetro de massa possui a função de transportar os íons gerados no ICP, sob pressão atmosférica,

para o quadrupolo, que está sob uma pressão de cerca de 10^{-5} torr. Esta transição é feita de forma gradual, utilizando-se um sistema de bombas mecânicas e turbo moleculares. A interface utiliza um pequeno orifício, de aproximadamente 1 mm, em um cone metálico (sampler) para amostrar os íons gerados no plasma. Este cone pode ser produzido em níquel ou platina, e é situado a uma distância de cerca de 10 mm da última espira da bobina de radiofrequência. É usado um sistema de refrigeração para evitar a degradação térmica do orifício, devido às elevadas temperaturas do plasma. A região localizada imediatamente atrás do cone de amostragem é mantida sob uma pressão de 2 a 3 torr por intermédio de uma bomba mecânica auxiliar. A corrente de íons que atravessa o orifício deste cone atinge uma região de menor pressão, onde se expande (atingindo os seus íons velocidades supersônicas) em um vazão laminar, até atingir o segundo cone denominado skimmer, distante 10 mm do primeiro cone. Os íons atingem uma região de menor pressão e são focalizados para o quadrupolo por uma lente iônica. Esta região encontra-se sob uma pressão de aproximadamente 10^{-3} torr e serve para colimar o feixe de íons e eliminar fótons indesejáveis de atingirem o detector.

Os íons que atingem os detectores são capazes de deslocar elétrons da superfície dos detectores, produzindo elétrons secundários, em um processo de amplificação do sinal analítico.

O equipamento utilizado neste trabalho foi o espectrômetro de massa Elan-5000 (Perkin Elmer Sciex), conforme Figura 2. O argônio utilizado foi de 99,99 % de pureza (AGA). O instrumento foi otimizado a cada dia de trabalho (daily performance) para máxima sensibilidade para íons M^+ , e mínimos sinais para M^{2+} , MO^+ e sinal de fundo (background) em $m/z = 220$, usando nebulização pneumática convencional consistindo de nebulizador Meinhard TR-30-K3 (36 psig) e com bomba peristáltica câmara de nebulização tipo ciclônica de vidro (Glass Expansion), e volume de 20 mL. Os parâmetros operacionais utilizados estão listados na Tabela 3.



Figura 2 – Espectrômetro de Massa, Elan 5000 (Perkin Elmer-Sciex), do laboratório de ICP-MS da PUC - Rio.

Tabela 2 - Parâmetros operacionais do ICP-MS

Parâmetro	Ajuste
Potência da radiofrequência (W)	1400
Vazão de Ar plasma (L min ⁻¹)	15
Vazão de Ar auxiliar (L min ⁻¹)	1
Vazão de Ar carreador (L min ⁻¹)	0,8
Taxa de aspiração total (mL min ⁻¹)	1
Diâmetro do injetor (mm)	2,0
Cones: amostrador e skimmer	Pt
Forma de medida	Peak-hop
Resolução (u)	0,8
Dwell time (ms)	100
Número de replicatas	3

u: unidade de massa atômica

3.2

Reagentes, Soluções e Materiais

Todos os reagentes utilizados são de grau analítico e foram utilizados sem posterior purificação. Água deionizada (resistividade de 18,2 cm) em um sistema Milli Q (Millipore, USA) foi usada na preparação das soluções, emulsões e na limpeza do material.

Soluções-padrão inorgânicas foram preparadas a partir de soluções-estoque aquosas ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) de Al, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Sc, Ti, e Zn obtidos da Merck, Brasil, padrão de solução ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) de V da Riedel der Haën Alemanha, e padrão monoelementar de 1000 mg L^{-1} para ICP de Rh. Padrão aquoso multielementar Merck 23 também foi utilizado, para testes de interferência espectral e preparação de curvas de calibração. Padrão multielementar organometálico, Conostan S-21 (Conoco, Ponca City, OK, USA) com concentração dos analitos de $900 \mu\text{g g}^{-1}$, foi usado para preparação de padrões de óleo diesel, óleo de oliva, óleo de soja, óleo cru, asfaltenos e margarina.

