

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Reagentes, soluções e amostras

As amostras de biodiesel analisadas neste trabalho foram fornecidas pelo CENPES/PETROBRAS e foram obtidas originalmente de diferentes fontes de oleaginosas; são elas:

- ✓ Algodão (*Gossypium hirsutum L.*)
- ✓ Girassol (*Helianthus annuus*)
- ✓ Pequi (*Caryocar brasiliense Cambess*)
- ✓ Soja (*Glycine max L.*)

Para avaliação da exatidão do método, foram analisadas amostras certificadas de biodiesel NIST 2772 (B100 biodiesel de óleo de soja) e NIST 2773 (B100 biodiesel de origem animal) adquiridos do NIST (USA). Porém, esse MRC de biodiesel, apesar de único no mercado, não tem concentrações certificadas da grande maioria dos elementos, inclusive K, Mg e P.

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. A água ultra-pura, com resistividade mínima de 18,2 M $\Omega$  cm, foi obtida em um sistema de purificação Milli-Q (Millipore, EUA). O ácido nítrico 65% P.A., fornecido pela MERCK, foi submetido a um processo de destilação abaixo do ponto de ebulição, e usado na decomposição das amostras, devido a sua eficiência na redução de matrizes orgânicas e por gerar o mínimo de interferência espectral nas análises por espectrometria de massas. Os solventes orgânicos utilizados na diluição das amostras de biodiesel e preparação das curvas de calibração para análise por ICP OES foram: etanol P.A. (VETEC, Brasil), querosene percolado (QAV) (Proquimios, Brasil) e xileno P.A. (VETEC, Brasil). Óleo mineral sob a

forma de vaselina líquida (VETEC, Brasil) foi usado no preparo das soluções de calibração nas análises com diluição em xileno e QAV.

Para as soluções de calibração, foram usadas soluções padrão de sais orgânicos de Ag, Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Si, Sn, Ti, V, Zn – MERCK III (MERCK, Alemanha), com concentração nominal de 900 mg kg<sup>-1</sup>, solução padrão de K orgânico (Conostan, Canadá), com concentração nominal de 5000 mg kg<sup>-1</sup>, solução padrão Conostan S21 constituída por sais orgânicos de Ag, Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Si, Sn, Ti, V e Zn, todos em concentração de 1000 mg kg<sup>-1</sup>, solução padrão aquosa PE-29 contendo Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Ni, Pb, Na, Ag, Sr, Tl e Zn (PERKIN ELMER, Brasil) e soluções padrão monoelementares aquosas de K, P, Mo, Sn, Ti e V (MERCK, Alemanha).

Argônio 99,996% e oxigênio 99% foram fornecidos pela Linde Gases (Rio de Janeiro, Brasil).

## **3.2. Equipamentos**

### **3.2.1. ICP OES**

Todas as medidas realizadas na técnica de ICP OES foram obtidas com um espectrômetro *OPTIMA 4300DV* (Figura 16) fabricado pela Perkin Elmer. O equipamento possui uma bomba peristáltica de 8 passos acoplada, que permite a injeção contínua e estável de amostra no plasma.



**Figura 16 ICP OES – Labspectro PUC-Rio**

O conjunto de nebulizador, câmara de nebulização e injetor foram específicos para cada determinação realizada nesse trabalho e, portanto serão mencionados nos procedimentos analíticos utilizados.

O equipamento também possui um sistema óptico com capacidade de realizar medidas sequenciais muito rápidas e com cobertura total para uma faixa de comprimento de ondas que vai do ultravioleta ao visível. O policromador é do tipo *Echelle* de alta energia, com uma rede com 140 mm e 79 linhas por milímetro, acoplada a um prisma de quartzo fundido que o conferem uma resolução de 0,006 nm a 200 nm. Visando a redução de perdas por difração das emissões nos comprimentos de onda selecionados, todo o conjunto de sistema óptico-detector está isolado em uma câmara purgada sistematicamente e pressurizada com argônio.

