

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

RAQUEL RAINONE

**Avaliação de métodos analíticos para
determinação de Na, K, Ca, Mg, P e S em
biodiesel por ICP OES**

Versão corrigida da Dissertação defendida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
11/11/2011

RAQUEL RAINONE

**Avaliação de métodos analíticos para determinação
de Na, K, Ca, Mg, P e S em biodiesel por ICP OES**

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo para
obtenção do Título de Mestre em Química*

Orientador: Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira

São Paulo
2011

*À memória do meu avô Décio,
que inspirou a minha vida com sabedoria e alegria.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira, por ter me orientado com grande sabedoria e dedicação, por ter sido meu amigo quando precisei, por ter me corrigido quando errei e pelos incansáveis ensinamentos.

Ao Luiz Bravo, por ter me dado a oportunidade de crescer profissionalmente e por ter sempre acreditado em mim.

Ao Prof. Dr. Julio Cesar Jose da Silva pela contribuição com ideias importantes.

Ao Thiago, pelo incrível companheirismo e inestimável ajuda para a conclusão desse trabalho, pelos momentos felizes e pelo carinho, mesmo durante os momentos mais difíceis.

À minha família, especialmente aos meus pais, Maria Cristina e Antônio Carlos, e minha irmã, Flávia, pelo apoio incondicional e por terem me ensinado a sempre querer aprender mais.

Aos meus colegas de laboratório, Alexandre, Alexandre Fioroto, Angerson, Daniel, Fábio, Gislayne, Karina, Luiza, Mariana, Patrícia, Rodrigo, Valeska, Vivian, e, em especial, ao Maciel, que me ajudou quando mais precisei, pelas importantes discussões e pelos cafezinhos no meio do trabalho.

Aos meus colegas da Nova Analítica, pela ajuda e compreensão.

Às minhas amigas Janaina, Mariana, Daniela e Aline pela compreensão e por todos os momentos divertidos.

À Nova Analítica por permitir a realização dessa pesquisa e pela disponibilização do equipamento.

Ao Cempeq pelas amostras e sugestões.

Ao CNPq, FAPESP e INCTAA pelo auxílio financeiro ao grupo.

“Science never solves a problem without creating ten more.”

George Bernard Shaw

RESUMO

Rainone R. **Avaliação de métodos analíticos para determinação de Na, K, Ca, Mg, P e S em biodiesel por ICP OES.** 2011. 95p. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Esse trabalho avaliou três diferentes procedimentos de preparo de amostra para determinação de Na, K, Ca, Mg, P e S em biodiesel por ICP OES. O primeiro procedimento avaliado foi uma modificação daquele proposto pela ANP para o controle da qualidade do biodiesel, onde a amostra foi introduzida diretamente no equipamento com e sem diluição em solvente orgânico (querosene ou xilol). Essa forma de preparo, apesar de ser bastante simples, apresentou interferências físicas graves que só puderam ser corrigidas com o uso de vaselina líquida nas soluções de calibração do equipamento para igualar a viscosidade às amostras e com o uso do carbono como padrão interno. O segundo método estudado baseou-se na introdução de biodiesel na forma de emulsão. Para esse caso, preparou-se emulsões contendo 500 mg de biodiesel, 1% m v⁻¹ de Triton X-100 como agente emulsificante e 10% v v⁻¹ de ácido nítrico, misturados com água ultra-pura até o volume final de 10 mL. Esse método de preparo foi bastante simples e eliminou as grandes dificuldades de se trabalhar com solução orgânica no plasma. No entanto, o agente emulsificante apresentou elevadas concentrações de alguns dos analitos, aumentando o sinal dos brancos, além de gerar resultados com altos desvios padrões. O terceiro método foi a digestão das amostras usando aquecimento assistido por micro-ondas. Esse método eliminou quase que completamente a matriz orgânica, gerando os menores limites de detecção e tornou a introdução da amostra no equipamento mais fácil. Contudo, o tempo de preparo da amostra para o método da digestão, assim como os custos associados a este método, foram os maiores obtidos em relação aos outros. Outro ponto negativo foi o elevado fator de diluição desse método que dificultou a detecção dos analitos. Testes de adição e recuperação de analitos foram realizados nos três métodos e os resultados obtidos nos três casos ficaram dentro da faixa considerada satisfatória de 80 a 120% de recuperação. Ao final do desenvolvimento, 7 amostras foram analisadas pelos três métodos e seus resultados comparados. Em certos casos, a comparação foi dificultada pelo grande número de resultados abaixo dos limites de detecção. No entanto, pôde-se observar que, com exceção do S, os resultados obtidos pelos diferentes métodos não apresentaram boa concordância entre si. Entretanto, devido à falta de material certificado, não se pode avaliar qual método seria o mais exato. Todavia, considerando-se o preparo mais simples e com a menor taxa de diluição, a análise de biodiesel puro (100%), com o uso do carbono como padrão interno foi considerado o método com resultados mais confiáveis.

Palavras-chave: Biodiesel, ICP OES, introdução direta, emulsão, digestão, padrão interno

ABSTRACT

Rainone R. **Evaluation of analytical methods for the determination of Na, K, Ca, Mg, P and S by ICP OES.** 2011. 95p. Masters Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The present work has evaluated three different sample preparation methods for determination of Na, K, Ca, Mg, P and S in Biodiesel by ICP OES. The first one was similar to the method required by ANP for Biodiesel quality control, based on the introduction of organic samples into the ICP. In this case, the samples were analyzed with and without dilution in organic solvents (kerosene or xylol). Even though this sample preparation procedure has shown to be very simple, the physical interferences observed were severe and required the use of two different strategies to be overcome: addition of high viscosity oil (vaseline) to the calibration solutions and carbon as internal standard. The second method was based on the introduction of Biodiesel emulsion into the ICP. These emulsions were prepared by the addition of 500 mg of sample, 1% w v⁻¹ Triton X-100 as emulsifying agent and 10% v v⁻¹ of nitric acid in ultrapure water up to 10 mL of final volume. Although this simple sample preparation method has eliminated the challenges associated with the use of organic solvents, the blank solution presented a high concentration of some analytes, due to the contamination by the emulsifying agent and this method generated results with high blank signal and standard deviation. The third method was based on microwave assisted digestion of Biodiesel samples. This method was the only one capable of eliminating the organic matrix and all the challenges associated with it, which made the sample introduction easier and improved the method detection limits. Nevertheless, the time consumed in this sample preparation was higher than in the other cases, as also were the associated costs of analysis. The dilution factor was also very high, making difficult the detection of the analytes. The spike recoveries obtained for each method were in the range of 80 to 120%, which were considered satisfactory. Seven different samples were analyzed by each method, but the comparison of the results was difficult because many results were lower than the detection limits. Even though, it was possible to conclude that the concentrations obtained in each method were very different for all elements, excluding S. Without a certified reference material, it was not possible to point out which results were more exact, but considering the simpler sample preparation procedure, with the lower dilution factor, we concluded that the direct analysis of Biodiesel 100%, using carbon as an internal standard was the method that presented more reliable results.

Keywords: Biodiesel, ICP OES, direct introduction, emulsion, digestion, internal standard.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS: Espectroscopia de absorção atômica, do inglês “atomic absorption spectroscopy”

ANP: Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

BEC: Concentração equivalente à radiação de fundo, do inglês “background equivalent concentration”

CID: Dispositivo de injeção de carga, do inglês “charge injection device”

C_x: Concentração da espécie X

ε: fator de correção ($S_{285,213}/S_{280,270}$) aplicado à razão MgII/MgI, utilizada para avaliar a robustez do método

ETV-ICP-MS: ICP-MS com introdução de amostra por vaporização eletrotérmica, do inglês “electrothermal vaporisation”

FAAS: Espectroscopia de absorção atômica com atomização por chama, do inglês “flame atomic absorption spectroscopy”

FAMEs: Ésteres metílicos de ácidos graxos, do inglês “fatty acid methyl esthers”;

ICP OES: Espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês “inductively coupled plasma optic emission spectroscopy”

ICP-MS: Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, do inglês “inductively coupled plasm mass spectrometry”

I_x: Intensidade de sinal para a espécie X

LD: Limite de Detecção

MCT: Ministério da Ciência e Tecnologia, renomeado para Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI) em 03/08/2011

PFA: Perfluoroalcoxi

PNPB: Plano Nacional de Produção e Uso do Biodiesel

PTFE: Politetrafluoretileno

RSD_x: Desvio padrão relativo da condição X, do inglês “relative standard deviation”

SBR: Razão sinal/radiação de fundo, do inglês “signal-to-background ratio”

S_x: Sinal de fundo para uma linha de emissão X, em nm

TFM™: Polímero fluorado similar ao PFA, com menor número de cadeias laterais fluoradas

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Processos que ocorrem no plasma durante a introdução da amostra.	23
Figura 2: Echelograma de água deionizada (a) e de biodiesel diluído em xilol 50% v v ⁻¹ (b).....	25
Figura 3: Otimização da potência (950 a 1350 W) da fonte para o método de introdução direta de biodiesel.....	47
Figura 4: Otimização do fluxo do gás de nebulização para o método de introdução direta de biodiesel.	48
Figura 5: Otimização da taxa de aspiração da amostra para o método de introdução direta de biodiesel.	49
Figura 6: Medidas de viscosidade obtidas em função da concentração de biodiesel diluído em xilol.....	51
Figura 7: Gráfico das intensidades de diferentes linhas de carbono de cada triplicata do branco, do padrão de 3,0 mg kg ⁻¹ e de duas amostras de biodiesel.	62
Figura 8: Otimização da potência da fonte de RF para introdução de emulsão de biodiesel.	70
Figura 9: Otimização da vazão do gás de nebulização para introdução de emulsão de biodiesel.	71
Figura 10: Otimização da velocidade da bomba peristáltica para introdução de emulsão de biodiesel.....	71
Figura 11: Otimização da vazão do gás auxiliar para introdução de emulsão de biodiesel.	72
Figura 12: Fotografias das emulsões ao longo de 12 min. Os números sobre os frascos indicam a concentração de Triton X-100 em % m v ⁻¹ . a) momento inicial; b) após 2 min; c) após 4 min; d) após 9 min; e) após 12 min.	74
Figura 13: Razões de intensidades de sinal obtidas para os testes da adição de ácido nítrico 10% v v ⁻¹ nas emulsões das amostras de biodiesel 14 e 15, indicadas entre parênteses.	76
Figura 14: Otimização da vazão do gás de nebulização para introdução de biodiesel digerido.	81
Figura 15: Otimização da potência da fonte de RF para introdução de biodiesel digerido.	82
Figura 16: Otimização do fluxo do gás auxiliar para introdução de biodiesel digerido	82
Figura 17: Otimização da taxa de aspiração de amostra para introdução de biodiesel digerido.	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros a serem analisados conforme solicitações da ANP.....	19
Tabela 2: Condições instrumentais otimizadas para análise das amostras de biodiesel pelos métodos de introdução direta, emulsão e digestão por micro-ondas e comprimentos de onda avaliados.....	33
Tabela 3: Lista das amostras e respectivos experimentos em que foram utilizadas.....	35
Tabela 4: Etapas do programa de limpeza dos frascos no micro-ondas.	43
Tabela 5: Etapas do programa de digestão de amostras de biodiesel.	44
Tabela 6: Razão entre os coeficientes angulares de diferentes curvas de calibração em relação à curva padrão em xilol.....	50
Tabela 7: Propriedades físico-químicas do xilol, querosene e biodiesel.....	52
Tabela 8: Comparação entre as condições otimizadas pela robustez do plasma e as condições sugeridas pelo fabricante do ICP OES. Valores em negrito indicam parâmetros diferentes entre os métodos.....	54
Tabela 9: Comparação entre a razão dos coeficientes angulares para o teste da adição de padrão no método otimizado pela robustez e no método indicado pelo fabricante.....	54
Tabela 10: Figuras de mérito para as curvas de calibração realizadas com diferentes solventes na faixa de concentração de 0 a 4,0 mg/kg.....	56
Tabela 11: Resultados de adição e recuperação de 1,06 mg kg ⁻¹ de Na, K, Ca, Mg e P e 2,01 mg kg ⁻¹ de S em amostra de biodiesel diluída 50% m v ⁻¹ para curvas feitas em xilol e 1,03 mg kg ⁻¹ de Na, K, Ca, Mg e P e 1,12 mg kg ⁻¹ de S em querosene de aviação.....	57
Tabela 12: Avaliação do efeito do padrão interno nas figuras de mérito para as curvas de calibração realizadas em meio de querosene de aviação com e sem vaselina, na faixa de 0 a 4,0 mg kg ⁻¹	63
Tabela 13: Avaliação do efeito do uso do padrão interno nos resultados para o teste de adição e recuperação de padrão em amostra de biodiesel, para curvas de calibração realizadas em querosene de aviação, sem adição de vaselina.	64
Tabela 14: Avaliação do efeito do uso do padrão interno nos resultados para o teste de adição e recuperação de padrão em amostra de biodiesel, para curvas de calibração realizadas em querosene de aviação, com vaselina 10% m v ⁻¹	65
Tabela 15: Linha de padrão interno escolhida para cada analito.....	67
Tabela 16: Resultados da análise de 7 amostras de biodiesel diluídas 50% m v ⁻¹ em querosene de aviação e puras (100% m v ⁻¹), com o uso de carbono como padrão interno.	68

Tabela 17: Razão entre os coeficientes angulares das curvas de calibração com vaselina líquida e sem vaselina líquida.	77
Tabela 18: Resultados dos testes de adição e recuperação de 0,500 mg kg ⁻¹ de Ca, K, Mg, Na e P e, de 0,548 mg kg ⁻¹ de S nas amostras 14 e 15, com os valores de recuperação, para as curvas de calibração sem e com vaselina líquida (indicada pelo sobrescrito “v”).	78
Tabela 19: Resultados (mg/kg) para a análise de amostras de biodiesel na forma de emulsão por ICP OES.	79
Tabela 20: Parâmetros das curvas de calibração realizada em meio aquoso.	84
Tabela 21: Resultados da análise das amostras 16 e 17 digeridas em duplicadas, e das respectivas recuperações.	85
Tabela 22: Resultados de concentração em mg/kg para as amostras.	85
Tabela 23: Resultados das amostras 6 à 12 obtidos pelos três métodos propostos para análise de biodiesel por ICP OES.	86

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. ORIGEM E IMPORTÂNCIA DO BODIESEL.....	13
1.2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BODIESEL.....	16
1.3. MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO ELEMENTAR EM BODIESEL	19
1.4. PREPARO DE AMOSTRA PARA DETERMINAÇÕES ELEMENTARES EM BODIESEL POR ICP OES	24
2. OBJETIVO	31
3. PARTE EXPERIMENTAL	32
3.1. INSTRUMENTAÇÃO	32
3.2. REAGENTES, SOLVENTES E AMOSTRAS.....	34
3.3. PROCEDIMENTO.....	36
3.3.1. <i>Otimização do ICP</i>	36
3.3.2. <i>Desenvolvimento do método para introdução direta</i>	38
3.3.3. <i>Método das emulsões</i>	41
3.3.4. <i>Digestão das amostras</i>	43
3.3.5. <i>Cálculo dos limites de detecção</i>	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1. INTRODUÇÃO DIRETA DE BODIESEL	46
4.1.1. <i>Otimização dos parâmetros instrumentais do ICP OES para introdução direta de biodiesel</i>	46
4.1.2. <i>Otimização de parâmetros experimentais para análise visando introdução direta da amostra</i>	49
4.1.3. <i>Uso de padrão interno para correção de efeitos de matriz</i>	58
4.1.4. <i>Análise direta de amostras de biodiesel por ICP OES</i>	68
4.2. INTRODUÇÃO DIRETA DE BODIESEL POR EMULSÕES	69
4.2.1. <i>Otimização das condições instrumentais</i>	69
4.2.2. <i>Otimização das condições experimentais</i>	72
4.2.3. <i>Curva de calibração e cálculo do limite de detecção</i>	77
4.2.4. <i>Análise de amostras</i>	79
4.3. DIGESTÃO	80
4.3.1. <i>Otimização instrumental</i>	80
4.3.2. <i>Curva de calibração e estudo de limite de detecção</i>	83
4.3.3. <i>Análise de amostras</i>	84
4.4. COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS	86
5. CONCLUSÕES	89
6. REFERÊNCIAS.....	91

1. Introdução

1.1. Origem e importância do biodiesel

Desde a revolução industrial, os combustíveis fósseis têm sido uma das principais fontes de energia do mundo. Em muitos países, como os Estados Unidos, eles representam mais de 50% da fonte de energia consumida (SIMÕES; LA ROVERE, 2008). Parte disso é consequência de seu menor custo em relação às fontes alternativas, que exigem um grande investimento em pesquisa. Porém, muitos problemas surgiram com a produção e consumo dos derivados de petróleo, como as crises econômicas por ele acarretadas (KNOTHE, 2006). O preço do barril de petróleo oscilou muitas vezes, chegando até a desestabilizar a economia global, como ocorreu nas crises de 1973 e 1979. O mesmo fenômeno tem sido observado com as recentes revoluções no mundo árabe, em que instabilidades políticas provocaram aumento no preço do barril de petróleo (SINGLETON, 2011; VEJA ONLINE, 2011; SHADID, 2011). Esses aumentos não prejudicaram apenas os combustíveis fósseis, como também, todo o mercado de derivados de petróleo (GUANDALINI; SILVA, 2006).

Nesse contexto, a crise de 1973 levou o Brasil, em 14 de novembro de 1975, a criar o “Pró-Álcool” (DECRETOS FEDERAIS, 1979), um programa nacional de produção de álcool, que era uma alternativa de combustível barato, produzido a partir da cana-de-açúcar e cujo preço não oscilava tanto. No entanto, a indústria automobilística da época não conseguiu desenvolver carros com motores a álcool que pudessem ter o mesmo desempenho daqueles movidos a gasolina. Nos últimos anos, porém, esse biocombustível tem se popularizado com a produção dos motores

“Flex”, que funcionam tanto a álcool, como a gasolina (PróAlcool - Programa Brasileiro de Álcool).

Outro grande problema, que tem tido repercussões mais sérias nas questões políticas recentes, é a questão ambiental. Os combustíveis fósseis são vistos como os grandes responsáveis pelos principais problemas ambientais, como o aquecimento global, extinção de diversas espécies de plantas e animais, diversas catástrofes ambientais, etc (SIMÕES; LA ROVERE, 2008). O papel do Brasil nesse contexto tem sido reconhecido mundialmente, como mostram, por exemplo, os importantes eventos sediados em cidades brasileiras, como as Conferências das Nações Unidas sobre o Ambiente e o Desenvolvimento Eco 92 (1992) (Earth Summit Info) e a futura Rio+20 (2012), (Earth Summit Info; United Nations Conference on Sustainable Development), no Rio de Janeiro, e a recente IV Conferência de Prefeitos da C40, ocorrida em São Paulo em 2011 (C40 São Paulo Summit, 2011).

Um terceiro problema que desperta preocupações para um futuro não imediato é o fato de que o petróleo é uma fonte de combustível não renovável (KOUZU *et al.*, 2008). Sendo assim, em algum momento a extinção desta fonte de energia nos obrigará a usar fontes alternativas de energia, cuja busca deve se iniciar imediatamente.

Apesar dos problemas levantados anteriormente, quando surgiu a ideia de se utilizar óleo de sementes como combustível, na “Paris Exposition” de 1900, Rudolf Diesel (1858-1913) não poderia imaginar a importância que teria o seu experimento um século depois. Na ocasião, a ideia que, aparentemente partira do próprio governo francês, serviria para tornar suas colônias africanas capazes de se industrializarem sem necessitar de combustível de outros países (KNOTHE; GERPEN; KRAHL, 2005a). Naqueles tempos, não havia ainda preocupação com o

meio ambiente, mas os combustíveis já começavam a descrever um importante papel na economia dos países. Hoje em dia, as vantagens do uso do biodiesel são muito maiores do que se esperava no final do século XIX. O biodiesel, hoje, é fabricado não apenas a partir de óleo de sementes, mas também de gordura animal e até mesmo, óleo de fritura. Ou seja, ele representa uma fonte de energia renovável, que pode ser obtida a partir de produtos que não costumam sofrer tantas variações de preço como o petróleo. Uma característica importante está relacionada ao fato de que sua queima é mais limpa do que a de qualquer outro combustível fóssil (KNOTHE; GERPEN; KRAHL, 2005a).

A queima do biodiesel é dita limpa por reduzir de modo bastante eficaz a emissão de compostos de carbono e de enxofre. Entretanto, a emissão de NO_x pode ultrapassar a quantidade emitida durante a queima de combustíveis fósseis. Já existem muitas estratégias para redução dessas emissões, sendo que algumas delas envolvem mudança da matéria-prima utilizada (SCHARMA; SINGH; UPADHYAY, 2008). Mesmo com essas emissões, o biodiesel ainda polui muito menos, sendo preferível em relação a qualquer outro combustível fóssil.

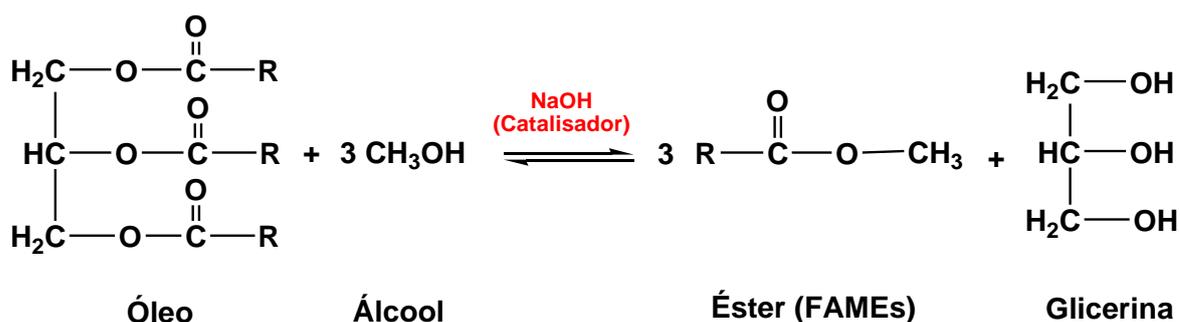
Por esses motivos, o Brasil desenvolveu um plano de produção de biodiesel em larga escala, o Plano Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB). Em 2004 e 2005, o país investiu R\$ 16 milhões dos fundos setoriais geridos pelo Ministério de Ciência e Tecnologia (MCT) em convênios com instituições de pesquisa e universidades de 23 estados brasileiros. Em 2004, quando o projeto Biodiesel foi lançado, as fontes de energia renováveis brasileiras já representavam 43,8% da nossa matriz energética, enquanto que a média mundial não passava dos 13,6%. Tais planos incluem, não somente, o abastecimento do mercado nacional,

como também a exportação do biodiesel para países do mundo todo (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2004).

Devido à grande importância do biodiesel, o seu controle de qualidade se torna cada vez mais importante, assim como as técnicas e métodos utilizados para tal. Deste modo, a pesquisa analítica nessa área desempenha um papel fundamental para a elevação da qualidade do biodiesel brasileiro.