Ácido nítrico 65 % Suprapure® (Merck, Alemanha) foi usado para tratamento ácido das amostras e como agente extrator na extração ácida. Xileno, como co-solvente no preparo das emulsões e como solvente orgânico no método da diluição direta do óleo diesel, tolueno, como solvente orgânico no método da diluição direta das demais amostras, método utilizado como comparativo para validar os métodos propostos neste trabalho. Triton X-100 P.A., no preparo das emulsões com detergente e n-propanol P.A., no preparo das emulsões sem detergente, foram obtidos da Merck, Brasil. Dodecil sulfato de sódio (SDS), também da Merck do Brasil, foi testado como detergente para emulsificação. Querosene de aviação percolado QAV, obtido do CENPES / PETROBRÁS, foi usado como solvente orgânico na metodologia da diluição com solvente orgânico para as amostras de diesel; peróxido de hidrogênio 35 %, puro, estabilizado foi obtido da Riedel Haën, Alemanha.

Óleo diesel sintético foi cedido pelo CENPES / PETROBRÁS. Material de referência certificado (MRC) da NIST 1634c (Trace elements in residual fuel oil) foi obtido do National Institute of Standards and Technology, USA.

3.3

Procedimentos gerais

Todas as amostras e padrões foram preparados em recipientes descartáveis de polipropileno de 15,00 e 50,00 mL da Sarstedt. Procedimentos específicos para cada amostra são descritos abaixo.

3.3.1

Óleo Diesel

Para amostras de óleo diesel, os seguintes procedimentos foram usados: emulsificação da amostra com detergente, emulsificação da amostra sem detergente, diluição direta em solvente orgânico. Para determinação da concentração dos metais presentes em óleo diesel e para avaliar o desempenho de cada metodologia, foram analisadas amostras de óleo diesel comum e óleo diesel aditivado foram compradas em posto de combustível da cidade do Rio de Janeiro (Ipiranga).

3.3.1.1

Emulsificação da amostra com Triton X-100

Emulsão óleo em água foi preparada pesando-se alíquotas entre 0,5 g (5 % m/m) e 1,5 g (15 % m/m) de diesel e NIST 1634c em frascos volumétricos de 15,0 mL. Alíquotas entre 0,1 e 0,5 mL de ácido nítrico concentrado foram investigadas, sendo escolhido o volume de 0,5 mL para ser utilizado. A mistura foi então homogeneizada em banho ultra-sônico por 5 min. A quantidade otimizada de Triton X-100 foi de 3 % m/m (faixa investigada entre 0,5 e 4 %). O surfactante foi adicionado no frasco volumétrico e as misturas foram agitadas manualmente por 2 min para misturar os componentes. A amostra de diesel foi fortificada com Conostan S-21 e volume apropriado de solução de padrão interno (50 μL de Sc 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$). Para emulsões contendo MRC NIST 1634c foi adicionado apenas o padrão interno. Em seguida, água Milli-Q foi adicionada até a massa final de 10,0 g. O frasco sofreu então vigorosa agitação manual por 2 min e foi colocado em banho ultra-sônico por 5 min. Soluções

aquosas de Triton X-100 fortificadas com padrões inorgânicos dos analitos foram usadas para a preparação das curvas de calibração ($n = 3$). Foi usada a sequência específica acima para garantir a homogeneidade e estabilidade da emulsão. As medições foram realizadas no ICP OES.

3.3.1.2

Emulsificação da amostra com n-propanol

Emulsão de óleo em água foi preparada, misturando quantidades apropriadas da amostra, água e n-propanol visando obter uma dispersão homogênea. Foram misturadas proporções otimizadas dos componentes (amostra líquida orgânica, água e solvente comum) em frasco volumétrico de 15,0 mL. Em todos os casos, alíquotas entre 0,1 e 0,5 mL de ácido nítrico concentrado foram investigadas e introduzidas como parte do componente aquoso, visando converter diferentes espécies organometálicas dos analitos encontradas em amostras reais em simples espécies inorgânicas. O volume ótimo de HNO_3 foi 0.5 mL. Emulsões homogêneas de diesel foram obtidas para uma mistura de 60 % de n-propanol (faixa investigada de 5 a 60 %) e até 25 % de diesel (faixa investigada de 5 a 30 %). Água foi adicionada como complemento destas composições. Estes três componentes foram misturados pela adição das proporções otimizadas seguida de agitação vigorosa. Foi adicionado o padrão organometálico do analito (Conostan). A mistura foi então colocada em um banho ultra-sônico por 5 min. Soluções n-propanol/água (85 / 15 %, m/m) fortificadas com padrões inorgânicos dos analitos foram usadas para as curvas de calibração ($n=3$), as soluções não fortificadas foram utilizadas para subtração do branco. As medições foram realizadas no ICP OES.