O Optima 4300DV conta com um detector de estado sólido patenteado pelo fabricante, que contém 235 pontos de identificação e com mais de 6000 pixels em um chip de silício com dimensões aproximadas 13 x 19 mm (Manual do Optima 4300 DV). Esse sistema de detecção permite ao equipamento (através do *software*) reduzir o ruído na região vizinha às linhas de interesse, resultando, conseqüentemente, em espectros muito mais limpos. Seu gerador de radiofrequência opera a 40 MHz de frequência nominal e o sistema de ignição é totalmente automático e controlado por software. O modelo usado neste trabalho também conta com o sistema *Dual View* que dá nome ao modelo (DV) e que

permite leituras nos dois modos de vista: radial e axial, em relação ao eixo do plasma, que podem permitir, por exemplo, ganhos significativos nos parâmetros de mérito (Trevizan e Nobrega, 2007).

### 3.2.2. ICP-MS DRC II

As determinações realizadas em ICP-MS foram feitas em um espectrômetro com célula de Colisão/Reação Dinâmica modelo DRC II, da Perkin Elmer (Figura 17), equipado com uma bomba peristáltica de 8 passos que permite estabilidade no processo de injeção da amostra.



**Figura 17 DRC-ICP-MS – Labspectro / PUC-Rio**

O conjunto nebulizador, câmara de nebulização e injetor será descrito no método utilizado. Lente iônica, célula de reação dinâmica (patenteada pelo fabricante), elemento separador de massas (quadrupolo) e sistema de detecção

completam a configuração do equipamento. O *dual detector* simultâneo permite ao analista determinações com uma faixa muito grande de concentrações que pode ir do  $\text{ng kg}^{-1}$  ao  $\text{mg kg}^{-1}$ .

Apesar de toda tecnologia envolvida nas células de reação dinâmicas, da disponibilidade dessa tecnologia nas dependências da PUC e de todo o auxílio que esse equipamento poderia inferir às determinações realizadas pelo presente trabalho, a metodologia de determinação de metais em biodiesel após processo de decomposição proposta não fez uso da célula de reação. O equipamento permite uma configuração na qual a célula não é utilizada, permanecendo somente sob alto vácuo, e, portanto, sem função específica.

### 3.2.3. Forno de micro-ondas

O equipamento utilizado para a decomposição ácida das amostras, que foram analisadas por ICP-MS, foi o forno de micro-ondas de modelo SPEEDWAVE FOUR fabricado pela Berghoff (Figura 18).



Figura 18 Forno de micro-ondas Speedwave Four – Labspectro / PUC-Rio

O manual do equipamento sugere metodologias de abertura de uma ampla variedade de amostras, como, por exemplo, óleo combustível, óleo lubrificante e óleos vegetais, que foram adaptadas para proceder à decomposição das amostras de biodiesel.

### 3.3. Metodologias

#### 3.3.1. ICP-MS: Decomposição ácida das amostras em forno de micro-ondas

Como não foram encontrados métodos para decomposição ácida de biodiesel na literatura, partiu-se do método sugerido no manual do forno de micro-ondas para amostras de óleo vegetal. Foram realizados vários testes, incluindo a temperatura, o tempo e a potência do magnéton, como variáveis do planejamento estatístico (Ferreira, Bruns *et al.*, 2007) e o resultado foi o procedimento de abertura apresentado na Tabela 4.

**Tabela 4 Programa desenvolvido para a decomposição ácida das amostras de biodiesel em micro-ondas.**

Passo	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Rampa (min)	Espera (min)	Potência (%)
1	160	50	5	15	90
2	210	50	5	15	90
3	50	0	1	10	0
4	50	0	1	10	0
5	50	0	1	1	0

O procedimento de decomposição ácida consistiu da pesagem de aproximadamente 0,8 g de biodiesel e adição de 10 mL de HNO<sub>3</sub> subdestilado aos frascos do forno de micro-ondas, que foram submetidos ao programa descrito na Tabela 4. A solução resultante desse processo, com aproximadamente 7,5 mL, era transferida quantitativamente, com água, para um

tubo de polipropileno de 50 mL de volume nominal, cuidando para não ultrapassar o volume de 20 mL. Os frascos de polipropileno eram colocados em um suporte de alumínio sobre uma chapa de aquecimento a 100 °C, até que o volume tivesse sido reduzido a aproximadamente 1 mL. Essa solução era diluída com água até 10 mL para ser analisada em ICP-MS. Dessa maneira, as interferências provenientes do excesso de HNO<sub>3</sub> são reduzidas, uma vez que a sua concentração na amostra final é da ordem de 5% (v/v).

