



Vitor Cornaqui Pereira Marrocos

**Avaliação de estratégias analíticas para a
determinação elementar em biodiesel por
espectrometria de emissão óptica com plasma
indutivamente acoplado (ICP OES).**

Tese de Doutorado

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Química da PUC-Rio como requisito parcial
para obtenção do grau de Doutor em Química.

Orientadora: Prof.^a Tatiana D. Saint Pierre

Coorientador: Prof. Jefferson R. de Souza

Rio de Janeiro

Março de 2024



Vitor Cornaqui Pereira Marrocos

Avaliação de estratégias analíticas para a determinação elementar em biodiesel por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo.

Prof.^a Tatiana Dillenburg Saint Pierre
Orientadora
Departamento de Química - PUC-Rio

Prof. Jefferson R. de Souza
Coorientador
UENF

Prof. Ricardo Queiroz Aucélio
Departamento de Química – PUC-Rio

Prof. Alex Virgílio
CENA – USP

Prof. Jefferson Santos de Gois
UERJ

Prof. Fábio Grandis Lepri
UFF

Prof. Carlos German Massone
Departamento de Química – PUC-Rio

Rio de Janeiro, 25 de março de 2024

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem a autorização da universidade, do autor e do orientador.

Vitor Cornaqui Pereira Marrocos

Formou-se em Técnico em Química pela Escola Técnica Rezende-Rammel em 2010. Graduou-se em Química com Orientação Tecnológica pela Fundação Técnico-Educacional Souza Marques (FTESM) em 2016 e obteve o título de Mestre em Química pela Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio) em 2019. Desenvolveu sua carreira atuando, em sua maioria, na área de análises físico-químicas de diversos tipos de amostras, incluindo determinação elementar por técnicas de espectrometria atômica e no desenvolvimento do projeto nuclear da Marinha do Brasil. Atualmente, ocupa cargo em laboratório voltado para controle de qualidade de biodiesel.

Ficha Catalográfica

Marrocos, Vitor Cornaqui Pereira

Avaliação de estratégias analíticas para determinação elementar em biodiesel por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) / Vitor Cornaqui Pereira Marrocos; orientadora: Tatiana Dillenburg Saint Pierre; coorientador: Jefferson R. de Souza. – 2024.

105 f. ; 30 cm

Tese (doutorado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2024.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Biodiesel. 3. Determinação elementar. 4. SDA. 5. MEC. 6. ICP OES. I. Saint'Pierre, Tatiana Dillenburg. II. Souza, Jefferson R. de. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. IV. Título.

CDD: 540

Para meus pais, Sonia e Claudio, e
todos aqueles que acreditaram que
este vitorioso dia chegaria.

Agradecimentos

À minha orientadora Prof.^a Tatiana Dillenburg Saint Pierre e ao meu coorientador Prof. Jefferson Rodrigues de Souza, por todo suporte, estímulo e parceria para a realização deste trabalho.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) – pelo financiamento deste trabalho através da concessão de bolsa de fomento.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Central Analítica Pe. Leopoldo Hainberger e à PUC-Rio, pelos auxílios concedidos, estrutura e materiais, sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

Aos professores da Comissão examinadora.

A Douglas Oliveira, Maurício Dupim, Diogo Gomes e Dr. Rodrigo Gonçalves, pelo suporte técnico durante o desenvolvimento deste trabalho, e a todos os professores e funcionários do Departamento, pelos ensinamentos e pela ajuda fundamental para conclusão deste doutorado.

Aos meus pais, por todo apoio e suporte incondicional dado ao longo da minha formação pessoal e acadêmica. Sem eles, nada disso estaria sendo possível.

Aos meus padrinhos, por todos os ensinamentos transmitidos e por sempre terem cuidado de mim como um filho.

Aos meus grandes amigos, Ricardo Maia, Thales Queiroz, Matheus Pierucci, Felipe da Rocha, Leonardo Tosto, Diego Carvalho, Rodrigo Marques, Lucas Cavaliere, Stephannie Martins, Giuly Fernandes, entre tantos outros, por sempre estarem ao meu lado e mostrarem o real significado da amizade.

A meu amigo Gustavo Barud (*in memoriam*), por ter sido um exemplo de perseverança para todos nós, além de uma inspiração na vida acadêmica.

Resumo

Marrocos, Vitor Cornaqui Pereira; Saint Pierre, Tatiana Dillenburg; De Souza, Jefferson Rodrigues. **Avaliação de estratégias analíticas para a determinação elementar em biodiesel por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES)**. Rio de Janeiro, 2024. 105 p. Tese de Doutorado – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

A introdução de solventes orgânicos em espectrômetros com plasma indutivamente acoplado (ICP) representa uma limitação à confiabilidade dos resultados pela incidência de efeitos de matriz. Estratégias de calibração como *Standard Dilution Analysis* (SDA) e *Multi-energy Calibration* (MEC) propõem contornar as interferências de matriz, reduzindo o tempo de análise, o consumo de reagentes e a geração de resíduos. Na SDA com dois padrões internos (IS), a aquisição do sinal é feita ao longo do tempo durante a mistura de duas soluções analíticas: uma formada por 50 % de amostra + 50 % de solução-padrão contendo os analitos e um IS (S1) e outra formada por 50 % de amostra + 50 % do branco e um segundo IS (S2). Já na calibração por MEC, que também utiliza duas soluções similares à SDA, porém, sem IS, mede-se simultaneamente sinais dos elementos em diferentes comprimentos de onda. Estes métodos foram aplicados para a determinação de Ca, K, Mg, Na, P, Si e S em amostras de biodiesel diluídas em xileno, por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e comparados com as calibrações por adição de analito (SA) e padronização interna (IS). Os limites de quantificação não apresentaram diferença significativa em relação aos métodos tradicionais, variando de 0,05 mg kg⁻¹ (Ca) a 1,4 mg kg⁻¹ (Na) para SDA e de 0,01 mg kg⁻¹ (Mg) a 0,98 mg kg⁻¹ (P) para MEC. A veracidade foi verificada através de testes de recuperação em amostras de biodiesel e no material padrão de referência NIST 1084a (*Wear metals in lubricating oil*), com recuperações de 101 ± 6 % para SDA e de 108 ± 8 % para MEC. A estabilidade do sinal analítico a longo prazo e os menores impactos econômicos e ambientais fazem a SDA e a MEC interessantes para a determinação elementar em amostras de biodiesel e óleo diluídas em xileno.

Palavras-chave Biodiesel; Determinação elementar; SDA; MEC; ICP OES

Abstract

Marrocos, Vitor Cornaqui Pereira; Saint Pierre, Tatiana Dillenburg (advisor); De Souza, Jefferson Rodrigues (co-advisor). **Evaluation of analytical strategies for elemental determination in biodiesel by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES)**. Rio de Janeiro, 2024. 105 p. Tese de Doutorado – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Direct introduction of organic solvents into inductively coupled plasma (ICP) spectrometers represents a limitation to reliability of the results due to matrix effects. Different calibration methods, such as Standard Dilution Analysis (SDA) and Multi-energy Calibration (MEC) have been proposed to overcome this kind of interference, reducing analysis time, reagent consumption and waste generation. In SDA with two internal standards (IS), the signal is acquired over time during the mixing process of two analytical solutions: one consisting of 50 % of sample + 50 % of analytical standards and IS1 (S1) and the other consisting of 50 % of sample + 50 % of blank solution and IS2 (S2). In MEC calibration, which also uses two solutions similarly to SDA, but without IS, signals from the elements are measured simultaneously at different wavelengths. These methods were applied to the determination of Ca, K, Mg, Na, P, Si and S in biodiesel samples diluted in xylene by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) and compared to calibrations by standard addition (SA) and internal standardization (IS). Limits of quantification showed no statistically significant difference compared to the traditional methods, whereas the limits found by SDA ranged from 0.05 mg kg⁻¹ (Ca) to 1.4 mg kg⁻¹ (Na) for SDA, and from 0.01 mg kg⁻¹ (Mg) to 0.98 mg kg⁻¹ (P) for MEC. The trueness was verified through recovery tests on biodiesel samples and the standard reference material NIST 1084a (Wear metals in lubricating oil), with recoveries of 101 ± 6 % for SDA and 108 ± 8 % for MEC. Long-term signal stability and lower economic and environmental impacts places SDA and MEC as an interesting strategy for elemental determination in biodiesel and oil samples diluted in xylene.

Keywords Biodiesel; Elemental determination; SDA; MEC; ICP OES

Sumário

1	Introdução	17
1.1	Objetivos	19
1.1.1	Objetivo Geral	19
1.1.2	Objetivos Específicos	19
2	Fundamentação Teórica	21
2.1	Combustíveis e Biocombustíveis	21
2.2	Controle de Qualidade do Biodiesel	24
2.3	Metodologias para determinação elementar em matrizes orgânicas	27
2.4	Métodos de calibração para determinação elementar em amostras orgânicas por ICP OES	34
2.4.1	Standard Dilution Analysis (SDA)	35
2.4.2	Multi-energy calibration (MEC)	40
3	Metodologia	45
3.1	Materiais e Reagentes	45
3.2	Instrumentação	46
3.3	Amostras de biodiesel	48
3.4	Estratégias de calibração	49
3.4.1	Adição de analito (SA)	49
3.4.2	Padronização interna (IS)	49
3.4.3	Standard Dilution Analysis (SDA)	50
3.4.4	Multi-energy Calibration (MEC)	50
3.5	Limites de detecção e quantificação	51
4	Resultados e Discussão	53
4.1	Desenvolvimento de método para determinação simultânea de Na, K, Ca, Mg, P, Si e S em amostra de biodiesel por ICP OES	53

4.2	Avaliação do emprego do sistema de resfriamento IsoMist™	62
4.3	Avaliação dos diferentes métodos de calibração	64
4.3.1	Standard Dilution Analysis	64
4.3.2	Multi-energy Calibration	68
4.4	Comparação com métodos tradicionais de calibração	71
4.4.1	Parâmetros de mérito	72
4.4.2	Estabilidade do sinal analítico	79
5	Conclusão	82
6	Referências bibliográficas	84
	Anexo I	102
	Anexo II	104
	Anexo III	105

Lista de figuras

Figura 1 – Curva de SDA tradicional (a) e respectiva curva analítica (b) para determinação elementar em amostra de biodiesel fortificada com 5 mg kg^{-1} , empregando 1 mg kg^{-1} de padrão interno (IS), por ICP OES (Figura do autor). 37

Figura 2 – Curvas analíticas obtidas a partir do emprego da calibração por SDA com dois padrões internos para determinação elementar em amostra de biodiesel fortificada com 5 mg kg^{-1} , empregando 1 mg kg^{-1} de ambos padrões internos, por ICP OES (Figura do autor). 39

Figura 3 - Curva analítica obtida a partir do emprego da calibração por MEC para determinação elementar em amostra de biodiesel fortificada com 5 mg kg^{-1} por ICP OES (Figura do autor). 42

Figura 4 – Valores de SBR obtidos para Na, K, Ca, Mg, P, S e Si aplicando as condições ótimas para P (a) e para S (b) com os micronebulizadores Miramist, Conikal, PFA 100 e Meinhard (n= 3). 54

Figura 5 - Limites de quantificação instrumental (LQ), em mg kg^{-1} , obtidos através da determinação elementar em amostra de biodiesel seguindo os métodos descritos nas normas ABNT 15553 e 15867 (linha vermelha estabelece o limite de estabelecido nas respectivas normas técnicas). 56

Figura 6 – Resíduos do modelo linear obtidos a partir do planejamento fatorial completo com réplica no ponto central para Mg 285,213 nm. 58

Figura 7 - Superfícies de resposta para a SBR dos analitos em função da vazão do Ar de nebulização (L min^{-1}) e taxa de introdução de amostra (mL min^{-1}), obtidas por um planejamento fatorial completo de 2 níveis com réplica no ponto central, para as linhas espectrais: P 214,914 nm, S 180,669 nm, Ca 315,887 nm, Mg 285,213 nm, Si 251,611 nm, Na 589,592 nm e K 766,490 nm. 60

Figura 8 - Superfície de resposta para a função de desejabilidade sobre a vazão de Ar de nebulização ($L \text{ min}^{-1}$) e a taxa de introdução de amostra ($mL \text{ min}^{-1}$) obtida por um planejamento fatorial completo de 2 níveis com réplica no ponto central para a determinação simultânea de Na, K, Ca, Mg, P, S e Si em amostra de biodiesel por ICP OES. 62

Figura 9 - Relações SBR obtidas para Na, K, Ca, Mg, P, S e Si aplicando o micronebulizador Miramist acoplado à uma câmara de nebulização de duplo passo de 50 mL com sistema de resfriamento IsoMist, variando as temperaturas entre 25 e $-10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ($n = 3$). 63

Figura 10 - Curva de SDA com 2 padrões internos para determinação de Mg em amostra de biodiesel fortificada com 5 mg kg^{-1} , empregando 1 mg kg^{-1} dos padrões internos Sc (IS1) e Y (IS2), por ICP OES. 65

Figura 11 – Curvas analíticas obtidas através do método de SDA com um padrão interno (IS) (a) e com dois padrões internos (b), para a determinação de Ca, em 315,887 nm, em amostra de biodiesel diluída em xileno, por ICP OES ($n = 3$). 66

Figura 12 – Gráfico dos resíduos da curva analítica obtida pelo emprego da calibração por SDA com dois padrões internos para determinação elementar em amostra de biodiesel por ICP OES. 67

Figura 13 - Curvas analíticas obtidas através do método de MEC para determinação de Ca, Mg, S, Si e P em amostras de biodiesel diluídas em xileno por ICP OES ($n = 3$). 69

Figura 14 - Gráfico dos resíduos da curva analítica obtida pelo emprego da calibração por MEC para determinação elementar em amostra de biodiesel por ICP OES. 71

Figura 15 – Gráfico de diagrama de blocos da distribuição dos resultados dos testes de recuperação, em %, obtidos para determinação de Ca, Mg, P, S e Si por SA, IS, SDA e MEC, e de Na e K por SA, IS e SDA, em nove amostras de biodiesel diluídas em xileno por ICP OES (* - valores extremos fora do intervalo interquartil; \circ - outliers). 77

Figura 16 – Teste de frequência analítica para determinação de S em amostra de biodiesel fortificada com 5 mg kg^{-1} por ICP OES aplicando os métodos de calibração SA, IS, SDA e MEC (n = 3).

Lista de tabelas

- Tabela 1 – Comprimentos de onda e respectivos modos de visão selecionados para determinação de Na, K, Ca, Mg, P, Si e S em amostras de biodiesel por ICP OES. 47
- Tabela 2 – Matriz experimental utilizada para o planejamento fatorial completo de dois níveis (2^3) com réplica no ponto central. 48
- Tabela 3 – Análise de coeficientes da regressão do modelo linear obtido através do planejamento fatorial completo com réplica no ponto central ($n=3$) empregando amostras de biodiesel. 57
- Tabela 4 – Coeficientes angulares encontrados para determinação de Ca, Mg, P, Si e S em amostras de biodiesel, com razão 1:1 entre amostra e solução analítica (ou branco), por ICP OES aplicando a calibração por MEC ($n = 3$). 70
- Tabela 5 – Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), em mg kg^{-1} , para a aplicação dos métodos de calibração SA, IS, SDA com um (1) e dois (2) padrões internos, e MEC ($n = 10$) na determinação elementar de Ca, K, Mg, Na, P, Si e S em amostras de biodiesel por ICP OES. 72
- Tabela 6 – Valores de recuperação, em %, do teste de adição, e precisão (entre parênteses), expressa como RSD, em % ($n = 3$), obtidos para determinação elementar de Ca, K, Mg, Na, P, S e Si em nove amostras de biodiesel, diluídas em xileno, por ICP OES, aplicando os métodos de calibração SA, IS, SDA com dois padrões internos e MEC. 75
- Tabela 7 – Valores obtidos para determinação de Ca, K, Na, Mg, P, Si e S em material-padrão de referência NIST 1084a (Wear-Metals in Lubricating Oil) e amostra de biodiesel diluída 2,5 vezes em xileno, por ICP OES empregando métodos de calibração de SDA com dois padrões internos e MEC. 78

Lista de abreviaturas

AAS – *Atomic Absorption Spectrometry*

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis do Brasil

CNPE - Comissão Nacional de Política Energética

EC - External Calibration

ETV - *Electrothermal vaporization*

GC - *Gas Chromatography*

HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*

HR-CS F AAS - *High Resolution Continuum Source Flame Atomic Absorption Spectrometry*

HR-CS MAS - *High Resolution Continuum Source Molecular Absorption Spectrometry*

ICP OES - *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*

ICP-MS - *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*

ICP-MS/MS - *Inductively Coupled Plasma Tandem Mass Spectrometry*

IEA - *Internacional Energy Agency*

IS - *Internal Standardization*

LA - *Laser ablation*

LC - *Liquid Chromatography*

LD - Limite de detecção

LIBS - *Laser-Induced Breakdown Spectrometry*

LQ - Limite de quantificação

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MEC - *Multi-energy Calibration*

MIP OES - Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry

NIST - National Institute of Standards and Technology

ONU - Organização das Nações Unidas

PMQC - Programa de Monitoramento de Qualidade de Combustíveis

PNPB - Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel

PTFE - Politetrafluoretileno

RF - Radiofrequência

SDA - *Standard Dilution Analysis*

SA - *Standard Addition*

SBR - *Signal-to-background ratio*

*“O que é um homem sem sonhos?
Eu nunca vou deixar de sonhar.”*

(Gustavo Barud, in memoriam)

1 Introdução

Metais, metaloides e não-metais em combustíveis e biocombustíveis - presentes na forma de compostos organometálicos ou combinados às frações inorgânicas - podem ser incorporados durante o processo de refino ou por meio do desgaste de equipamentos usados no processamento, bem como no uso de catalisadores ou durante a estocagem e transporte (Duyck *et al.*, 2007; Korn *et al.*, 2007; Sánchez *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2015). Junto à emissão de gases, como CO₂, SO_x, NO_x, CO, alguns destes elementos, que apresentam potencial tóxico, podem ser lançados à atmosfera através do processo de queima, representando, assim, um risco ao meio ambiente e à saúde. Além disso, podem ainda reduzir o desempenho do motor ao catalisar reações de oxidação do combustível, diminuir sua estabilidade e promover formação de depósitos (Santos *et al.*, 2011; Scragg, 2009; Souza, 2011).

A qualidade dos combustíveis e biocombustíveis empregados está diretamente ligada ao seu desempenho e no controle de emissões atmosféricas, portanto, normas rígidas a respeito são de suma importância (Souza, 2011). O Programa de Monitoramento de Qualidade de Combustíveis (PMQC), do Governo Federal, visa monitorar a qualidade dos produtos comercializados e identificar aqueles que não atendem às especificações técnicas. Assim, considerando a necessidade de um controle de qualidade rígido em todas as etapas do processo produtivo, o desenvolvimento de metodologias exatas e precisas para a determinação da concentração de elementos específicos torna-se uma atividade essencial da indústria de combustíveis e biocombustíveis.

Dentre as técnicas recomendadas nas normas que versam sobre a determinação elementar neste tipo de matriz, as espectrometrias de emissão óptica e de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP OES e ICP-MS, respectivamente) são as mais difundidas pela sua alta capacidade analítica que alia alta sensibilidade, robustez e capacidade multielementar, o que se torna um atrativo quando se têm por objetivo o monitoramento da concentração de vários elementos químicos.

No entanto, em caso de não haver nenhum tratamento prévio na amostra, a introdução direta da matriz orgânica pode depreciar as condições analíticas do instrumento, principalmente, a partir da formação de depósitos de carbono, que podem levar a instabilidade ou até mesmo extinção do plasma, além do aumento da radiação de fundo gerada pela moléculas orgânicas, como C^{2+} , o que, por sua vez, compromete a quantificação e a confiabilidade dos resultados obtidos, além de aumentar os custos de manutenção e reduzir sua vida útil (Duyck *et al.*, 2002; Maessen *et al.*, 1984).

Parte importante da confiabilidade dos resultados obtidos reside no método de calibração empregado, portanto, a escolha adequada é parte crucial para a quantificação elementar, especialmente em solventes orgânicos (Donati & Amais, 2019; Mark, 1991). Para este fim, são utilizados métodos de calibração já amplamente discutidos na literatura, como a calibração externa (EC), a adição de analito (SA), a padronização interna (IS) e a calibração por assemelhamento de matriz (MMC), para a determinação de elementos em diferentes matrizes (Carter *et al.*, 2018; Donati & Amais, 2019; Sloop *et al.*, 2021). Contudo, estes métodos possuem limitações principalmente quanto às diferenças nas propriedades físico-químicas de soluções-padrão e amostras (Donati & Amais, 2019; Sloop *et al.*, 2021), alta quantidade de reagentes consumidos e resíduos gerados e elevado tempo de análise, bem como a exata replicação da matriz da amostra (Bader, 1980; Kelly *et al.*, 2011) e dos seus efeitos durante os processos de excitação no plasma (Barnett *et al.*, 1968; Chaves *et al.*, 2011).

A fim de minimizar estes problemas, podem ser empregadas a calibração por *Standard Dilution Analysis* (SDA) e *Multi-energy Calibration* (MEC). Estas estratégias de calibração, ainda pouco exploradas para determinação elementar em matrizes orgânicas por ICP OES, propõem vantagens frente aos métodos de calibração tradicionais. A calibração por SDA combina os fundamentos das técnicas de calibração por adição de analito (SA) e padronização interna (IS). Já a calibração por MEC estabelece uma correlação linear empregando, pelo menos, três comprimentos de onda para cada analito. Ambas estratégias de calibração têm como vantagem o emprego de somente duas soluções para construção da curva analítica, minimizando o tempo gasto e o consumo de reagentes, bem como a quantidade de resíduo gerado. Além disto, ao manter-se a mesma proporção de amostra em ambas soluções durante a quantificação, os efeitos de matriz são compensados. Cada

método possui suas particularidades que serão discutidas ao longo do texto e exploradas para a determinação multielementar em amostras de biodiesel e óleo lubrificante por ICP OES.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral do presente trabalho é desenvolver metodologias para determinação elementar em amostras de biodiesel por ICP OES empregando os métodos de calibração por SDA e por MEC, e comparar os respectivos resultados com aqueles obtidos por métodos bem consolidados na literatura, a saber, calibração por SA e por IS.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Otimizar a metodologia para determinação simultânea de Na, K, Ca, Mg, P, Si e S em amostra de biodiesel por ICP OES, empregando a ferramenta de planejamento experimental.

- Avaliar o emprego de diferentes micronebulizadores acoplados à uma câmara de nebulização de 20 mL na otimização do sinal analítico em função da relação sinal-ruído (SBR), dos limites de detecção e quantificação e do ensaio de recuperação em amostras de biodiesel fortificadas.

- Avaliar o emprego do sistema de introdução composto por uma câmara de nebulização resfriada (Isomist™) na otimização do sinal analítico em função do melhor SBR.

- Determinar os parâmetros de mérito analítico (limites de detecção e quantificação, precisão etc.) e avaliar a veracidade do método proposto empregando o material padrão de referência NIST 1084a (*Wear-Metals in Lubricating Oil*) e ensaios de recuperação com biodiesel de diferentes matrizes em diferentes fatores de diluição.

- Realizar a comparação dos resultados obtidos para determinação elementar em amostras de biodiesel por ICP OES, empregando SDA, com aqueles obtidos pelos métodos de calibração tradicionais.

- Realizar a comparação dos resultados obtidos para determinação elementar em amostras de biodiesel por ICP OES, aplicando MEC, com aqueles obtidos pelos métodos de calibração tradicionais.

- Avaliar a estabilidade do sinal analítico a longo prazo para os métodos SDA e MEC, frente aos métodos de calibração tradicionais.

2 Fundamentação Teórica

Os combustíveis são essenciais para as atividades humanas, sendo amplamente utilizados em setores como transporte, indústria e geração de energia. No entanto, a dependência de fontes fósseis de combustíveis, como o petróleo, tem levantado preocupações relacionadas à sua finitude, impacto ambiental e segurança energética. Os biocombustíveis surgem como uma alternativa promissora, pois são obtidos a partir de biomassa renovável, como culturas agrícolas e resíduos vegetais.

2.1 Combustíveis e Biocombustíveis

Oriundos majoritariamente dos processos de destilação fracionada do petróleo, os combustíveis fósseis são as principais fontes de energia para funcionamento de equipamentos nas mais diversas áreas, como na agricultura, transporte, entre outros. De acordo com a legislação vigente, regulamentada pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), estes combustíveis podem ser misturados com outros componentes para gerar novos produtos, de modo a atender às demandas do mercado nacional (Ribeiro, 2015). Segundo a resolução ANP nº 807/2020, existem disponíveis para comercialização no Brasil gasolinas do tipo A comum, A premium, C comum e C premium, sendo que as gasolinas do tipo C são acrescidas de um volume máximo de 27 % e 25 % m/m de etanol anidro, respectivamente, conforme Portaria do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) nº 75/2015. Outro exemplo de mistura é a de biodiesel/diesel que, desde 2004, frações crescentes do biocombustível são adicionadas ao diesel com objetivo de reduzir a emissão de compostos tóxicos (ANP, 2020).

Dados da ANP mostram que foram produzidos mais de 28 bilhões de metros cúbicos de produtos derivados do petróleo em refinarias no Brasil em 2022, o que significa um aumento de, aproximadamente, 9 % em relação ao ano anterior. Destes, a maior produção corresponde a de gasolina tipo A, óleos diesel S10 e S500,

combustíveis empregados em veículos automotores, totalizando mais de 69 milhões de metros cúbicos (ANP, 2023^a). A queima de combustíveis fósseis contribui significativamente para o aumento da emissão de compostos poluentes que, por sua vez, são protagonistas no processo de formação de chuva ácida e contribuem significativamente para os processos de mudança climática (Scragg, 2009). Dentre estes compostos, pode-se destacar a presença de elementos químicos que podem ser incorporados no armazenamento ou pela matéria-prima utilizada para o beneficiamento dos combustíveis, além da presença de compostos orgânicos que, durante o processo de queima do combustível, darão origem a outros compostos nocivos ao meio ambiente e à saúde humana, como CO, CO₂, SO_x, NO_x, entre outros (Santos *et al.*, 2011; Scragg, 2009; Souza, 2011).

Portanto, é de interesse geral que novas alternativas sejam implementadas, de modo a mitigar tais efeitos deletérios e, dentre elas, destaca-se o emprego dos biocombustíveis. Segundo a Resolução ANP nº 734 de 2018, biocombustíveis são derivados de biomassa renovável que podem substituir parcial ou integralmente combustíveis de origem fóssil e serem empregados diretamente em motores de combustão interna (ANP, 2019).

Os investimentos em produção de biocombustíveis iniciaram-se em 1970 e cresceram rapidamente devido à demanda por uma fonte de energia renovável e menos prejudicial ao meio ambiente. Essa tendência culminou na produção global de mais de 100 bilhões de litros de biocombustíveis em 2010 (Paul *et al.*, 2018). Assim, os biocombustíveis podem ser divididos em 3 grupos majoritários: os derivados de álcoois e óleos vegetais (primeira geração), aqueles derivados do processo de fermentação e digestão enzimática de lignocelulose (segunda geração) e aqueles produzidos a partir de algas (terceira geração) (Kour *et al.*, 2019; Paul *et al.*, 2018; Roberts & Patterson, 2014).

