

1 INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação do problema

O biodiesel representa hoje uma alternativa real ao óleo diesel para motores de combustão interna. O uso do biodiesel tem potencial para diminuir o impacto ambiental provocado pelos transportes automotivos, devido à redução da quantidade de CO₂ emitida para a atmosfera em até 78%. Pois, considerando o ciclo do carbono, o CO₂ emitido pela combustão do biodiesel é fixado pelas plantas que irá usá-lo para a produção de biodiesel, contribuindo para a diminuição das emissões de gases de efeito estufa. O biodiesel é obtido através da transesterificação de óleos vegetais de diferentes fontes (soja, girassol, palma, etc) e gordura animal, utilizando um excesso de um álcool primário (mais comumente metanol), na presença de um catalisador homogêneo ou heterogêneo. Os produtos principais da reação são o biodiesel e o glicerol. Os óleos vegetais usados também são considerados uma fonte de baixo custo para a obtenção de biodiesel, permitindo a reciclagem de resíduos. A composição da matéria-prima irá influenciar nas propriedades do biodiesel produzido¹⁻⁴ e além das matérias-primas tradicionais usadas, como óleos vegetais ou gordura animal, a produção de biodiesel utilizando microalgas tem sido recentemente estudada e parece possuir alto potencial de produção⁵.

Para uso adequado, o biodiesel deve obedecer a rígidas especificações e as determinações de Na, K, Ca e Mg são parte da caracterização do biodiesel puro (B100) ou de misturas com diesel de petróleo (B2, B5, B10, etc). No processo de produção, o Na e o K são oriundos de catalisadores alcalinos (NaOH, KOH) utilizados na reação de transesterificação, enquanto o Ca e o Mg são provenientes da água de lavagem. Estes elementos devem ser removidos durante o processo de produção do biodiesel, mas podem aparecer como contaminantes no produto final. Se presentes no produto final, o Na, K, Ca e Mg podem ocasionar a formação de sabões insolúveis e, conseqüentemente, a formação de depósitos nos filtros dos sistemas de combustível dos veículos bem como contribuindo com a corrosão de partes do motor^{1,6}. Assim, a determinação desses elementos é necessária, pois a sua presença acima de certos níveis pode alterar as características de uso do produto. A especificação atual para o biodiesel, determinada pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP)⁷, em concordância com as regulamentações Européias e

Americanas (EN 14108⁸, EN 14109⁹, EN 14538¹⁰, ASTM D6751-03¹¹ e ASTM D6751-10¹²), define um limite de 5 mg kg⁻¹ como a concentração máxima permitida para Na + K e também 5 mg kg⁻¹ para Ca + Mg.

1.2

Determinação de elementos - traço em biodiesel

Dentre as principais técnicas espectrométricas utilizadas para a determinação de elementos - traço em óleos vegetais e biodiesel, destacam-se a espectrometria de absorção atômica (AAS), a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e também a espectrometria de emissão óptica com chama (F OES). A literatura cita outras técnicas que podem ser empregadas para a determinação de elementos - traço em óleo vegetal e biodiesel, tais como a absorciometria molecular¹³⁻¹⁵, potenciometria, bem como voltametria¹⁶⁻¹⁹, análise de ativação neutrônica²⁰ e cromatografia²¹. Embora estas técnicas ofereçam bons resultados, os métodos de espectrometria atômica são os mais populares e recomendados pelas normas.

Amostras, tais como óleos vegetais e biodiesel, possuem uma matriz complexa e podem apresentar diferentes viscosidades. Assim, a determinação de metais e não metais usando técnicas de espectrometria atômica requer uma especial atenção em relação aos procedimentos de preparo e introdução da amostra²². Neste contexto, a seguir serão apresentados procedimentos de preparo de amostra, já que este passo é determinante para o sucesso da análise instrumental. Apesar de já existirem alguns materiais de controle no mercado. Devido à falta de materiais de referência certificados (MRC) para elementos-traço em óleos comestíveis e biodiesel, os trabalhos publicados normalmente verificam a exatidão do método proposto por testes de adição e recuperação, no qual a substância (analito) em questão é adicionada às amostras e à recuperação é avaliada utilizando a melhor condição do método. O *National Institute of Standards and technology* (NIST) está oferecendo dois novos materiais de referência certificados para o biodiesel, porém para os metais em questão, no certificado estes valores de concentração são apenas informativos.