O parâmetro de avaliação da abertura das amostras de biodiesel foi sugerido na literatura por Gouveia (2006), através da determinação do teor de carbono residual presente em amostras oriundas de processo de decomposição ácida, por ICP OES, no comprimento de onda de 193.026 nm, referente à emissão do carbono, a partir de uma curva de calibração construída com uréia. Levando-se em consideração que o teor de carbono em uréia é igual a 20%, constrói-se uma solução intermediária de 1% m/m de uréia em HNO<sub>3</sub> 1% v/v e prepara-se a curva de calibração com concentrações variando de 50 a 1000 mg kg<sup>-1</sup> de carbono.

### 3.3.2. Medida das amostras de biodiesel por ICP-MS

As condições experimentais inseridas no equipamento de ICP-MS, para a determinação de metais realizada nas amostras de biodiesel decompostas em forno de micro-ondas, estão descritas na Tabela 5.

**Tabela 5 Condições experimentais para determinação de metais em biodiesel via ICP-MS**

Argônio Principal	15 L min <sup>-1</sup>
Argônio Auxiliar	1 L min <sup>-1</sup>
Argônio Nebulização	1,06 L min <sup>-1</sup>
Potência	1250 W
Taxa de Aspiração	1 mL min <sup>-1</sup>
Vazão de Oxigênio	-
Injetor	Quartzo 1 mm

Nebulizador	Meinhard tipo K
Câmara de Nebulização	Ciclônica com canal central
Mangueiras de transporte	Preta/preta

A determinação de metais realizada nas amostras de biodiesel provenientes do processo de decomposição segue o seguinte procedimento: foram preparadas as soluções de calibração de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80 e 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , a partir de padrões inorgânicos, em tubos de polipropileno. Ródio foi utilizado como padrão interno adicionado em linha às soluções, antes de ser introduzido no nebulizador. Os isótopos selecionados para as medidas foram  $^{107}\text{Ag}$ ,  $^{109}\text{Ag}$ ,  $^{27}\text{Al}$ ,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{138}\text{Ba}$ ,  $^{209}\text{Bi}$ ,  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{114}\text{Cd}$ ,  $^{59}\text{Co}$ ,  $^{53}\text{Cr}$ ,  $^{65}\text{Cu}$ ,  $^{56}\text{Fe}$ ,  $^{57}\text{Fe}$ ,  $^{69}\text{Ga}$ ,  $^{115}\text{In}$ ,  $^{39}\text{K}$ ,  $^7\text{Li}$ ,  $^{24}\text{Mg}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{98}\text{Mo}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{58}\text{Ni}$ ,  $^{60}\text{Ni}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{208}\text{Pb}$ ,  $^{103}\text{Rh}$ ,  $^{118}\text{Sn}$ ,  $^{88}\text{Sr}$ ,  $^{47}\text{Ti}$ ,  $^{48}\text{Ti}$ ,  $^{205}\text{Tl}$ ,  $^{51}\text{V}$  e  $^{66}\text{Zn}$ .

### 3.3.3. Medida das amostras de biodiesel por ICP-OES

Os métodos empregando ICP OES foram adaptados de métodos propostos na literatura para determinação dos principais elementos controlados pela legislação para o biodiesel (Na, K, Ca, Mg e P). Porém, como existe muita interferência de compostos de carbono formados nas condições do plasma sobre o Na, por exemplo, normalmente são utilizadas condições experimentais do equipamento de ICP OES diferentes para as determinações de Na e K, e para as determinações de Ca, Mg e P. Portanto, foram otimizados parâmetros instrumentais para estabelecer condições de compromisso que permitam a determinação, sob uma única configuração do equipamento, de todos os 5 principais elementos, e também de outros elementos de interesse. Condição de compromisso essa que permite ganho de tempo de análise considerável, uma vez que não há a necessidade de alterar a configuração do equipamento em função do analito que está sendo determinado.