Dentre os biocombustíveis disponíveis no Brasil, destacam-se o biodiesel e o etanol, porém, há também o biocombustível de aviação e o biometano, que junto com outras fontes renováveis de energia, representam cerca de 47 % da matriz energética brasileiro, segundo dados da Empresa de Pesquisa Energética. Em grande destaque, o biodiesel é produto da reação de transesterificação de um óleo, seja vegetal ou animal, com um álcool na presença de um catalisador. O óleo empregado para este fim pode ser obtido de sementes, como de soja ou de girassol, de gordura animal (sebo) ou ainda através de óleo de cozinha usado. Os álcoois

comumente utilizados na reação são o metanol ou etanol obtido em refinarias (Dufey, 2006; Scragg, 2009). Por sua vez, boa parte da produção de biodiesel utiliza catalisadores homogêneos, no entanto, seu uso é limitado e requer um processo mais laborioso para sua recuperação junto ao produto final. Sendo assim, estudos apontam também para o uso de catalisadores heterogêneos como rotas alternativas para obtenção mais eficiente do biodiesel (Manzanera, 2011).

Impulsionado pelo Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), o biodiesel, depois de passar por processos para adequar-se às normas vigentes, pode ser comercializado na sua forma pura - este muito mais suscetível aos processos de oxidação - ou em misturas com diesel de origem petrogênica (ANP, 2020^b). De acordo com a artigo nº 2 da Lei nº 11.097/2005, em 2008 teve início a adição de 2 % de fração do biocombustível adicionado ao diesel, denominado assim como B2, uma prática que evoluiu gradualmente até atingir os atuais 12 % (ANP, 2020^b). De toda forma, a menor fração do biocombustível adicionada é suficiente para mitigar os efeitos nocivos que a queima do diesel pode gerar. Por exemplo, segundo os resultados obtidos por Rocha & Corrêa (2018), as adições crescentes de biodiesel promoveram a diminuição progressiva da emissão de material particulado atmosférico durante o processo de combustão em motores de ônibus e caminhões no Brasil.

Os dados da ANP mostram que, em 2022, foram produzidos 6,2 milhões de metros cúbicos de biodiesel B100 (biodiesel puro), o que, embora represente uma queda de 8 % em relação ao ano anterior, corresponde a um aumento de, aproximadamente, 6 % em relação ao período pré-pandemia. Em um recorte dos últimos 3 anos, foram produzidos mais de 19 milhões de m³ deste biocombustível, majoritariamente a partir da extração do óleo de soja, sendo as regiões sul, norte e centro-oeste, as principais produtoras respondendo por 83 % da produção nacional (ANP, 2023^b). Visto que a demanda global por energia tende a crescer em 37 % nos próximos 20 anos, segundo dados da IEA (2020), a corrida pela produção em larga escala de combustíveis de fontes limpas, renováveis e de qualidade tornaram-se de suma importância. Para tal, várias abordagens e tecnologias são desenvolvidas rotineiramente a fim de ampliar o leque de opções de fontes de biocombustível, como microalgas e bactérias, além das já tradicionais e estabelecidas na literatura (Kour *et al.*, 2019).

A produção e consumo de biocombustíveis têm aumentado significativamente nos últimos anos, impulsionados por políticas de incentivo, preocupações ambientais e volatilidade dos preços do petróleo. Países como Estados Unidos, Brasil, Alemanha e China são líderes na produção e utilização de biocombustíveis. No entanto, a correlação econômica entre a produção e consumo de biocombustíveis está diretamente relacionada à disponibilidade de matérias-primas, investimentos em infraestrutura, políticas governamentais e demanda do mercado (Kour *et al.*, 2019; Paul *et al.*, 2018; Roberts & Patterson, 2014). Mesmo assim, segundo Scragg (2009) e Dufey (2006), a utilização de biocombustíveis traz consigo diversos benefícios, como a redução da formação e emissão de gases poluentes e material particulado devido à substituição total ou parcial de combustíveis fósseis por aqueles derivados de materiais biológicos renováveis e reaproveitamento de resíduos industriais e domésticos, e contribui para um desenvolvimento econômico sustentável.

Neste sentido, um esforço global, liderado pela Organização das Nações Unidas (ONU), vem sendo realizado para, dentre outros fins, salvaguardar o meio ambiente e conter o avanço das mudanças climáticas até 2030, donde mais de 185 milhões de dólares foram disponibilizados para o cumprimento de 17 objetivos, conhecidos como objetivos de desenvolvimento sustentável, que englobam ações voltadas para, por exemplo, acesso à energia limpa e renovável e desenvolvimento de práticas contra a mudança climática global (ONU, 2023).

2.2

Controle de Qualidade do Biodiesel

O biodiesel pode ser empregado, em sua totalidade, sem modificações em motores diesel convencionais, porém, este combustível demanda um extenso processo de preparação devido à sua alta viscosidade e natureza ácida antes de ser viável para uso. Com isso, o controle de qualidade deste biocombustível é fundamental para garantir seu desempenho no motor e impacto ambiental adequados. Normas técnicas e regulamentações governamentais estabelecem critérios como teor de água, impurezas, estabilidade oxidativa e poder calorífico, visando à segurança e eficiência na sua utilização (Souza, 2011). No Brasil, a ANP

criou o PMQC que visa monitorar a qualidade dos produtos comercializados e identificar aqueles que não atendem às especificações técnicas.

No que diz respeito à qualidade do biodiesel, a Resolução ANP nº 920 de 4 de abril de 2023 revisou as especificações do biodiesel para as descritas no Anexo I. A revisão da norma, solicitada pela Comissão Nacional de Política Energética (CNPE), possui por objetivo adequar as especificações do biodiesel, bem como da mistura diesel/biodiesel, à nova realidade da matriz energética brasileira, em que um novo cronograma para adição do biocombustível ao diesel passou a vigorar respeitando a atual adição de 12 %, como previsto da Resolução CNPE nº 3/2023. Com relação às especificações do biodiesel, os principais pontos de mudança foram:

- Redução do teor de monoglicerídeos, dos atuais 0,70 % massa/massa para: 0,60 %, com vigência 90 dias após a publicação da nova resolução; e 0,50 %, 21 meses após a publicação da nova resolução;
- Redução do limite para o teor de sódio + potássio e para o de cálcio + magnésio, de 5,0 mg kg⁻¹ para 2,5 mg kg⁻¹;
- Redução do limite para o teor de fósforo, de 10,0 mg kg⁻¹ para 4,0 mg kg⁻¹, com vigência de 90 dias após a publicação da nova resolução; e para 3,0 mg kg⁻¹, até 21 meses após a publicação da nova resolução; e
- Ajuste na tabela de ponto de entupimento de filtro a frio, em consonância com a realidade climática de cada região do Brasil.

Óleos de diferentes fontes possuem diferentes composições de ácidos graxos caracterizados pelo comprimento da cadeia, insaturação e outras funcionalidades presentes. Os ésteres derivados de ácidos graxos saturados ou de cadeia longa, por exemplo, tendem a ter maior grau de lubrificação e estabilidade à oxidação, além de número de cetano mais elevado. Contudo, aumenta a incidência de entupimento dos bicos do motor. Já ésteres de ácidos graxos altamente insaturados apresentam baixo número de cetano e maior resistência ao congelamento (Altiparmak *et al.*, 2007; Pinto *et al.*, 2005; Scragg, 2009).

As propriedades do biodiesel dependem em grande parte dos ésteres gerados durante a reação de transesterificação, o que sugere o potencial para melhorar a

qualidade do biodiesel através da incorporação de ésteres específicos com atributos favoráveis, como aqueles gerados a partir da reação de transesterificação do ácido oleico (Knothe, 2005; Pinto *et al.*, 2005). No entanto, alguns parâmetros podem ser alterados, seja em um processo de enriquecimento do produto ou durante seu transporte e estocagem, afetando sua qualidade e desempenho (Lepri *et al.*, 2011; Lisboa *et al.*, 2014). Com isso, analisar os parâmetros previstos na Resolução, é relevante realizar a determinação elementar a fim de avaliar a concentração de elementos que, em excesso ou deficiência, podem comprometer o desempenho, as condições de trabalho do motor e aumentar o risco de danos ao meio ambiente (De Souza *et al.*, 2012; Speight, 2002).

Citando as normas específicas para biodiesel, a norma ABNT NBR 15512 (2014) versa sobre os requisitos de qualidade durante toda a etapa de processo, transporte e estocagem de biodiesel e da mistura diesel/biodiesel. Nesta norma, considera-se como contaminantes frações de querosene, metanol, etanol, gasolina do tipo A e C, óleo combustível e vegetal, todos com teor máximo de 0,03 % a fim de evitar contaminação cruzada. Dos elementos previstos para controle pela legislação brasileira, Na e K podem persistir no biodiesel devido à ineficiência da lavagem para remoção total dos catalisadores do produto final, resultando em corrosão no motor quando atingem certos níveis. Já Ca e Mg podem estar presentes devido ao uso de água no processo de lavagem, essencial para purificar o produto final de subprodutos como a glicerina, enquanto P e S podem ter origem na matéria-prima, como fosfolipídios presentes no óleo, ou serem oriundos do próprio processo, como o S proveniente do ácido sulfúrico usado para neutralizar o excesso de catalisador e matéria-prima (Knothe, 2010; Lepri *et al.*, 2011; Pinto *et al.*, 2005).

Para este fim, as normas técnicas ABNT NBR 15553, que trata da determinação de Ca, K, Mg, Na e P, ABNT NBR 15554, que trata da determinação de Na por espectrometria de absorção atômica (AAS), ABNT NBR 15555, que trata da determinação de K por AAS, ABNT NBR 15556, que versa sobre a determinação de Ca, K, Mg e Na por AAS e ABNT NBR 15867, sobre determinação de S por ICP OES, são empregadas. Em todas estas normas, que são baseadas nas normas europeias, as amostras de biodiesel e os padrões de calibração são diluídos diretamente em xileno ou querosene, utilizando óleo mineral para minimizar interferências de matriz oriundas do efeito de viscosidade.

Outros metais, como Cu, Pb, Cd e Zn possuem a capacidade de catalisar a oxidação quando em contato com o biodiesel, gerando resíduos no motor e podendo ser uma fonte potencial de poluição (Lepri *et al.*, 2011). Ainda, mesmo que não seja considerado em nenhuma das normas de biodiesel, a quantificação de Si neste tipo de matriz também é de amplo interesse, visto que é responsável por formação de depósitos, indicador de corrosão e empregado na indústria petroquímica em compostos antiespumantes, além de ser empregado como indicador para matriz de biocombustíveis (De Azerêdo Amaro & Ferreira, 2004; Kowalewska, 2018; Sánchez *et al.*, 2012), porém, não há limites estabelecidos na legislação brasileira para sua concentração na matriz do biodiesel.

Ainda assim, a determinação elementar na matriz orgânica, como sugerido nas normas brasileiras citadas, traz consigo a problemática do efeito de matriz que precisa ser superada em prol da obtenção de um resultado confiável que por sua vez, irá afetar diretamente a qualidade do produto final. A seguir, algumas alternativas serão discutidas com base nos trabalhos publicados a respeito da determinação mono e multielementar neste tipo de matriz.

2.3

Metodologias para determinação elementar em matrizes orgânicas

Como sugerido pelas normas técnicas ABNT NBR 15553 (2019), ABNT NBR 15554 (2008), ABNT NBR 15555 (2008) e ABNT NBR 15556 (2008), a determinação elementar dos elementos controlados no biodiesel é realizada utilizando técnicas espectrométricas, tanto por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), quanto por ICP OES. Ambas as técnicas são susceptíveis às interferências ligadas à matriz da amostra podendo comprometer a confiabilidade dos resultados (Caumette *et al.*, 2009). Métodos alternativos têm sido propostos ao longo dos anos a fim de mitigar os efeitos de matriz inerentes à introdução direta de amostras orgânicas (Duyck *et al.*, 2007; Maessen *et al.*, 1984; Sánchez *et al.*, 2013), como diferentes métodos de preparo da amostra, emprego de diferentes sistemas de introdução de amostra, ou propondo modificações àqueles já existentes, além da adição de oxigênio e utilização de câmeras de nebulização resfriadas, entre outros (Korn *et al.*, 2007; Sánchez *et al.*, 2013).

A escolha da melhor estratégia para o preparo de amostras de biocombustíveis passa, primeiro, pela técnica que será utilizada e sua capacidade de desempenhar uma análise quantitativa precisa, exata e com limites de detecção e quantificação que englobem as concentrações dos analitos presentes ou também os limites requeridos por uma norma específica. Por último, porém não menos importante, a disponibilidade de equipamentos, tempo e recursos financeiros para tal (Amorim *et al.*, 2007; Korn *et al.*, 2007).

Um dos métodos de preparo de amostra propostos é de decomposição ácida. No trabalho desenvolvido por Maciel *et al.* (2013), amostras de óleo e semente de *Jatropha curcas*, bem como o biodiesel produzido a partir desta semente, sofreram decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas e posterior determinação elementar por ICP-MS. Em outro trabalho, Korn *et al.* (2010) avaliou dois procedimentos de decomposição ácida para determinação simultânea de Ca, K, Mg, Na e P em biodiesel por ICP OES. O primeiro, em frasco aberto e com aquecimento indireto, uma mistura de ácido nítrico, ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio foi empregada, enquanto, no segundo procedimento, uma mistura de ácido nítrico e peróxido de hidrogênio foi empregada junto ao aquecimento assistido por micro-ondas em sistema fechado.

A decomposição ácida pode ser realizada, tanto em frasco aberto quanto em frasco fechado, assistida ou não por micro-ondas ou agitação ultrassônica, empregando um ácido ou misturas de ácidos, eventualmente peróxido de hidrogênio, suficiente para mineralização parcial ou total da amostra (Flores *et al.*, 2007; Link & Kingston, 2000; De Souza *et al.*, 2006). A decomposição em frasco aberto é geralmente passível de sofrer contaminação e perda de analitos na fração volátil, além do uso de grande quantidade de ácidos concentrados e elevada acidez residual, enquanto a segurança dos operadores, devido à possível projeção de resíduos, torna-se a maior problemática para a realização deste procedimento, embora este ofereça certas vantagens, pois oferecem alta produtividade com baixo custo de material (Flores *et al.*, 2007; Sánchez *et al.*, 2013). Sendo assim, o uso da radiação micro-ondas é uma alternativa interessante pela sua praticidade, segurança e por requerer menor quantidade de reagentes, menos tempo para completa decomposição das amostras, porém, faz-se necessária a otimização das etapas de aquecimento do forno, de forma a garantir a eficiência ao eliminar a maior

quantidade possível de matéria orgânica residual (Dos Anjos *et al.*, 2018; Korn *et al.*, 2010; Sant'Ana *et al.*, 2007).

Outras abordagens que permitem a utilização de padrões aquosos de calibração e visam minimizar a influência da matriz orgânica na análise, podem ser a formação de (micro-) emulsões e extração. A primeira, tomando como vantagem a imiscibilidade das frações água/óleo, emprega-se a amostra adicionado a uma fase aquosa formada por um ácido e/ou um surfactante (Burguera & Burguera, 2004; Santelli *et al.*, 2008). Aucelio & Curtius (2002) desenvolveram um método para determinação de As, Sb e Se em gasolina e querosene por espectrometria de absorção atômica com vaporização eletrotérmica (ET AAS) a partir de microemulsões com e sem surfactante (Triton X-100) na presença de ácido nítrico ou 1-propanol, respectivamente, empregando padrões aquosos dos respectivos elementos para calibração e uma mistura de Pd/Mg em solução, combinado com recobrimento de Ru, como modificadores químicos.

Em outro trabalho envolvendo a aplicação de emulsões, Chaves *et al.* (2008) desenvolveram um método para determinação de Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V em diesel e biodiesel por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado e vaporização eletrotérmica (ETV-ICP-MS), a partir de emulsões compostas de Triton X-100 e HNO₃, empregando um padrão aquoso multielementar para calibração e Pd como modificador em solução. Paralelamente, os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos pela técnica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS). Neste ponto, a escolha do surfactante também se torna crítica, visto que suas propriedades podem ser alteradas por alguns fatores, como temperatura, e afetar as condições operacionais do instrumento, isto é, taxa de introdução de amostra e vazão do Ar de nebulização (Amorim *et al.*, 2007; Sanz-Medel *et al.*, 1999). Eventualmente o surfactante pode ser substituído por um co-solvente, como álcoois de cadeia curta.

Além da vantagem de transportar os analitos para uma fase aquosa, o que confere uma maior estabilidade para (micro-) emulsões, esta abordagem é rápida, pois requer pouco tempo de agitação para separação das fases. Ademais, a presença de oxigênio favorece a oxidação da matéria orgânica residual que pode causar as interferências citadas anteriormente (Korn *et al.*, 2007; Murillo & Chirinos, 1996). Entretanto, suas desvantagens ficam por conta da grande quantidade de reagentes,

a maior propensão a contaminações, depreciação dos limites de detecção e perda de sensibilidade (Cassella *et al.*, 2018; Sánchez *et al.*, 2013).

Um método menos abordado na literatura, mas ainda assim válido para a discussão, é a extração do analito a partir da interação da matriz da amostra com uma fração líquida ou sólida quimicamente modificada ou não (Korn *et al.*, 2007; Lourenço *et al.*, 2019). Embora seja uma técnica que permite a pré-concentração dos analitos, sua separação para uma fase que potencialmente é capaz de eliminar as interferências causadas pela matriz orgânica e emprega pouca quantidade de reagentes, o processo de extração ainda é suscetível a perdas de frações voláteis, que influenciam diretamente no cálculo do fator de enriquecimento, e à dificuldade em manter a funcionalização da fase sólida devido aos processos de lixiviação (Korn *et al.*, 2006; Liang *et al.*, 1996; Santos *et al.*, 2011).

Dentre os processos de decomposição menos usuais, podemos citar os procedimentos de calcinação e de combustão (Sánchez *et al.*, 2013). A formação de cinzas requer uma grande quantidade de amostra, é altamente suscetível a contaminações e perda de frações voláteis, além de demandar tempo para garantir a incineração completa da amostra (Korn *et al.*, 2007). O procedimento de combustão através do método Wickbold envolve a queima da amostra numa chama e os produtos desta queima são dissolvidos em uma solução ácida. Utilizando o equipamento ideal, as perdas de frações voláteis são minimizadas pelo fato de ser um sistema com frasco semi-fechado. Mesmo assim, parte dos analitos podem ser adsorvidos nas paredes do tubo e não é possível garantir a combustão total da matéria orgânica (Hoppstock & Michulitz, 1997). Para isso, uma alternativa interessante é o emprego de um sistema de combustão iniciada por micro-ondas (Mesko *et al.*, 2010), utilizando um frasco de quartzo, a fim de minimizar os fenômenos de adsorção de analitos, pressurizados com oxigênio, e uma solução ignitora como NH_4NO_3 , por exemplo, que permitem a combustão completa de amostras de óleo cru em menos de 30 minutos, e uma solução ácida como solução absorvedora empregando processo de refluxo, como demonstrado no trabalho de Pereira *et al.* (2010).

Paralelamente aos diferentes métodos de preparo, outros métodos de introdução de amostras – ou modificações - também foram discutidos ao longo dos anos na literatura com objetivo de minimizar os efeitos de matriz. Sánchez *et al.* (2012), por exemplo, desenvolveram um método para determinação elementar em

amostras de combustíveis e biocombustíveis, todos diluídos em xileno, por ICP OES, utilizando um sistema de introdução de amostras composto por uma câmara de nebulização do tipo *single pass* acoplado a um cilindro aquecido que, segundo os autores, é uma versão modificada do sistema integrado de introdução de amostra na tocha. Os autores observaram que, à medida que aumentaram a temperatura das paredes da câmara, maiores foram os sinais transientes dos analitos estudados, no entanto, também puderam observar um aumento na intensidade da emissão das espécies de carbono. Contudo, os limites de detecção encontrados de acordo com o aumento da temperatura foram até uma ordem de magnitude menores que aqueles obtidos pelo sistema de introdução a temperatura ambiente para os analitos estudados.

A adição de oxigênio é uma alternativa para favorecer a combustão parcial ou total da matéria orgânica introduzida no plasma. Em um primeiro momento, a adição de oxigênio foi considerada benéfica para a análise do Na, já que ajudava a suprimir as bandas moleculares dos compostos de carbono próximas às linhas de Na em 588 e 589 nm (Krengel-Rothensee *et al.*, 1999; Magyar *et al.*, 1986). Contudo, Aguirre *et al.* (2012) e De Souza *et al.* (2011) observaram, em seus respectivos trabalhos, que os benefícios da adição de oxigênio não representariam um ganho significativo frente às alternativas propostas. Isto porque o oxigênio pode influenciar, tanto na determinação elementar daqueles elementos cujas linhas espectrais residem na região de UV de vácuo (menor que 200 nm), como P e S, uma vez que o oxigênio também absorve radiação nesta região. O que, por sua vez, poderia ser superado com a purga do sistema óptico do ICP OES, porém, levaria ao aumento do custo da análise (Edlund *et al.*, 2002; Krengel-Rothensee *et al.*, 1999).

De Souza *et al.* (2011) concluíram que a utilização de micronebulizadores mostrou-se suficiente para a determinação elementar simultânea em óleo lubrificante, óleo combustível e biodiesel por ICP OES em relação à adição de um fluxo paralelo de oxigênio. As interferências causadas pela adição de oxigênio, no entanto, não foram observadas pelo mesmo autor que, em trabalho similar (também descrito em De Souza *et al.* (2012), pode inferir que as principais interferências espectrais observadas na análise destas amostras por ICP-MS foram minimizadas quando utilizada uma célula de reação dinâmica preenchida com gás metano. Já Aguirre *et al.* (2012), observaram que, quando utilizada a técnica de calibração *inline* com padrão aquoso, menores foram os efeitos gerados pela matriz orgânica

nas condições do plasma devido à combustão dos compostos de carbono. Com isso, foi possível realizar adequadamente a determinação elementar simultânea em biodiesel e misturas de biodiesel/diesel empregando um multinebulizador do tipo *Flow Blurring* que consiste em 3 entradas de líquido acopladas a um cilindro de politetrafluoretileno (PTFE).

Sistemas alternativos de introdução de amostras podem ser incorporados, como o uso da técnica de vaporização eletrotérmica (ETV) e ablação a laser (LA) ou a hifenação com outras técnicas de separação, como cromatografia gasosa (GC), líquida (LC) ou líquida de alta eficiência (HPLC, do acrônimo em inglês) (Bings, 2002; Caumette *et al.*, 2009; Saint’Pierre *et al.*, 2004).

Um vaporizador eletrotérmico pode ser empregado, pois além de operar sob amostragem discreta, as etapas progressivas de aquecimento do tubo, junto ao emprego de modificadores químicos, promovem a eliminação da matéria orgânica e estabilização de espécies voláteis e/ou formadores de carbetos (Aucelio & Curtius, 2002; Chaves *et al.*, 2008; Korn *et al.*, 2007; Welz & Sperling, 1999). Já o emprego da ablação a laser é um método ágil e prático com alta capacidade de processamento de amostra, viabilizando a introdução direta da amostra numa fonte de plasma indutivamente acoplado com mínimo de manipulação da amostra. Contudo, a escassez de padrões de calibração apropriados continua sendo uma questão de grande relevância na área. Além disso, o emprego desta técnica para amostras líquidas requer modificações aos equipamentos comercialmente disponíveis e a contaminação por depósito de gotículas da amostra (Bings, 2002; Duyck *et al.*, 2007).

No que diz respeito à aplicação das técnicas cromatográficas, alguns trabalhos reportados na literatura apontam para a realização da determinação elementar (e também a especiação de metais associados a frações orgânicas) em amostras orgânicas de forma bem sucedida (Caumette *et al.*, 2009; Fish *et al.*, 1984; Lepri *et al.*, 2006). Inclusive, a introdução da fase móvel numa fonte de excitação de ICP permite que uso do oxigênio seja dispensado, desde que seja empregado um solvente oxigenado em baixa concentração (Duyck *et al.*, 2007), no entanto, a análise cromatográfica aumenta o custo e o tempo dedicado para tal, requerendo equipamentos específicos para cada tipo de matriz orgânica inserida.

De modo geral, a diluição direta da amostra em solventes é a solução mais prática e com menor consumo de reagentes, sendo inclusive recomendada por

diversas normas técnicas para determinação elementar em biodiesel. Estas mesmas normas recomendam diluições iguais ou maiores a 10 vezes com objetivo de reduzir a diferença de viscosidade, a tensão superficial, e volatilidade de amostras e padrões de calibração, o que visa compensar os efeitos de matriz (Sánchez *et al.*, 2010; Sánchez *et al.*, 2013). Todavia, a seleção do melhor solvente, ou suas misturas, ainda é uma dificuldade a ser superada, visto que as suas propriedades físico-químicas podem alterar as condições de transporte, bem como as condições de excitação do plasma.

Em ICP OES, quando amostras orgânicas são diluídas diretamente em solventes, tais como querosene, xileno ou tolueno, por exemplo, considerando os critérios necessários para sua escolha descritos por Duyck *et al.* (2002), surge uma preocupação acerca das interferências que podem ser observadas. A quantidade de solvente que chega ao plasma que, por sua vez, pode causar instabilidade e sua extinção, promoverá a formação de depósitos de C no tubo injetor, podendo estender-se à parte óptica do espectrômetro, e o aumento da radiação de fundo associada ao surgimento de diferentes produtos de pirólise do solvente, como, por exemplo, a banda de Swan (C_2^+) e de outras moléculas como CN, CS, CH, NO e CO, a depender da natureza do solvente orgânico empregado (Duyck *et al.*, 2007; Leclercq *et al.*, 2015; Maessen *et al.*, 1984). A intensidade destas emissões varia com a altura a que o plasma é observado. Por conseguinte, enquanto a emissão atômica de carbono diminui com a altura de observação, a emissão de cianeto apresenta uma tendência oposta (Boorn & Browner, 1982; McCrindle & Rademeyer, 1996; Sánchez *et al.*, 2015).

Além disto, a presença de solvente orgânico pode alterar o formato do plasma e a posição da zona analítica normal dos analitos no mesmo, somando a isso o aumento da condutividade térmica, resultando na rápida redução da zona periférica do plasma onde se dará origem a uma zona de recombinação para formação das espécies moleculares citadas anteriormente (Sánchez *et al.*, 2013, Sánchez *et al.*, 2015; Weir & Blades, 1996). Uma forma simples de avaliar as condições térmicas e a robustez do plasma é através da razão das linhas espectrais de Mg (II) e Mg (I).

No que tange a interferências físicas, a viscosidade e a tensão superficial têm grande impacto na formação do aerossol. Para matrizes orgânicas, em que a tensão superficial é menor que aquela observada em matrizes aquosas, menor será a energia necessária para formação das gotículas do aerossol, além de menor

distribuição do tamanho destas gotículas. Todos estes fenômenos resultam numa maior eficiência de transporte da solução para o plasma, o que, por consequência, aumenta a quantidade de solvente no mesmo (Boorn & Browner, 1982; Sánchez *et al.*, 2010; Sharp, 1988).

Por esse motivo, é necessário o cálculo da carga de solvente no plasma, explicada por Maessen *et al.* (1986), e a otimização das condições operacionais do instrumento - a fim de minimizar os efeitos indesejáveis da introdução de orgânicos, citados anteriormente - além do emprego de micronebulizadores que possibilitam a introdução de amostra a baixas taxas de introdução, o que reduz a quantidade de solvente, oferecendo condições analíticas mais robustas (Edlund *et al.*, 2002; Gazulla *et al.*, 2017; De Souza *et al.*, 2011; Todoli & Mermet, 2008).

Uma forma de mitigar estes efeitos foi proposto por Chaves *et al.* (2011) e Dos Santos *et al.* (2007) ao utilizar álcoois de cadeia curta, i.e., etanol e propanol, para diluição das amostras de biodiesel, o que possibilita ainda o emprego de padrões aquosos para calibração, que são mais estáveis e com menor custo do que padrões orgânicos, porém, ésteres de cadeia longa tendem a ser insolúveis neste tipo de solvente, o que leva preferencialmente ao uso de solventes apolares, tais como xileno e querosene, como previsto nas normas ABNT NBR 15553 (2019), entre outras.