1.2. Composição química do biodiesel

O biodiesel é obtido através de uma reação de transesterificação, como mostrada na equação abaixo (KNOTHE; GERPEN; KRAHL, 2005a):



Os óleos utilizados na produção de biodiesel são constituídos, basicamente, de triglicerídeos, tanto na sua forma original, quanto hidrolisados (ácido graxo). Como um triglicerídeo é constituído de diferentes tipos de ácido graxo e estes possuem diferentes propriedades físicas e químicas, pode-se dizer que os ácidos graxos são determinantes nas características de um óleo vegetal ou animal e, conseqüentemente, nas características do produto final. Após a transesterificação, tem-se a produção do éster (produto final) e da glicerina (sub-produto). O tipo de catalisador utilizado, assim como o álcool, varia de processo para processo (KNOTHE; GERPEN; KRAHL, 2005b). O metanol é o mais utilizado e, por ser mais reativo que o etanol em reações de transesterificação, permite o uso de menores

temperaturas, além de reagir mais rapidamente com os triglicerídeos. No Brasil, o etanol possui a vantagem de ser um reagente também derivado de biomassa, ao contrário do que ocorre com metanol. Outras vantagens do etanol são sua menor toxicidade, produção de biodiesel com maior lubricidade e número de cetano, fatores considerados importantes na qualidade do combustível. Porém, o etanol dificulta a separação do subproduto glicerina, por promover maior dispersão desta no biodiesel (LÔBO; FERREIRA; DA CRUZ, 2009).

Os catalisadores podem variar entre alcalinos ou ácidos. No primeiro grupo, encontram-se, entre outros, o hidróxido de sódio ou de potássio, sendo estes os mais utilizados. No segundo grupo, o catalisador pode ser um ácido de Brønsted, como o ácido sulfúrico, fosfórico e clorídrico, ou um ácido de Lewis. Diversas pesquisas têm sido realizadas pela busca de catalisadores heterogêneos, pois esses podem ser removidos através de um simples processo de filtração, reduzindo-se assim, a geração de efluentes (MARQUES *et al.*, 2008).

Uma das etapas finais da produção de biodiesel é a sua purificação, que é muitas vezes realizada em diversos passos, tais como evaporação do álcool utilizado, remoção de produtos saponificados, remoção da glicerina, concentração, entre outros. Para evitar algumas dessas etapas, estudos têm sido realizados para que o processo de transesterificação ocorra com o uso de enzimas, como a lipase, o que evitaria a formação de subprodutos indesejados tornando o processo de purificação mais simples (FUKUDA; KONDO; NODO, 2001).

Um importante aspecto do controle de qualidade do biodiesel está na composição elementar. Alguns elementos, tais como Na, K, Ca, Mg, P e S são os de principal interesse. Segundo portaria divulgada pela Associação Nacional de Petróleo, Biocombustível e Gás Natural (ANP), os valores de concentração

permitidos são de $5,0 \text{ mg kg}^{-1}$ para Na + K e Ca + Mg, 10 mg kg^{-1} para P e 50 mg kg^{-1} para S (PORTARIA ANP, 2008).

O Na e K são provenientes, principalmente, do catalisador empregado (NaOH e KOH). Esses elementos podem estar presentes no biodiesel na forma de sólidos abrasivos ou de surfactantes insolúveis, o que pode contribuir para a corrosão e danos nas partes do motor. Esse resíduo do catalisador é, então, removido através de sucessivas lavagens do biodiesel com água ou solução ácida, durante o processo de purificação (LYRA *et al.*, 2010).

Já, o Ca e Mg podem ser incorporados ao biodiesel principalmente através de lavagem com água dura e também podem formar surfactantes insolúveis, o que pode provocar danos ao motor (LYRA *et al.*, 2010).

O P é proveniente dos fosfolipídios presentes nos óleos vegetais e na gordura animal. Os fosfolipídios são removidos no tratamento prévio do óleo denominado degomagem. Caso seja utilizado o óleo bruto na transesterificação, como resultado, será gerado um biodiesel com elevadas concentrações de fósforo, o que provoca a elevada emissão de materiais particulados, capazes de afetar o funcionamento dos catalisadores automotivos, além de aumentar poluição gerada no processo de queima (LÔBO; FERREIRA; DA CRUZ, 2009).

O enxofre, assim como o fósforo, pode prejudicar o funcionamento dos motores e catalisadores automotivos, além de gerar a emissão de óxidos de enxofre, extremamente prejudiciais ao meio ambiente. Cabe ressaltar que o S também pode ser proveniente do processo de lavagem do biodiesel com ácido para remoção do catalisador, sendo associado, também, a problemas de corrosão no motor (LÔBO; FERREIRA; DA CRUZ, 2009).

Pelos motivos apresentados acima, o controle das concentrações de Na, K, Ca, Mg, P e S no biodiesel é de fundamental importância. As seções a seguir descrevem os métodos para tal controle.

1.3. Métodos para determinação elementar em biodiesel

Segundo a portaria 42, resolução 7 da ANP (PORTARIA ANP, 2008), para controlar e caracterizar a composição química do biodiesel, é necessário o uso de diversas técnicas analíticas, algumas das quais estão apresentadas na Tabela 1, para a análise do biodiesel.

Tabela 1: Parâmetros a serem analisados conforme solicitações da ANP.

Parâmetro	Técnica
Teor de água	Titulação Coulométrica – Karl Fischer
Teor de éster, glicerol livre, glicerol total, metanol ou etanol, máx.	Cromatografia a gás
Enxofre total, máx.	Fluorescência no Ultra-Violeta, Espectrometria de Fluorescência de Raios-X Dispersiva
Sódio + Potássio	AAS*, ICP OES**
Cálcio + Magnésio	AAS, ICP OES
Fósforo	ICP OES

*AAS = Espectrometria de absorção atômica; **ICP OES = Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.

Como pode ser observada pela Tabela 1, a determinação de S é realizada ou por Fluorescência no Ultra-Violeta ou Espectrometria de Fluorescência de Raios-X Dispersiva. Porém, já que a determinação dos outros elementos pode ser realizada por ICP OES, determinar o enxofre pela mesma técnica permitiria que a análise elementar completa de biodiesel fosse executada através do mesmo método analítico, gerando economia de tempo, recursos financeiros e de reagentes. Além disso, foram relatados alguns problemas graves na análise de S feita por

Fluorescência de Raios-X, fazendo com que outros métodos de análise sejam atrativos. O primeiro problema é causado pelo fato da calibração ser realizada utilizando-se padrões à base de petróleo, o que gera erros sistemáticos devido às diferenças no nível de oxigênio encontrado nas amostras e nos padrões (BARKER; KELLY; GUTHRIE, 2008). Além disso, esse método não consegue quantificar S na forma inorgânica, apesar das especificações da ANP (PORTARIA ANP, 2008) exigirem determinação de S total.

Para determinação de Na, K, Ca e Mg, é possível utilizar tanto a espectrometria de absorção atômica (AAS), quanto a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

No caso das normas para determinação de Na, K, Ca e Mg por absorção atômica, o atomizador utilizado é a chama. O método consiste, basicamente, na diluição das amostras em querosene de aviação ou xilol, com curva de calibração feita a partir de padrões orgânicos, contendo um óleo de elevada viscosidade para que as soluções utilizadas para calibração do equipamento fiquem compatíveis às amostras (EUROPEAN STANDARD EN 14109, 2003; EUROPEAN STANDARD EN 14108, 2003).

Por ICP OES, as normas permitem não somente a quantificação dos mesmos elementos que são quantificados por absorção atômica, como também do fósforo. Essa diferença reside na limitação do uso das 3 linhas ressonantes de fósforo, que são emitidas entre 167,2 e 178,8 nm, fora do alcance da maior parte dos equipamentos de AAS comerciais, pois para trabalhar nessa faixa de emissão do ultra-violeta, seria necessário que o caminho percorrido pela luz estivesse no vácuo ou em meio purgado com gás inerte. São usadas, portanto, linhas menos intensas de fósforo, 213,5 e 213,6 nm, que são cerca de 100 vezes menos sensíveis que as

linhas ressonantes (CURTIUS, 1998). No caso do ICP OES, a emissão que ocorre no plasma passa por uma óptica purgada com argônio, de modo que não haja limitações relacionadas a esta faixa de emissão espectral.

A técnica espectroscópica ICP OES se baseia na medida da emissão de radiação eletromagnética de átomos e íons gerada a partir de um plasma de argônio. O plasma é um gás ionizado, normalmente constituído de argônio, gerado dentro de um compartimento do equipamento, denominado compartimento de tocha. A tocha é constituída de 3 tubos concêntricos: o tubo externo, o intermediário e o tubo injetor. Pelos 3 tubos, há um fluxo de argônio cuja vazão pode ser variada de acordo com o tipo de amostra analisada. Pelo tubo externo, circula o gás do plasma, também denominado de gás de refrigeração, cuja vazão varia de 10 a 20 L min⁻¹, sendo a vazão típica de 15 L min⁻¹. Esse gás, além de ser o gás que mantém o plasma, circula em um movimento espiralar, tangenciando o tubo externo, de modo a resfriá-lo (NÖLTE, 2003a). O tubo intermediário possui duas funções: a primeira é forçar o gás do plasma a circular tangencialmente pelo tubo externo e a segunda é inserir o gás auxiliar. O gás auxiliar, além de ajudar na transferência de energia do plasma para a amostra, é responsável por manter o plasma afastado do tubo injetor. Isso é importante, principalmente para soluções com alto teor de compostos orgânicos dissolvidos porque, se a ponta desse tubo estiver muito aquecida, o solvente da amostra pode evaporar, causando a precipitação de amostra dentro do tubo, de modo a entupi-lo. Esse gás também ajuda a evitar a ocorrência de pirólise na ponta do tubo central, no caso de amostras orgânicas, além de minimizar o depósito de compostos carbonáceos no tubo intermediário. Valores típicos para a vazão desse gás estão entre zero e 2,0 L min⁻¹ (NÖLTE, 2003a).

O gás que passa pelo tubo injetor é denominado gás de nebulização. Esse gás passa pelo nebulizador e forma o aerossol, sendo, portanto, o responsável pelo transporte da amostra até o plasma. Sua vazão é determinante para o tempo de residência da amostra no plasma. Maiores tempos de residência permitem que o aerossol absorva mais energia, sendo, portanto, um parâmetro determinante na otimização do método. Há dois parâmetros que influenciam no tempo de residência: a vazão do gás de nebulização e o diâmetro interno do tubo injetor. Quanto maior a vazão do gás de nebulização, que costuma estar entre $0,3 \text{ L min}^{-1}$ e 2 L min^{-1} , tanto maior é a velocidade com que as espécies químicas passam pelo plasma. No caso do diâmetro interno do tubo injetor, para uma mesma vazão, a redução do diâmetro interno implica no aumento da pressão do gás que sai do tubo injetor, aumentando-se assim a sua velocidade. Os diâmetros internos desse tubo variam entre 0,8 mm e 2,0 mm (NÖLTE, 2003a).

O processo de formação do plasma ocorre em várias etapas. A primeira etapa consiste na purga de argônio do compartimento de tocha. A seguir, um campo magnético é induzido na tocha, através da passagem de uma corrente elétrica pela bobina que fica ao redor da tocha. A bobina está ligada à fonte de rádio-frequência, que oscila o sentido dessa corrente numa frequência de, tipicamente, 27,12 ou 40,00 MHz, de modo a oscilar o sentido do campo magnético gerado. O argônio é, então, ionizado através de um ignitor, também denominado de Tesla, que causa uma descarga elétrica no meio. Os íons e os elétrons formados com essa descarga são, então, acelerados pelo campo magnético, colidindo com diversos átomos de argônio, de modo a causar um processo de ionização em cadeia. Essas partículas carregadas e aceleradas formam o plasma (NÖLTE, 2003a).

A temperatura do plasma de argônio pode chegar a 10.000 K na região mais próxima à bobina. No plasma, a energia é transferida através dos choques entre elétrons e íons. A energia média do íon de argônio, por exemplo, é de 15,76 eV. Considerando-se que a energia de ionização média dos metais seja de 7 a 8 eV, a energia do plasma é suficiente para ser utilizada para os processos de excitação e emissão de átomos e íons (NÖLTE, 2003b). Essa energia é consumida pelo aerossol que chega ao plasma durante os vários processos que decorrem até a formação dos átomos e íons, excitação e emissão dos mesmos (Figura 1).

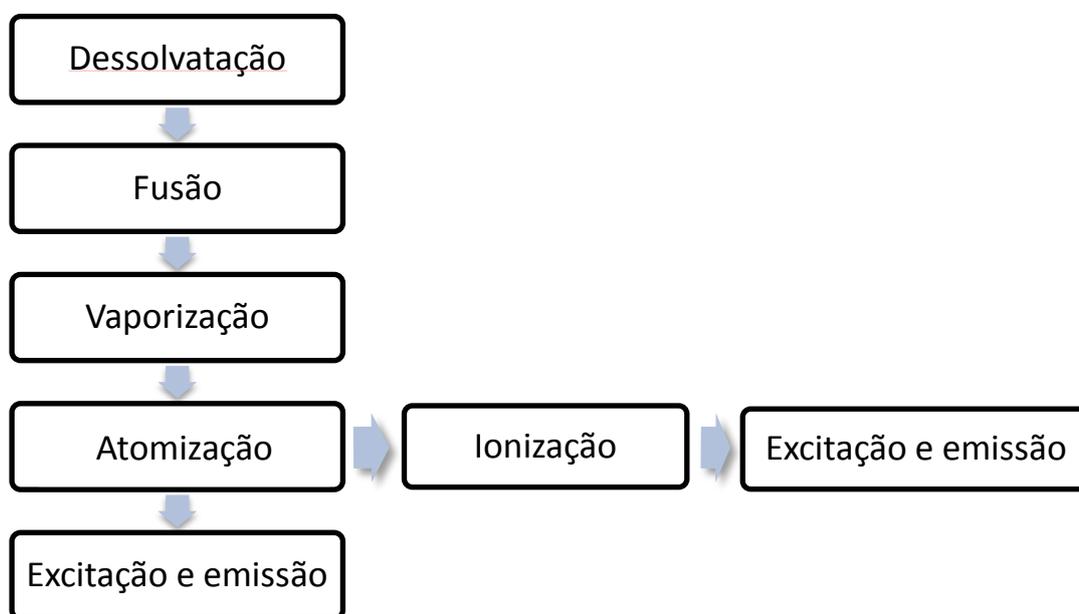


Figura 1: Processos que ocorrem no plasma durante a introdução da amostra.

Por meio de policromadores, na sua maioria, com arranjo Echelle, a radiação emitida pelos átomos e íons gerados no plasma é separada em comprimentos de onda discretos, que são detectados e utilizados para identificação e quantificação dos elementos presentes na amostra.

O sistema de introdução de amostras é composto de uma bomba peristáltica para propulsão da solução e remoção do dreno, um nebulizador, que gera o aerossol da amostra e de uma câmara de nebulização, também denominada de

câmara de expansão, responsável por permitir que apenas as menores gotículas do aerossol cheguem ao plasma. Atualmente, há diversos tipos de nebulizadores e de câmaras de nebulização. A escolha do conjunto de introdução de amostras deve ser em função do tipo de amostra a ser analisada.

1.4. Preparo de amostra para determinações elementares em biodiesel por ICP OES

Amostras de biodiesel se encontram em estado líquido e, em função do seu processo de fabricação, já se encontram de forma homogênea, dispensando a necessidade de etapas de homogeneização prévias. No entanto, essa solução pode ser introduzida de diferentes formas no ICP OES, sendo o preparo de amostra determinante nesse caso.

Segundo os métodos recomendados pela ANP (PORTARIA ANP, 2008), para a determinação de Na, K, Ca, Mg, P e S, as amostras de biodiesel devem ser simplesmente diluídas em xilol ou querosene de aviação. Esse método de preparo de amostra é bastante simples, porém apresenta algumas desvantagens para a análise realizada por ICP OES. Uma delas é a necessidade do uso de padrões orgânicos importados para a construção da curva de calibração, o que eleva o custo da análise. Outra desvantagem é a necessidade de se trabalhar com solventes orgânicos, que são mais tóxicos do que soluções aquosas, obrigando o operador a utilizar EPIs (Equipamentos de Proteção Individual) especiais para lidar com os vapores dos solventes. Outro desafio proveniente dessa forma de introdução de amostra está na parte instrumental. A solução orgânica consome muita energia do plasma, o que pode desestabilizá-lo ou até mesmo extinguí-lo. Parte desse processo é decorrente da alta volatilidade dos solventes orgânicos, que, no processo de nebulização, acabam passando para a fase vapor, aumentando-se, assim, a

quantidade de amostra que chega ao plasma. Para minimizar esse efeito, é necessário o uso de um sistema de introdução de amostras que reduza a quantidade de amostra que chega ao plasma, como o uso de um nebulizador menos eficiente e de uma câmara de nebulização ciclônica com restrição interna. Outro problema está relacionado ao depósito de carbono que ocorre na extremidade da tocha, o que dificulta a análise pela sujeira formada na tocha e pela elevação do sinal de fundo.

Na Figura 2, estão representados os sinais de emissão obtidos em um policromador Echelle com detector do tipo CID (Charge Injection Device), mostrando todos os sinais emitidos pela amostra que chegam ao detector simultaneamente, com a introdução de água (Figura 2a) ou biodiesel diluído 50% v v⁻¹ em xilol (Figura 2b) (NÖLTE, 2003c).

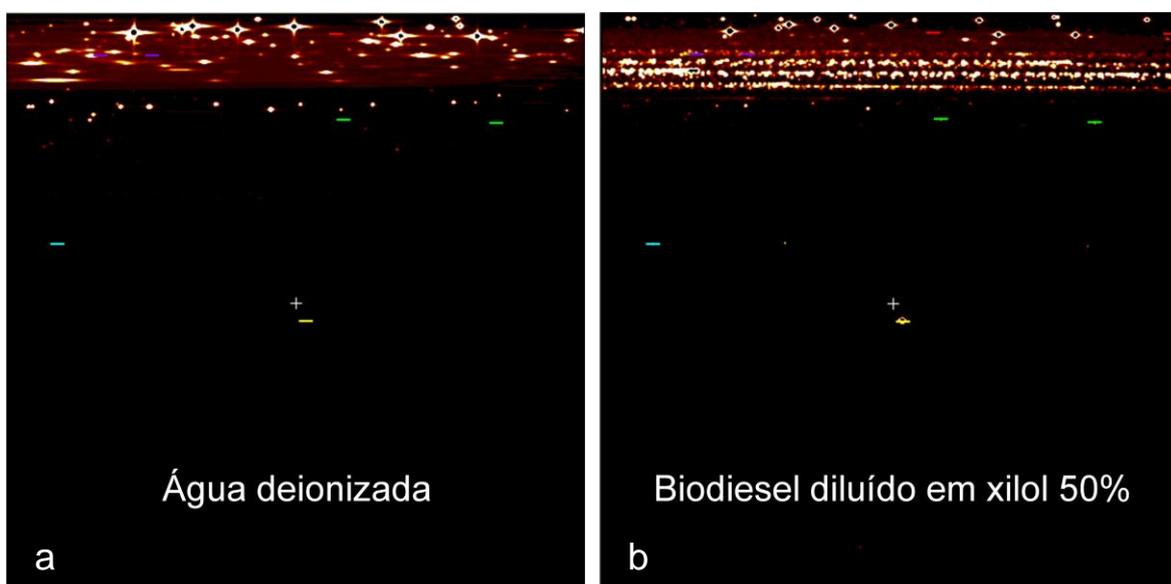


Figura 2: Echelograma de água deionizada (a) e de biodiesel diluído em xilol 50% v v⁻¹ (b).

Cada ponto branco corresponde a um sinal emitido. As regiões amareladas são sinais menos intensos do que os brancos e as regiões vermelhas correspondem a sinais menos intensos que os sinais amarelos. Na parte superior da Figura 2, há

uma região onde ocorrem as emissões de Na (588 nm e 589 nm) e de K (766 nm). Nessa mesma região, o sinal de fundo já é bastante elevado devido às emissões provocadas por argônio, que podem ser melhor observadas no echelograma da água deionizada (NÖLTE, 2003d).

Como foi discutido na literatura (MAGYAR; LIENEMANN; VONMONT, 1986), a introdução de solventes orgânicos no plasma, causa a formação de algumas espécies estáveis, como CN, C₂ e grafite, C(s). Por se tratarem de moléculas, e não átomos ou íons monoatômicos, as emissões por elas geradas ocorrem na forma de bandas, aumentando muito a intensidade do sinal de fundo, como a emissão de C₂, que ocorre no intervalo de 200 a 600 nm (NÖLTE, 2003d). Além disso, o grafite se comporta como um corpo negro, emitindo em todo o contínuo das regiões UV-Vis (MAGYAR; LIENEMANN; VONMONT, 1986). É possível observar esse aumento do sinal de fundo na parte superior do echelograma do biodiesel diluído em xilol, onde há um aumento do número de sinais brancos nessa região.

Edlund e colaboradores (EDLUND; VISSER; HEITLAND, 2002) conseguiram minimizar o sinal de fundo da linha de emissão 589,955 nm do Na através da adição de oxigênio ao gás de nebulização. A adição de oxigênio oxida os compostos carbonáceos, transformando-os em CO e CO₂, de modo a diminuir bastante os problemas a eles associados (MAGYAR; LIENEMANN; VONMONT, 1986).

Santos *et al.* (2007) determinaram Na, K, Ca, Mg e P em biodiesel por ICP OES utilizando diluição em etanol. Para tanto, ~2,5 g de amostra foram pesados e diluídos com etanol absoluto para 25 mL. Para corrigir as diferenças de viscosidade e tensão superficial entre as amostras e os padrões utilizados na curva de calibração, foi utilizado Y como padrão interno. Para diminuir a intensidade do sinal de fundo, foi adicionado oxigênio ao gás auxiliar. O uso do etanol como solvente

permitiu o uso de padrões aquosos para a curva de calibração, porém, para manter o plasma estável, foi necessário utilizar uma câmara de nebulização refrigerada, o que elevou o custo da análise. Os testes de adição e recuperação geraram resultados muito próximos a 100%: 103 a 111% para Ca, 102 a 105% para Mg, 96 a 102% para P, 82 a 94% para K e 106 a 114% para Na (SANTOS *et al.*, 2007).

Uma das possíveis maneiras de se introduzir o biodiesel no ICP OES é através da utilização de um coloide, seja esse na forma de emulsão, seja na forma de microemulsão. Coloides são dispersões de pequenas partículas (menores que 500 nm de diâmetro) de um material em outro. Quando os dois materiais são líquidos, esses coloides são chamados de emulsão (ATKINS; DE PAULA, 2002). Em determinadas condições, é possível converter a emulsão em microemulsão, que, ao contrário da primeira, é estável termodinamicamente e, devido ao menor tamanho das partículas, diferencia-se visualmente por ser transparente (KLIER *et al.*, 2000; DE OLIVEIRA *et al.*, 2004). A maior estabilidade das microemulsões é uma característica bastante explorada para análises espectroscópicas (LYRA *et al.*, 2010; AMAIS *et al.*, 2010; DE JESUS; SILVA; VALE, 2008).