A Tabela 6 apresenta as condições de compromisso utilizadas para as determinações realizadas em ICP OES. O preparo das amostras será discutido em cada capítulo.

**Tabela 6 Configurações do ICP OES para análise de biodiesel após diluição em solvente orgânico.**

	<b>ETANOL</b>	<b>QAV</b>	<b>XILENO</b>
<b>Argônio Principal (L min<sup>-1</sup>)</b>	15	15	15
<b>Argônio Auxiliar (L min<sup>-1</sup>)</b>	0,2	0,2	1
<b>Argônio Nebulização (L min<sup>-1</sup>)</b>	0,3	0,35	0,35
<b>Potência (W)</b>	1500	1500	1500
<b>Taxa de Aspiração (mL min<sup>-1</sup>)</b>	0,2	0,6	0,5
<b>Vazão de Oxigênio (mL min<sup>-1</sup>)</b>	15	30	20
<b>Injetor</b>	Quartzo cônico 1 mm	Quartzo 1 mm	Quartzo cônico 1 mm
<b>Nebulizador</b>	Meinhard tipo K	Meinhard tipo K	Meinhard tipo K
<b>Câmara de Nebulização</b>	Twister para orgânicos com porta auxiliar	Twister	Twister para orgânicos com porta auxiliar
<b>Mangueiras de transporte</b>	Laranja/azul (VITON)	Amarela/laranja (VITON)	Amarela/laranja (VITON)

A Tabela 7 apresenta todas as linhas atômicas utilizadas na determinação dos elementos presentes nas soluções preparadas com os padrões Conostan S21 e Merck III.

**Tabela 7 Linhas espectrais utilizadas nas determinações realizadas em biodiesel após diluição em etanol, QAV e xileno.**

<b>Elemento</b>	<b>λ (nm)</b>	<b>Elemento</b>	<b>λ (nm)</b>
Ag	328.068	Mo	202.031
Al	308.215	Na	589.592
B	249.772	Na axial	589,592
Ba	455.403	Ni	231.604
Ca	393.366	P axial	213.617
Cd	214.440	Pb	220.353

Cr	267.716	Si	251.611
Cu	324.752	Sn	283.998
Fe	259.939	Ti	336.121
K axial	766.490	V	309.310
Mg	279.553	Zn	213.857
Mn	257.610		

### 3.3.3.1.

#### ICP OES: Diluição em etanol

A literatura reporta um procedimento analítico simples e rápido para determinação simultânea dos metais Ca, P, Mg, K e Na em biodiesel por ICP OES após diluição direta da amostra em etanol e usando ítrio (Y) como padrão interno (Dos Santos, Herrmann *et al.*, 2007). As condições experimentais propostas por Herrmann e colaboradores não puderam ser exatamente reproduzidas nesse trabalho, pois o método original foi desenvolvido em um ICP OES fabricado pela VARIAN e a montagem dos equipamentos insere diferenças sutis, mas relevantes do ponto de vista operacional. Portanto, as condições experimentais apresentadas na Tabela 6 foram modificadas a partir do trabalho original, mas com o objetivo de melhor se adequar ao equipamento da Perkin Elmer e poderem ser comparados os parâmetros de mérito obtidos com os dois equipamentos.

O argônio empregado como fluxo de gás adicional (*Sheath gas*) teve a vazão controlada por um rotâmetro (COLE PORTER) e foi introduzido no sistema através do dispositivo de PTFE construído na PUC e que acopla a câmara de nebulização à tocha. O oxigênio foi introduzido no sistema através da porta auxiliar existente na câmara de nebulização e a vazão também controlada por um rotâmetro fornecido por PORTER.