2.4

Métodos de calibração para determinação elementar em amostras orgânicas por ICP OES

Boa parte da discussão sobre análise de amostras orgânicas envolve o tipo de padrão de calibração empregado. O método de calibração é uma parte importante da quantificação elementar e da confiabilidade dos métodos de análise e dos resultados obtidos (Donati & Amais, 2019; Mark, 1991). Para tal, métodos de calibração já amplamente discutidos na literatura (Carter *et al.*, 2018; Donati & Amais, 2019; Sloop *et al.*, 2021), como EC, SA, IS e MMC, são utilizados para a determinação elementar em diferentes matrizes.

Neste sentido, já que uma limitação da EC é exatamente não replicar, nas soluções da calibração, os mesmos efeitos que podem ocorrer nas amostras (Donati & Amais, 2019; Sloop *et al.*, 2021), a calibração por MMC ou por SA seriam as estratégias viáveis por utilizarem espécies concomitantes da matriz ou a própria

amostra na construção da curva analítica (Bader, 1980; Carter *et al.*, 2018; Donati & Amais, 2019; Kelly *et al.*, 2011). No entanto, ambas técnicas apresentam limitações quanto à replicação exata das espécies presentes na matriz ou ao tempo gasto quando empregado para construção da curva analítica para cada amostra a ser analisada (Carter *et al.*, 2018; Sloop *et al.*, 2021). Com isso, muitos estudos recorrem ao uso de IS para compensar as flutuações no sinal do analito causadas por variação de parâmetros instrumentais ou para minimizar efeitos de matriz, desde que o elemento escolhido também esteja susceptível ao mesmo tipo de interferência (Barnett *et al.*, 1968; Chaves *et al.*, 2008; Chaves *et al.*, 2011). Todavia, a escolha de um elemento para padronização precisa ser crítica, uma vez que suas características físico-químicas devem ser semelhantes às dos analitos presentes na amostra e não devem causar qualquer tipo de interferência na detecção dos analitos (Donati & Amais, 2019). Para isso, Y ou Sc são majoritariamente empregados para determinação por ICP OES (Korn *et al.*, 2010; Sánchez *et al.*, 2013; Dos Santos *et al.*, 2007), mesmo que normas técnicas, como ASTM D7691, recomendem também o emprego de elementos como Co, Cd e La, como padrões internos.

Mesmo assim, o emprego da IS para correção de efeitos de matriz ainda é passível de questionamento, uma vez que alguns autores argumentam que, para uma correção eficaz do desvio do sinal na análise de amostras de matriz complexa, é necessário o uso combinado da IS com técnicas como MMC ou adição de analito (Batista *et al.*, 2009; Colon *et al.*, 2009). Essa combinação é especialmente crucial quando a espécie utilizada para a IS tem apenas uma correspondência parcial com as propriedades físico-químicas e espectrais do analito em questão.

2.4.1 Standard Dilution Analysis (SDA)

Outros métodos de calibração foram desenvolvidos recentemente com objetivo de compensar os efeitos de matriz. A análise por diluição de padrão (SDA, do acrônimo em inglês), por exemplo, descrito por Jones *et al.* (2015), junta os princípios do método de calibração por SA, quando utiliza a matriz da amostra para preparar as soluções de calibração, com IS, ao empregar um padrão interno. Este método utiliza somente duas soluções da calibração - o que é uma vantagem frente

à SA tradicional – que, quando misturadas, dão origem a uma curva analítica quando um gráfico da razão entre o sinal do analito e o sinal do padrão interno ($I_{\text{analito}}/I_{\text{IS}}$) *versus* o inverso da concentração do padrão interno ($1/C_{\text{IS}}$) é construído (Donati & Amais, 2019; Jones *et al.*, 2015). O primeiro tubo (S1) contém 50 % da solução de amostra mais 50 % de uma solução analítica com os analitos e o padrão interno, enquanto o segundo tubo (S2) é constituído por 50 % da solução de amostra mais 50 % da solução branco, assim, a relação entre as intensidades do analito, quer seja da amostra, quer seja do padrão presente na solução analítica, e do padrão interno estabelece uma correlação direta com seus respectivos coeficientes angulares (*slope*) e concentrações (C), como descrito pela Equação 1 a seguir.

$$\frac{S_a}{S_{\text{IS}}} = \frac{\text{slope}_a C^{\text{Am}}}{\text{slope}_{\text{IS}} C_{\text{IS}}} + \frac{\text{slope}_a C^{\text{Pad}}}{\text{slope}_{\text{IS}} C_{\text{IS}}} \quad \text{Equação 1}$$

Uma vez que a razão entre concentração dos analitos e padrão interno presentes na solução analítica é constante, e a proporção de amostra em ambas soluções também permanece inalterada, logo, m_a/m_{IS} também é constante e, assim, os efeitos de matriz são compensados. Assim sendo, a concentração dos analitos é dada pela Equação 2, a seguir.

$$C_a^{\text{Am}} = \frac{\text{slope}}{\text{intercepto}} \times \frac{C_a^{\text{Pad}}}{C_{\text{IS}}} \quad \text{Equação 2}$$

Onde, C_a^{Am} refere-se à concentração dos analitos na amostra, os coeficientes angular e linear são obtidos através da regressão da curva linear obtida na região SDA mostrada na Figura 1, C_a^{Pad} e C_{IS} referem-se à concentração dos analitos e do padrão interno na solução analítica. Inicialmente, a solução S1 é introduzida até que um platô seja formado e, a partir daí, a solução S2 é introduzida no tubo de S1 dando-se origem a um gradiente de diluição, até que um novo platô seja formado, como demonstrado na Figura 1 a seguir.

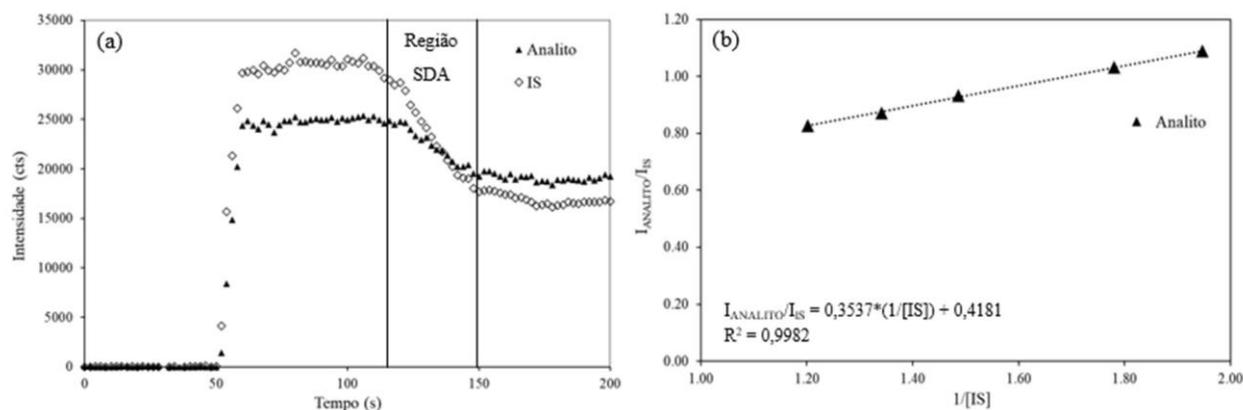


Figura 1 – Curva de SDA tradicional (a) e respectiva curva analítica (b) para determinação elementar em amostra de biodiesel fortificada com 5 mg kg^{-1} , empregando 1 mg kg^{-1} de padrão interno (IS), por ICP OES (Figura do autor).

Diversos trabalhos envolvendo a SDA foram desenvolvidos nos últimos anos (Althoff *et al.*, 2017; Fortunato *et al.*, 2017; Goncalves *et al.*, 2016; Virgilio *et al.*, 2016), mas poucos trabalhos abordam a aplicação da SDA para determinação elementar em matrizes orgânicas. Fortunato *et al.* (2016) aplicaram a SDA para determinação de Na em amostras de biodiesel diluídas em etanol, empregando Li como padrão interno, por F AAS. Comparando-se os resultados encontrados com outros métodos de calibração tradicionais (i.e., EC, SA e IS), a calibração por SDA forneceu resultados mais precisos e exatos, segundo os autores, porém, devido à indisponibilidade do instrumento em monitorar mais de um comprimento de onda, uma sonda de fibra óptica foi utilizada, o que requer mais tempo gasto e modificações do instrumento.

Por sua vez, García *et al.* (2020) adotaram a calibração por SDA para determinação de Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni e Pb em amostras de óleo lubrificantes usados diluídos em éter de petróleo, empregando Y como padrão interno, por ICP OES. Neste caso, os autores empregaram um multinebulizador para introduzir, simultaneamente, amostra orgânica (ou solução branco) junto com padrão aquoso para formar as soluções analíticas descritas do método de SDA e, conseqüentemente, o gradiente de diluição necessário para construção de curva analítica com múltiplos pontos. Os resultados pelo método proposto foram comparados com aqueles obtidos pela calibração por SA, e os autores afirmam que, tanto os limites de detecção e quantificação, quanto os resultados obtidos para o

teste de recuperação em amostras fortificadas, estiveram na mesma ordem de magnitude para ambos os métodos de calibração.

Mesmo assim, a calibração por SDA possui algumas limitações quanto à aquisição de dados em relação ao tempo, enquanto as duas soluções são misturadas manualmente, além do tratamento dos dados a fim de obter os dados da região SDA para construção da curva analítica, tornando-o laborioso e impactando diretamente na precisão dos resultados. Contudo, parte deste problema foi superado e o método aprimorado quando aplicado um 2º padrão interno, como descrito em trabalhos publicados por Jones *et al.* (2020), Marrocos *et al.* (2023) e Sloop *et al.* (2019).

Nesta abordagem, a partir de um rearranjo matemático na equação original da SDA, descrito por Sloop *et al.* (2019), um 2º padrão interno é adicionado na fração correspondente à solução branco presente em S2 e, com isso, todo conjunto de dados gerado a partir da diluição de S2 em S1 é empregado para construção da curva analítica. Assim, diferente da SDA com um padrão interno, onde a intensidade máxima do IS é empregada para estimar as concentrações a cada ponto da região SDA, o uso de dois padrões internos possibilita que todos os dados da região SDA sejam empregados para obtenção da concentração dos analitos dada a partir da Equação 3, a seguir.

$$C_a^{Am} = \frac{\text{intercepto}_1}{\text{slope}_1} \times \frac{C_a^{Pad}}{\text{intercepto}_2} \quad \text{Equação 3}$$

Onde, C_a^{Am} e C_a^{Pad} referem-se, respectivamente, à concentração dos analitos na amostra e na solução analítica, respectivamente. Intercepto_1 e inclinação_1 referem-se aos coeficientes linear e angular, respectivamente, da curva analítica construída pela relação entre o sinal do analito *versus* o sinal do primeiro padrão interno, ambos adicionados em S1, e podem ser obtidos a partir do sinal dos analitos presentes na amostra, para o intercepto, e a partir da razão entre o sinal dos analitos e do 1º padrão interno, para a inclinação, e intercepto_2 corresponde ao coeficiente linear calculado a partir da relação linear entre o sinal do 1º IS e do 2º IS, como ilustra a Figura 2 abaixo.

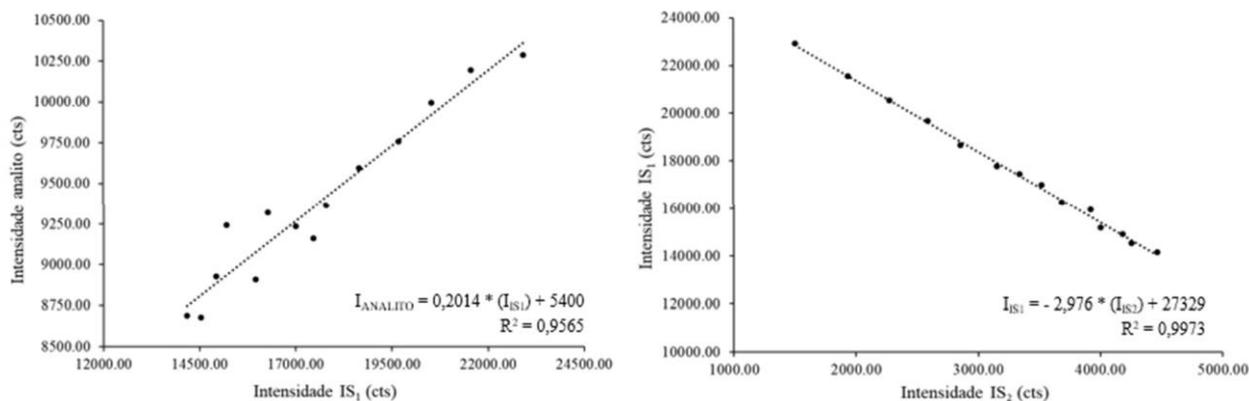


Figura 2 – Curvas analíticas obtidas a partir do emprego da calibração por SDA com dois padrões internos para determinação elementar em amostra de biodiesel fortificada com 5 mg kg^{-1} , empregando 1 mg kg^{-1} de ambos padrões internos, por ICP OES (Figura do autor).

Quanto à mistura manual das soluções analíticas, alguns autores focaram seus esforços na automatização do processo (Fortunato *et al.*, 2016; Fortunato *et al.*, 2017; Jones *et al.*, 2020; Sloop *et al.*, 2019), porém, as modificações sugeridas nos instrumentos comercialmente disponíveis e o aumento do tempo e reagente consumidos, ainda permanece como um desafio a ser superado. Outros parâmetros experimentais da SDA, tais como a relação entre a concentração de analitos e padrão interno, a relação entre a amostra e o padrão (ou branco), a duração do platô, e a influência da região SDA na curva analítica foram amplamente discutidos por Virgilio *et al.* (2016). De modo geral, os autores não encontraram diferença estatisticamente significativa entre os diferentes parâmetros avaliados em função do teste de recuperação realizado, cujo resultados variaram entre 91 e 105 % para determinação de As, Cr, Cu, Pb e Y em amostras de bebidas e produtos alimentícios diluídas em HNO_3 1 % v/v.

Até o momento do desenvolvimento deste trabalho, nenhum estudo envolvendo a aplicação da SDA com dois padrões internos para determinação elementar por ICP OES em amostras de biodiesel diluídas em xileno foi realizado. Neste sentido, os resultados encontrados, publicados recentemente no periódico *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* (vide Anexo III), que serão discutidos ao longo desta tese, colocam a calibração por SDA como uma alternativa para determinação de Na, K, Ca, Mg, P, Si e S em amostras de biodiesel de diferentes matrizes de forma rápida e eficaz, com limites de quantificação estatisticamente comparáveis com aqueles obtidos através da calibração por SA e IS (Marrocos *et al.*, 2023).

2.4.2 Multi-energy calibration (MEC)

Além da SDA, métodos de calibração multissinais também podem ser empregados, a fim de compensar efeitos de matriz (Carter *et al.*, 2018). O monitoramento de mais de uma linha espectral de um mesmo analito, por exemplo, não necessariamente representa uma novidade na obtenção de resultados mais exatos e precisos (Kucharkowski *et al.*, 1998; Mermet, 2005; Schiavo *et al.*, 2009), no entanto, o trabalho publicado por Virgilio *et al.* (2017) passou a empregar o comprimento de onda (ou energia transicional) como uma terceira dimensão, crucial na correlação existente entre sinal do analito e sua respectiva concentração para determinação elementar por ICP OES, então conhecida como calibração multi-energia, que está diretamente ligada à capacidade multielementar (simultânea ou sequencial rápida) desta técnica.

Desde então, outros trabalhos foram desenvolvidos empregando estratégias semelhantes, como calibração multi-isotópica (Virgilio *et al.*, 2018) aplicando diferentes isótopos do mesmo elemento para determinação de Ba, Cd, Se, Sn e Zn por ICP-MS, calibração multi-espécies para determinação de As, Co e Mn através de óxidos e de espécies amoníacas por ICP-MS/MS (espectrometria de massas tandem com plasma indutivamente acoplado) (Williams & Donati, 2018), calibração multi-fluxo para determinação de Cr, Cu, Fe e Mn por MIP OES (espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas) (Williams *et al.*, 2019) e calibração multi-padrão interno para determinação de As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb e Zn por ICP OES (Sloop *et al.*, 2022).

A calibração por MEC, assim como a SDA, envolve o preparo de somente duas soluções de calibração contendo a mesma proporção de amostra em ambas, com acréscimo de uma solução analítica contendo analitos (S1) ou solução branco (S2), porém, não é necessário a mistura de ambas e o monitoramento do sinal transiente, ou o emprego de um padrão interno, o que o torna melhor adaptável para análise de rotina (Carter *et al.*, 2018). Além disto, é possível monitorar interferências espectrais, através de flutuações na resposta linear do modelo (Virgilio *et al.*, 2017, Virgilio *et al.*, 2018; Williams & Donati, 2018). Em contrapartida, o método fica limitado à quantidade de linhas espectrais que cada

elemento possui dentro da faixa espectral que o sistema óptico de um espectrômetro consegue acessar, no caso do ICP OES, ou a abundância de isótopos e espécies iônicas formadas e resolvidas pelo quadrupolo para o caso de determinação por ICP-MS (Donati & Amais, 2019).

Neste método de calibração, a resposta do instrumento para um comprimento de onda específico está intrinsecamente ligada à concentração do analito e à energia associada ao estado excitado, logo, a partir da regressão linear da curva analítica obtida através da correlação entre a intensidade do sinal do analito presente em S2 (eixo y) *versus* intensidade do sinal do analito com incremento da solução analítica presente em S1 (eixo x), a cada comprimento de onda selecionado do analito, o coeficiente angular (*slope*) da curva pode ser obtido a partir da Equação 4, a seguir, como descrito por Virgilio *et al.* (2017).

$$slope = \frac{C_a^{Am}}{(C_a^{Am} - C_a^{Pad})} \quad \text{Equação 4}$$

Onde, C_a^{Am} e C_a^{Pad} referem-se, respectivamente, à concentração dos analitos na amostra e na solução analítica. Uma vez que a concentração de analitos na solução analítica é conhecida, a Equação 4 pode ser rearranjada a fim de obter a concentração dos analitos a partir da Equação 5, a seguir.

$$C_a^{Am} = \frac{slope \times C_a^{Pad}}{(1 - slope)} \quad \text{Equação 5}$$

Assim, a curva analítica obtida para um determinado analito em diferentes comprimentos de onda é ilustrado na Figura 3, a seguir. A figura é um exemplo representativo da resposta obtida por MEC.

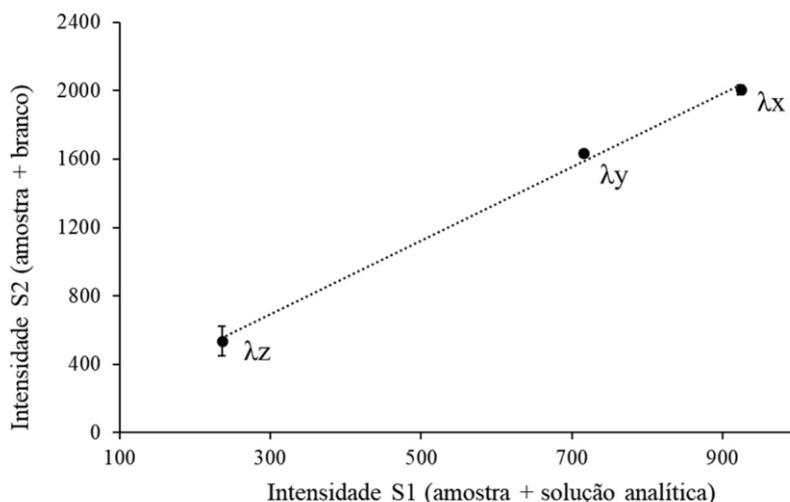


Figura 3 - Curva analítica obtida a partir do emprego da calibração por MEC para determinação elementar em amostra de biodiesel fortificada com 5 mg kg^{-1} por ICP OES (Figura do autor).

A proporção entre amostra e solução analítica (ou solução branco) pode ser mantida em 1:1, porém, diferentes proporções podem ser empregadas com objetivo de diluir a amostra, a fim de evitar problemas na introdução, ou aumentar a capacidade de detecção, desde que a correção dos volumes de solução analítica e de amostra, respectivamente V_{Pad} e V_{Am} , seja realizada e, assim, a concentração dos analitos passa a ser calculada a partir da Equação 6, a seguir.

$$C_a^{\text{Am}} = \frac{\text{slope} \times C_a^{\text{Pad}} \times V_{\text{Pad}}}{(1 - \text{slope}) \times V_{\text{Am}}} \quad \text{Equação 6}$$

Diversos trabalhos empregando MEC foram publicados ao longo dos anos para determinação elementar por técnicas espectrométricas. A começar pelo extenso trabalho publicado por Virgilio *et al.* (2017) aplicando este método de calibração para determinação de Cr, Cu e Ni em amostras de água, chá verde, refrigerante e remédio por MIP OES, de Cr, Cu e Mn em amostras alimentícias por ICP OES e de Co, Fe, e Ni em amostras de etanol combustível, vinagre e vinho tinto por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e chama (HR-CS F AAS, do acrônimo em inglês). Os resultados encontrados pelos autores foram comparados àqueles obtidos por SA, EC e IS, através de ensaios de

adição e recuperação, nos quais não foram encontradas diferenças, embora os autores não tenham feito menção ao teste estatístico empregado.

Gonçalves *et al.* (2019) e Higuera *et al.* (2019) utilizaram a calibração por MEC para realizar determinação elementar em amostras de plantas medicinais e de diferentes tipos de carne por ICP OES. A exatidão dos resultados encontrados foi avaliada a partir de teste de recuperação e da análises de materiais padrões de referência NIST 1570a (*Spinach Leaves*) e NIST SRM 1575a (*Pine Needles*), para o trabalho de Gonçalves *et al.* (2019), e NIST 1577c (*Bovine liver*) e NIST 8414 (*Beef muscle*) para trabalho de Higuera *et al.* (2019). Porém, ainda que tenham apresentado boa exatidão e precisão, as amostras sofreram processo de decomposição ácida assistida por micro-ondas em ambos trabalhos, o que minimiza significativamente a incidência dos efeitos de matriz, uma vez que este tipo de decomposição reduz a quantidade de matéria orgânica, como discutido anteriormente.

Já no trabalho de Vieira *et al.* (2019), uma nova abordagem da calibração por MEC foi estudada na determinação de N, P, S e Cl em amostras de fertilizante e de leite a partir da absorção molecular das moléculas diatômicas CaCl, NO, PO e CS por espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite e de chama (HR-CS GF MAS e HR-CS F MAS, dos respectivos acrônimos em inglês). Uma vez que as larguras destas bandas moleculares são similares à largura máxima à meia altura das linhas atômicas, as estruturas finas geradas no espectro molecular permitem a correlação direta da sua concentração aos respectivos elementos (Heitmann *et al.*, 2006; Welz *et al.*, 2009). Os resultados encontrados por Vieira *et al.* (2019) aplicando o MEC não apresentaram diferença estatisticamente significativa com aqueles obtidos pela EC a nível de confiança de 95 %.

Entretanto, até onde se sabe, nenhum trabalho envolvendo sua aplicação para determinação elementar em biodiesel foi publicado até o momento. Contudo, a calibração por MEC não se limita apenas às técnicas de espectrometria atômica/molecular, podendo estender-se também para determinação elementar por *laser-induced breakdown spectroscopy* (LIBS) em amostras de suplemento alimentar (Babos *et al.*, 2018; Babos *et al.*, 2019), para determinação de compostos moleculares por espectrofotometria UV-Vis, e por fluorescência molecular em amostras de biodiesel (Soares & Rocha, 2020) e de soluções de azul de metileno

em diferentes solventes (Alencar *et al.*, 2019). Todos estes trabalhos empregam a calibração por MEC com precisão e limites de detecção e quantificação semelhantes àqueles obtidos pelos métodos de calibração tradicionais aplicados nos respectivos estudos.

3 Metodologia

3.1 Materiais e Reagentes

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico. Xileno (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) foi utilizado para diluir os padrões de calibração e as amostras de biodiesel. Para todos os métodos de calibração propostos neste trabalho, foram utilizadas as seguintes soluções de padrões orgânicos em óleo mineral: Na (5000 mg kg⁻¹, Conostan, OK, EUA), K, Ca, Mg e P (1000 mg kg⁻¹, Quimlab, Jacareí, São Paulo), Si (1000 mg kg⁻¹, Conostan, OK, EUA) e S em óleo diesel (300 mg kg⁻¹, AccuStandard, CT, EUA). Soluções padrão de 2000 mg kg⁻¹ de Sc (Conostan, OK, EUA), 5000 mg kg⁻¹ de Li (Conostan, OK, EUA) e 5000 mg kg⁻¹ de Y (Conostan, OK, EUA), todas em óleo mineral, foram utilizadas como padrões internos.

Com base na norma ABNT NBR 15553, as amostras de biodiesel foram pesadas utilizando uma balança analítica digital Sartorius (BL210S, com precisão de 0,1 mg) e diluídas cinco vezes (m/m) com xileno. As soluções de calibração empregadas nos métodos de calibração por IS foram diluídas em solução de óleo mineral em xileno (10 % m/m) para obter uma maior semelhança nas viscosidades das soluções de calibração e das amostras. Uma solução estoque de 100 mg kg⁻¹ dos analitos foi preparada a partir da diluição dos padrões citados anteriormente em xileno e esta foi utilizada para preparo das soluções empregadas nos métodos de calibração avaliados neste trabalho. Na ausência de materiais de referência certificados comercialmente disponíveis de biodiesel, o material de referência padrão NIST SRM 1084a - *Wear Metals in Lubricating Oil* (100 mg kg⁻¹, National Institute of Standards & Technology, MD, EUA) foi analisado para avaliar a exatidão dos resultados. Também foram feitos testes de recuperação em amostras de biodiesel.

3.2 Instrumentação

Todos os experimentos foram realizados em um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado Optima 7300 DV (PerkinElmer, Norwalk, CT, EUA) equipado com injetor de quartzo de 1,0 mm de diâmetro interno (Glass Expansion, Pocasset, MA, EUA). Tubos de policloreto de vinila com 0,51 mm de diâmetro (Glass Expansion, Pocasset, MA, EUA) foram utilizados para introdução das amostras e soluções de calibração, devido à sua resistência a solventes orgânicos. Argônio 99,996 % (Linde, Rio de Janeiro, Brazil) foi utilizado, tanto para alimentação do plasma, quanto como gás de nebulização ou para diluição do aerossol, como será discutido posteriormente.

Micronebulizadores do tipo Conikal 15069 (Glass Expansion, Pocasset, MA, EUA), Micromist (Glass Expansion, Pocasset, MA, EUA), Meinhard tipo K (J. E. Meinhard, Golden, CO, EUA), PFA 100 (Elemental Scientific, Little Canada, MN EUA) e Miramist CE (Burgener Research Inc., Mississauga, ON, Canada) acoplados à câmara de nebulização de duplo passo de 20 mL (Cinnabar, Glass Expansion, Pocasset, MA, EUA) foram empregados para otimização das condições operacionais do instrumento. Câmara de nebulização ciclônica de 50 mL com sistema de resfriamento do tipo Peltier (IsomistTM, Glass Expansion, Pocasset, MA, EUA) também foi avaliada, a fim de determinar os efeitos da redução de temperatura nas condições de determinação dos elementos.

As linhas espectrais escolhidas, bem como o modo de visão e as respectivas probabilidade de transição, estão apresentadas na Tabela 1, a seguir. Cada transição eletrônica realizada a partir da excitação gerada pelo plasma será diretamente com um comprimento de onda específico, e cada transição possui sua probabilidade de ocorrer, de acordo com fatores, tais como: distribuição da população atômica, energia fornecida pela fonte de excitação, energia necessária para realização daquela transição, temperatura, etc.