3.3.1.3

Diluição direta da amostra em solvente orgânico

Amostras de diesel fortificadas com padrão organometálico Conostan S-21 foram diluídas com querosene (querosene/diesel, 80/20 m/m) ou com xileno (xileno/diesel, 90/10 m/m) e introduzidas diretamente no ICP OES. Soluções de querosene ou xileno fortificadas com padrão organometálico Conostan S-21 foram usadas para a calibração ($n = 3$).

Este método foi utilizado como método comparativo para verificação da exatidão dos métodos propostos de emulsões.

3.3.2 Óleo Cru

Para amostras de óleo cru, os seguintes procedimentos foram usados: microemulsificação da amostra com detergente, decomposição ácida da amostra, diluição direta em solvente orgânico e extração ácida assistida por ultra-som. Devido à indisponibilidade de material de referência para óleo cru, foi usado o material padrão de referência da NIST SRM 1634c (Trace Elements in Residual Fuel Oil) para validação dos métodos propostos. Duas amostras de óleo cru também foram usadas. Estas amostras foram adquiridas de refinarias locais de óleo e foram identificadas como: “amostra I” (viscosidade 557 ± 2 % m.Pa.s e densidade $0,938 \text{ g cm}^{-3}$) e “amostra H” (viscosidade 498 ± 2 % m.Pa.s e densidade $0,936 \text{ g cm}^{-3}$). Estas amostras de óleo cru também foram fortificadas com padrão multielementar organometálico Conostan S-21. Todas as medições foram realizadas em ICP OES.

3.3.2.1 Microemulsificação da amostra com n-Propanol

Microemulsões de óleo cru em água foi preparada, adicionando-se 0,4 mL de HNO_3 65 % e 50 μL de solução inorgânica de Sc (1000 mg L^{-1}) como padrão interno em um frasco de polietileno contendo 0,6 g da amostra de óleo (previamente dissolvido em 0,5 mL de xileno). O frasco foi então agitado vigorosamente em um vórtex por 5 min. Em seguida, n-propanol e água foram adicionados alternadamente (1,1 mL de n-propanol e 0,25 mL de água) até a massa final de 10,0 g. Agitação por vórtex foi utilizada após cada adição alternada para propiciar a homogeneidade da mistura. A composição final da microemulsão foi aproximadamente óleo/n-propanol/água/ácido nítrico concentrado (6/70/20/4 em massa). Em seguida, a microemulsão foi colocada em um banho ultra-sônico por 5 min. Foi obtida uma solução marrom e transparente.

As determinações de elementos-traço em óleo cru foram realizadas apenas por espectrometria de emissão óptica (ICP OES).

3.3.2.2

Decomposição ácida da amostra

A decomposição ácida da amostra foi realizada em uma unidade de digestão por micro-ondas. Quantidades de 0,10 g de MRC NIST 1634c foram colocadas em vasos de Teflon previamente limpos. Volume de 2,0 mL de ácido nítrico concentrado foram adicionados à cada bomba. Os copos foram selados e sujeitos uma vez a um programa de digestão com três etapas: 5 min a 300 W, 1 minuto a 0 W e 5 min a 600 W. Uma segunda adição de ácido nítrico concentrado (2 mL) foi feita em cada vaso, os copos selados foram sujeitos a três ciclos do programa de digestão acima. Em seguida, a solução foi resfriada (30 min) e 1 mL de peróxido de hidrogênio foi adicionado a cada vaso. A solução foi então submetida (1 vez) ao programa mencionado acima. Os conteúdos decompostos foram quantitativamente transferidos a frascos volumétricos de 15,0 mL e diluídos com água deionizada a 10 mL. Ácido nítrico submetido ao mesmo procedimento de decomposição foi usado como branco. O tempo total de digestão, incluindo o tempo requerido para o resfriamento durou cerca de 2 h.