A solução padrão utilizada na preparação da curva, Conostan S21, constitui-se de sais orgânicos de vários metais em óleo e não é solúvel em etanol. Portanto, os padrões intermediários foram preparados em xileno e, a partir daí, soluções de calibração foram construídas, diluindo os intermediários em etanol, para concentrações iguais de todos os analitos, entre  $1,0 \mu\text{g kg}^{-1}$  e  $1,0 \text{mg kg}^{-1}$ . Cada curva de calibração foi construída com pelo menos 5 pontos, empregando as soluções com concentrações dentro do intervalo adequado, para cada analito. A todas as soluções, foi adicionado  $1 \text{mg kg}^{-1}$  do padrão interno Y.

As amostras foram preparadas pesando em balança analítica um volume de 1 mL em tubos de polipropileno de 10 mL. Depois de adicionada a solução de Y, o volume era completado com etanol até 10 mL, resultando em soluções com

aproximadamente  $0,85 \text{ g mL}^{-1}$  de amostra, considerando a densidade média das amostras de biodiesel utilizadas nesse trabalho. As amostras ainda eram diluídas 10 vezes antes de serem analisadas por ICP OES.

### 3.3.3.2. ICP OES: Diluição em QAV

Na determinação de Ca, Cl, K, Mg, Na e P em biodiesel após diluição direta em QAV e utilizando a técnica de ICP OES, Edlund e colaboradores testaram o efeito da adição de oxigênio em diferentes pontos de entrada de gás secundário do ICP OES (nos fluxos de argônio principal, intermediário e de nebulização), visando gerar um plasma mais frio e avaliar o seu efeito. As medidas foram realizadas em um equipamento de ICP OES com detectores de estado sólido e visão radial (Edlund, Visser *et al.*, 2002).

Novamente, a fim de determinar a viabilidade e o desempenho do método proposto para análise multielementar de biodiesel, as condições operacionais foram ajustadas, devido às diferenças existentes nas configurações dos dois equipamentos, a partir dos valores utilizados no artigo citado. As condições empregadas no OPTIMA 4300DV nas medidas de soluções em QAV estão apresentadas na Tabela 6.

A metodologia que empregou QAV como solvente de diluição das amostras de interesse não utiliza padrão interno em suas medições, porém, para minimizar os problemas decorrentes das diferenças de viscosidade das amostras, os autores preferiram construir as soluções da curva de calibração com viscosidade semelhante à viscosidade das amostras de biodiesel diluídas 10 vezes com o solvente. Para tal, prepara-se uma solução 10% (v/v) de óleo mineral em QAV e a utiliza como solvente de diluição dos padrões da curva de calibração. Assim, a curva de calibração empregada nesse trabalho foi construída a partir dos padrões intermediários S21 e K em solução 10% (v/v) de óleo mineral em QAV, com concentrações de 0,5; 1,0; 2,0 e 5,0  $\text{mg kg}^{-1}$ .

O branco para esse experimento foi a solução de 10% v/v de óleo mineral em QAV.

### 3.3.3.3. ICP OES: Diluição em xileno

A determinação de metais em biodiesel via ICP OES após diluição direta em xileno é o método empregado na NBR 15553, norma reconhecida pela ANP para a determinação de Na, K, Ca, Mg e P em biodiesel. A norma indica em 1:10 a proporção da diluição do biodiesel em xileno.

Essa determinação é realizada rotineiramente, por ICP OES, no Labspectro (Laboratório de análises espectrométricas da PUC-Rio), separando-se os analitos em dois grupos, de acordo com as condições operacionais requeridas e realizando a análise utilizando dois métodos diferentes. As condições dos métodos são apresentadas na Tabela 8.