Tabela 1 – Comprimentos de onda e respectivos modos de visão selecionados para determinação de Na, K, Ca, Mg, P, Si e S em amostras de biodiesel por ICP OES.

Elemento	Comprimento de onda, λ em nm (tipo de linha) ^a	Modo de visão	Probabilidade da transição (10^8 s^{-1}) ^b
Na	589,592 (I)	Radial	0,61
K	766,490 (I)	Radial	0,38
Ca	315,887 (II), 317,993 (II), 422,673 (I)	Radial	3,1, 3,6, 2,2
Mg	279,077 (II), 279,553 (II), 280,271 (II), 285,213 (I)	Radial	4,0, 2,6, 2,6, 5,0
P	178,221 (I), 213,617 (I), 214,914 (I)	Axial	2,4, 2,8, 3,2
Si	212,412 (I), 221,667 (I), 251,611 (I), 252,851 (I), 288,158 (I)	Axial	0,2, 0,5, 1,7, 0,9, 1,9
S	180,669 (I), 181,975 (I), 182,563 (I)	Axial	3,1, 1,7, 0,6
Li	670,784 (I)	IS1	0,4
Sc	361,383 (II)	IS1	1,5
Y	371,029 (II)	IS2	1,5

^aTipo de linha: I: atômica II: iônica

^bValores obtidos através do NIST (2013)

Com exceção do Na e do K, que não têm outros comprimentos de onda com sensibilidade adequada na região de detecção da técnica, todos os elementos foram otimizados através do monitoramento de mais de um comprimento de onda. As linhas espectrais e o modo de visualização empregados na determinação de cada analito foram escolhidos com base na melhor relação sinal/fundo (SBR, do acrônimo em inglês), conforme recomendado pelo *software* do instrumento e requerido pelas normas brasileiras ABNT 15553 e 15867.

A vazão de Ar de nebulização, taxa de introdução e a potência da radiofrequência (RF) foram otimizadas através de um planejamento fatorial completo de dois níveis com réplica no ponto central apresentado na Tabela 2. Uma amostra de biodiesel diluída cinco vezes em xileno e fortificada com 10 mg kg^{-1} de cada analito foi aplicada para este fim. Os valores escolhidos para os níveis foram atribuídos levando-se em consideração a limitação instrumental, e a formação e

estabilidade do aerossol. Após a determinação dos parâmetros com relevância estatisticamente significativa, um gráfico de superfície de resposta a partir de uma matriz Doehlert (1970) foi gerado e, com isso, encontrados os valores ótimos para cada parâmetro avaliado.

Adicionalmente, a função desejabilidade foi aplicada aos dados de otimização para obter um conjunto comum de valores para os parâmetros avaliados em cada comprimento de onda. Os dados obtidos foram analisados utilizando o *software* Statistica versão 10.0, StatSoft (2010). As vazões de Ar do plasma e do gás auxiliar aplicados foram 15 e 1,5 L min⁻¹, respectivamente, e o tempo de integração de 5 s, para determinações empregando os métodos de calibração tradicionais e por MEC, e de 2 s, para determinações empregando SDA.

Tabela 2 – Matriz experimental utilizada para o planejamento fatorial completo de dois níveis (2³) com réplica no ponto central.

Parâmetros	Níveis		
	-	0	+
Vazão de Ar de nebulização (L min ⁻¹)	0,2	0,3	0,4
Taxa de introdução de amostra (mL min ⁻¹)	0,3	0,4	0,5
Potência da radiofrequência (W)	1300	1400	1500

3.3

Amostras de biodiesel

Nove amostras de biodiesel de diferentes matrizes foram obtidas através da prestação de serviço de análises em biodiesel do Laboratório de Espectrometria Atômica (LABSPECTRO). Devido à critérios de confidencialidade, somente parte da composição da matriz foi fornecida. A análise prévia destas amostras de biodiesel, conforme as normas ABNT 15553 e 15867, revelou que as concentrações dos sete analitos estavam abaixo de seus respectivos limites de quantificação. Portanto, a acurácia dos métodos propostos empregando SDA e MEC foi avaliada ao aplicá-los na determinação elementar em nove amostras selecionadas de biodiesel (B100), fortificadas com 5 mg kg⁻¹ de cada analito. Os resultados foram, então, comparados com os obtidos pelos métodos de calibração tradicionais, isto é, a padronização interna e a adição de analito, conforme descrito a seguir.

3.4 **Estratégias de calibração**

3.4.1 **Adição de analito (SA)**

Foram empregadas amostras de biodiesel diluídas 5 vezes em xileno e fortificadas com 5 mg kg^{-1} de cada analito (Na, K, Ca, Mg, P, S e Si), para a elaboração de curvas de calibração por adição de analito. Posteriormente, concentrações conhecidas dos analitos foram adicionadas à solução, e o volume final foi ajustado para 5 mL com xileno. Para a construção das curvas de calibração, foram utilizadas, no mínimo, quatro soluções, abrangendo concentrações adicionadas de cada analito de 2, 4, 6 e 8 mg kg^{-1} , totalizando cinco pontos na curva de calibração contemplando também a amostra de biodiesel fortificada. O material padrão de referência NIST 1084a foi diluído 20 vezes em xileno e submetido ao mesmo procedimento de preparo das amostras de biodiesel.

3.4.2 **Padronização interna (IS)**

Uma solução-estoque de 100 mg kg^{-1} foi preparada a partir da diluição dos padrões orgânicos em xileno, em seguida, as soluções de calibração foram preparadas abrangendo concentrações de 0,5, 1, 2,5, 5 e 10 mg kg^{-1} dos analitos (Na, K, Ca, Mg, P, S e Si), por meio de diluição apropriada destas em uma solução composta de óleo mineral em xileno (10 % m/m) com volume final de 5 mL. A solução branco empregada para esta curva é a mesma utilizada para preparo das soluções de calibração. Paralelamente, as amostras de biodiesel foram diluídas 5 vezes em xileno, conforme especificado nas normas ABNT NBR 15553 e 15867, enquanto o NIST 1084a foi diluído 20 vezes em xileno. Todas as soluções de calibração, amostras de biodiesel e material de referência receberam adição de soluções de padrão interno 1 mg kg^{-1} de Li e Sc.

3.4.3 Standard Dilution Analysis (SDA)

Os dados para a SDA foram adquiridos por meio de uma corrida composta por 100 réplicas, utilizando um tempo de integração de 2 s. O xileno foi empregado como solução branco para estabelecer a linha de base. Todas as soluções foram preparadas em % m/m, cada uma com um volume final de 5 mL. A solução S1 consistia em 50 % de solução de amostra (amostra de biodiesel diluída 5 vezes em xileno) e 50 % de solução analítica (5 mg kg^{-1} dos analitos e 1 mg kg^{-1} do primeiro IS, ou seja, 1 mg kg^{-1} de Li e Sc). Por sua vez, a solução S2 é formada por 50 % de solução de amostra (amostra de biodiesel diluída 5 vezes em xileno) e 50 % de solução branco (xileno) contendo 1 mg kg^{-1} de Y como segundo IS. O uso da mesma proporção de amostra em ambas soluções é o que permite que haja a compensação dos efeitos de matriz.

Para escolha dos padrões internos, o Li foi selecionado para atender adequadamente às condições de excitação de Na e K, conforme aplicado por Fortunato *et al.* (2016). Já o Sc, padrão interno frequentemente utilizado na determinação elementar em amostras de biodiesel e óleos, bem como na metodologia SDA, foi empregado para a determinação de todos os outros analitos (Ca, Mg, P, S e Si), além do Y empregado como segundo padrão interno. Diferente do que é observado na padronização interna, os padrões internos na calibração por SDA são essencialmente empregados para rastrear a região SDA formada pela mistura das soluções.

O material padrão de referência NIST 1084a, diluído 20 vezes em xileno, passou pelo mesmo preparo que as amostras de biodiesel. Amostras de biodiesel diluídas 2,5 vezes em xileno, submetidas ao mesmo modo de preparo citado anteriormente, foram aplicadas para avaliação das condições de compensação dos efeitos de matriz, aplicando a calibração por SDA.

3.4.4 Multi-energy Calibration (MEC)

De forma similar à calibração por SDA, foram empregadas duas soluções analíticas. Todas as soluções foram preparadas em % m/m, cada uma com um volume final de 5 mL. A solução S1 consistia em 50 % de solução de amostra

(amostra de biodiesel diluída 5 vezes em xileno) e 50 % de solução analítica (5 mg kg⁻¹ dos analitos). Por sua vez, a solução S2 compreendia 50 % de solução de amostra e 50 % de solução branco (xileno). Assim como na calibração por SDA, o uso da mesma proporção de amostra em ambas soluções é o que permite que haja a compensação dos efeitos de matriz, no entanto, as soluções analíticas foram analisadas separadamente e não foi requerido o emprego de IS.

O material padrão de referência NIST 1084a, diluído 20 vezes em xileno, passou pelo mesmo preparo que as amostras de biodiesel. Amostras de biodiesel diluídas 2,5 vezes em xileno, submetidas ao mesmo modo de preparo citado anteriormente, foram aplicadas para avaliação das condições de compensação dos efeitos de matriz aplicando a calibração por MEC.

3.5

Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação para métodos de calibração SA e IS foram calculados de acordo com a recomendação IUPAC, considerando o desvio-padrão de 10 medidas do branco (S_{branco}), ou seja, solução de óleo mineral em xileno 10 % m/m, e o coeficiente angular (*slope*) das respectivas curvas de calibração. Assim sendo, $LD = 3 S_{\text{branco}}/slope$ e $LQ = 10 S_{\text{branco}}/slope$.

Para a calibração por SDA, com um e dois padrões internos, os limites de detecção e quantificação foram calculados considerando as Equações 2, 3 e 5 e para determinação de 10 medidas de uma solução de óleo mineral:xileno 10 % m/m submetida ao mesmo procedimento de quantificação aplicado para as amostras de biodiesel em ambos os métodos de calibração, descritos anteriormente, como explicado por Jones *et al.* (2015) e Virgilio *et al.* (2016). A partir do desvio-padrão obtido para estas medidas (S_{branco}), os limites de detecção e quantificação são obtidos a partir do cálculo de $LD = 3 S_{\text{branco}}$ e $LQ = 10 S_{\text{branco}}$.

Já para a calibração por MEC, o método de propagação de erro foi empregado para calcular os limites de detecção e quantificação para a calibração por MEC (Virgilio *et al.*, 2020), utilizando a mesma determinação de 10 medidas de uma solução de óleo mineral:xileno 10 % m/m submetida ao mesmo procedimento de quantificação aplicado nos métodos de calibração citados. Assim, os limites de detecção e quantificação foram calculados a partir das equações 7 e 8, a seguir, e os resultados obtidos posteriormente discutidos.

$$LD = 3 \times \left(\frac{C_a^{\text{Pad}} \times S_{\text{slope}}}{(1 - \text{slo})^2} \right) \quad \text{Equação 7}$$

$$LQ = 10 \times \left(\frac{C_a^{\text{Pad}} \times S_{\text{slope}}}{(1 - \text{slo})^2} \right) \quad \text{Equação 8}$$

4 Resultados e Discussão

4.1

Desenvolvimento de método para determinação simultânea de Na, K, Ca, Mg, P, Si e S em amostra de biodiesel por ICP OES

A otimização dos parâmetros operacionais do ICP OES faz-se necessária para garantir condições robustas de análise e com mínimo de interferências possíveis provenientes da matriz do biodiesel, que pode levar a entupimento do injetor, e causar instabilidade no plasma ou, até mesmo, sua extinção (Duyck *et al.*, 2002; Maessen *et al.*, 1984; Maessen *et al.*, 1986). Portanto, para o desenvolvimento da metodologia analítica proposta neste trabalho, os parâmetros operacionais do espectrômetro de ICP OES: (i) vazão do Ar de nebulização ($L\ min^{-1}$), (ii) taxa de introdução da amostra ($mL\ min^{-1}$) e (iii) potência da radiofrequência (W) foram otimizados, a partir do planejamento fatorial completo com três réplicas no ponto central apresentado na Tabela 2, avaliando-se o maior valor de SBR para cada analito, a fim de assegurar a robustez das condições de ionização no plasma.

Para a etapa de triagem, utilizada para identificar quais os fatores possuem maior impacto para o planejamento, foram empregadas três amostras de biodiesel cinco vezes diluídas em xileno e fortificadas com $5\ mg\ kg^{-1}$ de cada analito (Na, K, Ca, Mg, P, S e Si). Para a modelagem, a matriz Doehlert foi aplicada, a fim de obter as condições ótimas para cada elemento a partir dos gráficos de superfície de resposta. Os coeficientes de determinação (R^2), erros puros, entre outros coeficientes da regressão, foram empregados para avaliação do ajuste para o modelo. Em paralelo, diferentes micronebulizadores foram avaliados, a fim de maximizar a resposta analítica, priorizando a melhor desempenho do instrumento com a introdução de solvente orgânico no plasma (Maestre *et al.*, 2004; Santelli *et al.*, 2008; De Souza *et al.*, 2011; Todoli & Mermet, 2008).

Após a definição da condição ótima para cada elemento nos diferentes micronebulizadores obtida através do planejamento experimental, condições de compromisso foram estabelecidas, priorizando as respostas de S e P, devido à proximidade de suas linhas espectrais à região do UV de vácuo e à baixa eficiência

de excitação no plasma de argônio (Chaves *et al.*, 2011; Moore, 1989; Houk, 1980; Korn *et al.*, 2007). As condições ótimas para S encontraram-se em $0,2 \text{ L min}^{-1}$ para vazão de Ar de nebulização, $0,3 \text{ mL min}^{-1}$ para taxa de introdução e 1500 W de potência, enquanto as condições ótimas para P foram $0,2 \text{ L min}^{-1}$ de vazão de Ar de nebulização, $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ para taxa de introdução e 1300 W de potência. Em cada condição estabelecida, foram avaliados os valores de SBR, os limites de detecção e os resultados do teste de recuperação, além da precisão dos resultados, para cada analito, especialmente para os elementos regulamentados pela legislação brasileira de biodiesel (i.e., Na, K, Ca, Mg e P), seguindo o procedimento descrito nas normas ABNT 15553 e 15867. Os resultados de SBR, para cada elemento, medidos nas condições ótimas para S e P estão representados na Figura 4.

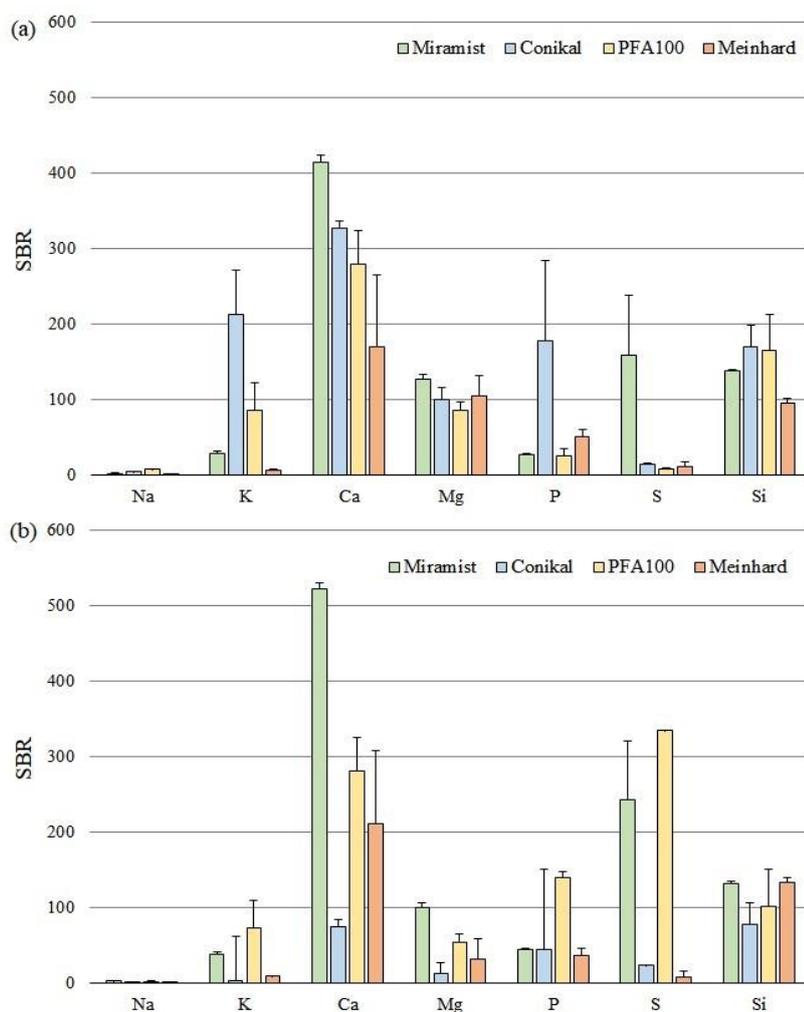


Figura 4 – Valores de SBR obtidos para Na, K, Ca, Mg, P, S e Si aplicando as condições ótimas para P (a) e para S (b) com os micronebulizadores Miramist, Conikal, PFA 100 e Meinhard ($n=3$).

Pode-se observar que, para a maioria dos elementos estudados, o micronebulizador Miramist produziu relações sinal/ruído melhores ou similares aos demais micronebulizadores testados. A este fato, pode-se atribuir o menor tamanho da distribuição das gotas formadas no aerossol primário em relação a outros micronebulizadores concêntricos (Groombridge *et al.*, 2012), o que aumenta a eficiência de transporte da solução ao plasma e ajuda a explicar os resultados obtidos, uma vez que gotas maiores podem causar turbulências no plasma (Burgener & Makonnen, 2020). Embora este aumento possa representar também um aumento na carga de solvente orgânico no plasma, o micronebulizador Miramist permite o emprego de baixas vazões de Ar de nebulização e taxas de introdução de amostra sem comprometer a sua eficiência.

Neste estudo, o micronebulizador Micromist foi desconsiderado e, portanto, seus resultados não foram apresentados na figura, devido aos repetitivos entupimentos, o que torna seu emprego pouco prático e com baixa frequência analítica. Embora tenha apresentado melhores resultados de SBR para P e S, o micronebulizador PFA 100 também sofreu com bloqueios e este fato pode ser atribuído ao teor de partículas na amostra de biodiesel, como também observado por De Souza *et al.* (2011), além de empregar vazão de Ar de nebulização e taxa de introdução maiores que os demais micronebulizadores nas condições estudadas.

Tanto Meinhard, quanto Conikal, ambos micronebulizadores concêntricos, mesmo que tenham alta eficiência de transporte dos analitos (Almagro *et al.*, 2006), esta mesma característica também contribui para o aumento da carga de solvente no plasma, o que ajuda a explicar em parte os valores de SBR inferiores aos demais quando empregada as condições ótimas para o S. Além disto, a principal desvantagem dos micronebulizadores concêntricos é que a estrutura física do seu capilar propicia o bloqueio, sendo necessário a filtração da amostra, inclusive aquosa, para remoção de partículas (Burgener & Makonnen, 2020; Todoli & Mermet, 2008).

Na Figura 5, foram comparados os limites de quantificação (LQ) obtidos na determinação elementar empregando os métodos descritos nas normas brasileiras nas condições ótimas otimizadas para S e nas condições ótimas otimizadas para P empregando o micronebulizador Miramist.

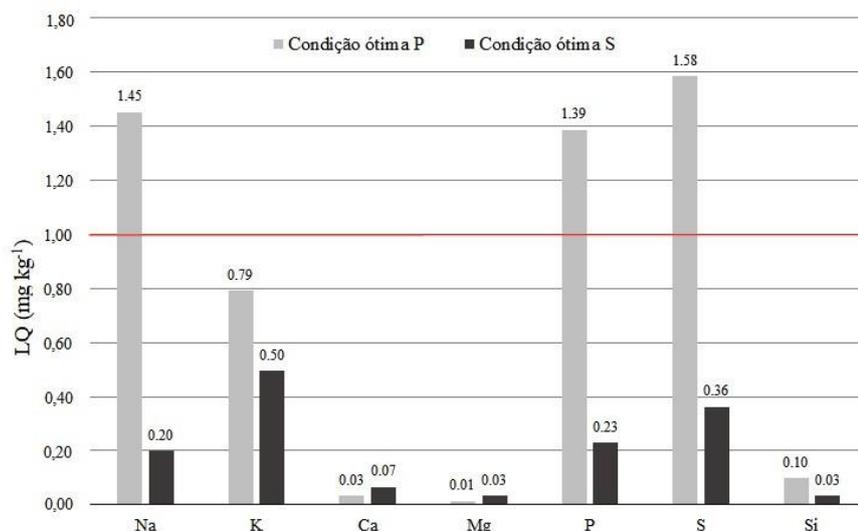


Figura 5 - Limites de quantificação instrumental (LQ), em mg kg⁻¹, obtidos através da determinação elemental em amostra de biodiesel seguindo os métodos descritos nas normas ABNT 15553 e 15867 (linha vermelha estabelece o limite de estabelecido nas respectivas normas técnicas).

Pode-se observar que os limites obtidos nas condições ótimas do S foram até uma ordem de magnitude menores que aqueles obtidos aplicando as condições ótimas para o P. Esses limites atendem aos requisitos estabelecidos pelas normas técnicas ABNT 155535 e 158676, especialmente no caso do Na e do K, uma vez que suas linhas de emissão são diretamente impactadas pelo aumento da radiação de fundo causada pelas espécies de carbono.

Além disso, os resultados do teste de recuperação para a condição ótima do S variaram de 93 % a 112 %, com uma precisão, expressa pelo desvio-padrão relativo (RSD), inferior a 6 %. Embora essas condições operacionais não favoreçam a excitação dos metais alcalinos, a SBR obtido para esses elementos não comprometeu seu desempenho analítico. Conforme sugerido por Browner *et al.* (1992), é altamente recomendado manter a vazão de Ar de nebulização e a taxa de introdução para amostras orgânicas em níveis baixos para reduzir a carga de solvente no plasma e prolongar o tempo de residência dos analitos no mesmo. Já a robustez calculada em função da razão das linhas espectrais de Mg 280,271 nm (II) e Mg 285,213 nm (I) para esta condição empregada foi igual a $32,5 \pm 0,5$. De acordo com Mermet (1991), condições robustas são encontrados com valores superiores a 10.

Micronebulizadores são recomendados para análises de amostras orgânicas por ICP OES, pois possibilitam a geração de aerossol a baixas taxas de introdução, promovendo maior robustez na análise ao minimizar os efeitos de matriz, sem

comprometer os limites de detecção e de quantificação, e a sensibilidade (De Gois & Costas-Rodriguez, 2023; Maestre *et al.*, 2004; De Souza *et al.*, 2011). Além disto, dentre os micronebulizadores testados, o Miramist foi o que empregou menor taxa de introdução de amostra, corroborando observações anteriores, e sua eficiência é aprimorada pela ausência de pressão de retorno no capilar, otimizando a transferência da solução para o plasma. Contudo, é válido mencionar que outros estudos na literatura também relatam resultados positivos aplicando nebulizadores distintos daqueles abordados neste trabalho (Aguirre *et al.*, 2012; Bauer & Broekaert, 2007; Korn *et al.*, 2007).

Na Tabela 3, a seguir, foram apresentados os resultados da regressão para os dados obtidos através da etapa de triagem do planejamento experimental, bem como os efeitos estimados para cada parâmetro avaliado e a significância estatística de suas interações.

Tabela 3 – Análise de coeficientes da regressão do modelo linear obtido através do planejamento fatorial completo com réplica no ponto central (n=3) empregando amostras de biodiesel.

Elemento (λ , nm)	R ² modelo linear	Evidência curvatura (valor de p)	Efeitos estimados (valor de p)			Interações estatisticamente significativas (p < 0,05)
			Vazão de Ar de nebulização (a)	Taxa de introdução de amostra (b)	Potência (c)	
Ca (315,887)	0,9555	0,97	0,04	0,42	0,63	-
Mg (285,213)	0,9730	0,12	0,04	0,20	0,19	-
Na (589,592)	0,9898	0,16	0,01	0,72	0,12	-
K (766,490)	0,9979	0,13	0,01	0,04	0,86	-
P (214,914)	0,9200	0,50	0,04	0,18	0,18	-
Si (251,611)	0,9882	0,18	0,01	0,07	0,29	-
S (180,669)	0,9537	0,82	0,01	0,19	0,16	ab; ac

Nota: Valores de p foram obtidos a partir da análise de variância (ANOVA), a 95 % de confiança, da regressão do modelo linear

Pelos resultados obtidos a partir da triagem, pode-se observar que, para a maioria dos elementos avaliados, somente a vazão de Ar de nebulização apresentou relevância estatisticamente significativa para o modelo, com exceção do K que, tanto a vazão do Ar de nebulização, quanto a taxa de introdução de amostra apresentaram relevância estatisticamente significativa. Porém, somente as interações entre a vazão de Ar de nebulização e a taxa de introdução da amostra e entre a vazão de Ar de nebulização e a potência de RF apresentaram relevância estatística para o S, o que, por sua vez, mostrou que a otimização multivariada não apresentou vantagens para maioria dos elementos, exceto para este. Os resíduos dos modelos obtidos a partir do planejamento fatorial, ilustrado na Figura 6, apresentaram distribuição normal, de acordo com teste de Shapiro-Wilk, e variâncias homogêneas, de acordo com ANOVA, ambos conduzidos a 95 % de confiança.

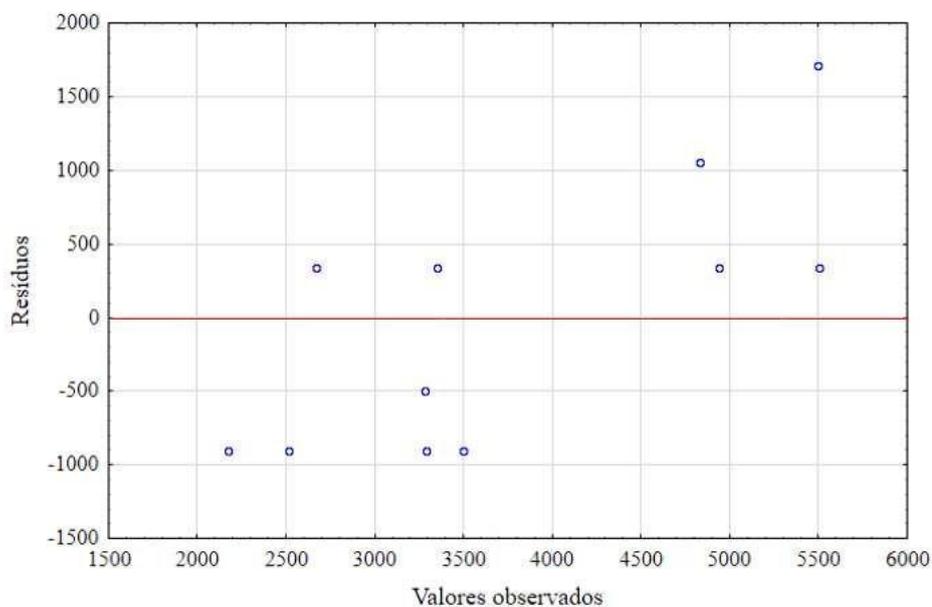


Figura 6 – Resíduos do modelo linear obtidos a partir do planejamento fatorial completo com réplica no ponto central para Mg 285,213 nm.

Os mesmos resultados foram obtidos para os demais analitos em seus respectivos comprimentos de onda, apresentados na Tabela 1. Logo, considerando as observações feitas anteriormente, a Matriz Doehlert foi construída levando-se em consideração os parâmetros de vazão de Ar de nebulização e taxa de introdução da amostra, fixando a potência de RF a 1500 W para obter as condições ótimas de cada elemento.