Lyra e colaboradores, em 2010, determinaram Na, K, Ca e Mg em biodiesel por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS), via amostragem de microemulsões. As microemulsões foram preparadas utilizando-se 10% m v⁻¹ de biodiesel, 75% v v⁻¹ de *n*-propanol, 1% de ácido nítrico concentrado, 14% v v⁻¹ de uma solução aquosa composta por 0,2% v v⁻¹ de HNO₃ e 0,5% de KCl como supressor de ionização. As microemulsões geradas ficaram estáveis por 15 dias e os limites de detecção obtidos ficaram na faixa de µg g⁻¹ (LYRA *et al.*, 2010). Ao contrário do que ocorre em absorção atômica, o uso de um solvente de alta volatilidade em alta proporção, como o *n*-propanol, requer o uso de um acessório

especial, que é o sistema de refrigeração da câmara de nebulização para se evitar a extinção do plasma. Esse sistema de refrigeração diminui a pressão de vapor do solvente, minimizando seu transporte até o plasma.

Amais e colaboradores determinaram Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti e Zn em biodiesel por espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS), utilizando microemulsão. Neste caso, o preparo da microemulsão envolveu uma mistura contendo 0,25 mL de Triton X-100 + 0,25 mL de HNO₃ (20% v v⁻¹) + 0,50 mL de biodiesel + 4,0 mL de *n*-propanol. Também foi utilizado oxigênio misturado ao gás auxiliar para minimizar as interferências provocadas pelo excesso de carbono nas amostras. As recuperações geradas ficaram entre 76,5% e 116,2%, exceto para o Zn, que apresentou valores na faixa de 65,0% a 76,2%. Os autores atribuíram esses resultados a possíveis interferências físicas (AM AIS *et al.*, 2010).

De Jesus e colaboradores trabalharam com microemulsões em FAAS para determinação de Na e K em biodiesel. Nesse estudo, prepararam-se microemulsões utilizando 57,6% m m⁻¹ de *n*-pentanol, 20% m m⁻¹ de amostra, 14,4% m m⁻¹ de Triton X-100 e 8% m m⁻¹ de água. As microemulsões ficaram estáveis por 3 dias e as recuperações obtidas ficaram na faixa de 95% a 115% (DE JESUS; SILVA; VALE, 2008).

Há também um trabalho que utilizou o coloide na forma de emulsão para análise de biodiesel via vaporização eletrotérmica acoplada à espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ETV-ICP-MS) (CHAVES *et al.*, 2008). Neste trabalho, os autores determinaram Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V em diesel e biodiesel utilizando 1,0 g de amostra, 2,0 mL de Triton 5% m v⁻¹, 0,5 mL de HNO₃ e água deionizada até o volume de 10 mL. Com o uso do vaporizador eletrotérmico, foi possível o uso de um modificador químico, no caso 1,0 µg Pd. Para corrigir

oscilações na introdução de amostra, utilizou-se também solução de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Rh como padrão interno. As curvas de calibração foram realizadas utilizando-se padrões aquosos. O método apresentou limites de detecção na ordem de ng g^{-1} , além de recuperações no intervalo de 80% a 120%.

Apesar dos excelentes resultados encontrados na literatura com o uso de emulsões ou microemulsões como forma de introdução de amostra, não há ainda nenhum trabalho com a determinação de Na, K, Ca, Mg, P e S em biodiesel para análise por ICP OES, tornando-se bastante interessante a pesquisa nessa área.

Outra possibilidade de preparo de amostra é a realização da digestão do biodiesel com aquecimento assistido por micro-ondas. As micro-ondas interagem com a matéria de modo a provocar a migração iônica, fazendo com que os íons descrevam o movimento eletroforético e também influenciam na rotação de dipolos do solvente, no caso, a água. Ambos os fenômenos provocam a elevação da temperatura. Como os frascos dos equipamentos de micro-ondas são transparentes a essa radiação, as micro-ondas chegam diretamente na amostra fazendo com que, ao contrário do que ocorre nos sistemas de aquecimento condutivo, a energia seja transferida diretamente para amostra, tornando o processo de aquecimento mais eficiente. Os frascos costumam ser de PTFE (politetrafluoretileno), PFA (perfluoroalcóxi), TFM[™] (PTFE quimicamente modificado) e quartzo (sílica fundida). Esses frascos são adequados também para trabalhar em elevadas pressões. Desse modo, nos sistemas de frascos fechados, o aumento de pressão permite que se chegue a uma temperatura maior durante a digestão, facilitando e acelerando a decomposição da amostra (NOGUEIRA *et al.*, 2008).

Korn e colaboradores realizaram a digestão de biodiesel em micro-ondas de frasco fechado para determinação de Ca, Mg, Na, K e P por ICP OES. Foram

utilizados 7,0 mL de HNO₃, 1,0 mL de H₂O₂ e 250 mg de amostra. O programa total de digestão durou 42 min. Os testes de adição e os valores de recuperação ficaram entre 89 e 103%, sendo, portanto, considerados bastante satisfatórios. Com esse procedimento, foi possível trabalhar com padrões aquosos na curva de calibração, além de ter evitado o uso de solventes orgânicos. No entanto, há uma limitação na quantidade de massa de amostra utilizada, porque valores maiores do que 250 mg podem elevar muito a pressão dentro do frasco durante a digestão, causando vazamentos e danos ao equipamento, conforme consta na literatura (KORN *et al.*, 2010). Além disso, esse procedimento pode provocar diluição excessiva da amostra, levando os analitos de interesse a níveis de concentração abaixo dos limites de detecção. Outra desvantagem desse método é o uso de ácido concentrado, o que propicia maiores ocorrências de contaminação das amostras pelo ácido. Porém, esse problema pode ser resolvido através do controle do branco, ou, se necessário, da destilação do ácido (KRUG; SANTOS JR., 2008). Para minimizar essas desvantagens, pesquisas têm sido realizadas para que as digestões em micro-ondas sejam realizadas com ácidos diluídos, de modo a se diminuir a diluição da amostra e minimizar contaminações dos ácidos (ARAÚJO *et al.*, 2002).

Contudo, a eliminação da matriz orgânica representa uma grande facilidade analítica, eliminando ou reduzindo interferências espectrais provocadas pelas linhas de carbono, interferências físicas provocadas pela diferença nas matrizes da amostra e dos padrões, além de permitir a melhora até dos limites de detecção, por se trabalhar em meio aquoso (IQBAL *et al.*, 2010). Por esses motivos, a digestão de amostras assistida por micro-ondas tem tido um número cada vez maior de trabalhos publicados na literatura nos últimos anos (NOGUEIRA *et al.*, 2008).

2. Objetivo

O objetivo desse trabalho foi desenvolver e comparar diferentes métodos de preparo de amostra, tais como introdução direta, digestão ou amostragem de emulsão para a determinação de Na, K, Ca, Mg, P e S em biodiesel por ICP OES.

3. Parte experimental

3.1. Instrumentação

No estudo aqui relatado foi utilizado um ICP OES (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, Inglaterra), modelo iCAP 6300 Duo, com vista axial e radial, detector simultâneo CID (Charge Injection Device), óptica purgada com argônio, que permite um intervalo de trabalho de 166,25 a 847,0 nm, com 383 mm de distância focal, policromador Echelle com 52,91 linhas/mm e fonte de rádio-frequência de 27,12 MHz, que permite ajuste da potência aplicada de 750 a 1350 W. O gás utilizado para purgar a óptica e formar o plasma foi Ar 99,998% v v⁻¹ (Oxilúmen, São Paulo, SP). O sistema de introdução de amostra utilizado foi um nebulizador com ranhura em “V” (“V-groove”) para introdução das amostras orgânicas e um concêntrico para emulsões e amostras aquosas. A câmara de expansão utilizada foi do tipo ciclônica com restrição interna para amostras orgânicas e sem restrição para amostras inorgânicas. Nesse aparelho, a amostra é bombeada para a tocha com uma bomba peristáltica acoplada ao equipamento e seu fluxo é controlado pelo programa (iTeva - Thermo Scientific). A tocha utilizada foi de quartzo do tipo desmontável com diâmetro do canal central de 2,0 mm, para soluções aquosas e emulsões, permitindo maior tempo de residência da amostra no plasma, e de 1,0 mm, para as soluções orgânicas, visando minimizar a deposição de compostos carbonáceos na tocha. Os parâmetros instrumentais otimizados e comprimentos de onda avaliados nesse equipamento estão apresentados na Tabela 2.

Para a digestão de biodiesel, foi utilizado um forno de micro-ondas com cavidade, modelo Multiwave 3000 (Anton Paar, Graz, Austria) com capacidade para

16 frascos, potência de 1400 W, pressão máxima de 40 bar e temperaturas de até 240 °C.

Tabela 2: Condições instrumentais avaliadas para análise das amostras de biodiesel pelos métodos de introdução direta, emulsão e digestão por micro-ondas e comprimentos de onda avaliados

Parâmetro	Introdução direta	Emulsão e digestão
Potência da fonte de RF	950 - 1350 W	1050 - 1300 W
Vazão do gás do plasma	12 L min ⁻¹	12 L min ⁻¹
Vazão do gás de nebulização	0,34 - 0,62 L min ⁻¹	0,28 - 0,74 L min ⁻¹
Vazão do gás auxiliar	1,50 L min ⁻¹	0,5 – 1,5 L min ⁻¹
Taxa de introdução de amostra	0,40 - 1,2 mL min ⁻¹	0,40 – 1,2 mL min ⁻¹
Tempo de integração: baixos comprimentos de onda	15 s	15 s
Tempo de integração: altos comprimentos de onda	5 s	5 s
Vista	Axial	Axial
Comprimentos de onda avaliados (nm)*		
Ca (II) 184,006 {483}		P (I) 177,495 {490}
Ca (II) 393,366 {86}		P (I) 178,284 {489}
Mg (II) 279,553 {121}		P (I) 185,942 {481}
Mg (II) 280,270 {120}		S (I) 180,731 {487}
Mg (I) 285,213 {118}		C (I) 176,391 {491}
Na (I) 588,995 {57}		C (I) 199,362 {169}
Na (I) 589,592 {57}		C (I) 199,362 {469}
K (I) 766,490 {44}		C (I) 258,290 {130}
K (I) 769,896 {44}		

* (I) = emissão atômica; (II) = emissão iônica; {n} = ordem de difração n

Para o preparo das emulsões, utilizou-se um banho de ultrassom com capacidade para 2 L, modelo 75 D (VWR Scientific Instruments, Acqua Sonic, EUA), com frequência de 40 kHz e potência de 200 W, para auxiliar na diluição do Triton X-100 em água ultra-pura e aumentar a estabilidade das emulsões.

Uma balança analítica da marca Ohaus Adventurer – Balanças Analíticas de Precisão (Mettler Toledo, São Paulo, Brasil), com precisão analítica de até 0,0001g foi utilizada para a pesagem das amostras.

Para as medidas de viscosidade, foi utilizado um viscosímetro da marca Anton Paar, modelo SVM 3000 Stabinger Viscometer, que mede viscosidade dinâmica de acordo com as normas ASTM D7042. Estas medidas foram realizadas no Centro de Monitoramento e Pesquisa da Qualidade de Combustíveis Petróleo e Derivados (CEMPEQC), da UNESP/Araraquara.

3.2. Reagentes, solventes e amostras

Todas as soluções aquosas foram preparadas com água de alta pureza, com resistividade de 18,2 M Ω cm, obtida pelo sistema Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, USA).

Para a digestão das amostras utilizaram-se HNO₃ 65% (m v⁻¹), H₂O₂ 30% (m v⁻¹) e água ultra-pura.

Para o preparo das curvas de calibração, soluções de referência (Merck – Alemanha) mono-elementares de 1000 mg L⁻¹ de Na em meio de 1 % (v v⁻¹) de HNO₃, K e Ca em 6,5% (v v⁻¹) de HCl, Mg em 1% (v v⁻¹) de HNO₃ e P em 1% (v v⁻¹) de HCl foram utilizados. O padrão de S foi preparado a partir do sal KHSO₄, previamente seco em estufa, cuja massa foi medida em balança analítica para o preparo de uma solução em meio aquoso, com concentração de 109,6 mg L⁻¹.

Para o método da introdução direta de biodiesel, dois solventes foram avaliados. Primeiramente, estudou-se xilol grau P.A. (Merck) para diluição das amostras e preparo das soluções analíticas em meio orgânico. O outro solvente estudado, com a mesma finalidade de diluição e calibração, foi querosene de aviação, Exxsol D60 (Exxon Mobil Chemical). Para o preparo das soluções

analíticas de calibração de Na, K, Ca, Mg e P, utilizou-se um padrão multielementar em óleo mineral da Conostan, chamado S21+K, contendo 500 mg kg^{-1} dos seguintes elementos (Ag, Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Si, Sn, Ti, V, Zn). Para a determinação de S, utilizou-se um padrão da Conostan em óleo mineral contendo 1000 mg kg^{-1} de S.

Tabela 3: Lista das amostras e respectivos experimentos em que foram utilizadas.

Amostra	Etapa do trabalho	Método
1 e 2	Otimização instrumental pela avaliação da robustez e avaliação da viscosidade.	Introdução direta
3	Estudo do efeito de matriz pelos testes de adição e recuperação (Tabela 6 e Tabela 9).	Introdução direta
4	Teste de adição e recuperação (Tabela 11).	Introdução direta
5	Avaliação do efeito do carbono como padrão interno nos testes de adição e recuperação. (Tabela 13 e Tabela 14)	Introdução direta
6 a 12	Análise de 7 amostras de biodiesel para comparação entre os três métodos. (Tabela 16, Tabela 19 e Tabela 22)	Introdução direta, emulsão e digestão.
13	Otimização instrumental pela avaliação da robustez e avaliação da estabilidade das emulsões.	Emulsão e digestão.
14 e 15	Avaliação do efeito do ácido nítrico nos sinais dos analitos das emulsões e avaliação do uso de vaselina líquida nos padrões da curva de calibração (Tabela 18).	Emulsão
16 e 17	Testes de adição e recuperação nas amostras digeridas. (Tabela 21)	Digestão

Nos experimentos realizados, foram utilizadas 17 amostras de biodiesel (denominadas de 1 a 17) gentilmente fornecidas pelo Centro de Monitoramento e Pesquisa da Qualidade de Combustíveis, Petróleo e Derivados (CEMPEQC), da UNESP/Araraquara. Tais amostras não possuem informações sobre origem, matéria-prima e processo de produção, o que impede o uso de tais informações para

avaliação dos resultados obtidos. A Tabela 3 resume os experimentos em que cada amostra foi utilizada.

3.3. Procedimento

3.3.1. Otimização do ICP

Para se empregar um método preciso por ICP OES é importante minimizar os efeitos de matriz, os quais podem gerar interferências físicas, espectrais e, em menor grau, químicas. Para atingir esse objetivo, é possível otimizar o método de maneira a se obter uma condição robusta de operação do ICP OES. De acordo com a literatura (DENNAUD *et al.*, 2001), as condições robustas permitem que o método resista a variações na composição dos componentes da matriz, sem que isso altere, significativamente, os sinais das espécies químicas de interesse. No caso do ICP OES, essas são condições em que a temperatura e a densidade eletrônica do plasma não são afetadas pela introdução das diferentes matrizes. Uma maneira simples de avaliar essas condições, proposta por Poussel e colaboradores (POUSSEL; MERMET; SAMUEL, 1993) é pela utilização da razão das intensidades de uma linha iônica e de uma linha atômica de determinado elemento. Essa razão permite avaliar a influência de diversos parâmetros tais como, potência da rádio-frequência, tempo de residência da amostra no plasma, taxa de transporte do aerossol e vazão do gás de nebulização. As linhas mais comumente utilizadas são MgII 280,270 nm e MgI 285,213 nm, por se tratarem de dois comprimentos de onda bastante próximos, por possuírem intensidades de mesma magnitude e por seus valores de probabilidade de transição serem conhecidos com bastante precisão. Deste modo, determinar a razão MgII/MgI permite avaliar se os processos de atomização, excitação e ionização são tão eficientes quanto possível. Sob um ponto

de vista analítico, isso significa que é possível avaliar se houve uma atomização completa e uma ionização eficiente, ou seja, avaliar a robustez do método. No caso do plasma axial, a razão obtida deve ser multiplicada por um fator de correção ϵ , calculado a partir da razão dos valores de sinais de fundo (S_x) das linhas 285,213 e 280,270 nm do magnésio ($S_{285,213}/S_{280,270}$). Deste modo, valores acima de 10 indicam condições do plasma bastante robustas (MERMET; POUSSSEL, 1995).

Porém, é importante ressaltar que essas condições somente garantem a robustez do plasma, mas efeitos de matriz originados no transporte da solução não podem ser eliminados desta forma, tais como os efeitos provocados por diferenças na viscosidade, tensão superficial e pressão de vapor entre soluções de calibração e amostra (DENNAUD *et al.*, 2001; LARREA *et al.*, 2008).

Condições robustas em ICP OES levam em consideração, particularmente, a potência aplicada, que determina a eficiência na transferência de energia do plasma para a amostra, o fluxo do gás de nebulização (um dos parâmetros determinantes para a eficiência de nebulização e o tempo de residência) e a taxa de aspiração da amostra, importante para determinar a quantidade de solução que chega ao plasma. Quanto maior a quantidade de solução, mais energia precisa estar disponível para a realização dos processos de atomização, ionização e excitação (MERMET; POUSSSEL, 1995).

Dessa forma, para cada método, as condições instrumentais foram otimizadas, de modo a se obter o maior valor para a razão $MgII/MgI$. Para tanto, em cada método, uma amostra de biodiesel foi preparada e, em seguida, foi adicionado $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$ de Mg. Os parâmetros instrumentais otimizados foram a potência da fonte de rádio-frequência, pressão do gás de nebulização, taxa de aspiração da amostra e vazão do gás auxiliar. O gás do plasma é um parâmetro fixo no modelo de

equipamento utilizado, cujo valor é 12 L min^{-1} , não tendo sido, portanto, alterado. Para a otimização de cada parâmetro, todos os outros foram mantidos constantes. As condições escolhidas foram as que geraram maior razão MgII/MgI .

3.3.2. Desenvolvimento do método para introdução direta

No caso da introdução direta de biodiesel, as soluções foram preparadas em meio orgânico. Por esse motivo, foram realizadas duas formas de preparo de soluções analíticas e amostras. A primeira baseou-se na medida da massa. Os padrões orgânicos e os solventes foram pesados diretamente em tubos Falcon de 15 mL. Para os padrões orgânicos de Na, K, Ca, Mg e P, em alguns casos, houve a necessidade de se adicionar vaselina, $10\% \text{ m m}^{-1}$, para elevar a viscosidade dos padrões, aumentando a compatibilidade com as amostras. Nesses casos, após a pesagem dos padrões, transferiu-se 0,6000 g de vaselina líquida para o frasco, em seguida a massa final de 6,000 g foi completada com o solvente de interesse, xilol ou querosene de aviação. Devido a uma pequena quantidade de S presente na vaselina, as soluções analíticas de S não foram preparadas com adição desse composto.

A amostra foi introduzida no ICP de duas formas: diretamente, sem diluição, e com diluição de $50\% \text{ m m}^{-1}$, usando xilol ou querosene como solvente. No caso da diluição, 3,000 g de amostra foram pesados e, em seguida, a massa foi completada até 6,000 g com solvente (xilol ou querosene), dependendo do que foi utilizado na curva de calibração.

Nos testes de adição e recuperação de analito em amostra pura, pesou-se primeiramente a massa desejada do padrão e, em seguida, a massa foi completada até 6,000 g com biodiesel. Nos testes de adição e recuperação de analito na

amostra diluída, após a pesagem da massa desejada do padrão, foram pesados 3,000 g de biodiesel e, em seguida, a massa foi completada até 6,000 g com o solvente utilizado (xilol ou querosene). As adições de padrão para o teste da adição de analito foram realizadas nas faixas de 0,0 a 4,0 mg kg⁻¹, contendo as seguintes concentrações: branco (amostra pura ou diluída, dependendo do caso); 0,50 mg kg⁻¹; 1,0 mg kg⁻¹; 2,0 mg kg⁻¹; 3,0 mg kg⁻¹ e 4,0 mg kg⁻¹.

A outra forma de preparo dos padrões e amostras foi baseada nas medidas de volume. Os frascos utilizados foram, também, tubos Falcon graduados com capacidade para 15 mL. As soluções analíticas para obtenção das curvas de calibração foram preparadas pesando-se, primeiramente, os padrões orgânicos de Na, K, Ca, Mg e P, com adição de 1,000 g de vaselina líquida e o padrão de S sem adição de vaselina. Em seguida, os volumes foram completados para 10 mL com querosene de aviação.

Novamente, as amostras foram introduzidas de duas formas. Diretamente, sem diluição, e diluídas 50% m v⁻¹. No caso das amostras diluídas, primeiramente, foram pesados 5,000 g de biodiesel. Em seguida, o volume de 10 mL foi completado com querosene de aviação.

Para os testes usando o método da adição e recuperação dos analitos sem diluição, as massas dos padrões foram pesadas em balança analítica. Em seguida, o volume foi completado até 10 mL com biodiesel. Para os testes de adição e recuperação de analito nas amostras diluídas, foram pesados 5,000 g de biodiesel e em seguida, o volume de 10 mL foi completado com querosene de aviação. As curvas de calibração em meio de querosene de aviação com vaselina líquida para Na, K, Ca, Mg e P foram preparadas até 5,0 mg L⁻¹, com as seguintes soluções: branco; 0,25 mg L⁻¹; 0,50 mg L⁻¹; 1,0 mg L⁻¹; 2,0 mg L⁻¹ e 3,0 mg L⁻¹. A curva de

calibração realizada em meio de querosene para o S possui as mesmas concentrações, porém o branco foi constituído de querosene de aviação apenas.

Os testes de otimização instrumental foram realizados com duas amostras de biodiesel puras, às quais foram adicionados $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ do padrão multielementar contendo Mg (S21 + K da Conostan). Para essa solução, primeiramente pesou-se 0,080 g de padrão em tubo Falcon com capacidade de 50 mL. Em seguida, adicionou-se biodiesel até a massa atingir o valor de 40 g. O frasco foi manualmente agitado para homogeneizar a solução.

3.3.2.1. Medidas de viscosidade das soluções

As medidas de viscosidade foram realizadas com duas amostras de biodiesel com diferentes diluições. As soluções foram preparados em tubos Falcon com capacidade para 50 mL. Para cada amostra foram utilizadas massas de biodiesel de 5,0 g, 10 g, 15 g e 20 g. Em seguida, para atingir a massa final de 20 g adicionou-se xilol nos três primeiros tubos. Após homogeneização as soluções foram levadas ao viscosímetro, cuja temperatura interna foi ajustada para $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, para medição das viscosidades.