**Tabela 8– Condições operacionais empregadas na análise de biodiesel por ICP OES no Laboratório de análise espectrométrica da PUC-Rio, seguindo a NBR 15553.**

	<b>Na e K</b>	<b>Ca, Mg e P</b>
Argônio Principal (L min <sup>-1</sup> )	15	15
Argônio Auxiliar (L min <sup>-1</sup> )	1	1
Argônio Nebulização (L min <sup>-1</sup> )	0,35	0,35
Radiofrequência (Watts)	1500	1500
Taxa de Aspiração (mL min <sup>-1</sup> )	0,6	0,6
Vazão de Oxigênio (mL min <sup>-1</sup> )	0,2	-
Injetor	Quartzo 1,8 mm	Quartzo 1,8 mm
Nebulizador	Meinhard Tipo K	Meinhard Tipo K
Câmara de Nebulização	Twister para orgânicos com porta auxiliar	Twister para orgânicos
Mangueiras de transporte	Preta/preta	Preta/preta

O oxigênio, quando requerido na análise, foi adicionado na porta auxiliar da câmara de nebulização. A compensação da viscosidade foi feita construindo a curva de calibração com uma solução de óleo mineral em xileno 10% (v/v) e com adição do padrão interno, para concentrações de 0,5; 1,0; 2,0 e 5,0 mg kg<sup>-1</sup>

de todos os elementos. O branco para esse experimento foi a solução de 10% v/v de óleo mineral em xileno.

### 3.3.4. Parâmetros de mérito

Os parâmetros de mérito servem para averiguar a qualidade das medições realizadas por um método recém desenvolvido ou modificado. Dados analíticos não confiáveis ou resultados errôneos podem prejudicar a tomada de decisão e causar, inclusive, prejuízos financeiros. O processo de averiguação da qualidade do método é conhecido como validação e baseia-se nos parâmetros de mérito que englobam: limite de detecção, sensibilidade, linearidade, robustez e intervalo de confiança, dentre outros.

### 3.3.5. Limite de detecção (LD)

Um dos fatores a ser avaliado é o limite de detecção, que é a quantidade mínima de analito que o equipamento consegue determinar sob determinadas condições em uma determinada matriz. É um dado estritamente prático, mas que tem servido de base para muitos trabalhos há muito tempo.

Os limites de detecção são geralmente calculados com base nos valores a seguir (Mermet e Poussel, 1995):

$$LD = \frac{3 \times \sigma}{S} \quad \text{Eq. 4}$$

Onde:

LD – Limite de detecção obtido na mesma unidade de concentração de  $\alpha$

$\sigma$  - Desvio Padrão do Branco (valor determinado a partir de 10 medidas do sinal do branco)

S - Sensibilidade da curva, em contagens por segundo (cps) / mg kg<sup>-1</sup>

O cálculo do limite de detecção leva em consideração então, dois parâmetros de suma importância: o desvio padrão das leituras realizadas no branco e a sensibilidade da linha escolhida para o analito em questão.

### **3.3.6. Sensibilidade**

É a resposta dada pelo equipamento para a leitura de uma concentração conhecida do analito. Tem, portanto, sua unidade expressa sob a forma de cps por unidade de concentração, geralmente em  $\text{mg kg}^{-1}$  para ICP OES e  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para ICP-MS (Fernando, 1982).

### **3.3.7. Linearidade - coeficiente de correção ( $R^2$ )**

Representada pela capacidade do método de fornecer respostas diretamente proporcionais à concentração do elemento de interesse, dentro de uma faixa de concentração pré-determinada, a linearidade é, geralmente, expressa sob a forma do coeficiente de correlação extraído da regressão linear calculada para o método (Mermet e Poussel, 1995).

### **3.3.8. Robustez**

É a medida da suscetibilidade do método frente a pequenas variações nas condições experimentais, como temperatura, umidade e analista dentre outros fatores (Mermet e Poussel, 1995).

### 3.3.9. Intervalo de confiança (IC)

É a incerteza da medida realizada expressa através da equação 5 (Fernando, 1982).

$$\text{I.C.} = \frac{t \times \sigma}{n^{1/2}} \quad \text{Eq. 5}$$

Onde:

I.C. – Intervalo de confiança da medida

$t$  –  $t$  de *Student* ao nível de confiança desejável (nesse caso, 95%) e graus de liberdade em função do número de medidas (para todas as medidas realizadas em ICP-MS utilizou-se o  $t$  de *Student* igual a 3,18 uma vez que trabalhou-se com 95% de confiança e 2 graus de liberdade).

$\sigma$  - Desvio padrão da medida

$n$  – tamanho da amostra (número de replicatas)