



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio Mesquita Filho”



Instituto de Química de Araraquara

Tese de Doutorado

**“Desenvolvimento de métodos analíticos para
determinação de Cd, Cu, Ni e Pb em biodiesel por
espectrometria de absorção atômica em forno de
grafite”**

Fabiana Aparecida Lobo

Julho de 2009

FABIANA APARECIDA LOBO

**Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação
de Cd, Cu, Ni e Pb em biodiesel por espectrometria de
absorção atômica em forno de grafite**

**Tese apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em
Química.**

Orientador: Prof. Dr. André Henrique Rosa

Araraquara – SP

Julho de 2009

FABIANA APARECIDA LOBO

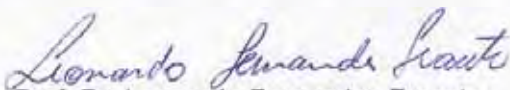
Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química.

Araraquara, 20 de julho de 2009.

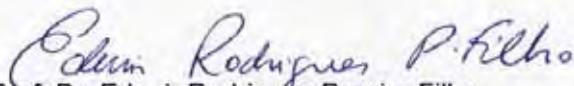
BANCA EXAMINADORA



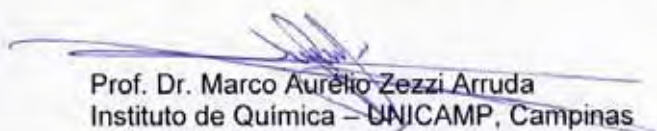
Prof. Dr. André Henrique Rosa (Orientador)
Unidade Diferenciada de Sorocaba – UNESP, Sorocaba



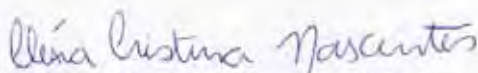
Prof. Dr. Leonardo Fernandes Fraceto
Unidade Diferenciada de Sorocaba – UNESP, Sorocaba



Prof. Dr. Edenír Rodrigues Pereira Filho
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia – UFSCAR, São Carlos



Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda
Instituto de Química – UNICAMP, Campinas



Profª Drª Clésia Cristina Nascentes
Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte

DADOS CURRICULARES

Fabiana Aparecida Lobo

1 Dados pessoais

- 1.1 Nascimento: 12 de Outubro de 1980
- 1.2 Nacionalidade: Brasileira
- 1.3 Naturalidade: Congonhas – MG.
- 1.4 Estado Civil: Solteira
- 1.5 Filiação: João Lobo e Maria de Fátima Gonçalves Lobo
- 1.6 Profissão: Química
- 1.7 Endereço: Rua Gentile Gioachino, número 27; Nova Sorocaba, Sorocaba - SP / Brasil; CEP: 18.070-825;
- 1.8 Endereço Profissional: Avenida Três de Março, número 511; Sorocaba - SP / Brasil; CEP: 18087-180

2 Formação Acadêmica

2.1 Doutorado em Química obtido no Instituto de Química da UNESP, com a apresentação da tese: “Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de Cd, Cu, Ni e Pb em biodiesel por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite” – conclusão em 20 de julho 2009.

2.2 Mestrado em Química obtido no Instituto de Química da UNESP, com a apresentação da dissertação: “Desenvolvimento de sistemas de injeção em fluxo para a determinação de estanho por espectrometria de absorção atômica em forno aquecido na chama, em amostras alimentícias enlatadas”, conclusão em 10 de junho 2005.

2.3 Bacharelado em Química. Curso de graduação concluído em março de 2003, na Universidade Federal de Ouro Preto, UFOP, Ouro Preto – MG / Brasil.

3 Produção Científica

3.1 Artigos Científicos

LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; ROSA, A. H.; OLIVEIRA, A. P.; PEREIRA-FILHO, E. R.; FRACETO, L. F.; DIAS-FILHO, N. L. Comparison of the univariate and multivariate methods in the optimization of experimental conditions for determining Pb, Cu, Ni and Cd in biodiesel by GFAAS. **Fuel**, v. 88, p. 1907-1914, 2009.

LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; ROSA, A. H.; OLIVEIRA, A. P.; FRACETO, L. F.; DIAS-FILHO, N. L. Development of a method to determine Ni and Cd in biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry. "**Analytical Science**", (submetido).

OLIVEIRA, A. P.; ROSA, A. H.; GOVEIA, D.; **LOBO, F. A.**; DALLA VILLA, R. Direct determination of metals by graphite furnace atomic absorption spectrometry in Brazilian aquatic humic substances. "**Microchemical journal**", (submetido).

LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; ROSA, A. H.; OLIVEIRA, A. P.; FRACETO, L. F.; DIAS-FILHO, N. L. Method development for the determination of Cu, Pb, Ni and Cd in biodiesel pretreatment with microwave radiation by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Letters**, (Fase final de redação).

LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; ROSA, A. H.; OLIVEIRA, A. P.; FRACETO, L. F.; WEBER, G. Electrochemical metabolic profiling for detection of the nutritional iron-status in plants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, (Fase final de redação).

GOVEIA, D.; **LOBO, F. A.**; ROSA, A.H.; FRACETO, L. F.; Development of a new analytical approach based in ultrafiltration system for characterization in situ of interaction between metallic species and organic matter. **Talanta**, (Fase final de redação).

POLLO, F.; VILLAFRANCA, A. C.; **LOBO, F. A.**; MORAES, M. Determinação de Cu em álcool etílico hidratado combustível utilizando o sistema TS-FF-AAS. **Eclética Química**, (em fase final de redação).

LOBO, F. A.; OLIVEIRA, A. P.; VILLAFRANCA, A. C.; MORAES, M. Evaluation and application of TS-FF-AAS system using ceramic tube as atomization cell for tin determination in canned foods. **Atomic Spectroscopy**, v. 29, n.5, p. 186-192, 2008.

GOVEIA, D.; ROSA, A. H.; BELLIN, I. C.; **LOBO, F. A.**; FRACETO, L. F.; ROMÃO, L. P. C. In situ Application of cellulose bag and ion exchanger for differentiation of labile and inert metal species in aquatic systems. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 390, p.1173-1180, 2008.

LOBO, F. A.; OLIVEIRA, A. P.; VILLAFRANCA, A. C.; MORAES, M. Comparison of metallic and ceramic tubes as atomization cells for tin determination by TS-FF-AAS. **Atomic Spectroscopy**, v. 28, p. 17-23, 2007.

LOBO, F. A.; VILLAFRANCA, A. C.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M. Sistema TS-FF-AAS em chama acetileno-ar como alternativa em relação à chama acetileno-óxido

nitroso em FAAS na determinação de estanho. **Eclética Química**, v. 30, n. 2, p. 61-68, 2005.

3.2 Participação em eventos científicos

32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, realizado no período de 30 de maio a 02 de junho de 2009.

31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, realizado no período de 26 a 29 de maio de 2008.

VII Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, realizado no período de 30 de outubro a 01 de novembro 2007

14 Encontro Nacional de Química Analítica, realizado no período de 07 a 11 de outubro de 2007.

30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, realizado no período de 31 de maio a 03 de junho de 2007.

VI Workshop sobre Preparo de Amostras, realizado no período de 25 a 28 de abril de 2006.

15 Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, realizado no período de 10 a 11 de outubro de 2005.

28 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, realizado no período de 30 de maio a 02 de junho de 2005.

II Encontro sobre preparo de Amostras, realizado no dia 25 de novembro de 2005.

Rio Symposium on Atomic Spectrometry, realizado no período de 01 a 06 de agosto de 2004.

XXXIV Semana da química, realizado no período de 25 a 28 de novembro de 2004.

X Seminário de Iniciação Científica, realizado no dia 27 de novembro de 2002 .

XVI Encontro Regional da SBQ-MG, realizado no período de 18 a 20 de novembro de 2002.

IV Seminário de Iniciação científica, realizado no dia 05 de dezembro de 2001.

XV Encontro Regional da SBQ-MG, realizado no período 12 a 14 de novembro de 2001.

3.3 Resumos apresentados em eventos científicos

LOBO, F. A.; WEBER, G.; GOVEIA, D.; FRACETO, L. F.; ROSA, A. H. Avaliação metabólica de amostras de tomate usando CLAE. In: 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza - RE, 2009.

GOVEIA, D.; **LOBO, F. A.**; FRACETO, L. F.; ROSA, A. H. Aplicação "*in situ*" de metodologia de ultrafiltração em fluxo contínuo para caracterização da labilidade de metais em sistemas aquáticos. In: 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza - RE, 2009.

LOBO, F. A.; WEBER, G.; ROSA, A. H. Electrochemical metabolic profiling for detection of the nutritional iron-status in plants. In: XX Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, may,10 -14, Sibiu - Romania, 2009

LOBO, F. A.; ROSA, A. H.; GOVEIA, D.; OLIVEIRA, A. P.; PEREIRA-FILHO, E. R. Determinação de Cd e Ni em biodiesel por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia - SP, 2008.

GOVEIA, D.; OLIVEIRA, A. P.; **LOBO, F. A.**; ROSA, A. H.; DALLA VILLA, R. Determinação direta de Cu, Cd, Ni e Pb em substâncias húmicas aquáticas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia - SP, 2008.