3.3.2.2. Uso de linhas de carbono como padrão interno

O uso do carbono como padrão interno, cuja importância será discutida a frente, não necessitou de nenhuma mudança nos procedimentos de preparo de amostra acima descritos. A curva de calibração realizada com o uso do padrão interno, ao invés de ser um gráfico de Intensidade do analito vs. Concentração do analito passa a ser (Intensidade do analito/Intensidade do padrão interno) vs.

Concentração do analito. Deste modo, quando a amostra é analisada, o que será medido também é a razão entre analito e padrão interno.

3.3.3. Método das emulsões

Diversos testes foram conduzidos para encontrar a condição mais adequada para o preparo das emulsões, de modo que a amostra resultante fosse estável por longo tempo para análise via ICP. Em tubos Falcon de 15 mL, prepararam-se 5 emulsões com a mesma massa de biodiesel (~ 500 mg), porém com concentrações de Triton X-100 variando de 1, 2, 4, 6, 8 e 10% m v⁻¹. O volume final do frasco foi completado com água e agitado, manualmente, até as emulsões ficarem homogêneas. Monitorou-se, então, o tempo gasto para a ocorrência da separação de fase. Para o preparo da solução estoque de Triton X-100 20% m v⁻¹, transferiram-se 10,0 g desse reagente para um tubo Falcon graduado com capacidade de 50 mL. Em seguida, adicionou-se água e banho de ultrassom por aproximadamente 20 min, até que a solução estivesse homogênea.

Depois da determinação anterior, as mesmas emulsões foram novamente submetidas à homogeneização manual e, em seguida, a ultrassonicação por 100 min, tendo sido realizadas observações a cada 20 min.

Em seguida foi feito um estudo para avaliar qual a maior massa de biodiesel possível de ser utilizada no preparo das emulsões, sem que houvesse comprometimento de sua estabilidade. Para tanto, foram preparadas emulsões com concentrações de Triton X-100 de 1 e 10% m v⁻¹ e, para cada caso, massas de 1000 mg e 2000 mg de biodiesel. Para esses testes, 1000 e 2000 mg de amostra foram pesados em tubos Falcon graduados de 15 mL. Em seguida, 0,5 e 5 mL da solução estoque de Triton X-100 foram acrescentados e os volumes finais de 10 mL

completados com água ultra-pura. Com o intuito de melhorar a estabilidade, essas mesmas soluções foram também preparadas na presença de hexano. Para tanto, prepararam-se emulsões contendo 1000 mg de biodiesel, 0,5% v v⁻¹ de hexano em 1, 6, 8 e 10% m v⁻¹ de Triton X-100. Os volumes finais de 10 mL foram completado com água ultra-pura.

Com o intuito de avaliar a ocorrência de extração dos analitos pelo uso de ácido nas emulsões, a adição de HNO₃ também foi considerada no preparo das emulsões. Deste modo, foram preparadas 2 emulsões, com duas amostras diferentes contendo ácido nítrico 10% v v⁻¹ e 2 emulsões sem ácido nítrico. Para tanto, 500 mg das amostras foram pesados em tubos Falcon com capacidade para 15 mL. Em cada um dos tubos, foram pipetados 500 µL de Triton X-100 20% m v⁻¹. Em todos os frascos, adicionou-se água ultra-pura até atingir o volume final de 10 mL.

Foram avaliadas três formas de preparo das soluções de calibração. A primeira consistiu em pipetar o volume de solução padrão necessário para cada concentração das soluções de calibração, acrescentando 0,65 mL de ácido nítrico concentrado (14 mol L⁻¹), 0,5 mL de Triton X-100 20% v v⁻¹ e completando o volume para 10 mL com água ultra-pura. Para tentar aproximar as condições de preparo do padrão às condições da amostra, que contém alto teor de matéria orgânica, avaliou-se a adição de duas soluções aos padrões: vaselina pura e vaselina diluída em querosene de aviação. Para vaselina pura, além das etapas anteriores, adicionou-se 500 mg de vaselina líquida, antes do volume ser completado para 10 mL. No outro caso, ao invés da adição da vaselina líquida pura, adicionou-se 500 mg de uma solução de vaselina líquida diluída em querosene de aviação 10% m m⁻¹.

Os testes de adição e recuperação foram realizados pesando-se 500 mg da amostra, pipetando-se o padrão, pipetando-se 0,65 mL de ácido nítrico, 0,50 mL da solução estoque de Triton X-100 e completando-se o volume com água ultra-pura até 10 mL. A mistura resultante foi, então, agitada manualmente e, em seguida, levada ao ultrassom por 20 min para a formação das emulsões.

3.3.4. Digestão das amostras

Todos os frascos foram cuidadosamente lavados usando o procedimento adotado no laboratório: após lavagem com sabão neutro e água destilada, os frascos foram imersos em solução de ácido nítrico 10% v v⁻¹ por, pelo menos, 24 horas, enxaguados com água ultra-pura e secos em estufa antes de serem utilizados. Nos casos onde houve formação de resíduos após a digestão, evidenciados pela formação de um anel escuro na parede interna do tubo, um programa de limpeza descrito na Tabela 4 foi realizada no forno de micro-ondas, onde apenas ácido nítrico (4 mL) e água (2 mL) foram adicionados aos frascos.

Tabela 4: Etapas do programa de limpeza dos frascos no micro-ondas.

Etapa	T (°C)	Rampa (min)	Patamar (min)
1	180	10	10
2*	0	-	20

* Etapa utilizada para o resfriamento dos frascos

Para digestão das amostras, adicionou-se uma massa de, aproximadamente, 200 mg aos frascos juntamente com 2 mL de água ultra-pura, 4 mL de HNO₃ 65% e 2 mL de H₂O₂. Os frascos foram então submetidos ao programa do micro-ondas apresentado na Tabela 5.

Tabela 5: Etapas do programa de digestão de amostras de biodiesel.

Etapa	T (°C)	Rampa (min)	Patamar (min)
1	80	5	2
2	140	5	5
3	190	10	35
4*	0	-	20

* Etapa utilizada para o resfriamento dos frascos

Após a digestão, os frascos foram removidos do micro-ondas e cuidadosamente abertos. As soluções dos digeridos foram transferidas para tubos Falcon graduados de 15 mL. O restante da solução presente no frasco do micro-ondas foi lavada com água ultra-pura e, novamente, transferida para o mesmo tubo Falcon. A solução resultante foi avolumada para 10 mL com água ultra-pura. Com isso, o fator de diluição da amostra foi de, aproximadamente, 50 vezes.

As soluções analíticas de calibração foram preparadas em meio de água ultra-pura, sem adição de ácido, já que testes ilustrados a frente mostram que este não é necessário.

Para os testes da adição e recuperação foi retirada uma alíquota de 8 mL da amostra digerida e foi adicionado o volume de padrão específico de cada teste. A solução resultante foi avolumada para 10,0 mL.

3.3.5. Cálculo dos limites de detecção

Os limites de detecção foram estimados com base nos desvios padrões das soluções dos brancos e nos valores do BEC (Background Equivalent Concentration) de cada um dos elementos de interesse.

Sendo assim, para estimar os limites de detecção de cada método, as soluções dos brancos foram analisadas 10 vezes no ICP OES. Em seguida, os

limites de detecção foram estimados utilizando-se a seguinte equação (SILVA *et al.*, 2002):

$$LD = 3 \times RSD_{\text{branco}} \text{ BEC}/100$$

onde: LD = limite de detecção; RSD_{branco} = desvio padrão para a leitura do branco (n=10); BEC = concentração equivalente ao background.

O BEC foi calculado usando a seguinte equação:

$$\text{BEC} = C_{\text{padrão}}/\text{SBR}, \text{ SBR} = (I_{\text{padrão}} - I_{\text{branco}})/I_{\text{branco}},$$

onde $C_{\text{padrão}}$ concentração de um padrão da curva de calibração; $I_{\text{padrão}}$ representa a intensidade do sinal de emissão do padrão da curva de calibração com concentração $C_{\text{padrão}}$; I_{branco} indica a intensidade do sinal do branco.

Cabe ressaltar que o RSD utilizado levou em conta as incertezas advindas da regressão linear utilizada para a realização da curva de calibração, assim como foi realizado para todos os resultados de concentração aqui apresentados.

4. Resultados e discussão

4.1. Introdução direta de biodiesel

4.1.1. Otimização dos parâmetros instrumentais do ICP OES para introdução direta de biodiesel

Primeiramente, realizou-se a otimização instrumental do ICP OES para análise direta de biodiesel. Os parâmetros instrumentais otimizados foram a potência da fonte de rádio-frequência, pressão do gás de nebulização, taxa de aspiração da amostra e vazão do gás auxiliar.

Conforme descrito no procedimento, adicionou-se $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Mg às amostras de biodiesel 1 e 2. O valor de ϵ , calculado a partir da razão dos valores de sinais de fundo (S_x) ($S_{\text{fundo}285,213}/S_{\text{fundo}280,270}$), foi 1,3. Portanto, todos os valores da razão MgII/MgI foram multiplicados por esse valor. O primeiro parâmetro otimizado foi a potência da fonte de RF e os resultados obtidos estão apresentados na Figura 3.

Para as duas amostras, o aumento da potência resultou no aumento da razão MgII/MgI, indicando a operação do plasma em condições mais robustas. Esse aumento da razão MgII/MgI com o aumento da potência está correlacionado à maior energia disponível no plasma, o que permite que a amostra seja atomizada e ionizada mais eficientemente. Apesar da maior razão observada ter sido encontrada para 1350 W, optou-se por trabalhar a 1250 W, pois a operação do plasma a uma maior potência levaria a um maior desgaste da tocha, sem muito ganho na robustez, pois para as duas condições a razão MgII/MgI encontrada foi maior do que 10.

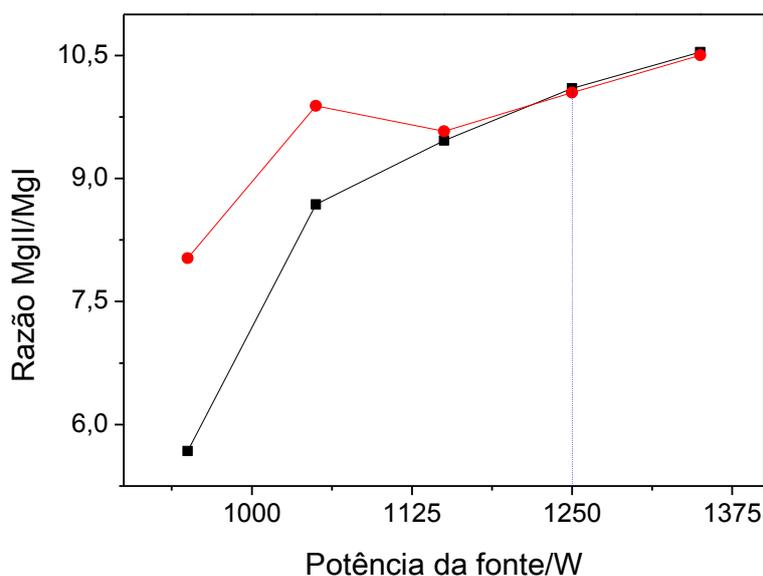


Figura 3: Otimização da potência (950 a 1350 W) da fonte para o método de introdução direta de biodiesel: (■) Amostra 1 e (●) Amostra 2.

Após encontrar a melhor potência otimizou-se a vazão do gás de nebulização. Nesse caso, a potência foi mantida a 1250 W, o gás auxiliar em $1,5 \text{ L min}^{-1}$ e a taxa de aspiração da amostra, em $0,66 \text{ mL min}^{-1}$. Os resultados estão apresentados na Figura 4.

Nesse caso, observou-se que quanto maior o fluxo do gás de nebulização, menos robusto é o método. Isso ocorre porque o gás de nebulização é um dos parâmetros determinantes para o tempo de residência da solução no plasma. Quanto maior o fluxo do gás de nebulização, maior a velocidade com que a amostra passa pelo plasma, e, conseqüentemente, menor o tempo de residência. Se o tempo de residência for baixo, há menos tempo para a amostra absorver energia do plasma e sofrer os processos de atomização, ionização e excitação. Deste modo, o melhor valor encontrado foi $0,34 \text{ L min}^{-1}$ para o fluxo do gás de nebulização. Observa-se no gráfico que, ao contrário do que ocorreu na Figura 3, as amostras apresentaram

razões de magnésio muito diferente uma da outra, apesar de seguirem a mesma tendência.

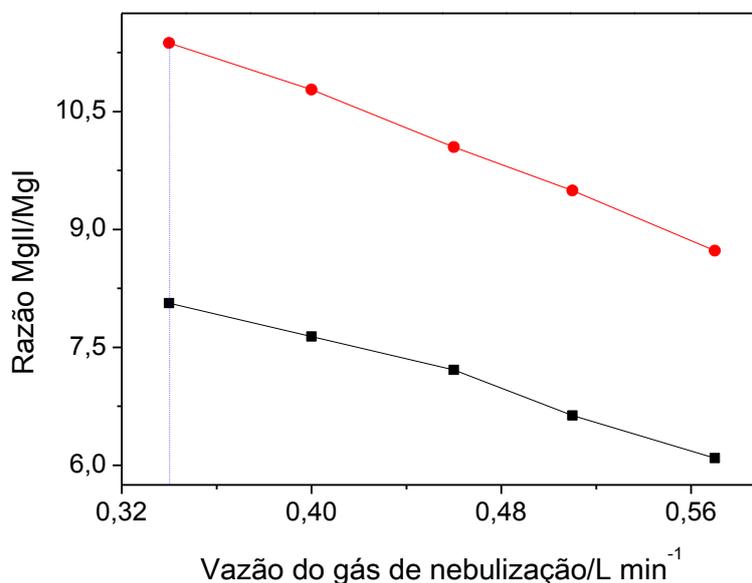


Figura 4: Otimização do fluxo do gás de nebulização para o método de introdução direta de biodiesel: (■) Amostra 1 e (●) Amostra 2.

Em seguida, otimizou-se a taxa de aspiração de amostra de 0,40 a 1,2 mL min⁻¹. Nesse caso, a potência foi mantida em 1250 W, o fluxo do gás de nebulização, em 0,34 L min⁻¹ e o gás auxiliar, em 1,5 L min⁻¹. Os resultados desse estudo estão apresentados na Figura 5.

Os resultados mostram que o método ficou mais robusto na menor taxa de aspiração da amostra. Isso ocorreu porque, quanto menor a taxa de aspiração da amostra, melhor a eficiência de nebulização, formando um aerossol com menores gotículas que vão atingir o plasma. O melhor valor encontrado foi, portanto, 0,40 L min⁻¹.

O gás do plasma é fixo no modelo de equipamento utilizado em 12 L min⁻¹, não tendo sido, portanto, variado. O gás auxiliar não foi otimizado, pois, em valores

menores do que $1,5 \text{ L min}^{-1}$, ocorria depósito de carbono no tubo intermediário e no tubo injetor da tocha.

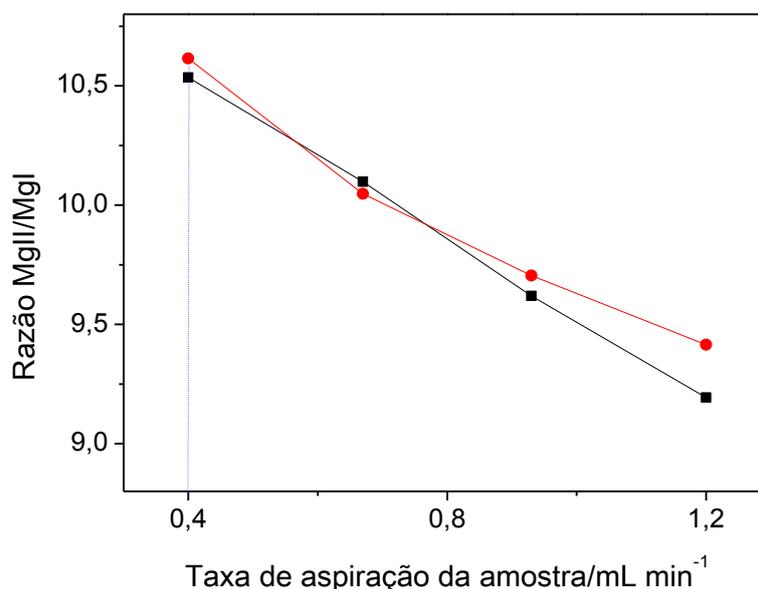


Figura 5: Otimização da taxa de aspiração da amostra para o método de introdução direta de biodiesel: (■) Amostra 1; (●) Amostra 2.

As condições mais robustas encontradas foram, portanto, 1250 W , $0,34 \text{ L min}^{-1}$ de vazão do gás de nebulização e $0,4 \text{ L min}^{-1}$ de taxa de aspiração de amostra, como mostrado na Tabela 2.

4.1.2. Otimização de parâmetros experimentais para análise visando introdução direta da amostra

Conforme discutido anteriormente, a otimização realizada em função da razão MgII/MgI torna as condições do plasma robustas. Porém, mesmo após essa otimização, é possível ocorrerem interferências físicas decorrentes do processo de introdução de amostras no plasma (DENNAUD *et al.*, 2001). Para investigar a existência desse tipo de interferência, testes de adição de analito foram realizados em 2 amostras de biodiesel em condições diferentes: amostra diluída $50\% \text{ m m}^{-1}$ e amostra pura ($100\% \text{ m m}^{-1}$). Foi obtida, também, uma curva analítica de calibração

com 10% m v⁻¹ de vaselina líquida, seguindo as normas sugeridas pela ANP (PORTARIA ANP, 2008).

Uma forma de avaliar a ocorrência de interferências físicas é pela razão entre os coeficientes angulares da curva de calibração e das curvas geradas pelo método de adição de padrão. Na ausência de efeitos de matriz, as curvas são paralelas, fazendo com que a razão seja muito próxima a 1,0. Valores maiores ou menores que 1,0 indicam interferências não espectrais (CORREIA, 2004). As razões em relação à curva de calibração padrão estão apresentadas na Tabela 6. Esses resultados foram obtidos usando as condições de compromisso obtidas na otimização do ICP OES: 1250 W, 0,34 L min⁻¹ de vazão do gás de nebulização e 0,4 L min⁻¹ de vazão da bomba.

Tabela 6: Razão entre os coeficientes angulares de diferentes curvas de calibração em relação à curva padrão em xilol.

Curva	Na (I) 589 nm	K (I) 766 nm	Ca (II) 184 nm	Mg (II) 279 nm	P (I) 177 nm	S (I) 180 nm
Xilol + Vaselina	0,895	0,919	0,828	0,864	0,973	-
Adição de padrão amostra 50% m m ⁻¹	1,12	0,881	0,812	0,915	0,852	1,03
Adição de padrão amostra 100% m m ⁻¹	0,682	0,606	0,466	0,578	0,557	0,652

É possível observar que os valores da razão para os elementos Na, K, Ca, Mg, P e S foram inferiores a 1,0 para os testes de adição de padrão. O mesmo foi observado para as curvas de calibração contendo 10% m m⁻¹ de vaselina líquida, o que significa que a vaselina afeta, de fato, as propriedades da solução gerada, podendo provocar mudanças no transporte da solução para o plasma. As únicas exceções foram o Na e S, que para amostra diluída 50%, os valores foram muito próximos a 1,0.

Uma hipótese levantada para explicar as diferenças de coeficientes angulares foi a diferença de viscosidade das soluções. Para investigar essa hipótese, foram

medidas as viscosidades dinâmicas de diferentes misturas entre biodiesel e xilol para duas amostras de biodiesel, conforme descrito nos procedimentos. Os resultados podem ser observados na Figura 6.

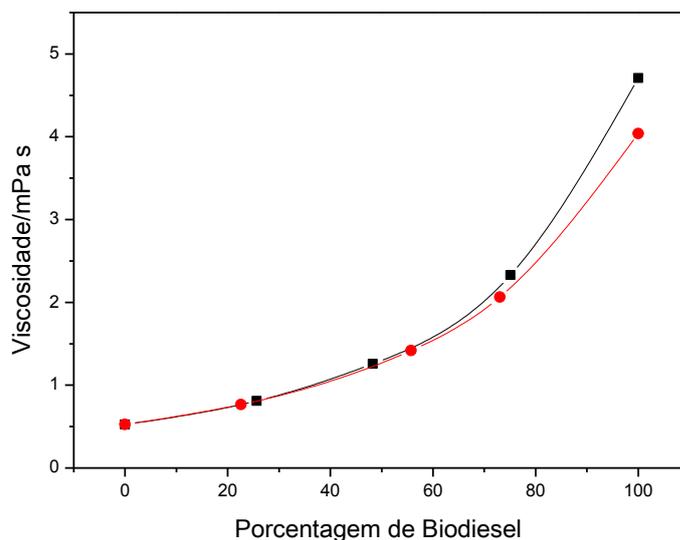


Figura 6: Medidas de viscosidade obtidas em função da concentração de biodiesel diluído em xilol: (■) Amostra 1; (●) Amostra 2.

Com este gráfico, é possível visualizar que, quanto maior a concentração de biodiesel, maior é a viscosidade da mistura. Essa diferença justifica os resultados apresentados na Tabela 6, que tiveram nas curvas com adição de padrão coeficientes angulares menores do que a curva em xilol. Isso pode ser justificado pelo fato de uma maior viscosidade prejudicar o processo de nebulização.

Além da viscosidade, outro importante parâmetro físico-químico para o processo de nebulização é a tensão superficial (ROCHA; NÓBREGA, 1996). Porém, quando se tratam de compostos orgânicos, os valores de tensão superficial são muito próximos, sendo pouco provável que essa propriedade das soluções seja o motivo para os valores das razões entre coeficientes angulares apresentados na Tabela 6. Porém, um parâmetro que pode desempenhar um importante papel no

processo de nebulização de amostras orgânicas é a pressão de vapor. Durante o processo de nebulização, são geradas pequenas gotículas de amostra, que são arrastadas através do gás de nebulização até o plasma. Esse é um processo que facilita a ocorrência de evaporação, principalmente de compostos voláteis, como solventes orgânicos. Esse fenômeno aumenta a quantidade de solução que chega ao plasma, o que pode provocar aumento no sinal do analito, sendo importante realizar sua avaliação.

Para avaliar se houve diferenças significativas na quantidade de vapor gerado durante o processo de nebulização dos padrões em xilol e das amostras de biodiesel, comparou-se a pressão de vapor do biodiesel com a pressão de vapor do xilol, assim como com a pressão de vapor da querosene de aviação, que é outro solvente indicado pelas normas adotadas pela ANP (PORTARIA ANP, 2008) para análise de biodiesel. Para tanto, foi realizada uma pesquisa na literatura, comparando as diferentes propriedades físico-químicas do xilol, querosene de aviação e biodiesel. Os dados estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: Propriedades físico-químicas do xilol, querosene e biodiesel.

	Viscosidade/ (mPa s ⁻¹)	Tensão Superficial/ (mN m ⁻¹)	Pressão de vapor/ (mmHg)
Xilol	0,526 ^a	28,7 ^b	4,89 ^c
Querosene	1,08 ^a	-	0,4 ^d
Biodiesel	4,04 ^a	-	2,94.10 ⁻⁶ e

Fonte: a: experimental; b: Handbook CRC (25 °C) (LIDE, 2010), c: Yaw's Handbook (20 °C), (YAWS; NARASIMHAN; GABBULA, 2009), d: Exxon Mobil Chemical, e: Calculado a partir de Yuan e colaboradores (YUAN; HANSEN; ZHANG, 2005).