3.3.2.3

Diluição direta da amostra

Quantidades de 0,60 g de óleo cru foram colocadas em frascos volumétricos e dissolvidas com tolueno para obter uma solução com massa final de 10,0 g. Estas soluções foram fortificadas com padrão Conostan S-21.

3.3.2.4

Extração Ácida assistida por ultra-som

Amostras de óleo cru ($0,2 \pm 0,001$ g) foram pesadas em tubos de polipropileno de 15,0 mL. Uma pequena porção de tolueno (0,2 mL) foi adicionada para diluir a amostra e permitir melhor interação da amostra com a solução de ácido nítrico (10 mL). A mistura foi agitada por vórtex durante 2 min. Em seguida, o tubo foi imerso parcialmente em um banho termostático a 85 °C por 30 min. Após aquecimento, os tubos foram colocados em um banho ultra-sônico (contendo água suficiente para cobrir

pelo menos metade da altura do tubo) para ser agitado por 15 min. Não foi necessário resfriamento entre o aquecimento e a sonicação. Foi obtido um sistema de duas fases contendo uma solução amarronzada transparente no fundo e uma fase oleosa no topo do tubo. Foi removido um volume de 10 mL da solução clara e transferida a um frasco volumétrico. O banho ultra-sônico empregado permitiu a preparação simultânea de oito amostras. O tempo estimado de preparação da amostra é de 50 min.

3.3.3 Asfaltenos

Devido à inexistência de material de referência para óleo cru disponível, o MRC da NIST 1634c, Trace elements in residual fuel oil, (National Institute for Standards and Technology, EUA) foi usado neste trabalho para a validação dos métodos propostos.

A amostra de asfalto analisada neste trabalho foi obtida a partir do fracionamento da amostra NIST 1634c, desenvolvido por Duyck e colaboradores¹⁷², através da precipitação dos asfaltenos em heptano. Para evitar variações no balanço de massa devido à perda de hidrocarbonetos leves por evaporação (sem metais-traço em concentrações significativas), toda amostra de óleo foi aquecida a 80 °C durante a noite anterior ao uso. Heptano quente foi usado para remover as resinas adsorvidas dos asfaltenos, os quais foram recuperados com tolueno. Os solventes foram evaporados a vácuo e os asfaltenos foram estocados em tubos de vidro a -10 °C no escuro, para análise futura. Devido à reduzida quantidade de asfaltenos disponível, foi testado e proposto apenas o procedimento da extração ácida assistida por ultra-som, validado e comparado ao procedimento da diluição direta com tolueno, desenvolvido por Duyck e colaboradores¹⁷².

3.3.3.1 Extração ácida assistida por ultra-som

0,20 g de asfaltenos foram pesados diretamente em tubos de centrífuga de 15 mL onde a solução ácida oxidante adicionada em seguida. As amostras foram fortificadas com volumes apropriados de solução do padrão interno, Sc ($1\mu\text{g g}^{-1}$).

As amostras de asfaltenos foram previamente diluídas com uma pequena porção de tolueno e então, dispersas em ácido nítrico concentrado seguido de sonicação e aquecimento em banho-maria a 85 °C por 30 min, cujo tempo de exposição à radiação ultra-sônica foi de 20 min.

As curvas de calibração foram preparadas misturando soluções aquosas de padrões de Fe, Ni e V em soluções de ácido nítrico concentrado e volume apropriado de solução de padrão interno, Sc ($1\mu\text{g g}^{-1}$). As determinações foram realizadas por ICP OES.

3.3.3.2

Diluição direta em solvente orgânico

Quantidades de 0,10 g de asfaltenos foram pesadas em frascos volumétricos e dissolvidas com tolueno para obter uma solução com massa final de 10,0 g. As soluções foram fortificadas com padrão multielementar organometálico da Conostan S-21 para matrização e testes de recuperação, conforme procedimento proposto por Duyck e colaboradores¹⁷².