1.2.1

Decomposição por via seca e úmida

Os procedimentos de decomposição em análise de biodiesel são aplicados para eliminar totalmente ou parcialmente a matriz orgânica da amostra antes da sua análise. A simplificação da matriz diminui as chances de interferências durante as medições instrumentais e facilita a introdução da amostra no instrumento. Geralmente, a decomposição da matriz resulta em soluções aquosas que podem ser, em princípio, analisadas por qualquer técnica de espectrometria atômica e a curva de calibração pode ser realizada utilizando soluções de calibração aquosas^{23,24}.

Em geral, a decomposição da amostra para análise de elementos - traço pode ser realizada por via seca, assistida ou não por uma atmosfera rica em oxigênio, em ambiente aberto ou fechado. Por via úmida, faz-se uso de substâncias líquidas ou misturas para a decomposição da amostra, em sistemas abertos ou fechados, aquecidas por convecção ou microondas ou assistidas por radiação UV. Os sistemas fechados estão menos sujeitos à contaminação ou perdas, embora os sistemas abertos sejam mais simples e mais acessíveis. Toda a amostra deve ser criticamente avaliada, pois os sistemas fechados são mais rápidos, mas geralmente limitados a lotes com baixo número de amostras²⁵.

Oliveira *et al.*²⁶ utilizaram um procedimento de decomposição por via seca para a determinação de Na por espectrometria de emissão atômica com chama (F AES) em amostras de biodiesel de diferentes fontes: soja, girassol, algodão e sebo bovino. No preparo da amostra, cerca de 0,5 g foram pesados e aquecidos em mufla, a 250°C, durante 1 hora; em seguida, a temperatura foi aumentada até 600°C e o sistema assim mantidos por 4 h. Os resíduos foram dissolvidos e avolumados a 100 mL com HNO₃ 1,0% v/v. Dois métodos de calibração foram comparados: a calibração por adição de padrão e a calibração externa com soluções de calibração aquosas. Como não foram observadas diferenças significativas, a calibração externa foi escolhida. O limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) encontrados foram de 1,3 e 4,3 mg kg⁻¹ respectivamente. A precisão do método foi verificada por meio de testes de adição e recuperação e os resultados variaram de 93% a 110%.

1.2.2 Análise direta

A introdução direta de amostras de biodiesel para a determinação de metais - traço por métodos de espectrometria atômica geralmente apresenta problemas relacionados ao elevado caráter orgânico e à viscosidade da amostra, sendo eles (i) a produção de chama instável e muito rica de combustível no caso da espectrometria atômica com chama (F AAS ou F OES) (ii) variações nas taxas de aspiração e nebulização da amostra, se é utilizada aspiração pneumática, (iii) espalhamento excessivo da amostra na plataforma ou parede do forno, se é utilizada espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), (iv) a deposição de resíduos de carbono sobre os componentes da tocha e a desestabilização ou extinção do plasma nas técnicas de plasma (ICP-MS e ICP OES) e (v) interferências devidas a espécies poliatômicas a base de carbono em espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)²⁵. Tais problemas podem ser pelo menos parcialmente superados por meio de algumas estratégias, tais como (i) redução do fornecimento de acetileno ou o aumento do fluxo de ar nos métodos de chama, (ii) a utilização de sistemas de injeção em fluxo para introdução da amostra, (iii) a utilização de atomizadores de grafite aquecidos transversalmente o que evita a atomização nas paredes do tubo de grafite na maioria dos casos, e utilização do oxigênio como gás auxiliar (iv, v).