Assim sendo, foram construídas as superfícies de resposta para cada elemento, resultando na observação de dois comportamentos opostos, como observado na Figura 7. Os elementos P, S, Ca, Mg e Si, cujos comprimentos de onda estão abaixo de 320 nm, apresentaram condições ótimas em baixas vazões de Ar de nebulização e alta potência de RF, sem que fossem significativamente afetados pela taxa de introdução. Por outro lado, as condições ideais para Na e K, cujos comprimentos de onda estão acima de 580 nm, foram identificadas em vazões máximas de Ar de nebulização, taxas de introdução elevadas e potência máxima de RF.

Esses resultados corroboram as observações da literatura acerca das distintas condições de excitação para elementos em regiões opostas do espectro (Todoli & Mermet, 2008). Portanto, na Figura 7, foram apresentadas apenas as superfícies de resposta de SBR na potência de RF de 1500 W. De acordo com Sánchez *et al.* (2015), condições de excitação mais robustas são atingidas quando aplicada maior potência de RF, o que torna-se preponderante para análise em matrizes orgânicas. Portanto, o maior valor estabelecido para potência na matriz de planejamento experimental foi considerado para os demais testes apresentados.

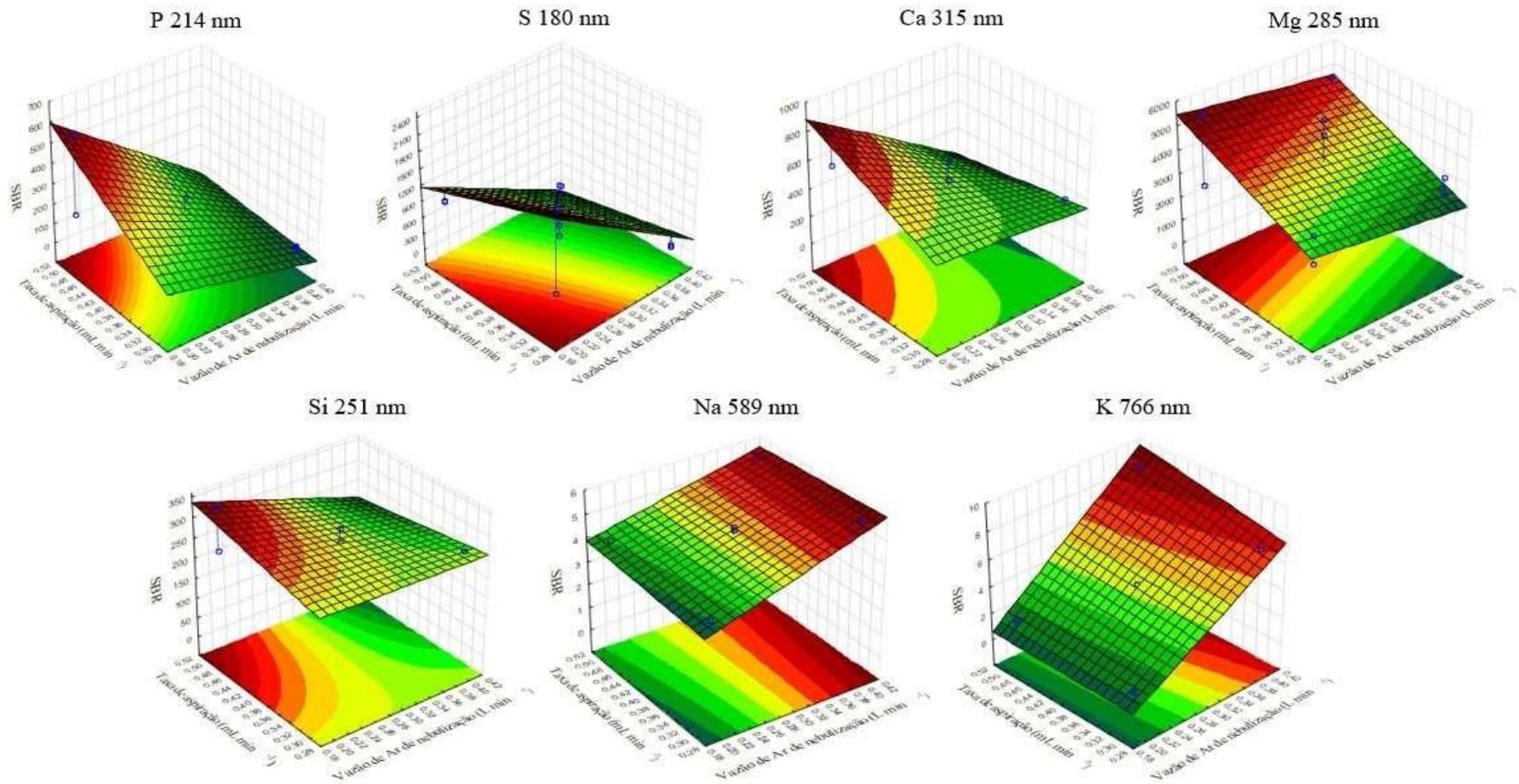


Figura 7 - Superfícies de resposta para a SBR dos analitos em função da vazão do Ar de nebulização ($L\ min^{-1}$) e taxa de introdução de amostra ($mL\ min^{-1}$), obtidas por um planejamento fatorial completo de 2 níveis com réplica no ponto central, para as linhas espectrais: P 214,914 nm, S 180,669 nm, Ca 315,887 nm, Mg 285,213 nm, Si 251,611 nm, Na 589,592 nm e K 766,490 nm.

Ademais, para a otimização de múltiplas respostas, a função desejabilidade foi aplicada ao conjunto de variáveis experimentais, a fim de obter a melhor condição de compromisso para determinação dos analitos. No âmbito da quimiometria, a função desejabilidade é uma abordagem empregada para otimizar de maneira simultânea múltiplas respostas em experimentos. Essa função integra vários critérios de desempenho em uma única métrica, viabilizando a avaliação global da proximidade de um experimento em relação aos objetivos desejados (Costa *et al.*, 2011; Derringer & Suich, 1980).

Primeiro descrito por Harrington (1965), a função desejabilidade tem suas limitações no que tange ao tratamento de dados considerados *outliers*, levando a uma falsa medida em função do peso atribuído a uma variável em específico (Abd Aziz *et al.*, 2018). Por este motivo, métodos modificados foram propostos na literatura com o objetivo de mitigar esta diferença de efeitos nas mais diversas áreas de aplicação (Abd Aziz *et al.*, 2018; Del Castillo *et al.*, 1996; Costa *et al.*, 2011; Vasudevan *et al.*, 2014), sendo a abordagem descrita por Derringer & Suich (1980) a abordagem mais amplamente empregada para tratamento estatístico em quimiometria.

De acordo com os autores, a desejabilidade global é calculada através da média geométrica das desejabilidades individuais, como demonstrada na Equação 9, a seguir.

$$D = \sqrt[7]{d_{Na} \cdot d_K \cdot d_{Ca} \cdot d_{Mg} \cdot d_P \cdot d_{Si} \cdot d_S} \quad \text{Equação 9}$$

A média geométrica, ao multiplicar todos os valores e elevar o produto à potência do inverso do número de variáveis que contribuem para o modelo, fornece uma maneira simples de transformar os valores previstos para variáveis dependentes em uma única pontuação global de desejabilidade. Assim, a superfície de resposta que descreve a desejabilidade global, construída com uma potência de RF de 1500 W, está apresentada na Figura 8.

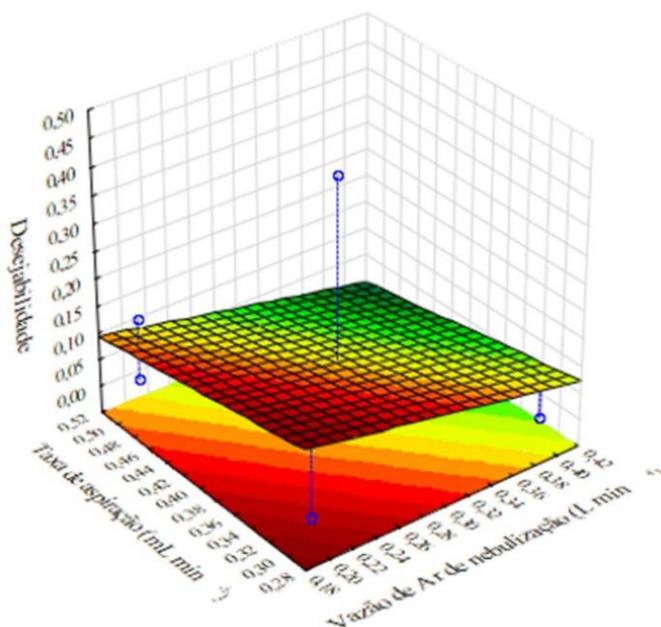


Figura 8 - Superfície de resposta para a função de desejabilidade sobre a vazão de Ar de nebulização ($L \text{ min}^{-1}$) e a taxa de introdução de amostra ($mL \text{ min}^{-1}$) obtida por um planejamento fatorial completo de 2 níveis com réplica no ponto central para a determinação simultânea de Na, K, Ca, Mg, P, S e Si em amostra de biodiesel por ICP OES.

Como produto da desejabilidade individual de cada analito nas diferentes condições operacionais avaliadas no planejamento experimental, a desejabilidade global tomará valor igual a zero quando a desejabilidade individual de algum analito for igual a zero, o que, por sua vez, indicará uma condição que o desfavorece em relação aos demais. Embora o valor ideal para função desejabilidade seja igual a 1, em que se obtém uma resposta totalmente desejada, tratando-se de elementos com condições de excitação opostas, como descrito anteriormente, o maior valor obtido para esta função foi igual a 0,15. Esse valor está relacionado às condições de compromisso obtidas com a razão SBR como resposta ($0,2 L \text{ min}^{-1}$ de vazão de Ar de nebulização e $0,3 mL \text{ min}^{-1}$ de taxas de introdução de amostra), o que corrobora a avaliação feita anteriormente.

4.2

Avaliação do emprego do sistema de resfriamento IsoMist™

Outra possibilidade considerada foi o emprego de câmara de nebulização resfriada. Este tipo de sistema é empregado a fim de reduzir a quantidade de solvente orgânico que é levado ao plasma e, com isso, minimizar os efeitos de

matriz (Boorn & Browner, 1982; Chaves *et al.*, 2011; Gazulla *et al.*, 2017). O sistema de IsoMist emprega uma câmara de nebulização ciclônica de duplo passo de 50 mL de teflon com um dispositivo Peltier acoplado, que permite a variação de temperatura entre -25 °C e 80 °C, de acordo com especificação do fabricante. Sendo assim, foi avaliada a variação da temperatura entre 25 °C e -10 °C, com o objetivo de se obter a melhor SBR, normalizada em função da média dos valores de SBR para os analitos, aplicando as condições operacionais previamente otimizadas, como demonstrado na Figura 9. A faixa de trabalho do sistema IsoMist foi estabelecida a levando-se em consideração a pressão de vapor do xileno, a fim de minimizar a quantidade de solvente que atinge o plasma. Mesmo que o ponto de fusão do xileno seja igual a -48 °C, a temperatura de -10 °C está bem abaixo daquela prevista pela Resolução da ANP para a determinação do ponto de entupimento de filtro a frio no biodiesel.

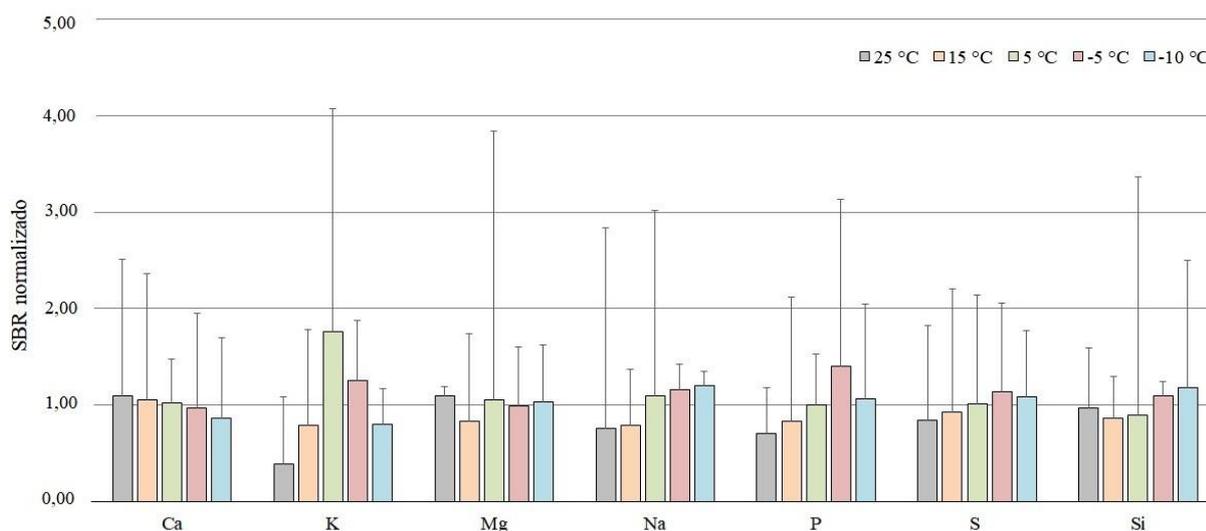


Figura 9 - Relações SBR obtidas para Na, K, Ca, Mg, P, S e Si aplicando o micronebulizador Miramist acoplado à uma câmara de nebulização de duplo passo de 50 mL com sistema de resfriamento IsoMist, variando as temperaturas entre 25 e -10 °C (n= 3).

Considerando aqueles elementos que são prejudicados pela radiação de fundo (i.e., K, Na, P e S), a diminuição da temperatura até 5 °C favoreceu o aumento na relação SBR em até 4 vezes para K, por exemplo, o que resultou em melhor sensibilidade para estes elementos. No entanto, o mesmo efeito não foi observado para as demais linhas espectrais mencionadas, que não apresentaram diferença

estatisticamente significativa, com temperaturas menores que $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, de acordo com o teste ANOVA, com nível de confiança de 95 %.

Embora os trabalhos publicados por Chaves *et al.* (2011), Sánchez *et al.* (2010) e Sánchez *et al.* (2012) apontem a eficiência do emprego de sistemas de introdução térmicos, aplicando tanto temperaturas abaixo de $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ quanto maiores que $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, para determinação elementar por ICP OES em amostras de combustíveis e biocombustíveis diluídas em solventes orgânicos, nenhum ganho significativo foi observado para os analitos contemplados neste trabalho para que justifique o tempo necessário para a estabilização da temperatura do sistema ou a adaptação de sistema comercialmente disponível. Por isso, o sistema de introdução envolvendo o micronebulizador Miramist acoplado à câmara de nebulização de duplo passo de 20 mL foi empregado para as demais avaliações.

4.3

Avaliação dos diferentes métodos de calibração

4.3.1

Standard Dilution Analysis

No método SDA proposto, representado pela Figura 10, nos primeiros 20 s (representando dez réplicas), xileno foi introduzido no plasma e o sinal monitorado para definição da linha de base. Em seguida, a solução S1 (amostra + padrão) foi introduzida e, após o aerossol atingir o plasma, o sinal aumentou até atingir um platô. Após aquisição de dados do platô durante cerca de 60 s, a solução S2 (amostra + branco) foi adicionada ao tubo da solução S1, iniciando o processo de diluição que dará origem à região SDA, até se formar um novo platô. Após 200 segundos do início da análise, xileno foi novamente introduzido para limpeza do sistema de introdução e início de uma nova análise. O tempo de introdução do xileno pode ser otimizado de acordo com os ciclos necessários para limpeza do sistema de introdução caracterizado pelo retorno do sinal emitido à linha de base, que será também afetada pela emissão da radiação de fundo.

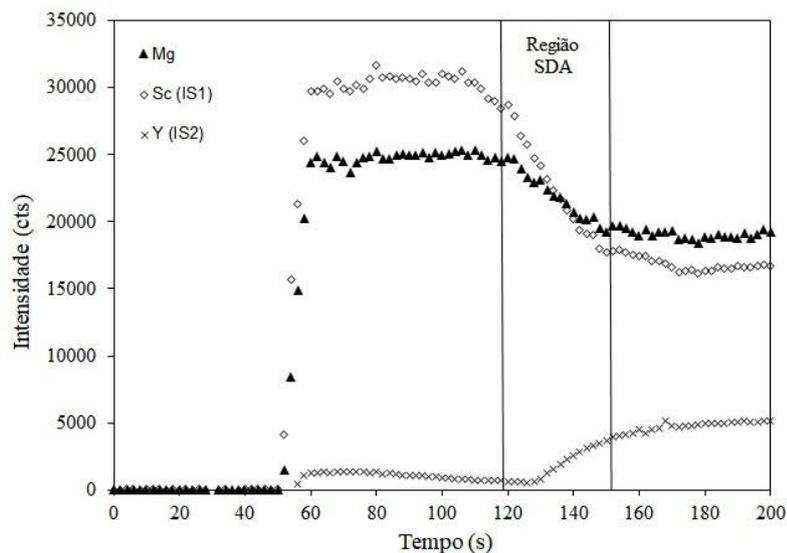


Figura 10 - Curva de SDA com 2 padrões internos para determinação de Mg em amostra de biodiesel fortificada com 5 mg kg^{-1} , empregando 1 mg kg^{-1} dos padrões internos Sc (IS1) e Y (IS2), por ICP OES.

Nesta estratégia de calibração, os efeitos de matriz foram compensados ao manter a mesma proporção de matriz de biodiesel em ambas as soluções, ou seja, somente os padrões são diluídos pelo solvente (branco). Apesar de estudos publicados já terem explorado outros parâmetros da calibração por SDA (Virgilio *et al.*, 2016), ainda não há uma explicação clara dos fenômenos que são observados dentro da região de SDA.

Sabe-se que, após a adição da solução 2, um gradiente de diluição é formado, à medida que esta nova solução, mistura de S1 e S2, chega ao plasma. No entanto, uma vez que a solução S1 é consumida, seu volume é reduzido a uma taxa fixa, necessariamente atribuída à taxa de introdução de amostra que, ao receber o volume de S2, diferentes proporções entre estas soluções podem ser encontradas. Por exemplo, partindo do pressuposto que ambas soluções contenham o mesmo volume de amostra e que o sinal de ambas é mensurado simultaneamente, a proporção da solução formada por S1 e S2 seria de 50 % (ou 1:1). Como observado pelo gráfico de SDA apresentado na Figura 10, a solução S2 passa a ser adicionada em S1 após 60 segundos de introdução de S1, que a uma taxa de introdução de $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, representa uma redução de volume de 6 % do volume original. Este fato pode ajudar a explicar, em parte, a principal dificuldade da SDA com um padrão interno em estabelecer os pontos que compõem a região SDA.

Além disto, outro fator que pode contribuir é o processo de mistura por convecção que se dá pela diferença da concentração do analito e não pela alteração de outros parâmetros físico-químicos, como viscosidade, uma vez que as soluções possuem a mesma quantidade de matriz da amostra. Diferente do que é empregado no método de SDA com um padrão interno, o método SDA empregado aplica dois padrões internos, o que permite melhor delimitar os dados adquiridos da região SDA que serão empregados para obtenção dos coeficientes da regressão linear, como mostra a Figura 11.

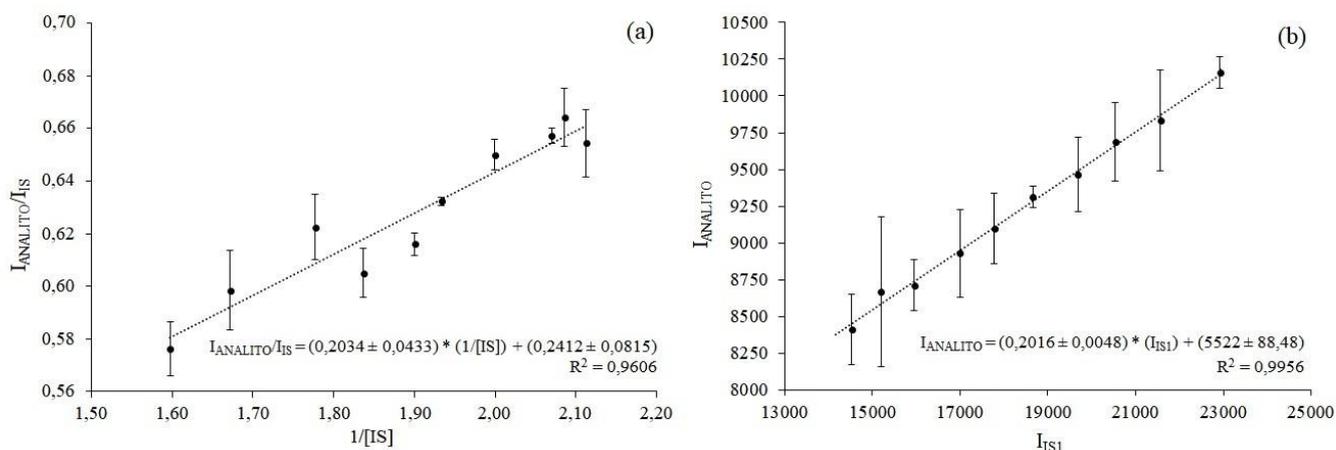


Figura 11 – Curvas analíticas obtidas através do método de SDA com um padrão interno (IS) (a) e com dois padrões internos (b), para a determinação de Ca, em 315,887 nm, em amostra de biodiesel diluída em xileno, por ICP OES (n = 3).

Avaliando o cálculo das concentrações obtidos pelas respectivas curvas analíticas empregando o método de SDA com um padrão interno, representada na Figura 11 (a), e pelo método de SDA com dois padrões internos, pode-se observar que, embora os resultados de recuperação das concentrações tenham variado entre 102 e 115 %, houve uma diminuição significativa da precisão dos resultados, expressa em função do desvio padrão relativo (RSD), que foi de 2,3 % na SDA com dois IS, em comparação com 51 % na SDA com apenas um IS, durante a determinação de Ca. O mesmo comportamento foi observado para todos os outros elementos estudados neste trabalho, corroborando outros trabalhos em que a SDA com dois IS foi aplicada como estratégia de calibração para determinação elementar em diferentes matrizes (Ingham *et al.*, 2023; Sloop *et al.*, 2019).

Com base nos testes ANOVA e Breusch Pagan (Breusch & Pagan, 1979), ambos conduzidos com um nível de confiança de 95%, a regressão de mínimos

quadrados da curva analítica para SDA com dois IS apresentou significância estatística e comportamento homocedástico ($p=0,4283$), com variâncias homogêneas, como apresentado na Figura 12 abaixo. Este comportamento também foi verificado para todos os demais analitos. Portanto, pode-se inferir que a adição do segundo IS no método de SDA permite melhor delimitar a região SDA que será empregada para obtenção da curva analítica, minimizando os erros oriundos do processo de mistura de ambas que as soluções que dificultam o tratamento dos dados obtidos pela SDA. Ao mesmo tempo que os coeficientes de regressão para SDA com dois padrões internos apresentaram menores desvios-padrão frente àqueles obtidos pela SDA com um padrão interno..

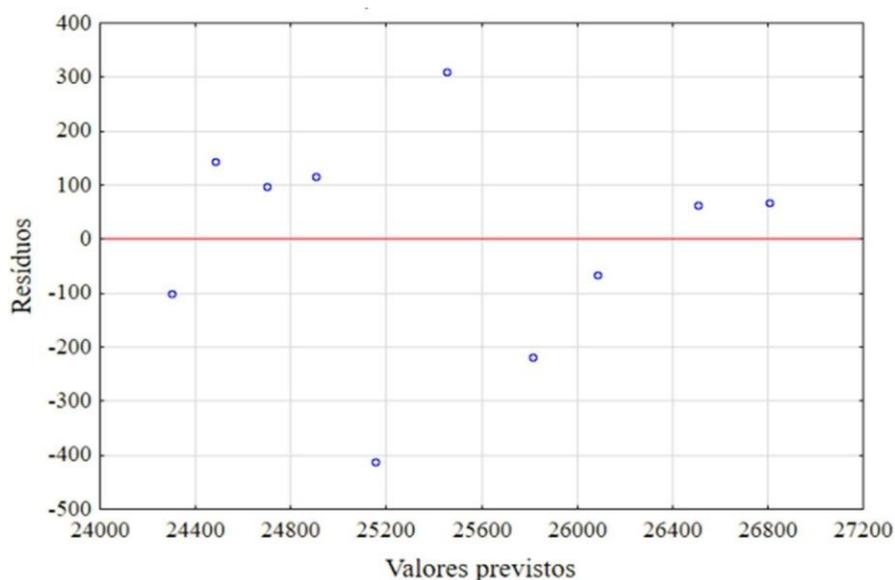


Figura 12 – Gráfico dos resíduos da curva analítica obtida pelo emprego da calibração por SDA com dois padrões internos para determinação elementar em amostra de biodiesel por ICP OES.

A análise da normalidade realizada através do teste de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965), a 95 % de confiança, mostrou que os resíduos apresentam comportamento normal ($p=0,6600$), o que, segundo o Teorema Central de Limite, pode-se considerar esperado, uma vez que a média amostral de uma distribuição com número de alto grau de liberdade tende à normalidade, ou seja, mais estável será a variância dos dados.

4.3.2 Multi-energy Calibration

Nos métodos de calibração tradicionais, a concentração dos analitos é dada a partir da interpolação da curva analítica que é estabelecida entre uma relação direta da concentração do analito em função da resposta analítica do instrumento. Portanto, à medida que aumenta o número de pontos de calibração utilizados, o erro associado à estimativa da concentração da substância analisada diminui (Donati & Amais, 2019). A exceção da calibração por SDA, conforme previsto na norma ABNT 15553, cinco soluções de calibração são utilizadas para determinar os analitos no biodiesel por meio de regressão de mínimos quadrados.

Empregando a calibração por MEC, as duas soluções analíticas são utilizadas para construção da curva analítica plotando as intensidades obtidas na solução de amostra + branco (S2) em função das intensidades obtidas para solução fortificada (S1), como mostra a Figura 13. Uma vantagem interessante relacionada à MEC é a detecção das linhas de emissão que apresentam interferências espectrais, identificando aquelas que se desviam do modelo linear, além de dispensar o emprego de um padrão interno (Higuera *et al.*, 2019; Virgilio *et al.*, 2017).

Para isto, as linhas espectrais escolhidas para determinação de Ca, Mg, P, S e Si em amostras de biodiesel por ICP OES aplicando a calibração por MEC foram apresentadas na Tabela 1. Devido à indisponibilidade de sensibilidade relativa suficiente para determinação em níveis compatíveis com aqueles requeridos pelas normas técnicas de biodiesel, as determinações de Na e K foram inviáveis pelo emprego do MEC.