GOVEIA, D.; **LOBO, F. A.**; BELLIN, I. C.; FRACETO, L. F.; ROSA, A. H. Aplicação "*in-situ*" de filtros de papel organomodificados na diferenciação de metais inertes/lábeis em mananciais. In: IV Encontro Nacional de Química Ambiental, Aracaju - Se, 2008.

DUARTE, J. G. C.; SILVA, A. A. M. J.; MORETTI, J. P.; GOVEIA, D.; **LOBO, F. A.**; ROSA, A.H. Avaliação sazonal e espacial da qualidade da água em diferentes trechos de importante reservatório do Estado de São Paulo. In: IV Encontro Nacional de Química Ambiental, Aracaju - Se, 2008.

LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; ROSA, A. H.; OLIVEIRA, A. P. de. Avaliação de microondas com radiação focalizada como procedimento de preparo de amostras para a determinação de metais em biodiesel por GFAAS. In: IV Encontro Nacional de Química Ambiental, Aracaju - Se, 2008.

ROSA, A. H.; GOVEIA, D; BELLIN, I. C.; **LOBO, F. A.**; FRACETO, L. F.; ROVEDA, S. R. M. M.; LOURENÇO, R. W.; ROMÃO, L. P. C. In situ application of cellulose bag and ion exchanger for differentiation of labile and inert metal species in aquatic systems In: Utilization of geospace as solution for Energy an Environment, Kolkata - Índia, 2008.

OLIVEIRA, A. P.; **LOBO, F. A.**; GOVEIA, D.; ROSA, A. H. PEREIRA-FILHO. E. R. Uso de microemulsões para a determinação de cádmio em biodiesel por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. In: II Congresso da Rede de Tecnologia em Biodiesel, Brasília - DF, 2007.

LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; OLIVEIRA, A. P.; ROSA, A. H. PEREIRA FILHO. E. R. Determinação de Cd, Cu, Pb, Ni e Zn em biodiesel: estudo de alguns parâmetros da GFAAS com planejamento fatorial. In: 14^o Encontro Nacional de Química Analítica, Paraíba - JP, 2007.

LOBO, F. A.; OLIVEIRA, A. P.; GOVEIA, D.; ROSA, A. H. Avaliação de parâmetros analíticos para a determinação direta de metais em substâncias húmicas aquáticas por GFAAS. In: VII Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, Florianópolis - SC, 2007.

GOVEIA, D.; ROSA, A. H.; **LOBO, F. A.** Aplicação “*in situ*” do sistema MD-CEL-PAB na diferenciação de metais livres/lábeis em sistemas aquáticos. In: VII Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, Florianópolis - SC, 2007.

LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; OLIVEIRA, A. P.; ROSA, A. H. Avaliação do comportamento eletrotérmico de metais em amostras de biodiesel por GFAAS. In: 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia - SP, 2007.

GOVEIA, D.; ROSA, A. H.; **LOBO, F. A.** Desenvolvimento de metodologia de ultrafiltração em fluxo contínuo para diferenciação “*in-situ*” de metais lábeis/inertes em mananciais. In: 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia - SP, 2007.

ANTUNES, F. M.; ROSA, A. H.; BELLIN, I. C.; GOVEIA, D.; **LOBO, F. A.** Aplicação “*in-situ*” do sistema md-tepha e caracterização da labilidade de espécies metálicas presentes em mananciais. In: 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia - SP, 2007.

LESSA, S. S.; ROSA, A. H.; **LOBO, F. A.**; MANCINI, S. D. Reciclagem de garrafas PET via hidrólise alcalina: uma atividade prática alternativa para o ensino de química orgânica e conscientização ambiental. In: 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia - SP, 2007.

BELLIN, I. C.; ROSA, A. H. GOVEIA, D.; **LOBO, F. A.**; VAZ, S. S.; ANTUNES, F. M.; OLIVEIRA, G. S.; LESSA, S. S. Contextualização ambiental de resultados de labilidade de metais em sistemas aquáticos: medidas “*in-situ*” utilizando sistema de difusão em membrana-trocador iônico. In: 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia - SP, 2007.

LOBO, F. A.; VILLAFRANCA, A. C.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M. Comparação de tubo metálico e tubo cerâmico como celas de atomização para a determinação de estanho por TS-FF-AAS. In: 15 Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Ribeirão Preto - SP, 2005.

LOBO, F. A.; VILLAFRANCA, A. C.; OLIVEIRA, A.P.; MORAES, M. Desenvolvimento de procedimento analítico utilizando TS-FF-AAS para a determinação de estanho. In: 28^o Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de CaLODas - MG, 2005.