Não foram encontrados na literatura dados sobre a tensão superficial da querosene e do biodiesel. A tensão superficial apresentada para o xilol foi uma média aritmética entre as tensões superficiais de cada isômero: 29,86 mN m⁻¹ para o orto; 28,47 mN m⁻¹ para o meta e 28,01 mN m⁻¹ para o *p*-xileno. As informações de

pressão de vapor foram calculadas a partir da Equação de Antoine e, portanto, são informações calculadas e não obtidas experimentalmente. A única exceção é a querosene de aviação, cuja pressão de vapor consta na ficha do produto.

Apesar da falta de informações sobre a tensão superficial da querosene e do biodiesel, os valores apresentados de viscosidade e de pressão de vapor revelam uma considerável diferença entre as propriedades dos solventes e o biodiesel. A menor viscosidade, assim como a maior pressão de vapor dos solventes, xilol e querosene, em relação ao biodiesel, fazem com que uma maior quantidade de padrão, independentemente de qual solvente utilizado, chegue ao plasma do que amostra, e, portanto, explicam a origem das interferências físicas observadas na Tabela 6.

A fim de investigar se haveria alguma outra condição experimental que pudesse minimizar esses efeitos, decidiu-se fazer um teste com as condições sugeridas pelo fabricante do ICP OES para análise de biodiesel. As condições propostas só diferem nos parâmetros de introdução de amostras: vazão do gás de nebulização e taxa de aspiração da amostra, além do solvente utilizado. As condições de cada método estão apresentadas na Tabela 8.

Para investigar se as condições instrumentais sugeridas pelo fabricante apresentam menos interferências físicas, foi realizado um novo teste de adição de padrão na mesma amostra de biodiesel (amostra 3), nas condições sugeridas pelo fabricante. Os resultados podem ser observados na Tabela 9. Para efeitos de comparação, os dados da Tabela 6 foram repetidos na Tabela 9.

Tabela 8: Comparação entre as condições otimizadas pela robustez do plasma e as condições sugeridas pelo fabricante do ICP OES. Valores em negrito indicam parâmetros diferentes entre os métodos.

Parâmetro	Condições otimizadas pela robustez	Condições sugeridas pelo fabricante
Potência da fonte de RF	1250 W	1250 W
Vazão do gás do plasma	12 L min ⁻¹	12 L min ⁻¹
Vazão do gás de nebulização	0,34 L min⁻¹	0,45 L min⁻¹
Vazão do gás auxiliar	1,50 L min ⁻¹	1,50 L min ⁻¹
Taxa de aspiração de amostra	0,40 mL min⁻¹	0,66 mL min⁻¹
Tempo de integração para baixos comprimentos de onda	15 s	15 s
Tempo de integração para altos comprimentos de onda	5 s	5 s
Solvente	Xilol	Querosene

Tabela 9: Comparação entre a razão dos coeficientes angulares para o teste da adição de padrão no método otimizado pela robustez e no método indicado pelo fabricante.

Curva	Na (I)	K (I)	Ca (II)	Mg (II)	P (I)	S (I)	
	589 nm	766 nm	184 nm	279 nm	177 nm	180 nm	
Método otimizado pela robustez (MgII/MI 11,7)	Xilol (Vaselina 10%)	0,895	0,919	0,828	0,864	0,973	-
	Adição de padrão amostra 50%	1,12	0,881	0,812	0,915	0,852	1,03
	Adição de padrão amostra 100%	0,682	0,606	0,466	0,578	0,557	0,652
Método indicado pelo fabricante (MgII/MI 10,6)	Xilol (Vaselina 10%)	0,829	0,929	0,898	1,00	1,06	-
	Adição de padrão amostra 50%	1,06	0,957	0,936	0,934	0,969	1,08
	Adição de padrão amostra 100%	0,558	0,491	0,644	0,820	0,708	0,820

As razões obtidas para amostra diluída 50% nas condições do fabricante ficaram mais próximas de 1,0. O mesmo ocorreu para a amostra pura, com exceção apenas do Na e do K, cujas razões passaram de 0,682 e 0,606 para 0,558 e 0,491, respectivamente. Dessa forma, pode-se dizer que, de maneira geral, as condições sugeridas pelo fabricante foram menos susceptíveis às interferências físicas. Observa-se, também, que em ambos os casos, a curva com vaselina apresentou razão menor do que 1,0, sofrendo um efeito de matriz muito parecido ao que ocorre

com as amostras. Dessa forma, calibrar o equipamento utilizando vaselina 10% m v⁻¹ nos padrões pode ser uma forma de minimizar o efeito de matriz.

A razão MgII/MgI calculada para o método robusto nessa amostra foi de 11,7 e de 10,6 para as condições sugeridas pelo fabricante. Sendo assim, é possível afirmar que o plasma, apesar de estar mais robusto nas condições otimizadas pela robustez, também se encontra bastante robusto nas condições sugeridas pelo fabricante. Porém, as pequenas mudanças na taxa de aspiração de amostra e na pressão de gás de nebulização talvez propiciem condições de introdução de amostra menos susceptíveis a variações na pressão de vapor e na viscosidade das amostras. Isso explica as diferentes razões de Mg para as amostras 1 e 2 observadas na Figura 4, já que naquela etapa da otimização, a robustez do sistema como um todo não tinha sido suficiente para evitar os diferentes comportamentos entre as amostras. Deste modo, considerou-se que o uso das condições sugeridas apresentam menos interferências físicas do que as condições otimizadas pela robustez do plasma. Esses resultados mostram que apenas a otimização pela robustez do plasma não é capaz de assegurar a robustez do método como um todo, inclusive oscilações na introdução de amostra. Para esse caso, é preciso haver uma relação de compromisso entre a robustez do plasma e a razão dos coeficientes angulares entre a curva de calibração padrão e as curvas geradas pelo método de adição de padrão.

O próximo teste foi a investigação das diferenças de resultados de adição e recuperação de padrão utilizando-se a curva de calibração feita em xilol e a curva feita em querosene de aviação. Tal interesse se deve ao fato de que, do ponto de vista do analista, seria melhor trabalhar com querosene do que com xilol por causa de sua toxicidade. Segundo a “Health Protection Agency” (Health Protection Agency,

Xylene, 2010; CHILCOT, 2006), inalar vapores de xileno pode causar desconforto estomacal, dor de cabeça, tontura, irritação nos pulmões, garganta e nariz. Já, a querosene, quando inalada, causa menos transtornos. Deste modo, o uso de querosene em substituição ao xilol, é menos prejudicial para o usuário.

Observando-se os valores de propriedades físicas apresentados na Tabela 7, esperava-se que houvesse diferenças significativas, pois a querosene possui propriedades físico-químicas mais próximas ao biodiesel do que o xilol. Para avaliar o efeito dessas diferenças, foi realizado um estudo de adição e recuperação na amostra 4 utilizando-se os dois solventes. Os resultados encontram-se na Tabela 10 e na Tabela 11.

Tabela 10: Figuras de mérito para as curvas de calibração realizadas com diferentes solventes na faixa de concentração de 0 a 4,0 mg/kg.

	Xilol		Xilol com vaselina		Querosene de aviação		Querosene de aviação com vaselina	
	LD/(mg kg ⁻¹)	R ²	LD/(mg kg ⁻¹)	R ²	LD/(mg kg ⁻¹)	R ²	LD/(mg kg ⁻¹)	R ²
Ca 184	0,0327	0,993	0,0730	1,00	0,0671	0,999	0,0236	1,00
K 766	5,01	0,988	3,18	0,999	0,456	1,00	0,654	0,999
Mg 280	0,00700	0,992	0,0129	1,00	0,0307	0,999	0,0432	1,00
Na 588	0,0529	1,00	3,52	0,998	1,73	1,00	1,65	1,00
P 177	0,0848	1,00	1,32	0,995	0,00164	0,994	0,389	0,998
P 178	0,100	1,00	1,23	0,995	0,00164	0,993	0,380	0,998
S 180	5,51	1,00	-	-	3,46	0,999	-	-

Os valores do coeficiente de correlação linear, R², obtidos para o Ca, K e Mg para as curvas de calibração realizadas em xilol com vaselina foram melhores do que os coeficientes para as curvas de xilol sem vaselina. O uso de vaselina nos padrões também provocou aumento nos limites de detecção, com exceção do potássio, que passou de 5,01 mg kg⁻¹ para 3,18 mg kg⁻¹. Já, o uso da vaselina nos padrões em querosene não provocou tanta mudança nos limites de detecção que, no geral, foram melhores do que os limites obtidos em xilol. A exceção, nesse caso,

seria o Na, cujo limite para a curva feita em xilol sem vaselina foi de apenas 0,0529 mg kg⁻¹, sendo que para a querosene de aviação com vaselina foi de 1,65 mg kg⁻¹.

Tabela 11: Resultados de adição e recuperação de 1,06 mg kg⁻¹ de Na, K, Ca, Mg e P e 2,01 mg kg⁻¹ de S em amostra de biodiesel diluída 50% m v⁻¹ para curvas feitas em xilol e 1,03 mg kg⁻¹ de Na, K, Ca, Mg e P e 1,12 mg kg⁻¹ de S em querosene de aviação.

	Xilol		Querosene de aviação	
	Encontrado/ (mg kg ⁻¹)	Recuperação/ (%)	Encontrado/ (mg kg ⁻¹)	Recuperação/ (%)
Ca 184	< LD	81	< LD	75
Ca 184 ^v	< LD	105	< LD	85
K 766	< LD	62	< LD	73
K 766 ^v	< LD	67	0,149 ± 0,043	81
Mg 280	< LD	83	< LD	36
Mg 280 ^v	0,0285 ± 0,0084	98	< LD	77
Na 588	0,855 ± 0,764	103	0,678 ± 0,031	59
Na 588 ^v	< LD	111	0,697 ± 0,032	62
P 177	< LD	40	< LD	62
P 177 ^v	< LD	84	< LD	62
P 178	< LD	41	< LD	57
P 178 ^v	< LD	87	< LD	71
S 180	< LD	103	< LD	90

^v corresponde às curvas de calibração feitas em meio de xilol e querosene com 10% m v⁻¹ de vaselina líquida.

Os resultados de recuperação ficaram mais próximos de 100% para as adições de padrão realizadas com as curvas feitas em xilol com vaselina. Porém, os desvios dos resultados feitos com querosene de aviação foram menores do que os desvios das medidas feitas em xilol. Um exemplo claro dessa diferença aparece para linha de Na, para a curva feita sem adição de vaselina líquida. O valor encontrado para xilol, nesse caso, foi 0,855 ± 0,764 mg kg⁻¹. Nesse caso, o desvio é inclusive praticamente da mesma magnitude que a medida, mostrando grande oscilação de sinal. Já, no caso da querosene, o resultado obtido foi de 0,678 ± 0,031 mg kg⁻¹.

Outra característica que esse experimento permitiu avaliar foi o uso de vaselina líquida na curva de calibração, que apresentou uma melhora nos resultados

de recuperação. A adição de vaselina aos padrões parece ser, portanto, uma forma de diminuir o efeito das interferências físicas, apesar de seu uso com xilol ter provocado um aumento dos limites de detecção.

4.1.3. Uso de padrão interno para correção de efeitos de matriz

Independentemente do solvente utilizado, os resultados de recuperação apresentados na Tabela 9 e Tabela 11 indicam a existência de interferências não espectrais. Determinar a origem desse tipo de interferência não costuma ser uma tarefa fácil. Elas podem ocorrer durante a formação do aerossol, durante seu transporte e seleção do tamanho das gotículas na câmara de expansão, ou ainda durante o processo de atomização, excitação e ionização (IGLÉSIAS *et al.*, 2004).

As alterações na energia do plasma foram avaliadas pela razão $MgII/MgI$ e o método apresentou razão maior do que 10 (MERMET; POUSSSEL, 1995). Deste modo, o motivo para as interferências não espectrais devem ser as variações no transporte da amostra, não no consumo da energia do plasma. Esse tipo de interferência é chamado de física ou efeito de matriz (NÖLTE, 2003e), pois é causada pelas diferenças entre as propriedades físicas da amostra e dos padrões (como viscosidade, tensão superficial e pressão de vapor). Este tipo de interferência pode ser corrigido através das seguintes estratégias (NÖLTE, 2003e):

- Compatibilização de matriz
- Método da adição de padrão
- Uso de padrão interno.

A compatibilização de matriz é a forma mais amplamente empregada para corrigir interferências físicas e pode ser realizada de duas formas. A amostra pode

ser compatibilizada aos padrões ou os padrões podem ser compatibilizados à amostra (NÖLTE, 2003e).

O primeiro caso costuma ocorrer através da diluição da amostra (NÖLTE, 2003e), pois o aumento da proporção do solvente na amostra faz com que a amostra adquira características mais parecidas com a matriz do padrão. Observando os resultados apresentados na Figura 6 é possível perceber como a viscosidade da amostra é menor para maiores diluições. Dessa forma, as diferenças de viscosidade entre padrão e amostra podem ser minimizadas através da diluição. No entanto, apesar dos limites permitidos pela ANP (PORTARIA ANP, 2008) serem relativamente altos (5 mg kg^{-1} para Na + K e Ca + K; 10 mg kg^{-1} para P e 50 mg kg^{-1} para S), os resultados observados na Tabela 11 mostram que as concentrações desses analitos encontradas nas amostras podem ser muito baixas. Deste modo, o uso de uma diluição maior que 50% dificultaria sobremaneira a detecção e consequente quantificação desses elementos em biodiesel.

Outra forma de compatibilizar a matriz é igualar a matriz do padrão à matriz da amostra (NÖLTE, 2003e). Dependendo da amostra, esse método pode ser mais complexo e não é sempre viável. No caso do biodiesel, o uso da vaselina líquida é uma forma de compatibilização de matriz. Conforme observado para os resultados de adição e recuperação de padrão da Tabela 11 houve uma melhora nas recuperações de padrão para as curvas contendo $10\% \text{ m v}^{-1}$ de vaselina líquida. No entanto, essa estratégia não eliminou totalmente os efeitos de matriz, pois ainda houve resultados de recuperação fora da faixa de $(100 \pm 20)\%$, como 73% para Mg na curva realizada em meio de querosene.

Outra forma de corrigir os efeitos de matriz muito menos popular é o método da adição de padrão (NÖLTE, 2003e). Nesse método, a amostra recebe adições de

padrão em diferentes concentrações. Com os valores obtidos para a amostra sem padrão e para cada concentração de padrão, monta-se um gráfico de intensidade de sinal vs. concentração de padrão. Esse método foi adotado nesse trabalho para verificar a ocorrência de efeito de matriz, pois quando a regressão gerada por esse método não é paralela à curva de calibração padrão, ele indica a presença de interferências não espectrais. A partir da equação da reta, é possível calcular a concentração de analito na amostra.

Esse método é bastante eficiente para resolver efeitos de matriz, porém é muito trabalhoso e demorado, pois esse procedimento deve ser realizado com cada amostra. Deste modo, o método da adição de padrão é de difícil aplicação em laboratórios de rotina (NÖLTE, 2003e).

Outra forma de corrigir interferências físicas em ICP OES é o uso do padrão interno. Para esse caso, um elemento é adicionado na mesma concentração em todos os padrões e amostras. A mudança do sinal desse elemento serve para corrigir os sinais dos analitos. Esse processo funciona da seguinte forma. Como foi dito anteriormente, a curva de calibração realizada com o uso do padrão interno, ao invés de ser um gráfico de Intensidade do analito vs. Concentração do analito, passa a ser $(\text{Intensidade do analito}/\text{Intensidade do padrão interno})$ vs. Concentração do analito. Deste modo, quando a amostra é analisada, o que será medido também é a razão entre analito e padrão interno. Se o sinal do padrão interno aumentar de intensidade isso indica que mais amostra atingiu o plasma. Como o sinal do analito se encontra no divisor, esse aumento de sinal tornará a razão menor. Da mesma forma, se o sinal do padrão interno diminuir, o valor da razão aumentará, de modo a corrigir as oscilações no transporte da amostra até o plasma.

No entanto, o uso dessa ferramenta requer alguns cuidados. A escolha do padrão interno deve ser muito criteriosa, pois uma escolha errada poderá inserir erros sistemáticos ao método ao invés de corrigir interferências físicas. Primeiramente, o padrão interno não pode fazer parte da composição das amostras, nem dos padrões. Ele deve ser solúvel nas amostras e nas soluções de calibração, além de apresentar alta pureza. Do contrário, o padrão interno poderá causar contaminação das soluções. Não pode haver interferências espectrais nas linhas do padrão interno, assim como o padrão interno não pode causar interferências espectrais nas linhas do analito. Outra importante regra é que o padrão interno possua um comportamento similar ao do analito no plasma (NÖLTE, 2003e).

Porém o uso de um padrão interno em meio orgânico iria requerer a compra de mais um caro padrão importado. Considerando que as matrizes das amostras e dos solventes possuem o carbono como elemento majoritário em comum e que esse elemento possui diversas linhas de emissão bastante intensas, decidiu-se testar o uso do carbono como padrão interno. Apesar dessa escolha ir contra os princípios de que um padrão interno não pode estar presente no padrão, nem na amostra, considerou-se que se pudessemos aproximar a concentração de carbono da matriz dos padrões e das amostras, o carbono teria o mesmo efeito que um outro elemento que fosse adicionado em concentração definida nos padrões e amostras. Para estudar essa proposta, foram escolhidas quatro linhas de carbono.

O gráfico apresentado na Figura 7 mostra as intensidades de sinal para as linhas de carbono escolhidas para as soluções analíticas de calibração com adição de vaselina (branco e padrão de $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$) e de amostras de biodiesel sem diluição. Os resultados indicam que os valores das intensidades dos sinais são da mesma magnitude entre as soluções analíticas e entre as amostras (a diferença

entre esses dois grupos sendo atribuída às interferências físicas), o que indica que o uso das linhas de carbono como padrão interno pode ser aplicado para correção dos efeitos de matriz.

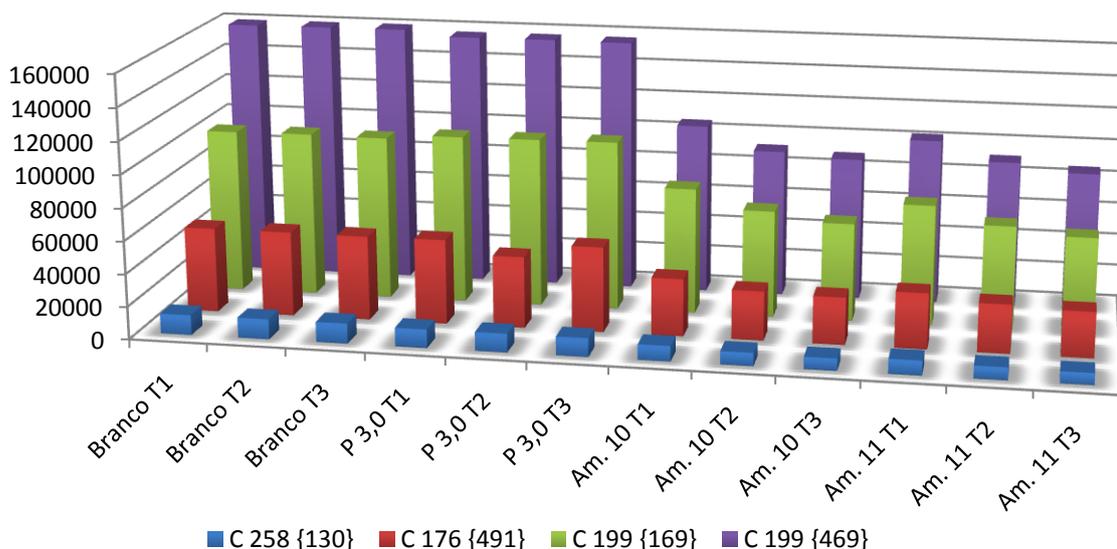


Figura 7: Gráfico das intensidades de diferentes linhas de carbono de cada triplicata do branco, do padrão de 3,0 mg kg⁻¹ e de duas amostras de biodiesel.

Para usar o carbono como padrão interno, a intensidade de cada linha de cada analito foi dividida pela intensidade de cada linha de carbono. As figuras de mérito para as curvas de calibração obtidas podem ser observadas na Tabela 12 e os resultados de adição e recuperação na amostra 5 estão apresentados na Tabela 13 e Tabela 14.

Tabela 12: Avaliação do efeito do padrão interno nas figuras de mérito para as curvas de calibração realizadas em meio de querosene de aviação com e sem vaselina, na faixa de 0 a 4,0 mg kg⁻¹.

	Querosene de aviação		Querosene de aviação com vaselina	
	LD/(mg kg ⁻¹)	R ²	LD/(mg kg ⁻¹)	R ²
Ca 184	0,0360	1,00	0,0236	1,00
Ca/ C176	0,0374	1,00	0,0267	1,00
Ca/ C199 {169}	0,0367	1,00	0,0261	1,00
Ca/ C199 {469}	0,0362	1,00	0,0278	1,00
Ca/ C258	0,0362	1,00	0,0282	1,00
K 766	0,465	1,00	0,654	1,00
K/ C176	0,503	1,00	0,618	1,00
K/ C199 {169}	0,468	1,00	0,467	1,00
K/ C199 {469}	0,486	1,00	0,767	1,00
K/ C258	0,475	1,00	0,466	1,00
Mg 280	0,0362	1,00	0,0432	1,00
Mg/ C176	0,0387	1,00	0,0254	1,00
Mg/ C199 {169}	0,0395	1,00	0,0407	1,00
Mg/ C199 {469}	0,0366	1,00	0,0261	1,00
Mg/ C258	0,0388	1,00	0,0503	1,00
Na 588	1,98	1,00	1,65	1,00
Na/ C176	3,27	1,00	0,925	1,00
Na/ C199 {169}	3,09	1,00	0,555	1,00
Na/ C199 {469}	2,98	1,00	1,54	1,00
Na/ C258	5,69	1,00	0,769	1,00
P 177	0,189	0,994	0,389	1,00
P/ C176	0,192	0,994	10,8	1,00
P/ C199 {169}	0,194	0,994	1,40	1,00
P/ C199 {469}	0,193	0,994	0,513	1,00
P/ C258	0,202	0,995	0,774	1,00
P 178	0,186	0,993	0,380	1,00
P/ C176	0,188	0,993	1,72	1,00
P/ C199 {169}	0,190	0,993	3,00	1,00
P/ C199 {469}	0,188	0,994	0,542	1,00
P/ C258	0,197	0,994	0,944	1,00
S 180	0,0342	1,00		
S/ C176	0,215	1,00		
S/ C199 {169}	0,0258	1,00		
S/ C199 {469}	0,0264	1,00		
S/ C258	0,0242	1,00		

Tabela 13: Avaliação do efeito do uso do padrão interno nos resultados para o teste de adição e recuperação de padrão em amostra de biodiesel, para curvas de calibração realizadas em querosene de aviação, sem adição de vaselina.