Apesar destas estratégias, apenas poucos trabalhos propõem a introdução direta do biodiesel, sem qualquer tratamento prévio. Lyra *et al.* realizaram a determinação direta de P em amostras de biodiesel por GF AAS²⁷. A análise também foi feita por meio de um acessório de amostragem sólida automática. As temperaturas de pirólise e atomização e a massa de modificador foram obtidas por otimização multivariada. As melhores condições foram 1300°C e 2700°C para a temperatura de pirólise e atomização, respectivamente, usando 30 µg de paládio como modificador químico. A exatidão foi confirmada pela análise de materiais de referência (ASTM BIOD0804 e ASTM LU0801) e por comparação com os resultados obtidos pelo procedimento da norma EN 14107²⁸. Após realizado o teste ANOVA, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os valores obtidos pelo método proposto e os resultados esperados ($p > 0,05$). As determinações foram realizadas utilizando soluções de calibração aquosas. Mais recentemente, a determinação direta de P em

biodiesel utilizando a espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) foi também relatada²⁹.

1.2.3 Diluição da amostra

Quando a amostra é diluída com um solvente apropriado (xileno, tolueno, querosene, etc.), os problemas associados à elevada viscosidade das amostras de biodiesel podem ser superados, facilitando desta maneira, a introdução da amostra no equipamento. O procedimento é vantajoso, pois é simples e rápido, apesar de que ainda devem ser consideradas as interferências no processo instrumental²⁵. No entanto, há certa desvantagem em termos de limites de detecção do procedimento analítico total, devido à diluição em si. As calibrações são freqüentemente realizadas com padrões de sais orgânicos solúveis disponíveis, mas a influência da especiação do analito deve ser considerada, uma vez que a diluição não leva o analito da amostra e soluções de calibração para a mesma forma.

Existem poucos trabalhos na literatura que tratam da determinação de metais em biodiesel usando a diluição. Na verdade, para a determinação de Na, K, Mg, Ca e P em biodiesel por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de absorção atômica (AAS), é recomendado, que a diluição da amostra seja realizada com xileno como pré-tratamento de acordo com a normas oficiais Brasileira, Americana e Européia^{8,9,28,30-34}. A técnica de ICP OES é recomendada a todos estes elementos, (dependendo da norma), enquanto a F AAS é recomendada apenas para a determinação de Na e K na norma Americana e Européia. No entanto, a NBR 15556:2008³⁴ também recomenda o uso de AAS para a determinação de Mg e Ca. A calibração é realizada com padrões organometálicos dissolvidos em óleo base, diluído em xileno, e cuidados devem ser tomados com a viscosidade das soluções de calibração e da amostra, o que é feito pela adição de uma concentração adequada de óleo mineral nas soluções de calibração. Estas normas demonstram vantagem por sua simplicidade e rapidez, baixo custo e limites de detecção suficientes, em conformidade com as atuais especificações para o biodiesel.

Woods *et al.*³⁵ realizaram a determinação direta de 29 elementos em amostras de biodiesel diluído em querosene por ICP-MS com célula de reação. A fim de diminuir o impacto da matriz orgânica no plasma, oxigênio foi utilizado

como gás auxiliar. Segundo os autores, a célula de reação octopolo foi eficaz para eliminar interferências espectrais e para permitir a medição de todos os analitos importantes. A calibração foi realizada com soluções de calibração preparadas com padrões organometálicos e utilizando padronização interna. Os limites de detecção obtidos ficaram na ordem de $\mu\text{g kg}^{-1}$ para quase todos os analitos, com exceção do S, cujo LD ficou na faixa de mg kg^{-1} .

Edlund *et al.*³⁶ determinaram Ca, Cl, K, Mg, Na e P em amostras de biodiesel por ICP OES, após diluição das amostras com querosene, na proporção de 1:4 m/m. A adição de oxigênio ao gás intermediário, gás exterior e de nebulização foi avaliada. A mistura de oxigênio-argônio apresentou efeito significativo sobre a redução do fundo apenas para o Na e K, e foi utilizado apenas para a determinação destes elementos. A calibração foi realizada utilizando óleo base diluído em querosene e padrões organometálicos. A exatidão do método foi investigada com três amostras de biodiesel, provenientes de um teste de proficiência, e boa concordância foi observada entre os valores encontrados e os valores de consenso para todos os elementos e amostras.