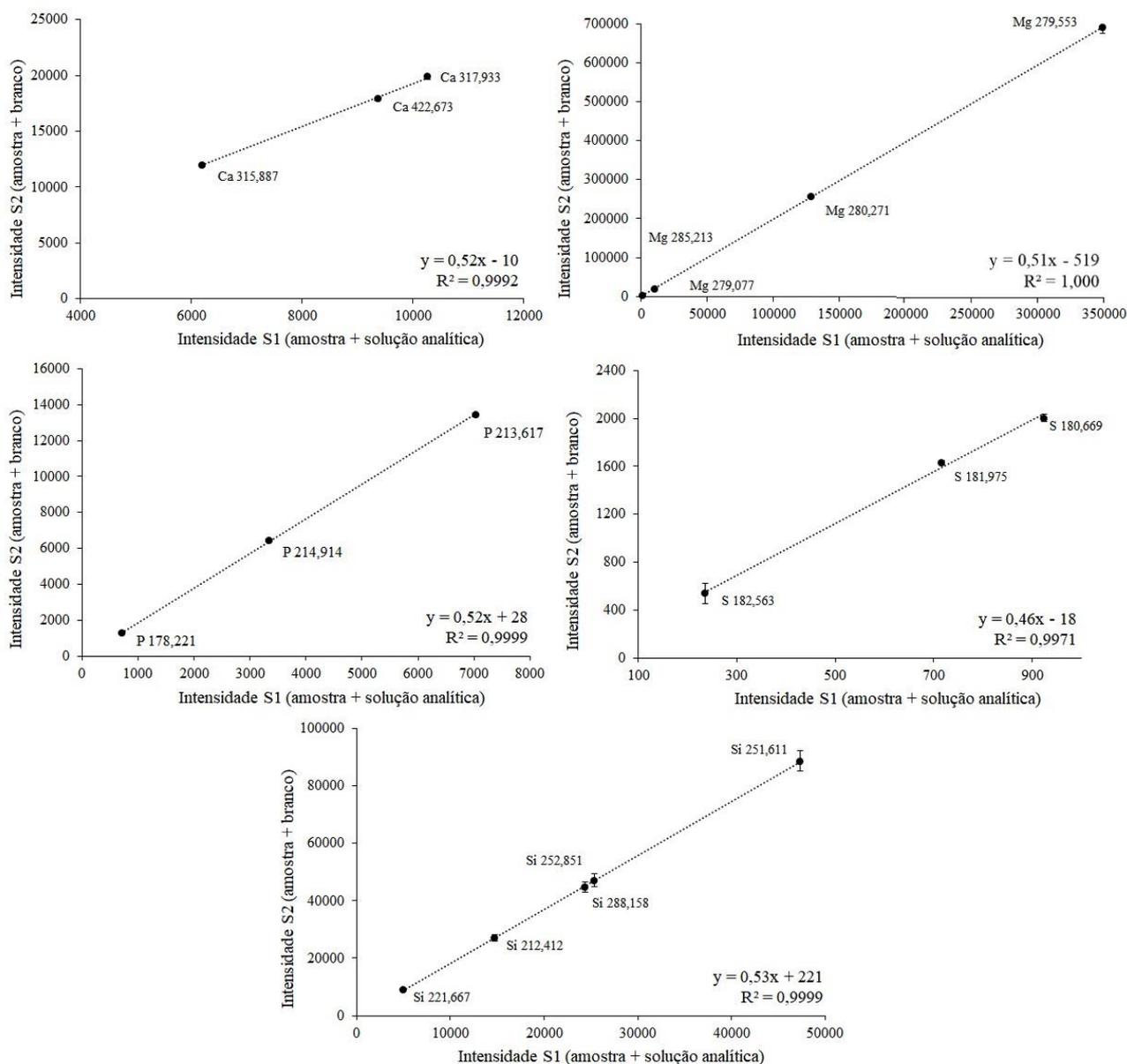


Figura 13 - Curvas analíticas obtidas através do método de MEC para determinação de Ca, Mg, S, Si e P em amostras de biodiesel diluídas em xileno por ICP OES (n = 3).

Segundo Carter *et al.* (2018) e Virgilio *et al.* (2018), para se obter a concentração adequada de padrão a ser adicionado à solução S1, deve ser levado em consideração a variação entre 1,1 e 10 para a razão entre as intensidades do sinal proveniente da solução S2 e da solução S1, o que, por sua vez, levará a coeficientes angulares ideais das curvas de calibração entre 0,1 e 0,9, condição em que encontram-se melhores veracidade e precisão dos resultados para determinação elementar por calibração multissinal (Virgilio *et al.*, 2020).

Ainda de acordo com os autores, as proporções entre matriz e solução analítica (ou solução branco) - que neste trabalho obedeceram a razão 1:1 - podem

ser modificadas de acordo com a necessidade (como no caso de amostras com elevada concentração de sólidos dissolvidos, por exemplo), desde que a correção pelo volume seja empregada durante o cálculo da concentração dos analitos, como demonstrado na Equação 9, e a razão entre sinal das soluções analíticas esteja dentro da variação citada anteriormente, evitando condições limítrofes onde a concentração dos analitos presentes na fração correspondente à fortificação seja diferente a ponto de suprimir o sinal oriundo dos mesmos analitos presentes na amostra, o que dará origem a curvas de calibração com coeficientes angulares menores que 0,1 ou maiores que 0,9, levando ao aumento da incerteza de medição (Virgilio *et al.*, 2020). Para os elementos que tiveram sua determinação realizada pelo emprego da calibração por MEC, os coeficientes angulares das curvas analíticas variaram entre 0,47 e 0,55, uma vez que a C_a^{Am} foi igual a C_a^{Pad} , como pode ser visto na Tabela 4, a seguir.

Tabela 4 – Coeficientes angulares encontrados para determinação de Ca, Mg, P, Si e S em amostras de biodiesel, com razão 1:1 entre amostra e solução analítica (ou branco), por ICP OES aplicando a calibração por MEC (n = 3).

Amostra	Elemento				
	Ca	Mg	P	Si	S
A	0,51	0,49	0,52	0,53	0,51
B	0,52	0,51	0,55	0,52	0,51
C	0,52	0,50	0,53	0,47	0,51
D	0,52	0,51	0,52	0,51	0,51
E	0,51	0,52	0,50	0,49	0,50
F	0,52	0,50	0,51	0,50	0,53
G	0,49	0,48	0,52	0,48	0,53
H	0,53	0,51	0,53	0,51	0,54
I	0,51	0,50	0,53	0,49	0,53

Devido ao emprego de somente duas soluções analíticas, na calibração por MEC, assim como SDA, um erro sistemático durante o preparo de uma dessas poderá comprometer toda a análise, ainda assim, com base nos testes ANOVA e Breusch Pagan, ambos conduzidos com um nível de confiança de 95 %, a regressão de mínimos quadrados da curva analítica para MEC, representada pela Figura 13,

apresentou significância estatística e comportamento homocedástico ($p=0,7602$), com variâncias homogêneas, como apresentado na Figura 14 abaixo. A análise da normalidade realizada através do teste de Shapiro-Wilk, a 95 % de confiança, mostrou que os resíduos apresentam comportamento normal ($p=0,7894$).

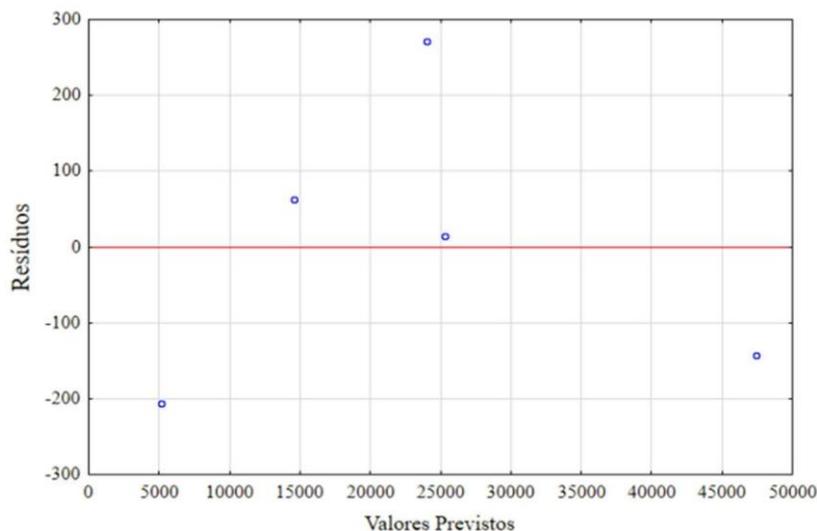


Figura 14 - Gráfico dos resíduos da curva analítica obtida pelo emprego da calibração por MEC para determinação elementar em amostra de biodiesel por ICP OES.

Apesar de existirem fontes de erro associadas aos dois eixos da curva analítica por MEC, o emprego do método de regressão por mínimos quadrados mostrou-se adequado, uma vez que se assume que a magnitude destes erros se mantém constante durante toda aquisição do sinal analítico, como também observado por Donati & Amais (2019), que não observou diferenças significativas nas concentrações dos analitos em diferentes matrizes obtidas a partir do emprego da calibração multissinal em ICP-MS e MIP OES, estas concentrações foram calculadas através do método de regressão por mínimos quadrados ordinária e também pelo método de regressão ortogonal.

4.4

Comparação com métodos tradicionais de calibração

4.4.1

Parâmetros de mérito

Os resultados provenientes do emprego das calibrações por SDA com dois padrões internos e por MEC foram comparados com aqueles obtidos através da utilização de métodos tradicionais de calibração, i.e, calibração por SA e por IS. Essa comparação foi realizada para a determinação elementar de Na, K, Ca, Mg, P, Si e S em nove amostras de biodiesel, provenientes de diversas matérias-primas, por ICP OES.

Os valores obtidos para limites de detecção e quantificação dos métodos de calibração tradicionais, bem como aqueles obtidos pelos métodos de SDA com um e dois padrões internos, e MEC, foram apresentados na Tabela 5, a seguir.

Tabela 5 – Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), em mg kg^{-1} , para a aplicação dos métodos de calibração SA, IS, SDA com um (1) e dois (2) padrões internos, e MEC (n = 10) na determinação elementar de Ca, K, Mg, Na, P, Si e S em amostras de biodiesel por ICP OES.

Analito	LD (mg kg^{-1})					LQ (mg kg^{-1})				
	SA	IS	SDA (1)	SDA (2)	MEC	SA	IS	SDA (1)	SDA (2)	MEC
Ca	0,19	0,10	0,13	0,05	0,07	0,61	0,34	0,42	0,17	0,23
K	0,88	0,63	1,12	0,21	-	2,89	2,08	3,75	0,68	-
Mg	0,05	0,05	0,02	0,07	0,01	0,16	0,16	0,08	0,22	0,03
Na	0,71	0,32	0,53	0,43	-	2,34	1,07	1,76	1,44	-
P	0,30	0,10	0,18	0,19	0,29	1,00	0,30	0,61	0,62	0,98
Si	0,11	0,01	0,11	0,06	0,04	0,37	0,04	0,38	0,20	0,12
S	0,84	0,78	0,50	0,06	0,11	2,76	2,57	1,68	0,19	0,35

SDA (1) – método de SDA com um padrão interno; SDA (2) – método de SDA com dois padrões internos

Os resultados apresentados indicam que os limites alcançados, tanto pelos métodos SDA com um ou dois padrões internos, quanto pelo MEC, foram comparáveis aos obtidos pelos métodos de calibração tradicionais para a maioria dos analitos. Essa comparação foi realizada por meio do teste t pareado de *Student*, com um nível de confiança de 95 %. Estes limites atendem satisfatoriamente àqueles requeridos pelas normas técnicas (1 mg kg^{-1}), mesmo assim, os limites de quantificação obtidos para K e S por SDA com dois padrões internos foram de 3 a 4 vezes e de 8 a 15 vezes, respectivamente, menores que aqueles obtidos pelos métodos de SA e IS, além do próprio SDA com um padrão interno.

Esses resultados corroboram com os dados reportados por Jones *et al.* (2015) em que os limites obtidos para a SDA com um padrão interno foram de até uma ordem de magnitude menores que os limites obtidos pelos métodos de por EC, SA e IS. Contudo, com base nos resultados apresentados, observou-se que o método SDA com dois padrões internos demonstrou maior eficácia em relação ao método SDA com um padrão interno em equilibrar a aquisição do sinal analítico durante a mistura das soluções analíticas S1 e S2, além do emprego de todos os pontos de calibração obtidos na região de SDA, resultando em medições mais precisas, o que, por sua vez, impacta diretamente no desvio-padrão e, conseqüentemente, resulta em menores limites de detecção e quantificação.

Por outro lado, os resultados encontrados por Sloop *et al.* (2019) mostraram que os limites de detecção e quantificação obtidos para SDA e SA foram maiores que aqueles obtidos por EC e IS, na determinação elementar de Cd, Co, Cr, Cu, Pb e Zn por ICP OES. A este fato, os autores atribuem maiores erros associados aos desvios-padrões dos coeficientes de regressão das respectivas curvas de calibração, além da diferença no tempo de integração do sinal analítico (5 s para EC e IS contra 1 s para SDA). Porém, cabe ressaltar que cada medida por SDA representa uma curva analítica, o que pode contribuir com uma fonte de erro não observada pela calibração por EC e IS, e que não houve avaliação estatística apresentada pelos autores.

No que tange ao emprego da calibração por MEC, destacam-se os limites de detecção e quantificação obtidos para Mg e S que foram de 5 a 8 vezes menores que os limites obtidos por SA e IS. Embora não haja trabalhos na literatura comparando os limites obtidos por MEC com aqueles obtidos por SA e IS, ou seja, métodos de calibração recomendados para determinação elementar quando efeitos de matriz precisam ser compensados, os limites obtidos por Virgilio *et al.* (2020) por MEC foram maiores que aqueles obtidos por EC para determinação elementar de Cr por MIP OES e Cu por ICP OES em diferentes materiais certificados de referência, embora os autores tenham calculado os limites de detecção e quantificação a partir do método de propagação do erro, apresentado nas Equações 7 e 8.

Os autores atribuem este resultado ao emprego das linhas espectrais menos intensas dos analitos, quando os limites encontrados por EC foram empregados utilizando as linhas com maior sensibilidade relativa. Estes resultados também foram reportados por outros autores empregando a calibração multissinal em

diferentes técnicas espectrométricas (Babos *et al.*, 2018; Machado *et al.*, 2018). Contudo, mesmo que não haja estudos da literatura que apliquem a calibração por MEC para a determinação elementar de Na, K, Ca, Mg, P, Si e S em amostras de biodiesel diluídas em xileno, os limites encontrados para estes analitos foram menores que aqueles reportados nos trabalhos de Higuera *et al.* (2019) e Babos *et al.* (2018).

Avaliando-se os cálculos para obtenção dos limites de detecção e quantificação por SDA e MEC, embora ambos empreguem abordagens diferentes para tal, é importante manter em mente que os limites obtidos durante a análise devem ser estimativas mais próximas da realidade da natureza da amostra. Os trabalhos que envolvem a calibração por SDA levam em consideração somente o desvio-padrão da solução branco que, embora seja submetida ao mesmo procedimento de preparo e quantificação das amostras, pode não ser uma representação fidedigna dos efeitos a serem observados, uma vez que não há disponibilidade de uma amostra de biodiesel que atenda aos requisitos para ser empregada como solução branco. Logo, o emprego da solução de óleo mineral:xileno 10 % (m/m) é o mais próximo da realidade, uma vez que esta solução também é considerada como solução branco pelas normas técnicas.

Já na calibração por MEC, esta abordagem não é apropriada, pois leva em consideração apenas os erros associados à medição na solução branco, enquanto os erros associados às estimativas dos coeficientes de regressão obtidos para cada réplica também devem ser considerados, portanto, como já abordado por Virgilio *et al.* (2020), embora haja a mesma deficiência na obtenção de uma solução branco mais próxima da amostra de biodiesel, o cálculo por propagação de erro mostra-se como mais adequado para este fim.

A veracidade, avaliada através do teste de recuperação, e a precisão, representada pelo desvio padrão relativo (RSD) dos resultados, referentes à determinação de Na, K, Ca, Mg, P, Si e S, para cada um dos métodos de calibração investigados neste estudo foram dispostos na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores de recuperação, em %, do teste de adição, e precisão (entre parênteses), expressa como RSD, em % (n = 3), obtidos para determinação elementar de Ca, K, Mg, Na, P, S e Si em nove amostras de biodiesel, diluídas em xileno, por ICP OES, aplicando os métodos de calibração SA, IS, SDA com dois padrões internos e MEC.

Amostra	Ca				K				Mg				Na				P				S				Si			
	SA	IS	SDA	MEC	SA	IS	SDA	MEC	SA	IS	SDA	MEC	SA	IS	SDA	MEC	SA	IS	SDA	MEC	SA	IS	SDA	MEC	SA	IS	SDA	MEC
A	103 (0,9)	96 (1,1)	95 (1,6)	106 (3,9)	101 (0,9)	99 (4,3)	102 (3,0)	-	91 (0,4)	94 (2,7)	98 (3,6)	96 (3,0)	100 (0,6)	99 (0,7)	105 (0,3)	-	114 (0,8)	94 (0,8)	91 (0,2)	107 (5,4)	91 (1,1)	106 (2,5)	90 (0,9)	112 (1,1)	98 (1,1)	98 (2,5)	93 (3,3)	104 (2,5)
B	92 (1,0)	95 (1,3)	105 (1,4)	108 (0,9)	87 (2,6)	98 (4,1)	109 (1,4)	-	90 (1,1)	94 (1,2)	102 (1,0)	102 (0,9)	92 (1,2)	94 (0,8)	100 (1,0)	-	105 (1,1)	92 (0,7)	107 (2,3)	125 (1,4)	96 (9,5)	81 (0,2)	103 (1,1)	111 (4,6)	93 (1,2)	96 (2,4)	111 (1,6)	105 (2,0)
C	99 (0,4)	97 (2,0)	110 (2,3)	107 (2,3)	100 (0,4)	99 (3,8)	100 (1,1)	-	99 (0,4)	96 (2,4)	98 (2,6)	97 (3,0)	101 (0,3)	101 (2,0)	97 (1,7)	-	115 (0,9)	94 (0,4)	101 (2,4)	114 (4,1)	79 (1,7)	88 (2,1)	92 (3,4)	90 (5,5)	96 (0,7)	96 (2,3)	109 (2,4)	102 (1,9)
D	96 (1,6)	94 (1,8)	105 (1,5)	111 (5,7)	93 (1,6)	96 (3,7)	105 (1,2)	-	93 (2,0)	94 (1,9)	104 (2,4)	104 (4,6)	102 (0,6)	96 (1,0)	101 (3,8)	-	107 (0,1)	93 (0,7)	104 (0,2)	104 (9,4)	95 (5,5)	99 (1,2)	100 (2,8)	103 (3,1)	94 (0,4)	94 (2,4)	103 (1,7)	107 (2,8)
E	101 (0,9)	94 (1,3)	104 (0,6)	104 (6,2)	99 (1,3)	94 (4,4)	100 (3,1)	-	97 (1,3)	94 (2,1)	103 (3,2)	109 (5,0)	103 (1,3)	94 (1,1)	103 (1,2)	-	106 (0,1)	92 (0,3)	106 (1,4)	97 (8,4)	99 (4,0)	88 (3,2)	98 (1,6)	94 (5,2)	96 (0,7)	94 (2,5)	104 (1,4)	99 (8,9)
F	99 (1,2)	94 (1,5)	95 (0,5)	106 (5,9)	100 (1,1)	95 (5,3)	98 (2,2)	-	99 (0,5)	96 (2,1)	103 (2,1)	101 (5,9)	102 (1,8)	96 (1,1)	99 (1,9)	-	108 (0,1)	91 (1,4)	93 (3,3)	105 (1,7)	86 (2,4)	91 (3,4)	99 (2,5)	93 (10)	99 (0,7)	94 (1,7)	93 (2,9)	111 (4,1)
G	100 (1,2)	95 (1,4)	101 (2,6)	96 (11)	101 (0,7)	97 (5,3)	101 (0,9)	-	97 (1,3)	98 (2,3)	101 (2,4)	97 (12)	103 (1,7)	96 (1,3)	100 (4,2)	-	105 (1,2)	92 (0,5)	97 (2,8)	111 (3,6)	83 (2,0)	85 (1,3)	103 (0,4)	90 (17)	98 (1,3)	94 (3,0)	108 (3,0)	114 (10)
H	94 (1,0)	99 (2,8)	92 (2,5)	112 (6,9)	96 (0,5)	96 (4,9)	95 (2,0)	-	96 (1,0)	100 (3,3)	103 (0,6)	104 (3,4)	97 (1,0)	102 (3,1)	105 (2,8)	-	107 (0,7)	102 (4,1)	95 (4,2)	114 (5,8)	108 (2,4)	86 (1,2)	115 (3,3)	109 (13)	94 (0,3)	94 (1,9)	100 (4,7)	117 (3,0)
I	98 (0,7)	96 (1,6)	102 (3,1)	106 (1,3)	98 (1,7)	97 (4,8)	105 (3,0)	-	96 (0,6)	99 (2,1)	110 (1,7)	101 (4,4)	103 (1,3)	99 (1,3)	93 (3,7)	-	110 (0,4)	92 (0,9)	112 (0,2)	115 (5,9)	81 (3,0)	87 (2,4)	104 (1,8)	96 (1,9)	100 (0,3)	93 (2,5)	92 (3,8)	117 (2,5)

Como apresentado na Tabela 6, os resultados para os testes de recuperação nas amostras de biodiesel apresentaram valores de recuperação de 98 ± 7 % por SA, 95 ± 4 % por IS, 101 ± 6 % por SDA e 108 ± 8 % por MEC para todos os analitos estudados. Ao analisar todo conjunto de dados, os resultados obtidos, tanto para SDA com dois padrões internos, quanto para MEC, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação aos outros métodos de calibração tradicionais, conforme indicado pela ANOVA com um nível de confiança de 95 %. Além disso, aplicando a mesma avaliação estatística, não houve diferença estatisticamente significativa para a comparação entre os métodos de SDA e MEC para Ca, Mg, P, Si e S. Estes resultados também podem ser observados através do gráfico de *boxplot* apresentado na Figura 15.

Em outro ponto a ser observado, os resultados de recuperação encontrados para a determinação de S utilizando o método de calibração por IS foram sistematicamente inferiores a 100 % ao longo de toda a análise. Além das limitações inerentes do método IS para superar os impactos dos efeitos de matriz (Donati & Amais, 2019), a carga de solvente intensifica a degradação da robustez do plasma, exigindo recalibrações periódicas para reavaliar a sensibilidade da curva analítica, logo, as calibrações por MEC e SDA tornam-se estratégias interessantes, visto que as calibrações são recorrentes e unitárias para cada amostra.

Em termos de aplicação da SDA para determinação elementar em matrizes orgânicas, resultados similares foram obtidos por García *et al.* (2020), que empregaram a SDA com um padrão interno para determinação de Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni e Pb em amostras de óleo lubrificante por ICP OES. Os resultados apresentados apontaram que não houve diferença estatisticamente significativa entre a SDA e a calibração por SA, assim como os resultados apresentados na Tabela 6. Até onde temos conhecimento, este é o único estudo na literatura que emprega a SDA com dois padrões internos como estratégia de calibração para a determinação multielementar em amostras oleosas diluídas em solventes orgânicos apolares por ICP OES.

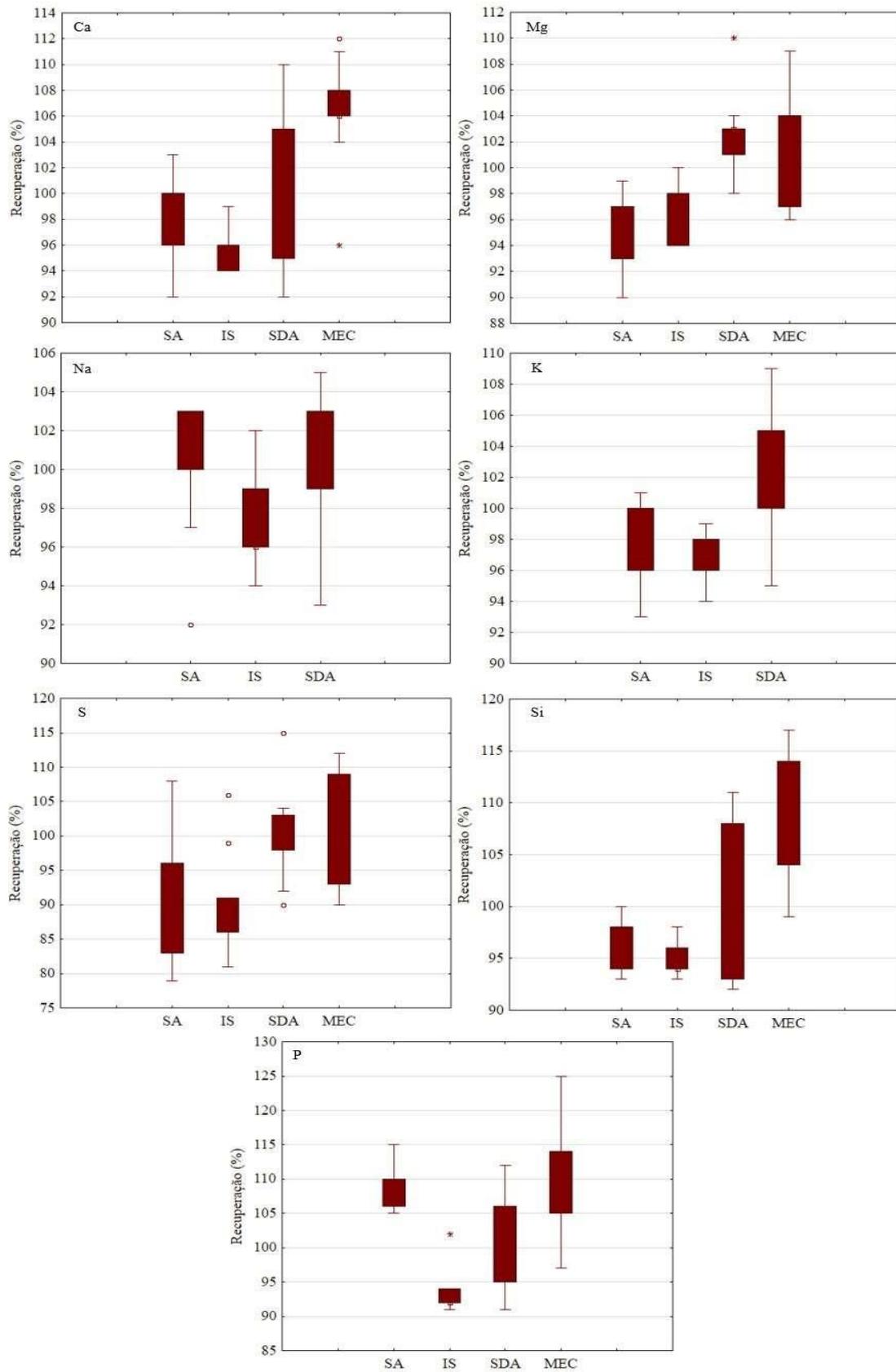


Figura 15 – Gráfico de diagrama de blocos da distribuição dos resultados dos testes de recuperação, em %, obtidos para determinação de Ca, Mg, P, S e Si por SA, IS, SDA e MEC, e de Na e K por SA, IS e SDA, em nove amostras de biodiesel diluídas em xileno por ICP OES (* - valores extremos fora do intervalo interquartil; o - outliers).

Para os resultados obtidos pela calibração por MEC, foram encontrados valores de desvio-padrão relativo (RSD) maiores que 10 % pelo menos uma vez para todos os analitos, o que supera o limite para precisão dos resultados estabelecido pelas normas brasileiras. Este resultado pode ser atribuído à variação dos coeficientes angulares obtidos entre as réplicas das amostras, o que, por sua vez, pode estar intimamente ligado às flutuações da aquisição do sinal analítico, que poderiam ser superadas a partir do emprego de um padrão interno. Portanto, além da aplicação limitada para todos os analitos, a SDA com dois padrões internos torna-se preferível para a determinação de elementos na matriz de biodiesel, não apenas devido à integração dos fundamentos da calibração por SA e IS, bem como à manipulação reduzida da amostra, mas também devido à aquisição do sinal analítico que permite compensar as flutuações nas condições do plasma, embora a aplicação do MEC seja mais simples.