	Biodiesel diluído		Biodiesel puro	
	Concentração/ (mg kg ⁻¹)	Recuperação	Concentração/ (mg kg ⁻¹)	Recuperação
Ca 184	< LD	75%	< LD	38%
Ca/ C176	< LD	78%	< LD	75%
Ca/ C199 {169}	< LD	80%	< LD	69%
Ca/ C199 {469}	< LD	81%	< LD	77%
Ca/ C258	< LD	82%	< LD	71%
K 766	< LD	73%	< LD	63%
K/ C176	< LD	80%	< LD	115%
K/ C199 {169}	< LD	82%	< LD	112%
K/ C199 {469}	< LD	82%	< LD	114%
K/ C258	< LD	80%	< LD	109%
Mg 280	< LD	36%	< LD	18%
Mg/ C176	< LD	42%	< LD	47%
Mg/ C199 {169}	< LD	44%	< LD	47%
Mg/ C199 {469}	< LD	45%	< LD	48%
Mg/ C258	< LD	44%	< LD	51%
P 177	< LD	62%	< LD	32%
P/ C176	< LD	73%	< LD	97%
P/ C199 {169}	< LD	77%	< LD	97%
P/ C199 {469}	< LD	78%	< LD	96%
P/ C258	< LD	77%	< LD	95%
P 178	< LD	57%	< LD	22%
P/ C176	< LD	67%	< LD	75%
P/ C199 {169}	< LD	71%	< LD	75%
P/ C199 {469}	< LD	72%	< LD	75%
P/ C258	< LD	70%	< LD	74%
S 180	< LD	84%	< LD	50%
S/ C176	< LD	91%	< LD	127%
S/ C199 {169}	< LD	96%	< LD	132%
S/ C199 {469}	< LD	96%	< LD	124%
S/ C258	< LD	97%	< LD	131%

Tabela 14: Avaliação do efeito do uso do padrão interno nos resultados para o teste de adição e recuperação de padrão em amostra de biodiesel, para curvas de calibração realizadas em querosene de aviação, com vaselina 10% m v⁻¹.

	Biodiesel diluído		Biodiesel puro	
	Concentração	Recuperação	Concentração	Recuperação
Ca 184	< LD	85%	< LD	45%
Ca/ C176	< LD	95%	< LD	91%
Ca/ C199 {169}	< LD	94%	< LD	82%
Ca/ C199 {469}	< LD	96%	< LD	90%
Ca/ C258	< LD	93%	< LD	81%
K 766	< LD	81%	< LD	68%
K/ C176	< LD	92%	< LD	134%
K/ C199 {169}	< LD	93%	< LD	127%
K/ C199 {469}	< LD	93%	< LD	129%
K/ C258	< LD	53%	< LD	87%
Mg 280	< LD	77%	< LD	43%
Mg/ C176	< LD	94%	< LD	104%
Mg/ C199 {169}	< LD	94%	< LD	100%
Mg/ C199 {469}	< LD	95%	< LD	100%
Mg/ C258	< LD	93%	< LD	99%
P 177	< LD	62%	< LD	32%
P/ C176	< LD	73%	< LD	97%
P/ C199 {169}	< LD	77%	< LD	97%
P/ C199 {469}	< LD	78%	< LD	96%
P/ C258	< LD	77%	< LD	95%
P 178	< LD	71%	< LD	36%
P/ C176	< LD	86%	< LD	101%
P/ C199 {169}	< LD	87%	< LD	97%
P/ C199 {469}	< LD	88%	< LD	97%
P/ C258	< LD	92%	< LD	95%

É possível observar, na Tabela 12, que o uso do carbono como padrão interno provocou mudanças nos valores dos limites de detecção. A combinação do uso de vaselina com o padrão interno, em alguns casos, provocou melhoras consideráveis nos valores dos limites, como o Na, cujo limite sem padrão interno era de 1,65 mg kg⁻¹ e, com o uso da linha de C 199 {169} passou a ser de 0,555 mg kg⁻¹. Essa mudança está relacionada ao efeito do padrão interno no desvio padrão do branco. O uso do padrão interno é capaz de corrigir as variações provenientes da introdução da amostra orgânica, fazendo com que haja melhoras nos limites de detecção. No entanto, houve alguns casos em que o uso de determinadas linhas de emissão de carbono como padrão interno provocou um aumento dos limites de

detecção, como ocorreu com o P 177 nm, cujo limite aumentou em duas ordens de grandeza com a linha de carbono 176 nm. Isso sugere que os processos que ocorrem no plasma para emissão dessas linhas são muito distintos, sendo necessário utilizar outra de carbono como padrão interno.

Na Tabela 13 e Tabela 14, houve uma significativa melhora nos resultados de recuperação obtidos com o uso do carbono como padrão interno. Um bom exemplo foi o fósforo, cujo resultado de recuperação para a linha de emissão de 177 nm passou de 32% para 97% através da utilização das linhas de carbono 176 e 199 nm.

Altos valores de recuperação para o Na foram obtidos e considerados consequência de uma provável contaminação dos frascos utilizados para o preparo da adição. Tendo sido esses valores incoerentes com o observado até então para Na, essas recuperações não foram levadas em consideração para a avaliação do uso da querosene, vaselina e do padrão interno.

Pelos valores de recuperação para amostra pura, pode-se dizer que a análise de biodiesel poderia ser realizada sem preparo de amostra algum. O menor valor de recuperação obtido nesse caso foi para o K, que, utilizando a linha de emissão de carbono 258 nm como padrão interno, o resultado foi de 87%, que é considerada uma recuperação aceitável. Outro ponto interessante é que esses testes foram realizados utilizando querosene como solvente. Os valores de recuperação muito próximos a 100% obtidos nesse experimento, aliados aos menores riscos por inalação desse solvente em comparação ao xilol (Health Protection Agency, Xylene, 2010; CHILCOT, 2006), fazem da querosene um solvente indicado para a análise de biodiesel na forma de solução orgânica.

Observando-se esses dados, as melhores linhas de emissão de C para serem utilizadas como padrão interno estão indicadas na Tabela 15.

Tabela 15: Linha de padrão interno escolhida para cada analito.

Analito	Energia de excitação (eV) ^a	Energia de Ionização (eV) ^b	Padrão interno	Energia de excitação (eV) ^a	Energia de Ionização (eV) ^b
Ca 184	6,74	6,11	C 199 {469}	6,23	
K 766	1,62	4,34	C 258 {130}	4,80	
Mg 280	4,42	7,65	C 199 {469}	6,23	
Na 588	2,10	5,14	C 199 {169}	6,23	11,3
P 178	6,95	10,5	C 199 {469}	6,23	
S 180	6,86	10,4	C 176 {491}	7,01	

a - (RALCHENKO *et al.*, 2011); b - (LIAS)

Pela tabela 15, é possível observar também as energias de excitação e ionização dos analitos em comparação com as energias do padrão interno. Com esses dados, observa-se que, em termos energéticos, o carbono possui um comportamento no plasma diferente ao dos analitos Ca, K, Mg e Na. Em relação ao Ca, a energia de excitação do C é bastante similar, porém, a linha do C é iônica, necessitando de mais 6,11 eV para que a emissão ocorra. Em relação ao Na e K, as linhas de C escolhidas possuem uma energia de excitação maior. Além disso, esses dois analitos são facilmente ionizáveis, ao contrário do carbono, que possui uma elevada energia de ionização. O Mg possui uma energia de excitação inferior à do C (4,42 eV em relação a 6,23 eV), porém necessita de mais 7,65 eV para ser ionizado, fazendo com que no todo, o C necessite de menos energia para a emissão. Já, o P e S possuem energias de excitação próximas às energias do carbono e ambos são emissões atômicas, assim como o padrão interno, sendo esses, portanto, os únicos analitos com comportamento energético similar ao padrão interno. Esses resultados indicam que o carbono, quando utilizado como padrão interno para análise de biodiesel, corrige apenas as interferências físicas, ou seja, aquelas originadas do transporte da amostra. Esses resultados sugerem, ainda, que na condição em que o plasma está otimizado para essa análise, não há interferência de excitação significativa, já que os resultados de recuperação foram considerados excelentes

com o uso do padrão interno. Talvez esse fenômeno possa ser explicado pela robustez do plasma que garante energia suficiente para a ocorrência de todos os processos que precisam ocorrer para a excitação.

Deste modo, o uso da vaselina e do carbono como padrão interno são estratégias eficientes para corrigir as interferências físicas observadas na análise direta de biodiesel por ICP OES.

4.1.4. Análise direta de amostras de biodiesel por ICP OES

Ao final do desenvolvimento do método, 7 amostras de biodiesel foram analisadas com o uso do padrão interno, puras (100%) e diluídas 50% m v⁻¹. Os resultados podem ser observados na Tabela 16.

Tabela 16: Resultados da análise de 7 amostras de biodiesel diluídas 50% m v⁻¹ em querosene de aviação e puras (100% m v⁻¹), com o uso de carbono como padrão interno.

	[Ca]/ (mg kg ⁻¹)	[K]/ (mg kg ⁻¹)	[Mg]/ (mg kg ⁻¹)	[Na]/ (mg kg ⁻¹)	[P]/ (mg kg ⁻¹)	[S]/ (mg kg ⁻¹)
Am6 50%	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Am6 100%	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Am7 50%	< LD	< LD	0,634 ± 0,047	0,705 ± 0,052	< LD	4,52 ± 0,05
Am7 100%	< LD	< LD	0,361 ± 0,147	< LD	< LD	3,12 ± 0,03
Am8 50%	0,154 ± 0,001	< LD	0,522 ± 0,114	10,7 ± 0,2	< LD	5,55 ± 0,05
Am8 100%	< LD	< LD	0,390 ± 0,079	12,5 ± 0,5	< LD	4,31 ± 0,08
Am9 50%	< LD	< LD	< LD	0,850 ± 0,065	< LD	4,04 ± 0,04
Am9 100%	< LD	< LD	< LD	1,13 ± 0,03	< LD	3,07 ± 0,04
Am10 50%	< LD	< LD	< LD	0,865 ± 0,100	< LD	< LD
Am10 100%	< LD	< LD	< LD	1,18 ± 0,06	< LD	< LD
Am11 50%	< LD	< LD	< LD	0,632 ± 0,045	< LD	2,12 ± 0,03
Am11 100%	< LD	< LD	0,0636 ± 0,0205	0,740 ± 0,034	< LD	1,51 ± 0,03
Am12 50%	< LD	< LD	0,194 ± 0,067	1,26 ± 0,12	< LD	3,24 ± 0,04
Am12 100%	< LD	< LD	< LD	1,33 ± 0,03	< LD	2,26 ± 0,05

Observa-se que, com o uso do padrão interno, os resultados para a amostra diluída e pura estão na mesma ordem de grandeza, sendo, portanto, mais concordantes entre si. Sem o uso de um material certificado, não é possível

determinar dentre os resultados qual é o mais exato, porém, esses valores sugerem que é possível realizar análise de biodiesel diretamente por ICP OES, sem qualquer forma de preparo da amostra.

4.2. Introdução direta de biodiesel por emulsões

4.2.1. Otimização das condições instrumentais

Conforme procedimento apresentado na parte experimental, o equipamento foi, novamente, otimizado em função da razão $MgII/MgI$, de modo a aumentar a robustez do método. As otimizações foram realizadas adicionando-se $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Mg à emulsão contendo 500 mg da amostra $13, 1\% \text{ m v}^{-1}$ de Triton X-100 e água até 10 mL . O valor de ε foi calculado conforme descrito na seção 3.3.1. O valor obtido foi de 2,1. Portanto, todos os valores da razão $MgII/MgI$ foram multiplicados por esse valor.

O primeiro parâmetro otimizado foi a potência da fonte de RF. Para tanto, todos os outros parâmetros foram mantidos constantes: $0,62 \text{ L min}^{-1}$ de gás de nebulização, $0,40 \text{ mL min}^{-1}$ de velocidade da bomba peristáltica e $0,50 \text{ L min}^{-1}$ de vazão do gás auxiliar. Assim como realizado para o método da introdução direta de biodiesel, o objetivo foi variar a potência da fonte de 950 W a 1350 W , em passos de 100 W . Porém, abaixo de 1250 W o plasma se extinguiu. Deste modo, só foram testadas as potências de 1250 W e 1350 W , sendo que a maior potência apresentou maior razão $MgII/MgI$. No entanto, para minimizar o desgaste da tocha, optou-se por trabalhar com uma potência intermediária, de 1300 W . Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 8.

O fato do plasma ter se apagado a baixas potências sugere o alto consumo de energia provocado pela matriz da emulsão. Novamente, era esperado que a maior potência da fonte tornasse o plasma mais robusto por fornecer maior energia para a ocorrência de todos os processos dentro do plasma.

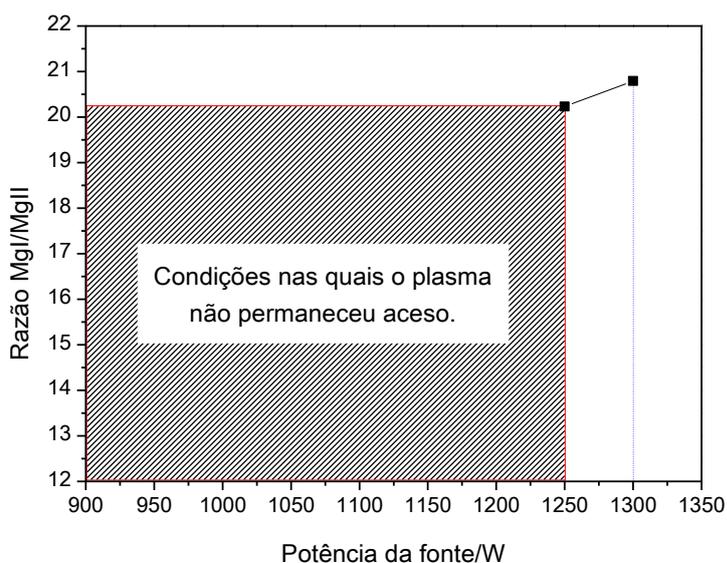


Figura 8: Otimização da potência da fonte de RF para introdução de emulsão de biodiesel.

O segundo parâmetro otimizado foi a vazão do gás de nebulização. Neste caso, a potência foi mantida em 1300 W, a taxa de aspiração da amostra em $0,40 \text{ L min}^{-1}$ e o gás auxiliar, em $0,50 \text{ L min}^{-1}$. A vazão do gás de nebulização foi variada de $0,28 \text{ L min}^{-1}$ a $0,74 \text{ L min}^{-1}$ e o valor que apresentou maior razão MgII/ MgI foi $0,62 \text{ L min}^{-1}$. Os resultados estão apresentados na Figura 9.

O terceiro parâmetro otimizado foi a taxa de aspiração de amostra. A taxa de aspiração foi variada de $0,40 \text{ mL min}^{-1}$ a $1,2 \text{ mL min}^{-1}$. Durante esse processo, a potência foi mantida em 1300 W, a vazão do gás de nebulização, em $0,62 \text{ L min}^{-1}$ e o gás auxiliar, em $0,50 \text{ L min}^{-1}$. A menor taxa de aspiração de amostra correspondeu à maior razão MgII/MgI. Isso indica que a menor quantidade de amostra no plasma permite que haja uma maior quantidade de energia disponível para a ocorrência dos

processos que levam a atomização, ionização e excitação dos analitos. Os resultados podem ser observados na Figura 10.

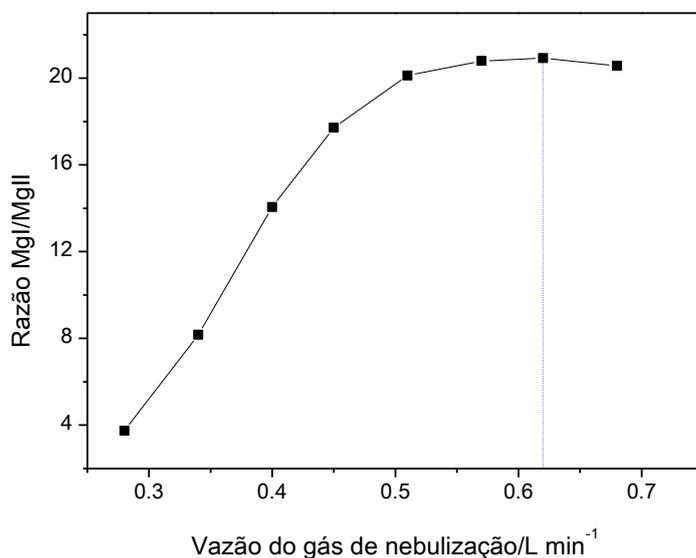


Figura 9: Otimização da vazão do gás de nebulização para introdução de emulsão de biodiesel.

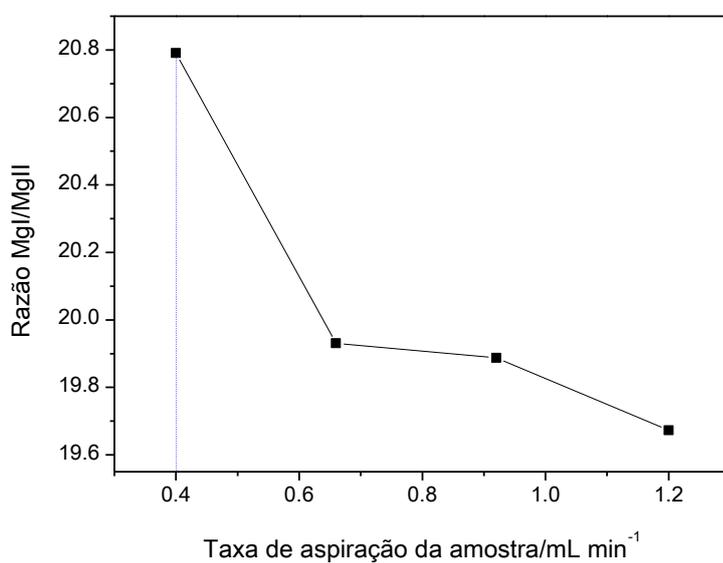


Figura 10: Otimização da velocidade da bomba peristáltica para introdução de emulsão de biodiesel.

O último parâmetro instrumental otimizado foi a vazão do gás auxiliar. Para esse parâmetro, a potência do plasma foi mantida em 1300 W, a vazão do gás de

nebulização, em $0,62 \text{ L min}^{-1}$ e a taxa de aspiração de amostra, em $0,40 \text{ L min}^{-1}$. A vazão desse gás foi variada de $0,50 \text{ L min}^{-1}$ a $1,5 \text{ L min}^{-1}$. A condição que tornou o plasma mais robusto foi de $0,50 \text{ L min}^{-1}$, como pode ser observado na Figura 11.

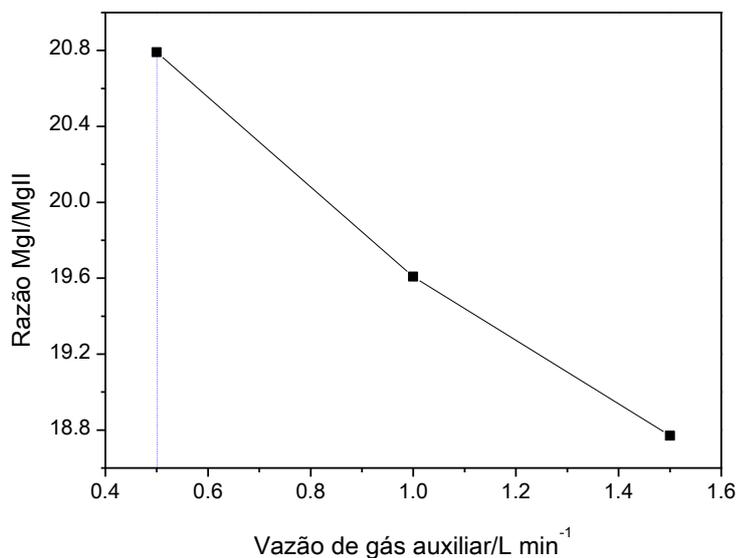


Figura 11: Otimização da vazão do gás auxiliar para introdução de emulsão de biodiesel.

As condições escolhidas foram, portanto, 1300 W, sendo que abaixo de 1250 W o plasma ficava instável, $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ de velocidade da bomba peristáltica, $0,40 \text{ L min}^{-1}$ de fluxo do gás de nebulização e $0,5 \text{ L min}^{-1}$ de vazão do gás auxiliar.

4.2.2. Otimização das condições experimentais

Nessa etapa do trabalho, as condições de preparo das emulsões, como concentração de reagentes e o uso do ultrassom, foram otimizadas.

O primeiro parâmetro avaliado foi a concentração de agente emulsificante, o Triton X-100. Para tanto, conforme descrito no procedimento, foram preparadas emulsões com 500 mg da amostra 13 e concentrações de Triton X-100 variando entre 1 a 10% m v^{-1} . O objetivo desse estudo foi verificar qual a menor concentração de Triton capaz de gerar uma emulsão estável por tempo suficiente para a análise

por ICP OES. Nesse caso, a estabilidade foi avaliada em função do tempo gasto para ocorrência de separação de fases. Para tanto, após a agitação das emulsões, foram realizadas observações de minuto em minuto até o tempo de 12 min.

Como pode ser observado a partir das fotos da Figura 12, a emulsão com 1% de Triton X-100 ficou estável até 4 min, sendo que após esse tempo houve separação de fases. O mesmo ocorreu para as emulsões com 8 e 10% de Triton X-100. Porém, para as emulsões de 2 a 6% de Triton X-100, houve separação de fases após 2 min da agitação. Considerando-se que a análise por ICP dura menos do que 3 min (contando com as triplicatas), a emulsão com 1% m v^{-1} de Triton X-100 apresentou estabilidade por tempo suficiente e com a menor concentração de agente emulsificante testada. Portanto, uma rápida agitação manual antes da análise permite o uso dessa condição.

Em seguida, realizou-se um teste com as mesmas soluções acima para avaliar o efeito do ultrassom na estabilidade das emulsões. Para tanto, todas foram agitadas e colocadas no banho de ultrassom. Após 20 min, todas as emulsões se tornaram mais leitosas e mais estáveis, levando 9 min para ocorrer separação de fases para a emulsão contendo 1% m v^{-1} de Triton X-100. Após 80 min no ultrassom, a emulsão com maior concentração de Triton X-100 (10% m v^{-1}) ficou transparente e estável, apresentando, assim, características de microemulsão. Com mais 20 min no ultrassom, a emulsão de 8% de Triton X-100 também se tornou transparente e estável.



Figura 12: Fotografias das emulsões ao longo de 12 min. Os números sobre os frascos indicam a concentração de Triton X-100 em % m v⁻¹. a) momento inicial; b) após 2 min; c) após 4 min; d) após 9 min; e) após 12 min.

Esses resultados mostram que, para gerar uma microemulsão nessas condições, seria necessário um gasto de 80 a 100 min a mais nessa etapa do trabalho para preparar no máximo 6 amostras por vez (capacidade do ultrassom utilizado). No entanto, o gasto de 20 min no ultrassom aumentou consideravelmente a estabilidade da emulsão contendo 1% de Triton X-100, e, portanto, esse procedimento foi adotado para o preparo das emulsões.