Santos *et al.*³⁷ relataram a determinação simultânea de Ca, K, Mg, Na e P em amostras de biodiesel por ICP OES, após uma simples diluição 10% (v/v) com etanol. O oxigênio foi adicionado como gás auxiliar para promover a eliminação de carbono no plasma. A calibração foi realizada em meio de etanol e Y foi utilizado como padrão interno, de modo a minimizar as interferências não espectrais. Os limites de detecção obtidos (LD), em $\mu\text{g g}^{-1}$, foram 0,1, 0,3, 0,005 e 0,03 para o Na, K, Mg e Ca, respectivamente, na amostra original.

1.2.4 Emulsificação e microemulsificação

A emulsificação pode ser definida como a dispersão de gotas de um líquido em outro imiscível, formando um sistema de duas fases que não é termodinamicamente estável, mas pode ser homogênea durante um período de tempo, se alguma energia mecânica (agitação manual ou tipo vórtex) é fornecida. Esta dispersão é geralmente facilitada pelo uso de surfactantes, que reduzem a tensão superficial, melhorando a interação entre as fases. Quando dois líquidos imiscíveis são agitados, é obtido uma macro emulsão, seja, por exemplo, de óleo em água (O/W, gotículas de óleo em água) ou água em óleo (W/O, gotículas de água em óleo). Em emulsões do tipo O/W, o óleo ou combustível está disperso na fase aquosa como micro gotas estabilizadas por

micelas ou vesículas que são geradas pela adição de um detergente. Quando devidamente estabilizada, a amostra de óleo emulsionada é compatível com a maioria das instrumentações analíticas, permitindo o uso de procedimentos de calibração simples, devido à minimização de interferências. O tipo de emulsão formada está relacionado, principalmente, com a formulação e, em menor grau com a razão O/W. Microemulsões, por outro lado, são formadas espontaneamente e são termodinamicamente estáveis, isto é, elas são estáveis por um período indefinido de tempo. Apenas uma pequena agitação é suficiente para formar as microemulsões se a proporção certa de componentes é misturada. No caso de microemulsões sem surfactante, um co-solvente permite a formação de um sistema homogêneo e estável por longo período, contendo a fase aquosa e orgânica³⁸. No caso dos sistemas O/W, soluções de calibração aquosas podem ser eventualmente usadas.

Diversos trabalhos têm demonstrado que as soluções formadas por metais - traço, dissolvidos em líquidos orgânicos, não têm estabilidade em longo período, e o sinal do analito é perdido em minutos ou horas, provavelmente devido à adsorção do analito na parede do recipiente. No entanto, também tem sido demonstrado que a estabilização em longo período pode ser obtida por meio da mistura de solução de amostra (solventes orgânicos puros e misturas) com solução de ácido nítrico e propanol-1, formando uma microemulsão³⁹.

Jesus *et al.*⁴⁰ propuseram um método para determinar Na e K em amostras de biodiesel e óleo vegetal por F AAS, após a formação da microemulsão água em óleo com butanol-1 e Triton X-100 como surfactante. Eles relataram que as soluções de calibração preparadas como recomendado pelas normas européias, isto é, por diluição de soluções de padrão organometálico em xileno na presença de óleo base, não são estáveis, após algumas horas, e os autores sugerem o mesmo tratamento da formação de microemulsão às soluções de calibração. Desta maneira, a estabilidade do sinal foi observado por até pelo menos 3 dias. A precisão do método foi avaliada por comparação com os resultados obtidos pelo método descrito nas normas européias (EN 14108⁸ e EN 14109⁹) e através do teste t pareado não foi observada diferença significativa, considerando o nível de confiança de 95%. Em outro trabalho⁴¹, os mesmos autores realizaram a determinação de Ca e Mg em amostras de biodiesel e óleos vegetais utilizando um procedimento semelhante: as amostras de biodiesel foram preparadas usando microemulsão de água em óleo, obtido por meio da mistura da amostra com Triton X-100 e 1,4 mol L⁻¹ de HNO₃ e o volume final foi completado com co-

surfactantes n-butanol ou n-pentanol. Foi observada estabilidade das microemulsões por um período de até cinco dias. A calibração foi realizada utilizando padrões inorgânicos aquosos emulsionados com óleo de base, como simulador de matriz e a exatidão foi avaliada por testes de recuperação e pela comparação com os resultados obtidos utilizando a norma brasileira 15556:2008³⁴, mostrando boa concordância.