A fim de avaliar a confiabilidade e veracidade dos resultados obtidos para métodos de SDA e MEC para determinação em matrizes oleosas, o material padrão de referência (SRM) NIST 1084a (*Wear-Metals in Lubricant Oil*) e uma amostra de biodiesel diluída 2,5 vezes em xileno foram analisadas seguindo o procedimento descrito na seção experimental. Os resultados encontrados estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores obtidos para determinação de Ca, K, Na, Mg, P, Si e S em material-padrão de referência NIST 1084a (*Wear-Metals in Lubricating Oil*) e amostra de biodiesel diluída 2,5 vezes em xileno, por ICP OES empregando métodos de calibração de SDA com dois padrões internos e MEC.

Analito (mg kg ⁻¹)	NIST 1084a (<i>Wear-Metals in Lubricating Oil</i>)			Amostra de biodiesel		
	Certificado/ Informado	SDA	MEC	Valor teórico	SDA	MEC
Ca	N/I	< LQ	< LQ	4,35 ± 0,02	4,59 ± 0,03	4,76 ± 0,05
K	N/I	< LQ	-	4,35 ± 0,02	4,13 ± 0,04	-
Na	N/I	3,86 ± 0,2	-	4,21 ± 0,02	4,42 ± 0,11	-
Mg	99,5 ± 1,7	97,1 ± 1,1	105 ± 9,5	4,33 ± 0,02	4,15 ± 0,03	4,44 ± 0,21
P	N/I	1,23 ± 0,5	< LQ	4,36 ± 0,04	4,48 ± 0,05	4,65 ± 0,13
Si	103	113 ± 1,0	97 ± 1,4	4,39 ± 0,04	4,47 ± 0,13	4,55 ± 0,11
S	1700	1562 ± 156	1585 ± 65	4,34 ± 0,02	4,70 ± 0,10	4,03 ± 0,18

N/I: Valor certificado não informado

Os resultados obtidos para determinação elementar no SRM NIST1084a pela SDA com dois padrões internos mostraram recuperações, em termos percentuais, variando entre 93 e 110 %, enquanto para calibração por MEC, os resultados de recuperação variaram entre 92 e 105 %. Para o teste de recuperação em amostra de biodiesel diluída 2,5 vezes em xileno, os resultados de recuperação variaram entre 95 e 108 % para determinação por SDA, e entre 93 e 109 % pela aplicação por MEC. O teste t de Student pareado a 95 % de confiança mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias encontradas para ambas soluções em cada método de calibração empregado. Os erros normalizados (E_n) foram calculados a partir da Equação 10.

$$E_n = \frac{|V_{\text{lab}} - V_{\text{ref}}|}{\sqrt{U_{\text{lab}}^2 + U_{\text{ref}}^2}} \quad \text{Equação 10}$$

Onde, V_{lab} e U_{lab} representam o valor e sua respectiva incerteza encontrada pela determinação em laboratório, e V_{ref} e U_{ref} representam o valor e sua incerteza de referência do material certificado. Devido à ausência de valores certificados para os demais analitos, somente o erro normalizado para Mg foi calculado. Com isso, ao avaliarmos o erro normalizado para determinação de Mg no SRM, encontrou-se valores menores que 1 para ambos os métodos de calibração, o que é considerado satisfatório. Logo, tanto a calibração por SDA, quanto por MEC, não só permitem compensar os efeitos de matriz do biodiesel, mas também de uma matriz oleosa, o que amplia a área de aplicação destes métodos de calibração à determinação elementar em amostras com matrizes mais complexas. O certificado de análise do NIST 1084a pode ser encontrado no Anexo II.

4.4.2 Estabilidade do sinal analítico

Um ensaio de estabilidade do sinal analítico foi realizado a fim de avaliar as condições de cada método de calibração em replicar a resposta, ao longo do tempo, expressa em função da concentração dos analitos, para uma amostra de biodiesel, com o objetivo de averiguar a magnitude dos efeitos de matriz inerentes à introdução de orgânicos no ICP OES. Como mencionado anteriormente,

recalibrações constantes são necessárias para readequar os coeficientes de regressão, obtidos para a calibração por IS, àquela nova condição de excitação encontrada no plasma depois da introdução do solvente orgânico. Contudo, este efeito é superado com aplicação dos métodos de calibração por SA, SDA e MEC, visto que os efeitos de matriz são compensados de acordo com os fundamentos de cada estratégia de calibração.

Para este fim, uma solução de biodiesel fortificada com 5 mg kg^{-1} foi analisada pelos métodos de calibração tradicionais, além da SDA com dois padrões internos e MEC. De acordo com os resultados mostrados na Figura 16, a seguir, foi observada uma redução de 23 % no sinal analítico do S para o método de calibração IS após 210 minutos (3,5 horas), o que contribuiu para esclarecer os resultados do teste de recuperação apresentados na Tabela 6, enquanto os resultados obtidos empregando a SDA e MEC mantiveram-se entre 100 e 108 % e entre 100 e 105 %, respectivamente.

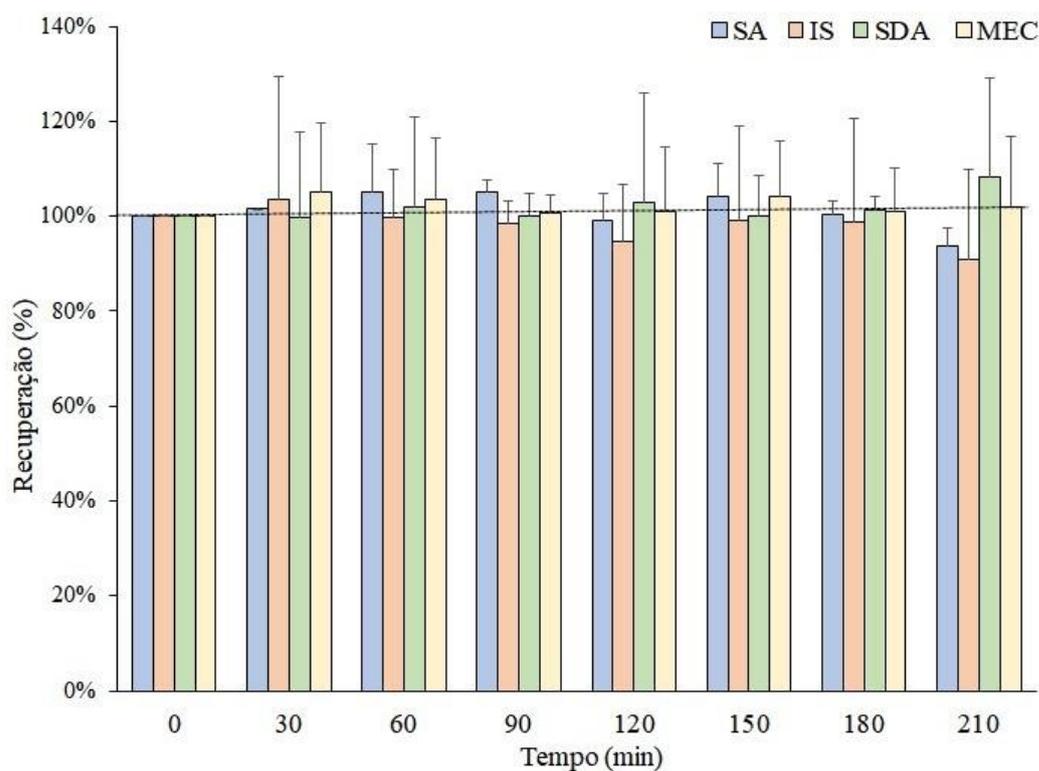


Figura 16 – Teste de frequência analítica para determinação de S em amostra de biodiesel fortificada com 5 mg kg^{-1} por ICP OES aplicando os métodos de calibração SA, IS, SDA e MEC ($n = 3$).

Um evento menos acentuado foi igualmente notado nos comprimentos de onda de P e Na, com uma diminuição de 10 % dos respectivos sinais analíticos durante o mesmo período. Neste ponto, tornou-se evidente que o padrão interno não conseguiu compensar adequadamente a redução do sinal analítico devido aos efeitos da matriz, revelando assim uma limitação da calibração por IS, como discutido por Donati & Amais (2019) e Jones *et al.* (2020). A compensação da flutuação do sinal pelo padrão interno também se mostrou necessária na determinação Ca, Mg, P e Si por MEC, cujas recuperações variaram entre 91 e 135 %, 86 e 128 %, 97 e 143 %, e entre 96 e 138 %, respectivamente. Isso ocorre porque a compensação dos efeitos de matriz não exclui a possibilidade da existência de flutuações da aquisição do sinal analítico inerentes à técnica e introdução de solvente orgânico, o que expõe uma limitação da calibração multissinal, apesar da sua simplicidade frente à SDA.

Em contrapartida, a estabilidade do sinal analítico assegurada pelos métodos de calibração SA e SDA evidencia que a compensação dos efeitos da matriz desempenha um papel importante na determinação elementar em amostras de biodiesel por introdução direta. Contudo, o maior rendimento e menor manipulação da amostra pelo método SDA, além do emprego de dois padrões internos, o torna uma abordagem mais simples e rápida para compensar as limitações dos métodos de calibração IS e SA.

Apesar da ressalva quanto aos resultados encontrados para calibração por MEC, o menor consumo de reagentes e geração de resíduos orgânicos, que necessitam de tratamento adequado, contribuem para um menor impacto econômico e ambiental, tal como também salientado por García *et al.* (2020). Como resultado, a determinação elementar numa amostra de biodiesel por SDA e por MEC consumiram de quatro a sete vezes menos volume de solvente orgânico quando comparado com aquele utilizado para a calibração por SA e IS, respectivamente.

5 Conclusão

Os biocombustíveis são vistos como uma alternativa promissora aos combustíveis fósseis devido às suas vantagens, como a redução das emissões de gases de efeito estufa e a diversificação da matriz energética. Na determinação da qualidade do produto final, a otimização dos parâmetros operacionais, bem como a melhor estratégia de calibração usada para a determinação elementar é crucial para garantir resultados precisos e exatos.

Neste sentido, o planejamento experimental aplicado possibilitou o emprego de condições operacionais robustas para a determinação elementar simultânea de Ca, Mg, Na, K, P, S e Si em biodiesel por ICP OES. Além disto, os métodos de calibração por SDA com dois padrões e MEC apresentaram boa veracidade, com recuperações variando entre 101 ± 6 % por SDA e 108 ± 8 % por MEC, além de serem estatisticamente comparáveis com os métodos já bem estabelecidos na literatura, e fornecerem limites de detecção e quantificação que atendem, tanto às concentrações máximas estabelecidas na legislação brasileira, quanto às estabelecidas pelas normas de referência. No entanto, a precisão encontrada com aplicação do MEC apresentou desvio-padrão relativo maior que 10 % na determinação de Ca e S, o que excede o limite previsto nas respectivas normas.

Com isso, a calibração por SDA com dois padrões internos mostrou-se mais eficiente para determinação elementar por ICP OES neste tipo de matriz. Embora ambas estratégias compensem os efeitos de matriz ao aplicarem a mesma proporção de amostra nas duas soluções analíticas empregadas, a limitação do instrumento em acessar outras linhas espectrais com sensibilidade relativa adequada nas concentrações a serem determinadas, bem como as diferenças entre as sensibilidades de cada linha espectral, podem ajudar a elucidar as flutuações da aquisição do sinal analítico pela calibração por MEC, o que resulta nos maiores desvios encontrados frente àqueles obtidos pela SDA com dois padrões, mesmo que este seja mais simples do ponto de vista operacional. Além disto, a sua estabilidade do sinal analítico a longo prazo, menor consumo de reagentes e redução de resíduos são

aspectos particularmente relevantes, compensando os impactos econômicos e ambientais.

A confiabilidade dos métodos de calibração apresentados, comprovada pelos testes de recuperação em amostras de biodiesel em diferentes coeficientes de diluição e pela determinação elementar no material padrão de referência NIST 1084a (*Wear-metals in Lubricating Oil*), permitem o emprego dos métodos desenvolvidos para a determinação elementar em diferentes matrizes oleosas por técnicas espectrométricas que poderão ser exploradas no futuro, uma vez que representa ganho de tempo e de materiais consumidos, bem como a compensação dos efeitos de matriz durante a análise.

6

Referências bibliográficas

ABD AZIZ, N.; AS, N. A.; NORAZIMAN, S. N. Modified Desirability Function For Optimization of Multiple Responses. **Journal of Mathematics and Computing Science**, v. 1, n. 1, p. 39–54, 2018.

ABNT NBR 15512. Disponível em: <<https://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=322742>>. Acesso em: 21/10/2020.

ABNT NBR 15553, Biodiesel - Determination of calcium, magnesium, sodium, phosphorus and potassium content by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. Disponível em: <<https://www.abntcolegao.com.br/normavw.aspx?Q=WDRSNStaSlluNDYxMFo0ckc3UHRJVEUyMDIzZDYwYW5jaTJRcnE5em0wYz0=>>. Acesso em: 3/6/2022.

ABNT NBR 15554. Disponível em: <<https://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=1087>>. Acesso em: 21/10/2020.

ABNT NBR 15555. Disponível em: <<https://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=1083>>. Acesso em: 21/10/2020.

ABNT NBR 15556. Disponível em: <<https://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=1036>>. Acesso em: 21/10/2020.

AGUIRRE, M. Á.; KOVACHEV, N.; HIDALGO, M.; CANALS, A. Analysis of biodiesel and oil samples by on-line calibration using a Flow Blurring® multinebulizer in ICP OES without oxygen addition. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, n. 12, p. 2102–2110, 2012.

ALENCAR, M. C.; GONÇALVES, D. A.; NICOLODELLI, G.; et al. Evaluating the applicability of multi-energy calibration as an alternative method for quantitative molecular spectroscopy analysis. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 221, p. 117221, 2019. Elsevier B.V. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142519306110>>. Acesso em: 27/12/2020.

ALMAGRO, B.; GAÑÁN-CALVO, A. M.; HIDALGO, M.; CANALS, A. Flow focusing pneumatic nebulizer in comparison with several micronebulizers in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 21, n. 8, p. 770–777, 2006.

ALTHOFF, A. G.; WILLIAMS, C. B.; MCSWEENEY, T.; GONÇALVES, D. A.; DONATI, G. L. Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP OES) and Standard Dilution Analysis to Determine Trace Elements in Pharmaceutical Samples. **Applied Spectroscopy**, v. 71, n. 12, p. 2692–2698, 2017. SAGE Publications Inc. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0003702817721750>>. Acesso em: 3/3/2021.

ALTIPARMAK, D.; KESKIN, A.; KOCA, A.; GÜRÜ, M. Alternative fuel properties of tall oil fatty acid methyl ester-diesel fuel blends. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 2, p. 241–246, 2007. Elsevier.

AMORIM, F. A. C.; WELZ, B.; COSTA, A. C. S.; et al. Determination of vanadium in petroleum and petroleum products using atomic spectrometric techniques. **Talanta**, 30. abr. 2007. Elsevier.

DOS ANJOS, S. L.; ALVES, J. C.; ROCHA SOARES, S. A.; et al. Multivariate optimization of a procedure employing microwave-assisted digestion for the determination of nickel and vanadium in crude oil by ICP OES. **Talanta**, v. 178, p. 842–846, 2018. Elsevier B.V.

ANP. Biocombustíveis. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/biocombustiveis>>. Acesso em: 8/10/2020.

ANP. Biodiesel. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/biodiesel>>. Acesso em: 5/11/2020.

ANP. Painel Dinâmico dos Produtores de Derivados de Petróleo. Disponível em: <<https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/paineis-dinamicos-da-anp/paineis-e-mapa-dinamicos-de-produtores-de-combustiveis-e-derivados/painel-dinamico-dos-produtores-de-derivados-de-petroleo>>. Acesso em: 15/11/2023a.

ANP. RESOLUÇÃO ANP N° 920, DE 4 DE ABRIL DE 2023. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-anp-n-920-de-4-de-abril-de>>

2023-475197674>. Acesso em: 21/11/2023b.

ANP. Dados estatísticos. Disponível em: <<https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/dados-estatisticos>>. Acesso em: 3/6/2022c.

AUCELIO, R. Q.; CURTIUS, A. J. Evaluation of electrothermal atomic absorption spectrometry for trace determination of Sb, As and Se in gasoline and kerosene using microemulsion sample introduction and two approaches for chemical modification. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, n. 3, p. 242–247, 2002.

DE AZERÊDO AMARO, J. A.; FERREIRA, S. L. C. Application of factorial design and Doehlert matrix in the optimisation of instrumental parameters for direct determination of silicon in naphtha using graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 19, n. 2, p. 246–249, 2004.

BABOS, D. V.; BARROS, A. I.; NÓBREGA, J. A.; PEREIRA-FILHO, E. R. Calibration strategies to overcome matrix effects in laser-induced breakdown spectroscopy: Direct calcium and phosphorus determination in solid mineral supplements. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 155, p. 90–98, 2019. Elsevier.

BABOS, D. V.; VIRGILIO, A.; COSTA, V. C.; DONATI, G. L.; PEREIRA-FILHO, E. R. Multi-energy calibration (MEC) applied to laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 33, n. 10, p. 1753–1762, 2018. Royal Society of Chemistry.

BADER, M. A systematic approach to standard addition methods in instrumental analysis. **Journal of Chemical Education**, v. 57, n. 10, p. 703–706, 1980.

BARNETT, W. B.; FASSEL, V. A.; KNISELEY, R. N. Theoretical principles of internal standardization in analytical emission spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 23, n. 10, p. 643–664, 1968.

BATISTA, B. L.; RODRIGUES, J. L.; TORMEN, L.; CURTIUS, A. J.; BARBOSA, F. Reference concentrations for trace elements in urine for the Brazilian population based on q-ICP-MS with a simple dilute-and-shoot procedure. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 8, p. 1406–1413, 2009. Sociedade Brasileira de Química. Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/jbchs/a/MKDbkrkhMN9GS3DxQ3FxFydd/?lang=en>>.

Acesso em: 16/2/2024.

BAUER, M.; BROEKAERT, J. A. C. Investigations on the use of pneumatic cross-flow nebulizers with dual solution loading including the correction of matrix effects in elemental determinations by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 2, p. 145–154, 2007. Elsevier.

BINGS, N. H. Direct determination of metals in lubricating oils by laser ablation coupled to inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, n. 8, p. 759–767, 2002.

BOORN, A. W.; BROWNER, R. F. Effects of Organic Solvents in Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 54, n. 8, p. 1402–1410, 1982. American Chemical Society. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac00245a033>>. Acesso em: 16/5/2022.

BREUSCH, T. S.; PAGAN, A. R. A Simple Test for Heteroscedasticity and Random Coefficient Variation. **Econometrica**, v. 47, n. 5, p. 1287, 1979. JSTOR.

BROWNER, R. F.; CANALS, A.; HERNANDIS, V. Effect of analyte and solvent transport on signal intensities in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 47, n. 5, p. 659–673, 1992. Elsevier.

BURGENER, J. A.; MAKONNEN, Y. **Nebulization systems**. Elsevier B.V., 2020.

BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M. Analytical applications of organized assemblies for on-line spectrometric determinations: Present and future. **Talanta**, v. 64, n. 5 SPEC. ISS., p. 1099–1108, 2004. Elsevier.

CARTER, J. A.; BARROS, A. I.; NÓBREGA, J. A.; DONATI, G. L. Traditional calibration methods in atomic spectrometry and new calibration strategies for inductively coupled plasma mass spectrometry. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, p. 504, 2018a. Frontiers Media S.A.

CARTER, J. A.; BARROS, A. I.; NÓBREGA, J. A.; DONATI, G. L. Traditional calibration methods in atomic spectrometry and new calibration strategies for inductively coupled plasma mass spectrometry. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, n. NOV, 2018b. Frontiers Media S.A.

CASSELLA, R. J.; BRUM, D. M.; ROBAINA, N. F.; LIMA, C. F. Extraction induced by emulsion breaking: A model study on metal extraction from mineral oil. **Fuel**, v. 215, p. 592–600, 2018. Elsevier Ltd.

DEL CASTILLO, E.; MONTGOMERY, D. C.; MCCARVILLE, D. R. Modified desirability functions for multiple response optimization. **Journal of Quality Technology**, v. 28, n. 3, p. 337–345, 1996.

CAUMETTE, G.; LIENEMANN, C. P.; MERDRIGNAC, I.; BOUYSSIERE, B.; LOBINSKI, R. Element speciation analysis of petroleum and related materials. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 24, n. 3, p. 263–276, 2009.

CHAVES, E. S.; LEPRI, F. G.; SILVA, J. S. A.; et al. Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, n. 10, p. 1211–1216, 2008.

CHAVES, E. S.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C.; CURTIUS, A. J.; VANHAECKE, F. Determination of trace elements in biodiesel and vegetable oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry following alcohol dilution. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 66, n. 9–10, p. 733–739, 2011. Elsevier.

COLON, M.; HIDALGO, M.; IGLESIAS, M. Correction strategies over spectral interferences for arsenic determination in aqueous samples with complex matrices by quadrupole ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 24, n. 4, p. 518–521, 2009.

CONSELHO NACIONAL DE POLÍTICA ENERGÉTICA - CNPE. Resolução Nº 3, De 20 De Março De 2023. **Diario Oficial da União - Seção 1**, p. 2, 2023. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/despacho-do-presidente-da-republica-473383252>>. .

COSTA, N. R.; LOURENÇO, J.; PEREIRA, Z. L. Desirability function approach: A review and performance evaluation in adverse conditions. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 107, n. 2, p. 234–244, 2011. Elsevier.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, n. 4, p. 214–219, 1980. Taylor & Francis. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00224065.1980.11980968>>.

Acesso em: 22/8/2023.

DOEHLERT, D. H. Uniform Shell Designs. **Applied Statistics**, v. 19, n. 3, p. 231, 1970. JSTOR.

DONATI, G. L.; AMAIS, R. S. Fundamentals and new approaches to calibration in atomic spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 34, n. 12, p. 2353–2369, 2019. Royal Society of Chemistry.

DUFEY, A. **Biofuels production, trade and sustainable Development**. Londres: International Institute for Environment and Development, 2006.

DUYCK, C.; MIEKELEY, N.; PORTO DA SILVEIRA, C. L.; et al. The determination of trace elements in crude oil and its heavy fractions by atomic spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 9, p. 939–951, 2007. Elsevier. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0584854707001310>>. Acesso em: 22/5/2018.

DUYCK, C.; MIEKELEY, N.; PORTO DA SILVEIRA, C. L.; SZATMARI, P. Trace element determination in crude oil and its fractions by inductively coupled plasma mass spectrometry using ultrasonic nebulization of toluene solutions. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 12, p. 1979–1990, 2002. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0584854702001714>>. Acesso em: 7/10/2020.

EDLUND, M.; VISSER, H.; HEITLAND, P. Analysis of biodiesel by argon-oxygen mixed-gas inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, n. 3, p. 232–235, 2002.

FISH, R. H.; KOMLENIC, J. J.; WINES, B. K. Characterization and Comparison of Vanadyl and Nickel Compounds in Heavy Crude Petroleums and Asphaltenes by Reverse-Phase and Size-Exclusion Liquid Chromatography/Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 56, n. 13, p. 2452–2460, 1984.

FLORES, É. M. M.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F.; KNAPP, G. Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels - A brief overview and recent applications. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, 1. set. 2007. Elsevier.

FORTUNATO, F. M.; BECHLIN, M. A.; GOMES NETO, J. A.; et al. Standard dilution analysis in flow system: Sodium determination by flame atomic

emission spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 662–667, 2016. Elsevier.

FORTUNATO, F. M.; VIEIRA, A. L.; GOMES NETO, J. A.; DONATI, G. L.; JONES, B. T. Expanding the potentialities of standard dilution analysis: Determination of ethanol in gasoline by Raman spectroscopy. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 76–80, 2017. Elsevier.

G. L. MOORE. **Introduction to Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry**. Elsevier Science B.V., 1989.

GARCÍA, M.; AGUIRRE, M. Á.; CANALS, A. A new multinebulizer for spectrochemical analysis: Wear metal determination in used lubricating oils by on-line standard dilution analysis (SDA) using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 35, n. 2, p. 265–272, 2020. Royal Society of Chemistry.

GAZULLA, M. F.; RODRIGO, M.; ORDUÑA, M.; VENTURA, M. J.; ANDREU, C. High precision measurement of silicon in naphthas by ICP-OES using isooctane as diluent. **Talanta**, v. 164, p. 563–569, 2017. Elsevier B.V.

DE GOIS, J. S.; COSTAS-RODRIGUEZ, M. Types of nebulizers in plasma-based techniques: How to choose an appropriate nebulizer. **Analytical Nebulizers: Fundamentals and Applications**, p. 11–24, 2023. Elsevier.

GONCALVES, D. A.; MCSWEENEY, T.; SANTOS, M. C.; JONES, B. T.; DONATI, G. L. Standard dilution analysis of beverages by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 909, p. 24–29, 2016. Elsevier.

GONÇALVES, D. A.; DE SOUZA, I. D.; ROSA, A. C. G.; et al. Multi-wavelength calibration: Determination of trace toxic elements in medicine plants by ICP OES. **Microchemical Journal**, v. 146, p. 381–386, 2019. Elsevier Inc.

GROOMBRIDGE, A. S.; INAGAKI, K.; FUJII, S. I.; et al. Modified high performance concentric nebulizer for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, n. 10, p. 1787–1793, 2012. The Royal Society of Chemistry. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2012/ja/c2ja30118k>>. Acesso em: 21/4/2024.

HARRINGTON, E. C. J. The Desirability Function. **Industrial Quality Control**, v. 21, n. 10, p. 494–498, 1965.

HEITMANN, U.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HUANG, D. Determination of non-metals via molecular absorption using high-resolution continuum source absorption spectrometry and graphite furnace atomization. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, n. 11, p. 1314–1320, 2006.

HIGUERA, J. M.; SILVA, A. B. S.; NOGUEIRA, A. R. A. Multi-energy calibration: A practical method for determination of macro and micro nutrients in meat by ICP OES. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 12, p. 2575–2581, 2019. Sociedade Brasileira de Quimica.

HOPPSTOCK, K.; MICHULITZ, M. Voltammetric determination of trace platinum in gasoline after Wickbold combustion. **Analytica Chimica Acta**, v. 350, n. 1–2, p. 135–140, 1997. Elsevier.

HOUK, R. S. Inductively Coupled Argon Plasma as an Ion Source for Mass Spectrometric Determination of Trace Elements. **Analytical Chemistry**, v. 52, n. 14, p. 2283–2289, 1980. American Chemical Society. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac50064a012>>. Acesso em: 12/3/2023.

INGHAM, J. R.; MINAS, L. T.; DONATI, G. L.; JONES, B. T. Standard dilution analysis using an automatic sampler and a peristaltic pump stopping step for ICP-OES determinations. **Microchemical Journal**, v. 190, p. 108603, 2023. Elsevier. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X23002217>>. Acesso em: 29/1/2024.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. Data & Statistics. Disponível em: <<https://www.iea.org/data-and-statistics?country=WORLD&fuel=Energy supply&indicator=TPESbySource>>. Acesso em: 8/10/2020.

JONES, W. B.; DONATI, G. L.; CALLOWAY, C. P.; JONES, B. T. Standard dilution analysis. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 4, p. 2321–2327, 2015.

JONES, W. B.; DONATI, G. L.; CALLOWAY, C. P.; JONES, B. T. Automated standard dilution analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 35, n. 1, p. 178–187, 2020. Royal Society of Chemistry.

KELLY, W. R.; PRATT, K. W.; GUTHRIE, W. F.; MARTIN, K. R. Origin and early history of Die Methode des Eichzusatzes or the Method of Standard Addition with primary emphasis on its origin, early design, dissemination, and usage of terms. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 400, n. 6, p. 1805–1812, 2011.

KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. **Fuel Processing Technology**, v. 86, n. 10, p. 1059–1070, 2005. Elsevier.