O teste seguinte foi realizado para avaliar a possibilidade de se aumentar a massa de amostra nas emulsões sem comprometimento da estabilidade das mesmas. Nesse teste, utilizou-se duas concentrações distintas de agente emulsificante, 1 e 10% m v⁻¹. Para as duas concentrações, as emulsões não ficaram homogêneas após a agitação manual. Avaliou-se, então, o efeito do ultrassom nessas emulsões. Porém, com a maior massa de biodiesel, as emulsões só passaram a ficar homogêneas após 40 min de banho. Ainda assim, após esse tempo no ultrassom a separação de fases ocorreu em 4 min, o que tornaria a análise por ICP inviável. Optou-se, portanto, por continuar a trabalhar com massa de 500 mg.

Para o teste realizado com hexano como agente co-surfactante, mesmo após o uso do ultrassom, as únicas emulsões que ficaram transparentes foram aquelas contendo 8 e 10% m v⁻¹ de Triton X-100 após 100 e 80 min de banho, respectivamente. Ou seja, o uso de hexano não elevou a estabilidade das emulsões, nem acelerou a formação da microemulsão. Por esses motivos, considerou-se o seu uso desnecessário.

Testou-se, também, a adição de ácido às emulsões para ajudar na extração dos analitos para fase aquosa. Para tanto, adicionou-se 10% v v⁻¹ de HNO₃ à emulsões de duas amostras de biodiesel (14 e 15). Essas amostras foram, então analisadas por ICP OES para verificar a alteração no sinal gerado para cada analito, como pode ser observado pela

Figura 13. Os resultados apresentados nesta figura representam a normalização ($I_{\text{sem ácido}}/I_{\text{com ácido}} \times 100$) para melhor visualização.

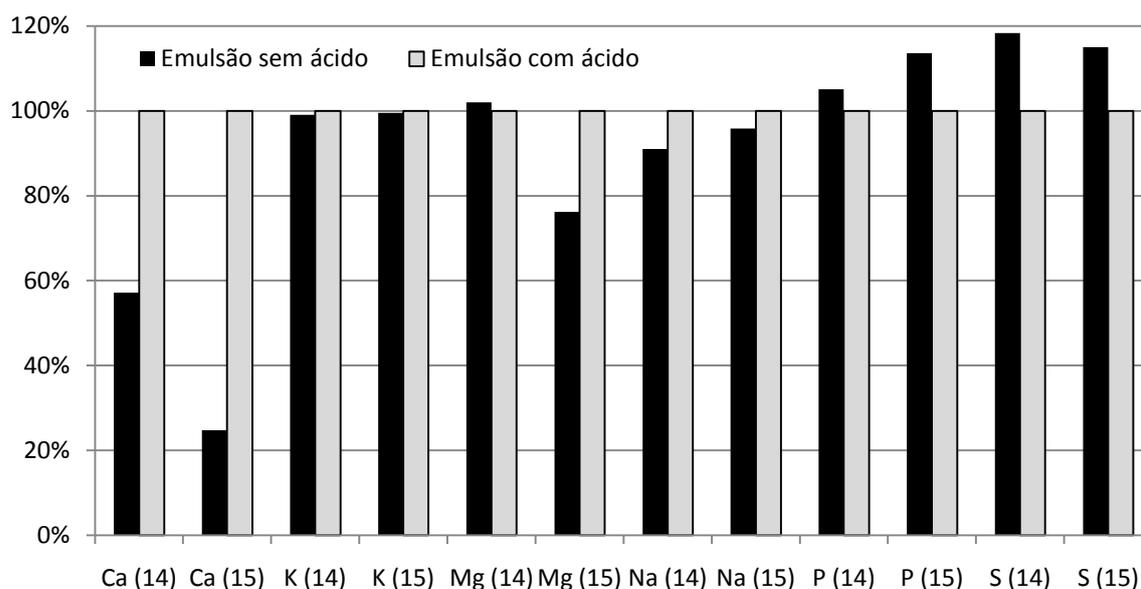


Figura 13: Razões de intensidades de sinal obtidas para testes da adição de ácido nítrico 10% v v⁻¹ nas emulsões das amostras de biodiesel 14 e 15, indicadas entre parênteses.

Analisando-se esses resultados, percebe-se que, para as emulsões com ácido, houve um aumento significativo no sinal de Ca, tanto na amostra 14, quanto na amostra 15, sendo que na amostra 15 o aumento foi de aproximadamente 5x. Para o K, não houve quase variação para as duas amostras. Já, para o Mg, a adição de ácido provocou uma pequena queda de sinal para a amostra 14, e um considerável aumento para a amostra 15. Para o Na, o ácido provocou um pequeno aumento de sinal para as duas amostras. No entanto, para o P e S, o ácido nítrico causou uma queda de sinal nas duas amostras, em torno de 15%. Porém, dado o grande aumento de sinal observado para o Ca e o considerável aumento para o Mg na amostra 15, optou-se por utilizar ácido nítrico no preparo das emulsões.

Deste modo, baseando-se nas observações descritas acima, as condições de preparo de emulsão consideradas mais adequadas para o objetivo desse trabalho foram: uso de 1% de Triton X-100, 500 mg de amostra, 10% v v⁻¹ de HNO₃ e 20 min de banho de ultrassom.

4.2.3. Curva de calibração e cálculo do limite de detecção

Para o preparo dos padrões da curva de calibração, foi levada em conta a importância da compatibilização da matriz entre padrões e amostras. No caso particular das emulsões, adicionando-se apenas os reagentes em padrões aquosos, não é possível observar a formação de emulsão, pois não há nenhuma substância orgânica presente. Para tentar minimizar qualquer possível efeito de matriz nos resultados, tentou-se preparar os padrões com 500 mg vaselina 10% m m⁻¹ em querosene e padrões 500 mg de vaselina pura. Porém, a vaselina diluída em querosene não formou emulsão com o Triton X-100, mesmo após agitação vigorosa, tendo sido utilizada para esse teste, apenas, a vaselina líquida.

Para fazer essa avaliação, duas curvas de calibração foram preparadas. A primeira, sem vaselina e a segunda, com 500 mg de vaselina. Para verificar se a adição de vaselina causa algum efeito no processo de introdução de solução no plasma, foram calculadas as razões entre os coeficientes angulares das duas curvas de calibração, como pode ser observado pela Tabela 17:

Tabela 17: Razão entre os coeficientes angulares das curvas de calibração com vaselina líquida e sem vaselina líquida.

		Ca (II) (393 nm)	K (I) (769 nm)	Mg (II) (279 nm)	Na (I) (589 nm)	P (I) (185 nm)	S (I) (180 nm)
Razão		1,02	0,985	1,04	0,872	1,10	1,05
Sem vaselina	LOD/(mg L ⁻¹)	0,0357	0,106	0,0520	1,25	0,197	0,165
	R ²	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Com vaselina	LOD/(mg L ⁻¹)	0,239	0,360	0,0389	3,81	7,32	0,140
	R ²	1,00	1,00	1,00	0,941	0,966	1,00

As razões, de maneira geral, ficaram muito próximas a 1,0, com exceção do Na e do P, cujas razões foram 0,872 e 1,10, aproximadamente. No entanto, esses resultados estão muito próximos à razão 1,0, sugerindo que a adição de vaselina não provoca grandes diferenças nas propriedades dos padrões. Observa-se,

também, que a linearidade do Na e do P na presença de vaselina não foi muito boa, sendo talvez, essa a causa para a diferença observada para suas razões. Porém, um parâmetro que chama a atenção é a diferença entre os limites de detecção na presença e na ausência da vaselina. Para o Ca e P, a diferença chega a ser uma ordem de grandeza maior, enquanto que para o Na e K o valor foi praticamente triplicado, tornando inviável o uso da vaselina nos padrões para análise de biodiesel.

Para fazer uma avaliação do efeito da adição de vaselina aos padrões para quantificação das amostras, foram analisadas duas amostras (14 e 15), nas duas curvas analíticas. Como pode ser observado na Tabela 18, os resultados entre as duas curvas foram bastante similares, tendo ocorrido maior variação para o Na e P da amostra 14 e apenas para o P na amostra 15.

Tabela 18: Resultados dos testes de adição e recuperação de $0,500 \text{ mg kg}^{-1}$ de Ca, K, Mg, Na e P e, de $0,548 \text{ mg kg}^{-1}$ de S nas amostras 14 e 15, com os valores de recuperação, para as curvas de calibração sem e com vaselina líquida (indicada pelo sobrescrito "v").

Elemento	Amostra 14		Amostra 15	
	Concentração (mg kg^{-1})	Recuperação (%)	Concentração (mg kg^{-1})	Recuperação (%)
Ca (393 nm)	$0,919 \pm 0,020$	110	< LD	114
Ca (393 nm) ^v	< LD	108	< LD	111
K (769 nm)	< LD	105	< LD	105
K (769 nm) ^v	< LD	114	< LD	114
Mg (279 nm)	< LD	109	< LD	105
Mg (279 nm) ^v	< LD	105	< LD	101
Na (589 nm)	< LD	98	< LD	105
Na (589 nm) ^v	< LD	106	< LD	147
P (185 nm)	$7,29 \pm 0,40$	108	$4,96 \pm 0,07$	109
P (185 nm) ^v	< LD	85	< LD	83
S (180 nm)	< LD	99	$4,41 \pm 0,13$	93
S (180 nm) ^v	0,656	95	$4,33 \pm 0,12$	90

Apesar da grande concordância entre os resultados, os valores de recuperação obtidos para a curva sem vaselina foram melhores que os obtidos para curva com vaselina para Na, K, P e S, sendo que para Ca e Mg as diferenças nos valores de recuperação foram muito pequenas.

Diante dos resultados acima, considerou-se que o uso da vaselina nas curvas de calibração não apresentou melhorias para o método, além de ter aumentado o tempo gasto para o preparo dos padrões. Deste modo, decidiu-se não adicionar vaselina aos padrões. Os resultados das recuperações também mostram valores muito satisfatórios, sugerindo grande confiabilidade no método.

Uma observação importante, contudo, é que os brancos das duas curvas de calibração apresentaram valores de intensidade altos para os 6 elementos analisados. Acredita-se que essa contaminação seja proveniente do agente emulsificante e esses elevados valores podem provocar sérios problemas nas análises das amostras.

4.2.4. Análise de amostras

Foram analisadas 7 amostras de biodiesel (amostras 6 a 12), na forma de emulsão, através do preparo descrito acima, como pode ser observado na Tabela 19.

Observa-se que a amostra 3 apresentou valores muito elevados para Na e P. As baixas concentrações encontradas para o Mg podem ser decorrentes da elevada concentração deste elemento no branco, conforme comentado acima.

Tabela 19: Resultados (mg/kg) para a análise de amostras de biodiesel na forma de emulsão por ICP OES.

Am.	[Ca] (mg kg ⁻¹)	[K] (mg kg ⁻¹)	[Mg] (mg kg ⁻¹)	[Na] (mg kg ⁻¹)	[P] (mg kg ⁻¹)	[S] (mg kg ⁻¹)
6	2,82 ± 0,14	0,222 ± 0,069	< LD	5,10 ± 0,56	< LD	1,55 ± 0,28
7	0,266 ± 0,129	0,194 ± 0,065	< LD	1,34 ± 0,36	0,474 ± 0,044	4,94 ± 0,24
8	< LD	0,252 ± 0,065	< LD	11,7 ± 0,2	7,96 ± 0,45	5,48 ± 0,20
9	0,471 ± 0,155	0,688 ± 0,073	< LD	< LD	9,55 ± 0,43	6,69 ± 0,36
10	< LD	0,122 ± 0,074	< LD	2,76 ± 0,91	1,01 ± 0,96	0,396 ± 0,185
11	0,330 ± 0,187	0,111 ± 0,076	< LD	1,38 ± 0,94	4,74 ± 0,23	2,17 ± 0,18
12	0,286 ± 0,133	0,136 ± 0,076	< LD	1,76 ± 0,97	5,32 ± 0,46	3,45 ± 0,21

Outra importante observação são os elevados desvios padrão, principalmente para Ca e K, cujos valores ficaram muito próximos aos próprios valores da medida como o resultado da amostra 7 para Ca ($0,266 \pm 0,129$) e da amostra 11 para o K ($0,111 \pm 0,076$). Resultados similares também podem ser observados em algumas amostras para Na, P e S, o que sugere que uma das desvantagens desse método é a geração de resultados com baixa precisão.

4.3. Digestão

4.3.1. Otimização instrumental

Conforme foi discutido anteriormente, a otimização do método em função de sua robustez é muito importante para evitar interferências de plasma. Deste modo, o método da digestão foi otimizado da mesma maneira que os métodos anteriores. Portanto, após a adição de 1,0 mg/L de Mg à amostra 13 digerida por micro-ondas (conforme procedimento apresentado na parte experimental), a razão MgII/MgI foi monitorada. O valor de ε foi novamente calculado conforme descrito no procedimento. O valor obtido foi de 2,5. Portanto, todos os valores da razão MgII/MgI foram multiplicados por esse valor.

O primeiro parâmetro otimizado foi a vazão do gás de nebulização. Para tanto, todos os outros parâmetros foram mantidos constantes: 1250 W de potência, $0,66 \text{ mL min}^{-1}$ de taxa de aspiração da amostra e $1,5 \text{ L min}^{-1}$ de vazão do gás auxiliar. A vazão do gás de nebulização foi variada de 0,28 a $0,74 \text{ L min}^{-1}$. Os resultados estão apresentados na Figura 14.

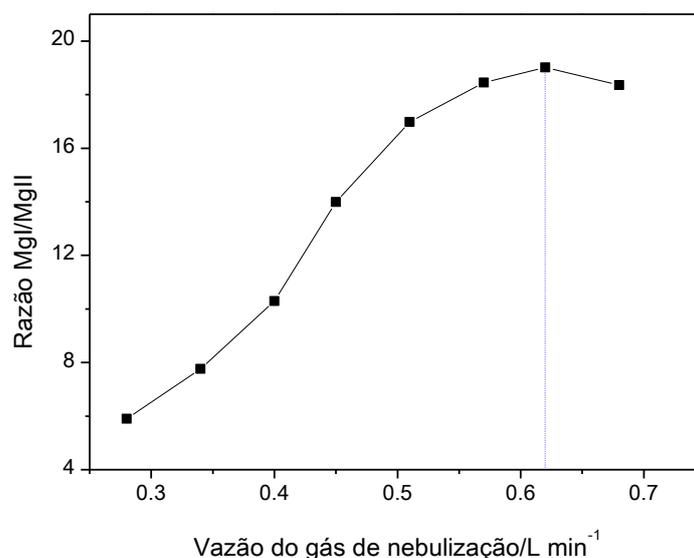


Figura 14: Otimização da vazão do gás de nebulização para introdução de biodiesel digerido.

Pode-se observar que a condição que apresentou maior razão MgII/MgI foi de 0,62 L min⁻¹ de vazão do gás de nebulização.

O próximo parâmetro otimizado foi a potência da fonte de RF. Para essa otimização, as condições do plasma ficaram fixas em 0,62 L min⁻¹ do gás de nebulização, 0,66 mL min⁻¹ de taxa de introdução de amostra e 1,5 L min⁻¹ de gás auxiliar. A potência foi variada de 1050 a 1300 W, em passos de 50 W. Os resultados estão apresentados na Figura 15.

O valor de potência que apresentou maior robustez foi 1300 W. Esse valor já era esperado, pois, conforme discussão anterior, a maior potência do plasma disponibiliza mais energia para a ocorrência da atomização, ionização e emissão.

O parâmetro que foi otimizado a seguir foi a vazão do gás auxiliar. Para tanto, sua vazão foi variada entre 0,5, 1,0 e 1,5 L min⁻¹, com os outros parâmetros fixos em: 1300 W de potência, 0,62 L min⁻¹ de gás de nebulização e 0,66 mL min⁻¹ de taxa de aspiração. Os resultados podem ser observados na Figura 16.

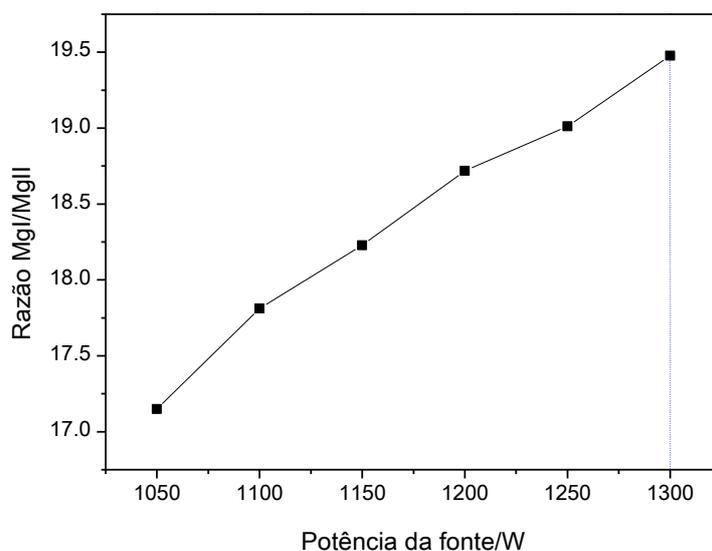


Figura 15: Otimização da potência da fonte de RF para introdução de biodiesel digerido.

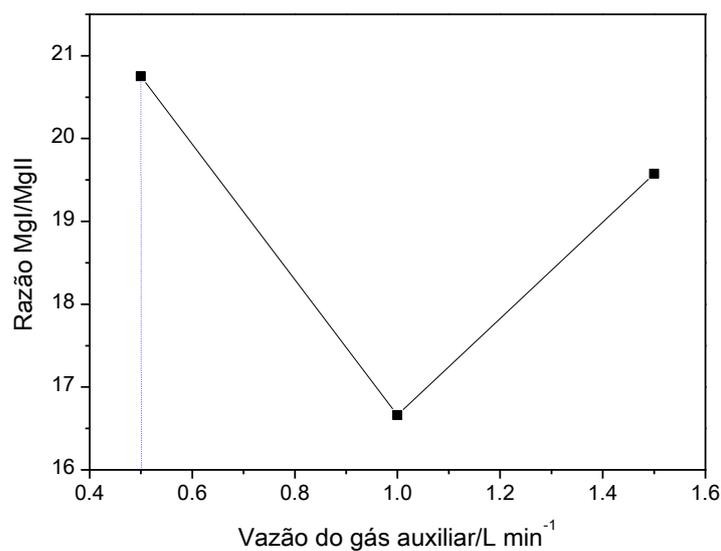


Figura 16: Otimização do fluxo do gás auxiliar para introdução de biodiesel digerido.

A condição que apresentou maior robustez foi a vazão de $0,5 \text{ L min}^{-1}$ de gás auxiliar. O parâmetro que foi otimizado a seguir foi a taxa de aspiração da amostra. Para tanto, mantiveram-se constantes a potência da fonte (1300 W), a vazão do gás de nebulização ($0,62 \text{ L min}^{-1}$) e o gás auxiliar ($0,5 \text{ L min}^{-1}$) e a taxa de aspiração da

amostra foi variada de 0,40 a 1,2 mL min⁻¹. Os resultados dessa etapa da otimização estão apresentados na Figura 17.

A taxa de aspiração de amostra que apresentou maior razão MgII/MgI foi a menor, equivalente a 0,40 mL min⁻¹. Vale observar que as condições robustas desse método levaram a um valor de razão MgII/MgI muito maior do que 10, sendo considerado extremamente robusto pela literatura (MERMET; POUSSSEL, 1995).

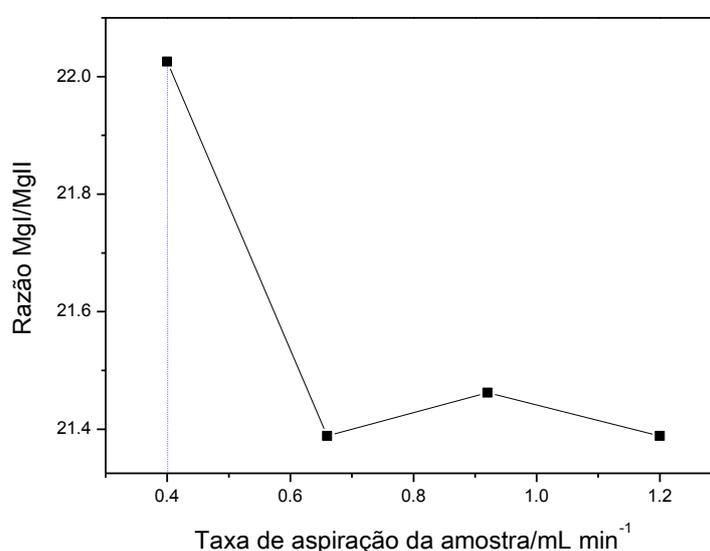


Figura 17: Otimização da taxa de aspiração de amostra para introdução de biodiesel digerido.

As condições adotadas foram, portanto 1300 W de potência, 0,62 L min⁻¹ de vazão do gás de nebulização, 0,5 L min⁻¹ de fluxo do gás auxiliar e 0,40 mL min⁻¹ de taxa de aspiração de amostra.

4.3.2. Curva de calibração e estudo de limite de detecção

Para a realização da curva de calibração, optou-se por trabalhar com o intervalo de 0 a 1,00 mg/L para Ca, Mg, Na, K, P e S. Os parâmetros dessas curvas de calibração e os limites de detecção estimados encontram-se na Tabela 20.

Tabela 20: Parâmetros das curvas de calibração realizadas em meio aquoso.

	LD/(mg/L)	Coef. de correlação linear (R^2)
Ca (184 nm)	0,0101	0,999
K (769 nm)	0,00801	1,00
Mg (279 nm)	0,000282	0,999
Na (588 nm)	0,000285	0,989
P (177 nm)	0,0198	1,00
S (180 nm)	0,0231	1,00

4.3.3. Análise de amostras

Foram realizadas adições de padrões nas amostras 16 e 17 digeridas em micro-ondas conforme procedimento descrito na parte experimental. Os resultados estão apresentados na Tabela 21.

É possível observar na Tabela 21 que houve boa concordância entre os resultados das duplicatas. Apenas para o Na, houve variação, o que pode ser atribuído a possível contaminação no preparo das amostras. As recuperações apresentaram resultados bastante satisfatórios.

Houve apenas 3 valores de recuperação que ficaram fora da faixa de 80 a 120%. Um para o Ca, da segunda duplicata da Amostra 16 (129%), outro para Mg na primeira duplicata da Amostra 17 (149%) e Na, para a mesma amostra (134%).

Considerando-se os excelentes valores de recuperação obtidos para as outras duplicatas, e a concordância entre os resultados de concentração obtidos, atribuíram-se esses casos a situações de possível contaminação no preparo das adições de padrões. Deste modo, pode-se indicar o método da digestão para o controle de qualidade desses elementos em biodiesel.

Tabela 21: Resultados da análise das amostras 16 e 17 digeridas em duplicadas, e das respectivas recuperações.