3.3.4

Óleos e gorduras comestíveis

Foram analisadas amostras de óleo de oliva, óleo de soja, margarina e manteiga, no prazo da validade adquiridos em comércio local, dentro do prazo da validade.

Os procedimentos da emulsão com Triton X-100, da microemulsão com n-propanol e da extração ácida assistida por ultra-som foram utilizados para análise por ICP OES. Para análise por ICP-MS, foram utilizados os procedimentos da extração ácida assistida por ultra-som e da emulsão com Triton X-100, para validar o procedimento da extração.

3.3.4.1

Emulsificação da amostra com Triton X-100

Foram preparadas emulsões com Triton X-100 usando uma sequência específica. Alíquotas entre 0,04 g (1 % em massa) e 0,20 g (5 % em massa) de amostra foram colocadas em frascos volumétricos. Enquanto óleo de soja e óleo de oliva foram usados diretamente, margarina e manteiga foram previamente solubilizados em 0,5 mL (aproximadamente 0,40 g) de xileno. Diferentes volumes de Triton X-100 (0,10 a 1,0 g) foram adicionados em frascos volumétricos e as misturas foram agitadas vagarosamente para misturar os componentes. Água foi adicionada vagarosamente sob contínua agitação até uma massa final de 10,0 g. Em seguida, a mistura foi levada à agitação em banho ultra-sônico por 5 min. As amostras foram fortificadas com volumes apropriados de padrão organometálico (Conostan S-21) dos analitos de interesse e com padrão interno (Sc em ICP OES e Rh em ICP-MS). Dispersões de óleo não fortificadas foram usadas como brancos.

3.3.4.2

Emulsificação da amostra com n-propanol

Quantidades da amostra entre 0,10 e 1,0 g foram pesadas em frascos volumétricos de 15 mL, onde 7,0 g de n-propanol foram adicionados. Em seguida, água

foi adicionada sob agitação contínua até a massa final de 10,0 g. Enquanto óleos de soja e de oliva foram misturados diretamente com água e n-propanol, margarina e manteiga foram previamente dissolvidas em 0,5 mL de xileno.

Após agitação vigorosa, as amostras foram dispersas na emulsão e permaneceram estáveis por algumas horas. As amostras foram fortificadas com volumes apropriados do padrão organometálico do analito e do padrão interno.

Dispersões de óleo não fortificadas foram usadas como branco. Curvas de calibração usadas para a análise de óleo de soja e do óleo de oliva foram preparadas usando água/n-propanol (30/70 m/m) fortificadas com padrão inorgânico do analito e com o padrão interno. Para margarina e manteiga, a análise foi realizada usando curvas de calibração preparadas com água/n-propanol/xileno (26/70/4 m/m).

3.3.4.3

Acidificação das amostras

Um tratamento ácido foi usado visando melhor correlação entre os padrões inorgânicos usados nas curvas de calibração e o padrão organometálico adicionado às amostras. O tratamento ácido consistiu da adição de 0,5 mL de ácido nítrico concentrado em frasco volumétrico contendo o óleo ou a gordura dissolvida em xileno. O frasco volumétrico foi então colocado em banho ultra-sônico por 15 min. Após a sonicação, n-propanol e água foram adicionados até à massa final de 10,0g.

3.3.4.4

Extração ácida assistida por ultra-som

Foram pesados 5,00 g de amostras de óleo de oliva e óleo de soja em diferentes frascos volumétricos de 15 mL e adicionados 500 μ L de xileno. Seguidos por agitação em vórtex por 1 minuto. 10 mL de HNO_3 2,7 mol L^{-1} foram adicionados como extrator e agitados por vórtex durante 2 min. A mistura foi sonicada por 20 min e aquecida em banho-maria a 50 $^{\circ}\text{C}$ por 20 min.

0,50 g de margarina foram dissolvidos em 0,5 mL de xileno e agitados em vórtex por 1 minuto. Em seguida, 10 mL de HNO_3 2,7 mol L^{-1} foram adicionados como

extrator. A mistura foi sonicada por 20 min e aquecida em banho-maria a 50 °C por 30 min. Sc 1 µg L⁻¹ foi utilizado como padrão interno.