KNOTHE, G. Biodiesel and renewable diesel: A comparison. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 36, n. 3, p. 364–373, 2010. Pergamon.

KORN, M. D. G. A.; DE ANDRADE, J. B.; DE JESUS, D. S.; et al. Separation and preconcentration procedures for the determination of lead using spectrometric techniques: A review. **Talanta**, 15. mar. 2006. Elsevier.

KORN, M. DAS G. A.; SANTOS, D. S. S. DOS; WELZ, B.; et al. Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels – A review. **Talanta**, v. 73, n. 1, p. 1–11, 2007. Elsevier.

KORN, M. G. A.; SANTOS, D. C. M. B.; GUIDA, M. A. B.; et al. Evaluation of digestion procedures for simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 12, p. 2278–2284, 2010. Sociedade Brasileira de Quimica.

KOUR, D.; RANA, K. L.; YADAV, N.; et al. **Technologies for Biofuel Production: Current Development, Challenges, and Future Prospects**. Springer International Publishing, 2019.

KOWALEWSKA, Z. Feasibility of high-resolution continuum source flame molecular absorption spectrometry for silicon determination in organic solutions via the SiO molecule. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 33, n. 2, p. 260–273, 2018. The Royal Society of Chemistry. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2018/ja/c7ja00360a>>. Acesso em: 4/6/2022.

KRENGCL-ROTHENSEE, K.; RICHTER, U.; HEITLAND, P. Low-level determination of non-metals (Cl, Br, I, S, P) in waste oils by inductively coupled plasma optical emission spectrometry using prominent spectral lines in the 130-190 nm range. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, n. 4, p. 699–702, 1999. The Royal Society of Chemistry. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/1999/ja/a807024e>>. Acesso em: 16/5/2022.

KUCHARKOWSKI, R.; JANKOVA, D.; HERRMANN, E.; JOHN, A. Contributions to accuracy improvement of simultaneous ICP atomic emission

spectrometry using multi-line measurements of analyte and internal standard elements Applications for the analysis of permalloy. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 361, n. 6–7, p. 532–539, 1998. Springer. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s002160050941>>. Acesso em: 26/4/2022.

LECLERCQ, A.; NONELL, A.; TODOLÍ TORRÓ, J. L.; et al. Introduction of organic/hydro-organic matrices in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and mass spectrometry: A tutorial review. Part II. Practical considerations. **Analytica Chimica Acta**, v. 885, p. 57–91, 2015. Elsevier.

LEPRI, F. G.; CHAVES, E. S.; VIEIRA, M. A.; et al. Determination of Trace Elements in Vegetable Oils and Biodiesel by Atomic Spectrometric Techniques—A Review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 46, n. 3, p. 175–206, 2011. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/05704928.2010.529628>> .

LEPRI, F. G.; WELZ, B.; BORGES, D. L. G.; et al. Speciation analysis of volatile and non-volatile vanadium compounds in Brazilian crude oils using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 558, n. 1–2, p. 195–200, 2006. Elsevier. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267005018593>>. Acesso em: 22/5/2018.

LIANG, L.; HORVAT, M.; DANILCHIK, P. A novel analytical method for determination of picogram levels of total mercury in gasoline and other petroleum based products. **Science of the Total Environment**, v. 187, n. 1, p. 57–64, 1996. Elsevier Science B.V.

LINK, D. D.; KINGSTON, H. M. Use of microwave-assisted evaporation for the complete recovery of volatile species of inorganic trace analytes. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 13, p. 2908–2913, 2000.

LISBOA, M. T.; CLASEN, C. D.; DE SOUSA VELLAR, D. C.; et al. An easy and fast procedure for the determination of Ca, Cu, Fe, Mn, Mg, Na, K and Si in biodiesel by ICP OES using emulsification as sample preparation strategy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 1, p. 143–151, 2014.

LOURENÇO, E. C.; EYNG, E.; BITTENCOURT, P. R. S.; et al. A simple, rapid and low cost reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel. **Talanta**, v. 199, 2019.

MACHADO, R. C.; SILVA, A. B. S.; DONATI, G. L.; NOGUEIRA, A. R. A. Multi-energy calibration as a strategy for elemental analysis of fertilizers by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 33, n. 7, p. 1168–1172, 2018. Royal Society of Chemistry.

MACIEL, P. B.; DE BARROS, L. L. S.; DUARTE, E. C. M.; et al. Determination of nutrients and potentially toxic elements in *Jatropha curcas* seeds, oil and biodiesel using inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 297, n. 2, p. 209–213, 2013.

MAESSEN, F. J. M. J.; KREUNING, G.; BALKE, J. Experimental control of the solvent load of inductively coupled argon plasmas and effects of the chloroform plasma load on their analytical performance. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 41, n. 1–2, p. 3–25, 1986. Elsevier.

MAESSEN, F. J. M. J.; SEEVERENS, P. J. H.; KREUNING, G. Analytical aspects of organic solvent load reduction in normal-power ICPs by aerosol thermostating at low temperatures. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 39, n. 9–11, p. 1171–1180, 1984. Elsevier.

MAESTRE, S. E.; TODOLÍ, J. L.; MERMET, J. M. Evaluation of several pneumatic micronebulizers with different designs for use in ICP-AES and ICP-MS. Future directions for further improvement. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 379, n. 5–6, p. 888–899, 2004. Anal Bioanal Chem. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15197529/>>. Acesso em: 12/6/2022.

MAGYAR, B.; LIENEMANN, P.; VONMONT, H. Some effects of aerosol drying and oxygen feeding on the analytical performance of an inductively coupled nitrogen-argon plasma. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 41, n. 1–2, p. 27–38, 1986. Elsevier.

MANZANERA, M. **Alternative Fuel**. Rijeka: InTech, 2011.

MARK, H. **Principles and practice of spectroscopic calibration**. 1st ed. New York: Wiley-Inter-science, 1991.

MARROCOS, V. C. P.; DE SOUZA, J. R.; SAINT PIERRE, T. D. Standard dilution analysis (SDA) as a powerful tool for elemental determination in biodiesel by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 38, n. 12, p. 2547–2553, 2023. The Royal Society of Chemistry. Disponível em:

<<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2023/ja/d3ja00192j>>. Acesso em: 7/1/2024.

MCCRINDLE, R. I.; RADEMEYER, C. J. Analytical parameters of ethanol solutions in a 40 MHz inductively coupled plasma optical emission spectrometer. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 11, n. 6, p. 437–444, 1996. The Royal Society of Chemistry. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/1996/ja/ja9961100437>>. Acesso em: 11/4/2024.

MERMET, J. M. Use of magnesium as a test element for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry diagnostics. **Analytica Chimica Acta**, v. 250, n. C, p. 85–94, 1991.

MERMET, J. M. Is it still possible, necessary and beneficial to perform research in ICP-atomic emission spectrometry? **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 20, n. 1, p. 11–16, 2005.

MESKO, M. F.; PEREIRA, J. S. F.; MORAES, D. P.; et al. Focused microwave-induced combustion: A new technique for sample digestion. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 5, p. 2155–2160, 2010.

MURILLO, M.; CHIRINOS, J. Study of the effect of organic emulsified samples in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 11, n. 4, p. 253–257, 1996. Royal Society of Chemistry.

NADKARNI, R. A.; HWANG, J. D.; YOUNG, L. Multielement Analysis of Crude Oils Using Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES). Disponível em: <<https://www.astm.org/Standards/D7691.htm>>. Acesso em: 14/10/2020.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. Objetivos de Desenvolvimento Sustentável | As Nações Unidas no Brasil. Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>>. Acesso em: 3/4/2024.

PAUL, P. E. V.; SANGEETHA, V.; DEEPIKA, R. G. Emerging trends in the industrial production of chemical products by microorganisms. **Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry**, p. 107–125, 2018. Elsevier Inc.

PEREIRA, J. S. F.; MORAES, D. P.; ANTES, F. G.; et al. Determination of metals and metalloids in light and heavy crude oil by ICP-MS after digestion by

microwave-induced combustion. **Microchemical Journal**, v. 96, n. 1, p. 4–11, 2010. Elsevier.

PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; et al. Biodiesel: an overview. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6 B, p. 1313–1330, 2005. Sociedade Brasileira de Química. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/jbchs/a/XjvNVsBFJgJH3cbRvCJDdBS/>>. Acesso em: 18/4/2022.

RIBEIRO, M. A. **Determinação de fósforo e enxofre em petróleo por ICP OES: comparação de diferentes procedimentos para o preparo de amostras** Sereal Untuk, 2015. Universidade Federal do Espírito Santo.

ROBERTS, L. G.; PATTERSON, T. J. Biofuels. **Encyclopedia of Toxicology: Third Edition**, v. 1, p. 469–475, 2014.

ROCHA, L. D. S.; CORRÊA, S. M. Determination of size-segregated elements in diesel-biodiesel blend exhaust emissions. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 18, p. 18121–18129, 2018. Environmental Science and Pollution Research. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11356-018-1980-8>>. .

SAINT'PIERRE, T. D.; DIAS, L. F.; MAIA, S. M.; CURTIUS, A. J. Determination of Cd, Cu, Fe, Pb and Tl in gasoline as emulsion by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry with analyte addition and isotope dilution calibration techniques. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 59, n. 4, p. 551–558, 2004. Elsevier.

SÁNCHEZ, R.; SÁNCHEZ, C.; LIENEMANN, C. P.; TODOLÍ, J. L. Metal and metalloid determination in biodiesel and bioethanol. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 30, n. 1, p. 64–101, 2015.

SÁNCHEZ, R.; TODOLÍ, J. L.; LIENEMANN, C.-P.; MERMET, J.-M. Determination of trace elements in petroleum products by inductively coupled plasma techniques: A critical review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 88, p. 104–126, 2013. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0584854713001602>>. Acesso em: 27/10/2020.

SÁNCHEZ, R.; TODOLÍ, J. L.; LIENEMANN, C. P.; MERMET, J. M. Effect of solvent dilution on the ICP-AES based silicon sensitivity, the aerosol characteristics and the resulting organic solution properties in the analysis of

petroleum products. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, n. 2, p. 178–185, 2010a.

SÁNCHEZ, R.; TODOLÍ, J. L.; LIENEMANN, C. P.; MERMET, J. M. Air-segmented, 5- μ L flow injection associated with a 200 °C heated chamber to minimize plasma loading limitations and difference of behaviour between alkanes, aromatic compounds and petroleum products in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, n. 12, p. 1888–1894, 2010b.

SÁNCHEZ, R.; TODOLÍ, J. L.; LIENEMANN, C. P.; MERMET, J. M. Universal calibration for metal determination in fuels and biofuels by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry based on segmented flow injection and a 350 °C heated chamber. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, n. 6, p. 937–945, 2012.

SANSONETTI, J. E.; MARTIN, W. C. Handbook of Basic Atomic Spectroscopic Data. Disponível em: <<https://www.nist.gov/pml/handbook-basic-atomic-spectroscopic-data>>. Acesso em: 18/4/2024.

SANT'ANA, F. W.; SANTELLI, R. E.; CASSELLA, A. R.; CASSELLA, R. J. Optimization of an open-focused microwave oven digestion procedure for determination of metals in diesel oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 149, n. 1, p. 67–74, 2007.

SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; DE CARVALHO, M. DE F. B.; BEZERRA, M. A.; FREIRE, A. S. Total sulfur determination in gasoline, kerosene and diesel fuel using inductively coupled plasma optical emission spectrometry after direct sample introduction as detergent emulsions. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 63, n. 7, p. 800–804, 2008. Elsevier.

SANTOS, D. S. S.; KORN, M. G. A.; GUIDA, M. A. B.; et al. Determination of copper, iron, lead and zinc in gasoline by sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry after solid phase extraction. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 3, p. 552–557, 2011. Sociedade Brasileira de Química.

DOS SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B.; CHAVES, E. S.; et al. 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**, v. 22, n. 10, p. 1300–1303, 2007.

SANZ-MEDEL, A.; FERNANDEZ DE LA CAMPA, M. D. R.; GONZALEZ, E. B.; FERNANDEZ-SANCHEZ, M. L. Organized surfactant assemblies in analytical atomic spectrometry. **Spectrochimica acta, Part B: Atomic spectroscopy**, 8. fev. 1999. Elsevier Science B.V.

SCHIAVO, D.; TREVIZAN, L. C.; PEREIRA-FILHO, E. R.; NÓBREGA, J. A. Evaluation of the use of multiple lines for determination of metals in water by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axial viewing. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 64, n. 6, p. 544–548, 2009. Elsevier.

SCRAGG, A. H. **Biofuels: Production, Application and Development**. Wallingford: Cambridge University Press, 2009.

SHAPIRO, A. S. S.; WILK, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). **Biometrika Trust**, v. 52, n. 3, p. 591–611, 1965.

SHARP, B. L. Pneumatic nebulisers and spray chambers for inductively coupled plasma spectrometry. A review. Part 1. Nebulisers. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 3, n. 5, p. 613–652, 1988. The Royal Society of Chemistry. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/1988/ja/ja9880300613>>. Acesso em: 9/5/2022.

SLOOP, J. T.; ALLEN, S. C.; CARTER, J. A.; DONATI, G. L.; JONES, B. T. Matrix-matched two-point calibration based on the standard dilution analysis method. **Microchemical Journal**, v. 160, p. 105740, 2021. Elsevier.

SLOOP, J. T.; BONILLA, H. J. B.; HARVILLE, T.; JONES, B. T.; DONATI, G. L. Automated matrix-matching calibration using standard dilution analysis with two internal standards and a simple three-port mixing chamber. **Talanta**, v. 205, n. 1, p. 120160, 2019. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914019307866>>. Acesso em: 27/1/2021.

SLOOP, J. T.; DONATI, G. L.; JONES, B. T. Multi-internal standard calibration applied to inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 1190, 2022. Anal Chim Acta. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34857134/>>. Acesso em: 14/4/2024.

SOARES, S.; ROCHA, F. R. P. Multi-energy calibration to circumvent matrix effects in the determination of biodiesel quality parameters by UV–Vis

spectrophotometry. **Talanta**, v. 209, p. 120584, 2020. Elsevier.

SOUZA, J. R. DE. **Determinação elementar em óleo lubrificante e óleo combustível por ICP OES e DR-ICP-MS**, 2011. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

DE SOUZA, J. R.; DUYCK, C. B.; FONSECA, T. C. O.; SAINT'PIERRE, T. D. Multielemental determination in oil matrices diluted in xylene by ICP-MS with a dynamic reaction cell employing methane as reaction gas for solving specific interferences. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, n. 8, p. 1280–1286, 2012.

DE SOUZA, J. R.; DOS SANTOS, E. F.; DUYCK, C. B.; SAINT'PIERRE, T. D. Comparison of parallel flow and concentric micronebulizers for elemental determination in lubricant oil, residual fuel oil and biodiesel by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*. **Anais** v. 66, p.356–361, 2011. Elsevier.

DE SOUZA, R. M.; SARACENO, A. L.; DA SILVEIRA, C. L. P.; AUCÉLIO, R. Q. Determination of trace elements in crude oil by ICP-OES using ultrasound-assisted acid extraction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 21, n. 11, p. 1345–1349, 2006.

SPEIGHT, J. G. **Handbook of Petroleum Product Analysis**. 2 ed. ed. John Wiley & Sons, Inc., 2002.

TODOLI, J. L.; MERMET, J. M. Liquid Sample Introduction in ICP Spectrometry. **Liquid Sample Introduction in ICP Spectrometry**, 2008. Elsevier.

VASUDEVAN, H.; DESHPANDE, N. C.; RAJGURU, R. R. Desirability Fuzzy Multiple Criteria Optimization of Process Parameters in CNC Turning of GFRP/ Vinyl Ester Composites. **Procedia Materials Science**, v. 5, p. 2458–2467, 2014. Elsevier.

VIEIRA, A. L.; GONÇALVES, D. A.; VIRGILIO, A.; et al. Multi-energy calibration for the determination of non-metals by high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 34, n. 5, p. 972–978, 2019. Royal Society of Chemistry.

VIRGILIO, A.; GONÇALVES, D. A.; MCSWEENEY, T.; et al. Multi-energy calibration applied to atomic spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 982, p. 31–36, 2017. Elsevier B.V.

VIRGILIO, A.; NÓBREGA, J. A.; DONATI, G. L. Multi-isotope calibration

for inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 410, n. 3, p. 1157–1162, 2018. *Anal Bioanal Chem.* Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29167938/>>. Acesso em: 26/4/2022.

VIRGILIO, A.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA, J. A.; DONATI, G. L. Evaluation of standard dilution analysis (SDA) of beverages and foodstuffs by ICP OES. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 31, n. 6, p. 1216–1222, 2016. Royal Society of Chemistry.

VIRGILIO, A.; SILVA, A. B. S.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A.; DONATI, G. L. Calculating limits of detection and defining working ranges for multi-signal calibration methods. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 35, n. 8, p. 1614–1620, 2020.

WEIR, D. G.; BLADES, M. W. Characteristics of an inductively coupled argon plasma operating with organic aerosols part 4. Noise power spectra. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 11, n. 11, p. 1011–1018, 1996.

WELZ, B.; LEPRI, F. G.; ARAUJO, R. G. O.; et al. Determination of phosphorus, sulfur and the halogens using high-temperature molecular absorption spectrometry in flames and furnaces—A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 647, n. 2, p. 137–148, 2009. Elsevier. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000326700900823X>>. Acesso em: 18/10/2018.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. Third ed. Uhltingen: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 1999.

WILLIAMS, C. B.; DONATI, G. L. Multispecies calibration: a novel application for inductively coupled plasma tandem mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 33, n. 5, p. 762–767, 2018. The Royal Society of Chemistry. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2018/ja/c8ja00034d>>. Acesso em: 26/4/2022.

WILLIAMS, C. B.; JONES, B. T.; DONATI, G. L. Multi-flow calibration applied to microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 34, n. 6, p. 1191–1197, 2019. The Royal Society of Chemistry. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2019/ja/c9ja00091g>>. Acesso em: 26/4/2022.

Anexo I

Especificação do biodiesel (adaptada de ANP, 2023^b)

Característica	Unidade	Limite	Método		
			ABNT NBR	ASTM D	EN/ISO
Aspecto	-	(1)	-	-	-
Massa específica a 20 °C	kg/m ³	850 a 900	7148 14065	1298 4052	3675 12185
Viscosidade cinemática a 40 °C	mm ² /s	3,0 a 5,0	10441	445 7042	3104
Teor de água, máx.	mg/kg	200,0 (2)	-	6304	12937
Teste de filtração por imersão a frio (TFIF), máx.	s	anotar	-	7501	-
Ponto de fulgor, mín. (3)	°C	100,0	14598	93	3679
Teor de éster, mín.	% massa	96,5	15764	-	14103
Cinzas sulfatadas, máx.	% massa	0,020	6294	874	3987
Enxofre total, máx.	mg/kg	10	15867	5453	20846 20884
Sódio + Potássio, máx.	mg/kg	2,5	15553	-	14538
Cálcio + Magnésio, máx.	mg/kg	2,5	15553	-	14538
Fósforo, máx.	mg/kg	3,0	15553	-	16294
Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx. (4)	-	1	14359	130	2160

				613	5165
Número de cetano (4)	-	anotar	-	613	15195
				7668	16715
				8183	17155
Ponto de entupimento de filtro a frio (PEFF), máx.	°C	(6)	14747	6371	116
Índice de acidez, máx.	mg KOH/g	0,50	14448	664	14104
Glicerol livre, máx. (7)	% massa	0,02	15908	6584	14105
Glicerol total, máx. (7)	% massa	0,20	15908	6584	14105
Monoacilglicerol, máx. (7)	% massa	0,50	15908	6584	14105
Diacilglicerol, máx. (7)	% massa	0,20	15908	6584	14105
Triacilglicerol, máx. (7)	% massa	0,20	15908	6584	14105
Contaminação total, máx.	mg/kg	24	15995	-	12662 (8)
Metanol e/ou Etanol, máx. (3)	% massa	0,20	15343	-	14110
Estabilidade à oxidação a 110 °C, mín. (9)	h	13	-	-	14112
					15751

Notas: (1) Homogêneo, límpido e isento de impurezas, com anotação da temperatura de ensaio.

(2) Será admitida variação do resultado da característica teor de água em relação ao limite especificado de 50 mg/kg para o produtor de biodiesel.

(3) Quando a análise de ponto de fulgor resultar em valor superior a 130 °C, fica dispensada a análise de teor de metanol ou etanol.

(4) As características cinzas sulfatadas, corrosividade ao cobre e número de cetano devem ser analisadas pelo produtor de biodiesel a cada trimestre civil.

(5) Em caso de disputa, deve ser utilizado o método EN 16294 como referência.

(6) Limites a serem atendidos dependem da região/UF de destino do produto adquirido. Para região sudeste, por exemplo, a temperatura do ponto de entupimento pode variar entre 5 a 16 °C, a depender do mês e, conseqüentemente, da temperatura média da região.

(7) Em caso de disputa, deve ser utilizado o método ASTM D6584 como referência.

(8) Somente devem ser utilizadas as versões da norma referentes aos anos de 1998 ou 2008.

(9) Limite não aplicável na distribuição.

Anexo II



National Institute of Standards & Technology

Certificate of Analysis

Standard Reference Material 1084a

Wear-Metals in Lubricating Oil

This Standard Reference Material (SRM) is intended primarily for use in the calibration of apparatus and in the evaluation of methods used in the analysis of engine lubricating oils for metal content. SRM 1084a consists of a blend of fourteen constituent elements in a base oil (VB5167) at a nominal concentration of 100 $\mu\text{g/g}$.

A unit of this SRM consists of five 5-mL amber borosilicate ampoules each containing approximately 1.6 g of the oil blend. The certified values are given below and are based on a minimum sample size of 0.5 g.

Element	Certified Value ¹ $\mu\text{g/g}$	Methods Used	Element	Certified Value ¹ $\mu\text{g/g}$	Methods Used
Al	(104) ²	[a]	Ni	99.7 \pm 1.6	b, [d]
Ag	101.4 \pm 1.5	b,c	Pb	101.1 \pm 1.3	b, [d]
Cr	98.3 \pm 0.8	b,c	Sn	97.2 \pm 2.6	b, [c]
Cu	100.0 \pm 1.9	a,b	Ti	100.4 \pm 3.8	b, [c]
Fe	98.9 \pm 1.4	[a],b	V	95.9 \pm 9.4	a,c
Mg	99.5 \pm 1.7	[a],b	S	(1700) ²	[e]
Mo	100.3 \pm 1.4	b,c	Si	(103) ²	[e]

Methods

- a. Inductively Coupled Plasma (ICP)
- b. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS)
- c. Instrumental Neutron Activation Analysis (INAA)
- d. Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS)
- e. X-ray Fluorescence Spectrometry (XRF)

¹ The certified value was determined using the indicated method(s) with the method in brackets used for confirmation and to estimate the systematic error. The uncertainty of the certified value is obtained from a 95% confidence interval plus an allowance for systematic error among the method(s) used.

² Value in parenthesis is not certified but provided for information only.

The material preparation was performed by P. Pei and Lin-Sien Lum of the NIST Ceramic Division.

Analyses for certification were performed in the Inorganic Analytical Research Division by E.S. Beary, R. Demiralp (guest scientist), M.S. Epstein, K.M. Garrity, K.E. Hehn, P.J. Paulsen, P.A. Pella, T.A. Rush, L.J. Wood, and R. Zeisler.

Certification analyses were coordinated through W.F. Koch of the Inorganic Analytical Research Division.

Statistical analysis was provided by S.B. Schiller of the Statistical Engineering Division.

The technical and support aspects involved in the preparation, certification, and issuance of this Standard Reference Material were coordinated through the Standard Reference Materials Program by T. E. Gills.

Gaithersburg, MD 20899
April 15, 1991

William P. Reed, Chief
Standard Reference Materials Program

(over)

TECHNICAL NOTE

Standard dilution analysis (SDA) as a powerful tool for elemental determination in biodiesel by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES)†

Cite this: DOI: 10.1039/d3ja00192j

Vitor Cornaqui P. Marrocos,^{a*} Jefferson R. de Souza^b and Tatiana D. Saint Pierre^b

Introducing organic solvents into inductively coupled plasma (ICP) source spectrometers increases maintenance costs and affects the reliability of the results due to matrix effects. To minimize these issues, standard dilution analysis (SDA) has emerged as a calibration strategy to overcome matrix effects, minimize time consumption, and reduce reagents' consumption and waste generation compared to traditional calibration methods. Calibration by SDA combines the standard addition (SA) and internal standardization (IS) methods by employing two analytical solutions: one consisting of 50% of sample + 50% of analytical standards and internal standard 1 (solution 1) and the other consisting of 50% of sample + 50% of blank solution and internal standard 2 (solution 2). By applying a second internal standard, all the data collected over time can be used for the analytical curve created when solution 2 is poured into solution 1. Thus, the SDA method was compared with the SA and IS methods for the determination of Ca, K, Mg, Na, P, Si, and S by inductively coupled plasma optical emission spectrometry in nine biodiesel samples 5-fold diluted in xylene. Limits of detection and quantification found for SDA were statistically similar to those of SA and IS, ranging from 0.02 mg kg⁻¹ (Mg) to 3.7 mg kg⁻¹ (K). The results obtained by SDA had good precision (RSD < 5%) and accuracy (recoveries from 90 to 115%). Long-term signal stability and lower economic and environmental impacts make SDA with 2 ISs an exciting resource for elemental determination in biodiesel and oil samples diluted in xylene in a simpler and faster method that compensates for instrumental drifting and matrix effects.

Received 10th June 2023
Accepted 9th October 2023
DOI: 10.1039/d3ja00192j
rsc.li/jaas

1. Introduction

Biodiesel is a necessary renewable fuel used to reduce fossil fuels' harmful effects. Even when small amounts are added, positive effects on air quality are achieved.^{1,2} Along with the widespread use of ethanol, Brazil is nowadays one of the largest producers of biofuels, according to data from the National Agency of Petroleum, Natural Gas and Biofuels.³ In Brazil, a 13% fraction of biodiesel is currently added to diesel, and pure biodiesel (B100) production was estimated to be 6.7 million m³, more than 67% from soybean oil. Therefore, with the increasing demand for this fuel,⁴ physicochemical parameters, such as elemental concentrations, must be strictly controlled to obtain a product that meets the quality requirements.

Currently, Brazilian legislation limits the concentration of Na + K and Ca + Mg to 5 mg kg⁻¹ and S and P to 10 mg kg⁻¹. The

Brazilian Association of Technical Standards (ABNT) NBR 15553 (ref. 5) decrees the simultaneous determination of Ca, K, Mg, Na, and P by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES), while ABNT NBR 15867 (ref. 6) refers to the determination of S by ICP OES. These elements, which are added to the biodiesel production chain or come from the raw material, can affect the stability of the fuel and promote the formation of undesirable compounds during combustion.^{7–10} The quantification of Si in this type of sample is also of broad interest since Si is used in the petrochemical industry in anti-foam compounds and is responsible for the formation of deposits. However, Brazilian legislation has no recommended concentration limit for this element in biodiesel.^{11–13}

The determination of these elements in biodiesel is mainly performed by ICP OES due to its multi-elemental capacity, high analytical frequency, and capability to determine non-metals, such as P and S, and the versatility of direct introduction of organic solvents.^{14,15} However, the most critical point of the analysis is to minimize the so-called matrix effects and to avoid the solvent plasma load causing instability or extinction of plasma.^{16–18}

^a Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rua Marquês de São Vicente, 225, Gávea, Rio de Janeiro 22451-900, Brazil

^b Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Avenida Alberto Lamego, 200, Parque Califórnia – Campus dos Goytacazes, Rio de Janeiro 28013-603, Brazil

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: <https://doi.org/10.1039/d3ja00192j>