		Am. 16	Am. 16'	Am. 17	Am. 17'
Ca	Conc. (mg/kg)	< LD	< LD	< LD	< LD
	Adic. (mg/kg)	0,0750	0,0800	0,0550	0,0800
	Recup. (%)	101	129	117	116
Mg	Conc. (mg/kg)	< LD	< LD	< LD	< LD
	Adic. (mg/kg)	0,0750	0,0800	0,0550	0,0800
	Recup. (%)	116	117	149	120
Na	Conc (mg/kg)	0,260 ± 0,008	1,19 ± 0,04	2,56 ± 0,008	< LD
	Adic. (mg/kg)	0,0750	0,0800	0,0550	0,0800
	Recup. (%)	102	109	112	103
K	Conc. (mg/kg)	0,305 ± 0,006	0,303 ± 0,006	0,355 ± 0,007	0,399 ± 0,007
	Adic. (mg/kg)	0,0750	0,0800	0,0550	0,0800
	Recup. (%)	103	107	134	108
P	Conc. (mg/kg)	2,68 ± 0,03	2,08 ± 0,02	1,87 ± 0,04	2,06 ± 0,03
	Adic. (mg/kg)	0,0750	0,0800	0,0550	0,0800
	Recup. (%)	101	100	109	100

As amostras 6 à 12 foram analisadas pelo mesmo método, para comparação com os resultados obtidos no método da introdução direta de biodiesel e introdução via emulsão. Os resultados estão apresentados na Tabela 22.

Tabela 22: Resultados de concentração em mg/kg para as amostras.

Am.	[Ca] (mg kg ⁻¹)	[K] (mg kg ⁻¹)	[Mg] (mg kg ⁻¹)	[Na] (mg kg ⁻¹)	[P] (mg kg ⁻¹)	[S] (mg kg ⁻¹)
6	< LD	< LD	< LD	1,16 ± 0,38	0,151 ± 0,243	0,671 ± 0,272
7	< LD	< LD	0,162 ± 0,064	< LD	< LD	2,58 ± 0,24
8	< LD	< LD	< LD	5,23 ± 0,807	0,218 ± 0,229	2,52 ± 0,27
9	< LD	< LD	< LD	2,04 ± 1,19	0,875 ± 0,259	2,48 ± 0,20
10	< LD	< LD	< LD	3,94 ± 2,00	1,32 ± 0,366	< LD
11	< LD	< LD	0,0134 ± 0,0533	0,340 ± 1,22	0,439 ± 0,316	1,56 ± 0,22
12	< LD	< LD	0,331 ± 0,054	3,55 ± 0,66	1,10 ± 0,35	2,01 ± 0,22

Devido ao alto fator de diluição (em torno de 50 vezes), nota-se que todos os resultados para Ca e K nas amostras ficaram abaixo dos limites de detecção.

4.4. Comparação entre os métodos

A Tabela 23 reúne os resultados obtidos para as amostras 6 a 12, empregando os três métodos estudados: introdução direta, emulsão e digestão.

Tabela 23: Resultados das amostras 6 à 12 obtidos nos três métodos propostos para análise de biodiesel por ICP OES.

Método da introdução direta com amostras puras 100% utilizando C como padrão interno						
Am.	[Ca] (mg kg ⁻¹)	[K] (mg kg ⁻¹)	[Mg] (mg kg ⁻¹)	[Na] (mg kg ⁻¹)	[P] (mg kg ⁻¹)	[S] (mg kg ⁻¹)
6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
7	< LD	< LD	0,361 ± 0,147	< LD	< LD	3,12 ± 0,03
8	< LD	< LD	0,390 ± 0,079	12,5 ± 0,5	< LD	4,31 ± 0,08
9	< LD	< LD	< LD	1,13 ± 0,03	< LD	3,07 ± 0,04
10	< LD	< LD	< LD	1,18 ± 0,06	< LD	< LD
11	< LD	< LD	0,0636 ± 0,0205	0,740 ± 0,034	< LD	1,51 ± 0,03
12	< LD	< LD	< LD	1,33 ± 0,03	< LD	2,26 ± 0,05

Método das emulsões						
Am.	[Ca] (mg kg ⁻¹)	[K] (mg kg ⁻¹)	[Mg] (mg kg ⁻¹)	[Na] (mg kg ⁻¹)	[P] (mg kg ⁻¹)	[S] (mg kg ⁻¹)
6	2,82 ± 0,14	0,222 ± 0,069	< LD	5,10 ± 0,56	< LD	1,55 ± 0,28
7	0,266 ± 0,129	0,194 ± 0,065	< LD	1,34 ± 0,36	0,474 ± 0,044	4,94 ± 0,24
8	< LD	0,252 ± 0,065	< LD	11,7 ± 0,2	7,96 ± 0,45	5,48 ± 0,20
9	0,471 ± 0,155	0,688 ± 0,073	< LD	< LD	9,55 ± 0,43	6,69 ± 0,36
10	< LD	0,122 ± 0,074	< LD	2,76 ± 0,91	1,01 ± 0,96	0,396 ± 0,185
11	0,330 ± 0,187	0,111 ± 0,076	< LD	1,38 ± 0,94	4,74 ± 0,23	2,17 ± 0,18
12	0,286 ± 0,133	0,136 ± 0,076	< LD	1,76 ± 0,97	5,32 ± 0,46	3,45 ± 0,21

Método da digestão						
Am.	[Ca] (mg kg ⁻¹)	[K] (mg kg ⁻¹)	[Mg] (mg kg ⁻¹)	[Na] (mg kg ⁻¹)	[P] (mg kg ⁻¹)	[S] (mg kg ⁻¹)
6	< LD	< LD	< LD	1,16 ± 0,38	0,151 ± 0,243	0,671 ± 0,272
7	< LD	< LD	0,162 ± 0,064	< LD	< LD	2,58 ± 0,24
8	< LD	< LD	< LD	5,23 ± 0,807	0,218 ± 0,229	2,52 ± 0,27
9	< LD	< LD	< LD	2,04 ± 1,19	0,875 ± 0,259	2,48 ± 0,20
10	< LD	< LD	< LD	3,94 ± 2,00	1,32 ± 0,37	< LD
11	< LD	< LD	0,0134 ± 0,0533	0,340 ± 1,22	0,439 ± 0,316	1,56 ± 0,22
12	< LD	< LD	0,331 ± 0,054	3,55 ± 0,66	1,10 ± 0,35	2,01 ± 0,22

É possível observar que tanto para o método da introdução direta, quanto para o método da digestão, os resultados de concentração obtidos para Ca e K ficaram abaixo dos limites de detecção. No entanto, esses dois analitos foram quantificados em praticamente todas as amostras pelo método das emulsões, apesar dos altos desvios padrão.

Com o magnésio, observou-se o contrário. Ele ficou abaixo dos limites de detecção em todas as amostras para o método da emulsão, sendo que para o método da introdução direta e para o método da digestão, houve algumas amostras que foram quantificadas. Dentre elas, é possível comparar os resultados obtidos para as amostras 7 e 11, cujas ordens de grandeza ficaram bastante próximas. Para o Na, houve resultados bem discrepantes entre os três métodos, porém, eles seguiram, de maneira geral, a mesma tendência. A amostra 8, por exemplo, que ficou até fora da faixa de calibração para o método da introdução direta, apresentou concentração bastante elevada nos 3 métodos: 12,5, 11,7 e 5,23 mg kg⁻¹ para o método da introdução direta, para o método da emulsão e para o método da digestão, respectivamente. Para o P, os resultados do método da introdução direta ficaram abaixo dos limites de detecção, sendo que, no método da emulsão, seus resultados foram extremamente elevados, chegando perto do limite permitido pela ANP (10 mg kg⁻¹) para a amostra 8. Os resultados obtidos para as emulsões não concordam com os resultados abaixo do limite de detecção para o método da introdução direta, ou seja, que foram menores do que 0,542 mg kg⁻¹. No entanto, no método da digestão, os resultados obtidos foram realmente baixos, sendo o maior valor encontrado de 1,32 ± 0,37 mg kg⁻¹ para a amostra 10. Para o S, os resultados ficaram muito próximos, dentro da mesma ordem de magnitude. Para a amostra 11, por exemplo, os resultados obtidos para o método da introdução direta, da emulsão e da digestão foram 1,51 ± 0,03, 2,17 ± 0,18 e 1,56 ± 0,22 mg kg⁻¹, respectivamente.

Nota-se, também, que, de maneira geral, o método das emulsões foi o que gerou o maior número de resultados acima do limite de detecção, apesar de sua diluição ser maior do que a diluição das amostras no método da introdução direta (~20 vezes). No entanto, isso pode ser atribuído ao fato do branco possuir uma

intensidade de sinal muito elevada dos analitos, sendo, portanto, mais fácil detectar as baixas concentrações, que se somam ao sinal do branco, tornando a intensidade de sinal resultante acima dos limites de detecção do instrumento.

Outra importante observação é de que o método da digestão apresentou os resultados menos precisos. Isso se deve à grande diluição da amostra (~ 50 vezes) que faz com que os resultados lidos pelo instrumento sejam muito baixos, aumentando-se assim, os desvios das medidas.

5. Conclusões

O método da introdução direta da amostra, tanto com diluição, como sem diluição, possui o preparo mais simples dos 3 métodos propostos. Porém, o uso de solventes orgânicos representa um ponto negativo, tanto no que diz respeito à geração de resíduos, quanto na dificuldade experimental de se trabalhar com o plasma. O uso do carbono como padrão interno mostrou-se uma ferramenta importante para corrigir os efeitos de matriz, levando a bons valores de recuperação e boa concordância entre os resultados das amostras diluídas e puras, de modo a permitir, portanto, a análise da amostra sem qualquer preparo ou diluição. O uso da vaselina também foi importante para os resultados observados, sendo o seu uso fundamental para o método proposto.

O método da introdução de amostra na forma de emulsão possui um preparo simples e que elimina as desvantagens do trabalho com solventes orgânicos. No entanto, é necessário realizar uma diluição de aproximadamente 20 vezes, para que a emulsão seja minimamente estável para análise via ICP. Os elevados valores de concentração dos analitos Na, K, Ca, Mg e P encontrados no agente emulsificante (Triton X-100) podem ser um obstáculo para a aplicação desse método, que poderia, portanto, ser aperfeiçoado com a mudança do agente emulsificante utilizado, para um de maior pureza.

O método da digestão consiste no preparo mais caro, complexo e demorado. A diluição da amostra de aproximadamente 50 vezes também gerou muitos valores abaixo do limite de detecção, sendo esse um ponto negativo do método. Contudo, esse é o único método que realmente elimina grande parte da matriz orgânica e todos os efeitos associados a ela, além de ter apresentado os menores limites de

detecção. Esse método também poderia ser muito bem empregado para técnicas mais sensíveis de detecção, como ICP-MS.

Apesar dos 3 métodos terem apresentado valores de adição e recuperação satisfatórios (entre 80 e 120%), observou-se que não houve boa concordância entre os resultados obtidos para as amostras analisadas 6 a 12. A falta de material de referência certificado impede que se aponte dentre os 3 métodos qual apresentou resultados mais exatos. Porém, o preparo mais simples e a menor taxa de diluição fazem do método da introdução direta, com o uso do carbono como padrão interno, o mais confiável dentre os métodos avaliados nesse trabalho.

6. Referências

AMAI, R. S.; GARCIA, E. E.; MONTEIRO, M. R.; NOUGUEIRA, A. R. A. Direct analysis of biodiesel microemulsions using an inductively coupled plasma mass spectrometry. **Microchem. J.**, 96, 2010. 146–150.

ARAÚJO, G. C. L.; GONZALEZ, M. H.; FERREIRA, A. G.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials. **Spectrochim. Acta Part B**, 2002. 2121 - 2132.

ATKINS, P.; DE PAULA, J. Chapter 22: Macromolecules and Aggregates. In: ATKINS, P.; DE PAULA, J. **Atkins' Physical Chemistry**. 7^a ed. ed. [S.l.]: Oxford University Press, 2002. p. 752.

BARKER, L. R.; KELLY, W. R.; GUTHRIE, W. F. Determination of sulfur in biodiesel and petroleum diesel by X-ray fluorescence (XRF) using the gravimetric standard addition method. **Energy Fuels**, 22, 2008. 2488–2490.

C40 São Paulo Summit, 2011. Disponível em: <<http://www.c40saopaulosummit.com>>. Acesso em: 09 setembro 2011.

CHAVES, E. S.; LEPRI, F. G.; SILVA, J. S. A.; DE QUADROS, D. P. C.; SAINT'PIERRE, T. D.; CURTIUS, A. J. Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS. **J. Environ. Monit.**, 10, 2008. 1211-1216.

CHILCOT, R. P. Compendium of chemical hazards: kerosene (fuel oil). **Health Protection Agency**, 2006. Disponível em: <<http://www.who.int/ipcs/emergencies/kerosene.pdf>>. Acesso em: 07 setembro 2011.

CORREIA, P. R. M. **Estudo da utilização de padrão interno em determinações multielementares por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e detecção simultânea**. [S.l.]: [s.n.], 2004.

CURTIUS, A. J. Determinação de fósforo em aços por espectrometria de absorção atômica no forno de grafite. **Quím. Nova**, 31, n. 3, 1998.

DE JESUS, A.; SILVA, M. M.; VALE, M. G. R. The use of microemulsion for determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, 74, 2008. 1378–1384.

DE OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Quím. Nova**, 27, n. 1, 2004. 131-138.

DECRETOS FEDERAIS. **Decretos federais nº 76.593 (14/11/1975), 80.762 (18/11/1977) e 83.700 (05/07/1979)**. [S.l.]: [s.n.], 1979.

DENNAUD, J.; HOWES, A.; PROUSSEL, E.; MERMET, J. M. Study of ionic-to-atomic line intensity ratios for two axial viewing-based inductively coupled plasma atomic emission spectrometers. **Spectrochim. Acta Part B**, 2001. 101-112.

EARTH Summit Info. Disponível em: <<http://www.earthsummit.info/>>. Acesso em: 09 setembro 2011.

EDLUND, M.; VISSER, H.; HEITLAND, P. Analysis of biodiesel by argon–oxygen mixed-gas inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, 17, 2002. 232–23.

EUROPEAN STANDARD EN 14108. Fat and oil derivatives - Fatty Acid Methyl Esters (FAME) - Determination of sodium content by atomic absorption spectrometry, 2003.

EUROPEAN STANDARD EN 14109. Fat and oil derivatives - Fatty Acid Methyl Esters (FAME) - Determination of potassium content by atomic absorption spectrometry, 2003.

FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODO, H. Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oils. **J. Biosci. Bioeng.**, 92, n. 5, 2001. 405-416.

GUANDALINI, G.; SILVA, C. A dupla conquista. **Veja**, n. 1946, 2006.

HEALTH Protection Agency, Xylene, 2010. Disponível em: <http://www.hpa.org.uk/web/HPAwebFile/HPAweb_C/1287148066694>. Acesso em: 07 setembro 2011.

IGLÉSIAS, M.; VACULOVIC, T.; STUDYNKOVA, J.; PROUSSEL, E.; MERMET, J. M. Influence of the operating conditions and of the optical transition on non-spectral matrix effects in inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B**, 59, 2004. 1841-1850.

IQBAL, J.; CARNEY, W. A.; LACAZE, S.; THEEGALA, C. S. Metals Determination in Biodiesel (B100) by ICP-OES with Microwave Assisted Acid Digestion. **The Open Analytical Chemistry Journal**, 4, 2010. 18-26.

KLIER, J.; TUCKER, C. J.; KALANTAR, T. H.; GREEN, D. P. Properties and Applications of Microemulsions. **Adv. Mater.**, 12, n. 23, 2000.

KNOTHE, G. Analyzing Biodiesel: Standards and Other Methods. **JAOCS**, 83, n. 10, 2006. 823-833.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J. Chapter 2: The History of Oil-Based Diesel Fuels. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J. **The Biodiesel Handbook**. [S.l.]: [s.n.], 2005a.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J. Chapter1: Introduction. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J. **The Biodiesel Handbook**. [S.l.]: [s.n.], 2005b.

KORN, M. G. A.; SANTOS, D. C. M. B.; GUIDA, M. A. B.; BARBOSA, I. S.; PASSOS, M. L. C.; SARAIVA, M. L. M. F. S.; LIMA, J. L. F. C. Evaluation of Digestion Procedures for Simultaneous Determination of Ca, P, Mg, K and Na in Biodiesel by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **J. Braz. Chem. Soc.**, 21, n. 12, 2010. 2278-2284.

KOUZU, M.; KASUNOB, T.; TAJIKAB, M.; SUGIMOTOC, Y.; YAMANAKAD, S.; HIDAKAD, J. Calcium oxide as a solid base catalyst for transesterification of soybean oil and its application to biodiesel production. **Fuel**, 87, 2008. 2798-2806.

KRUG, F. J.; SANTOS JR., D. Capítulo 2: Erros sistemáticos no preparo de amostras. In: KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras – Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. 1ª. Edição. ed. Piracicaba: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP, 2008. p. 32-35.

LARREA, M. T.; ZALDÍVAR, B.; FARIÑAS, J. C.; FIRGAIRA, L. G.; POMARES, M. Matrix effect of aluminium, calcium and magnesium, in axially viewing inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, 23, 2008. 145-151.

LIAS, S. G. Ionization Energy Evaluation. **NIST Chemistry WebBook**. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov>>. Acesso em: 04 mar. 2012.

LIDE, D. R. **CRC Handbook fo chemistry and physics on cd-rom, version 2010**. [S.l.]: CRC PRres Taylor & Francis Group, 2010.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; DA CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Quím. Nova**, 32, n. 6, 2009.

LYRA, F. H.; CARNEIRO, M. T. W. D.; BRANDÃO, G. P.; PESSOA, H. M.; DE CASTRO, E. V. Determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel samples by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) using microemulsion as sample preparation. **Microchem. J.**, 96, 2010. 180-185.

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. **Spectrochim. Acta.**, 418, 1986. 27-38.

MARQUES, M. V.; DA SILVA, M. H. G.; NACIUK, F. F.; FONTOURA, L. **ANALYTICA**, n. Ano 6, nº 33, 2008. 72-82.

MERMET, J. M.; POUSSEL, E. ICP Emission Spectrometers: 1995 Analytical Figures of Merit. **Appl. Spectrosc.**, 49, n. 10, 1995.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Biodiesel, O novo combustível do Brasil**. Brasília: [s.n.], 2004.

NOGUEIRA, A. R. D. A. et al. Capítulo 8: Decomposições assistidas por radiação micro-ondas. In: KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras – Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. 1ª ed. ed. Piracicaba: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP, 2008. p. 276–284.

NÖLTE, J. Capítulo 2: Plasma. In: NÖLTE, J. **ICP Emission Spectrometry – A practical guide**. Federal Republic of Germany: Wiley – VCH, 2003a. p. 21.

NÖLTE, J. Capítulo 2: Plasma. In: NÖLTE, J. **ICP Emission Spectrometry – A practical guide**. Federal Republic of Germany: Wiley – VCH, 2003b. p. 11-17.

NÖLTE, J. Capítulo 3: Optics and Detector of the Spectrometer. In: NÖLTE, J. **ICP Emission Spectrometry – A practical guide**. Federal Republic of Germany: Wiley – VCH, 2003c. p. 79.

NÖLTE, J. Capítulo 7: Applications. In: NÖLTE, J. **ICP Emission Spectrometry – A practical guide**. Federal Republic of Germany: Wiley – VCH, 2003d. p. 222-223.

NÖLTE, J. Capítulo 4: Method Development. In: NÖLTE, J. **ICP Emission Spectrometry - A Practical Guide**. Federal Republic of Germany: Wiley-VCH, 2003e. p. 146-153.

PORTARIA ANP. Portaria publicada em 2004, com resolução de 2008, 2008. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/petro/legis_biodiesel.asp>. Acesso em: 09 setembro 2011.

POUSSEL, E.; MERMET, J. M.; SAMUEL, E. Simple experiments for the control, the evaluation and the diagnosis of inductively coupled plasma sequential systems. **Spectrochim. Acta**, 48, n. 67, 1993. 742-755.

PRÓALCOOL - Programa Brasileiro de Álcool. **Biodieselbr.com**. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/proalcool/pro-alcool.htm>>. Acesso em: 09 setembro 2011.

RALCHENKO, Y.; KRAMIDA, A. E.; READER, J.; TEAM, N. A. NIST Atomic Spectra Database, 2011. Disponível em: <<http://physics.nist.gov/asd>>. Acesso em: 04 mar. 2012.

ROCHA, F. R. P.; NÓBREGA, J. A. Effects of Solution Physical Properties on Copper and Chromium Signals in Flame Atomic Absorption Spectrometry. **J.Chem. Educ.**, 73, n. 10, 1996.

SANTOS, E. J.; HERRMAN, A. B.; CHAVES, E. S.; VECHIATTO, W. W. D.; SCHOEMBERGER, A. C.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization. **J. Anal. At. Spectrom.**, 22, 2007. 1300-1303.

SCHARMA, Y. C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S. N. Advancements in development and characterization of biodiesel: A review. **Fuel**, 87, 2008. 2355–2373.

SHADID, A. Suez Canal Workers Join Broad Strikes in Egypt. **The New York Times**, 17 fevereiro 2011. Disponível em: <<http://www.nytimes.com/2011/02/18/world/middleeast/18egypt.htm>>. Acesso em: 04 setembro 2011.

SILVA, F. V.; TREVIZAN, L. C.; SILVA, C. S.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Evaluation of inductively coupled plasma optical emission spectrometers with axially and radially viewed configurations. **Spectrochim. Acta Part B**, 57, 2002. 1905–1913.

SIMÕES, A. F.; LA ROVERE, E. L. Energy Sources and Global Climate Change: The Brazilian Case. **Energy Sources Part A**, 30, 2008. 1327-1344.

SINGLETON, S. Oil price rising to dangerous levels for economy. **Money**, 17 fevereiro 2011. Disponível em: <<http://money.cnn.com/money/business/canada/archives/2011/02/20110217-151716.html>>. Acesso em: 09 setembro 2011.

UNITED Nations Conference on Sustainable Development. Disponível em: <<http://www.uncsd2012.org/rio20/>>. Acesso em: 09 setembro 2011.

VEJA ON-LINE. Tensão no Oriente Médio eleva barril de petróleo à cotação mais alta em dois anos. **Veja on-line**, 17 fevereiro 2011. Disponível em: <<http://veja.abril.com.br/noticia/economia/tensao-no-orientes-medio-eleva-barril-de-petroleo-a-cotacao-mais-alta-em-dois-anos>>. Acesso em: 04 setembro 2011.

YAWS, C. L.; NARASIMHAN, P. K.; GABBULA, C. Yaws' Handbook of Antoine Coefficients for Vapor Pressure, (2nd Electronic Edition), 2009. Disponível em: <http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=1183&VerticalID=0>. Acesso em: 07 setembro 2011.

YUAN, W.; HANSEN, A. C.; ZHANG, Q. Vapor pressure and normal boiling point predictions for pure methyl esters and biodiesel fuels. **Fuel**, 84, 2005. 943-950.