Chaves *et al.*⁴² desenvolveram um método para determinação de Na e K em amostras de biodiesel por espectrometria de emissão óptica com chama (F OES), preparando a amostra como uma microemulsão através da mistura de 0,5 g de biodiesel, 0,4 mL de uma solução 5% m/v de ácido clorídrico e n -propanol, sem surfactante. As soluções de calibração foram preparadas também na forma de microemulsão, utilizando padrões inorgânicos e óleo base para a simulação da matriz. O sinal do analito foi estável durante o período avaliado de 250 min. A exatidão do método foi avaliada por testes de recuperação e comparação com resultados obtidos por ICP OES. As recuperações de cada analito em cinco amostras analisadas variaram de 83 a 120% e os valores de RSD, foram abaixo de 7%. A aspiração contínua levou a LDs de 0,08 (Na) e 0,09 $\mu\text{g g}^{-1}$ (K), enquanto a aspiração discreta para 0,10 e 0,06 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o Na e K, respectivamente.

Souza *et al.*⁴³ realizaram a determinação seqüencial de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na e P em biodiesel, por ICP OES axial e radial. As emulsões foram preparadas pela mistura das amostras de biodiesel com HNO₃ concentrado e Triton X-100. As amostras foram misturadas com agitação vórtex durante 2 min e o volume final completado com água. A calibração foi feita utilizando soluções de calibração aquosas contendo Triton X-100 e Y foi utilizado como padrão interno.

Emulsificação de amostra também foi utilizada por Chaves *et al.*⁴⁴ para a determinação de Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V em amostras de diesel e biodiesel por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado e vaporização eletrotérmica (ETV-ICP-MS). Neste caso, os autores obtiveram as emulsões através da mistura de 1,0 g da amostra (diesel ou biodiesel) com 2,0 ml de 5% (m/v) de Triton X-100 e 0,5 mL de HNO₃ concentrado. Essa mistura foi submetida a banho de ultra-som durante 5 min e, depois de ajustado o volume final com água, foi novamente sonicada por mais 15 min. No caso do material de referência de óleo combustível residual, uma massa entre 10-15 mg foi diluída com 1 mL de xileno (para a redução da viscosidade) e 2,0 ml de de Triton X-100 5% m/v, 0,5 mL de HNO₃ concentrado e água até 10 mL foram adicionados.

Paládio (1,0 µg) foi utilizado como transportador / modificador e a calibração foi realizada com soluções aquosas; Rh, 10 µg L⁻¹ foi utilizado como padrão interno. As condições otimizadas para a vaporização eletrotérmica (ETV) foram 800 e 2500°C, para temperaturas de pirólise e vaporização, respectivamente. A exatidão do método foi avaliada por meio da análise do material de referência (NIST 1634c - óleo combustível residual), da comparação com os resultados obtidos por GF AAS e também por testes de recuperação. De acordo com o teste t (95% de nível de confiança), os resultados foram concordantes e as recuperações variaram de 80 a 120%. Os valores de RSD foram inferiores a 20% e os limites de determinação foram de 0,5; 1,5; 3, 0,3; 0,5 e 1,0 ng g⁻¹ de Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V, respectivamente.

Silva *et al.*⁴⁵ utilizaram amostras preparadas na forma de microemulsão para avaliar diferentes técnicas de calibração e modificadores na determinação de Cd, Pb e Tl em amostras de biodiesel por GF AAS. As microemulsões foram preparadas pela mistura de 2 g de biodiesel, 1 mL de uma solução aquosa de HNO₃ 10% (v/v) e n-propanol até um volume final de 10 mL. Os resultados mostraram que a calibração com soluções de calibração aquosas não compensavam as interferências não espectrais, mas a calibração com a matriz correspondente levou a resultados precisos. Os resultados obtidos com a calibração por adição do analito ou calibração com simulação de matriz correspondente estavam de acordo, um indicativo da exatidão do procedimento proposto. O uso de padrões organometálicos não foi necessário e diferentes amostras foram analisadas.

Amais *et al.*⁴⁶ realizaram a determinação de Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti e Zn em biodiesel por ICP-MS e formação de microemulsão como preparo da amostra. As microemulsões foram obtidas pela mistura das amostras de biodiesel com Triton X-100, HNO₃ 20% v/v, e n-propanol. Uma mistura de argônio e oxigênio foi utilizada, devido ao alto conteúdo de carbono nas microemulsões. A calibração foi feita com soluções de sais inorgânicos em meio de microemulsão, utilizando óleo mineral para ajuste de viscosidade entre as microemulsões das amostras e de calibração.

Em um caso raro de análise de especiação neste tipo de amostra, Aranda *et al.*⁴⁷ determinaram o mercúrio inorgânico e total em amostras de biodiesel preparadas como emulsão de óleo em água por espectrometria de fluorescência atômica, pela técnica do vapor frio, utilizando injeção de fluxo (FI-CV-AFS). Irradiação UV foi usada para decompor espécies de mercúrio orgânico (ex:

MeHg⁺ e PhHg⁺, entre outros) para a determinação do conteúdo total de mercúrio. O teor de mercúrio inorgânico foi determinado sem o uso de radiação UV. Adição de analito foi a técnica de calibração utilizada e a exatidão do método foi avaliada mediante comparação com resultados de mercúrio total obtido após digestão das amostras assistida por microondas e por testes de recuperação.

Lobo *et al.*⁴⁸ utilizaram dois processos de pré-tratamento da amostra antes da análise de biodiesel por GF AAS, para a determinação de Cu, Pb, Ni e Cd. No primeiro método, as microemulsões foram preparadas pela mistura das amostras de biodiesel com o surfactante (Triton X-100) e o volume completado com HNO₃ 1% v/v. No segundo, foi realizado um procedimento de digestão com HNO₃ concentrado, H₂O₂ e V₂O₅ como catalisador. A mistura foi deixada em repouso por 24 h, e depois foi colocada em um sistema de microondas focalizado. Os resultados obtidos para Cu e Pb indicaram que as variáveis de preparação da amostra para a digestão por microondas focalizada foram as mais importantes para ambos analitos. Lyra *et al.* realizaram a determinação de Na, K, Ca e Mg em biodiesel preparado como microemulsão sem surfactante, por F AAS⁴⁹. A microemulsão foi obtida pela mistura de biodiesel, HNO₃ concentrado, uma solução supressora de ionização, e n-propanol. A resposta da estabilidade dos analitos foi satisfatória durante 15 dias. As curvas de calibração foram obtidas usando soluções de padrão organometálico em meio microemulsionado. Foram usados para confirmar a precisão e exatidão do procedimento proposto a comparação dos resultados obtidos com os esperados de uma norma independente brasileira 15556:2008³⁴ e testes de recuperação, respectivamente.

1.2.5 Extração

O processo de extração do analito da amostra é outra forma de preparação. Como vantagens, citam-se a separação do analito que pode ser efetuada pela agitação, durante alguns minutos, num funil de separação a partir de uma matriz mais complexa para uma mais simples, podendo ocorrer, ao mesmo tempo, uma pré-concentração. O procedimento de extração é, em geral, realizado com ácidos inorgânicos e, em seguida, por uma etapa de centrifugação. A eficiência da extração líquido - líquido depende do extrator utilizado, bem como das condições de extração. Sonicação⁵⁰ vem ganhando crescente aceitação para auxiliar procedimentos de extração para a análise de

elementos traços nestas amostras, como alternativa a outros tipos bem estabelecidos de energia, como aquecimento convectivo e aquecimento assistido por microondas.