LOBO, F. A.; VILLAFRANCA, A. C.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M. Avaliação de tubo cerâmico como cela de atomização na determinação de estanho

por TS-FF-AAS. In: 28^o Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de CalODas - SP, 2005.

LOBO, F. A.; VILLAFRANCA, A. C.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M. Development method for determination of tin by TS-FF-AAS. In: 8th Rio Symposium on Atomic Spectrometry heLOD, Paraty - RJ, 2004.

LOBO, F. A.; OLIVEIRA, A. M.; PANIAGO, E. B.; LADEIRA, A. C. Q. A relação entre as condições de tratamento de um catalisador inativo e a sua capacidade de absorver metais pesados. In: XVI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Viçosa - MG, 2002.

LOBO, F. A.; OLIVEIRA, A. M.; PANIAGO, E. B.; LADEIRA, A. C. Q. A relação entre as condições de tratamento de um catalisador inativo e a sua capacidade de absorver metais pesados. In: X Seminário de Iniciação Científica da Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto-MG, 2002.

LOBO, F. A.; OLIVEIRA, A. M.; PANIAGO, E. B.; LADEIRA, A. C. Q. Estudos sobre a reativação da capacidade de troca iônica de um rejeito industrial. In: IX Seminário de Iniciação Científica da Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto-MG, 2001.

LOBO, F. A.; OLIVEIRA, A. M.; PANIAGO, E. B.; LADEIRA, A. C. Q. Avaliação da capacidade de troca iônica de uma zeólita. In: XV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Belo Horizonte-MG, 2001.

LOBO, F. A.; OLIVEIRA, A. M.; PANIAGO, E. B.; LADEIRA, A. C. Q. Utilização de rejeitos para descontaminação de águas de abastecimento e efluentes industriais. In: XIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Uberlândia, 2000.

LOBO, F. A.; OLIVEIRA, A. M.; PANIAGO, E. B.; LADEIRA, A. C. Q. Utilização de rejeitos para descontaminação de águas de abastecimento e efluentes industriais. In: Seminário de Iniciação Científica da Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto-MG, 2000.

3.4 Formação complementar

Treinamento Operacional PS210, PS325 e Galaxie WKS 1.9, realizado no período de 25 a 27 de fevereiro de 2008.

Seminário Internacional "Espectrometria Atômica sobre técnicas de AA, ICP-OES, ICP-MS e suas aplicações", realizado no dia 09 de agosto de 2006.

Gestão Ambiental - ISO 14000, realizado no período de 23 a 24 de junho de 1999.

4 Iniciação Científica

Projeto de pesquisa supervisionado, intitulado: Prevenção e Controle da Contaminação de águas de Superfície, realizado no período de 2000 a 2002, orientado pelo Prof. Dr. Eucler Bento Paniago.

5 Estágios

5.1 Estágio de curta duração no exterior, no período de 15 de setembro a 15 de dezembro de 2008, no *Institute for Analytical Sciences* (ISAS), Dortmund - Alemanha. Projeto intitulado - Detection of metal-stress-related metabolic changes in plants.

5.2 Empresa: Minas do Itacolomy Ltda. – MI; Ouro Preto – MG, no período: 07/2001 a 08/2001, atuação: Análise de Minério de Ferro por Via Úmida, enquadramento Funcional: Estágio Remunerado com Carteira Assinada.

5.3 Estágio Docência realizado durante o segundo semestre de 2005 junto à disciplina de Graduação “Química Ambiental” (60 horas), do Instituto de Química – Unesp- sob responsabilidade de Prof. Dr. Júlio César Rocha.

6 Palestras Ministradas

“A importância da Química Analítica para a sociedade”, proferida dentro do Programa de Palestras para alunos do Ensino Médio–X-CPEU, no Colégio KUARUP BONITO, em Riberão Bonito em 11/10/2003.

7 Premiações

Aluna destaque da sua turma de graduação, Universidade Federal de Ouro Preto - OP / MG.

A *Deus*, pela Luz e Energia Única.
Aos meus amados pais, *João e Fátima*,
pela oportunidade, incentivo,
apoio e confiança,
ao *Tiago* pela paciência
e companherismo,
ao meu amado irmão *João Paulo*
e minha querida *Vó Fina*
pelo carinho incondicional
Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **André Henrique Rosa**, pela oportunidade, orientação, amizade e ensinamentos durante estes anos de convivência, além do exemplo de caráter pessoal e profissional. Muito Obrigada!!!!

A **toda minha Família, e em especial meu Tio Ênio** pelo carinho, compreensão, amizade sempre.

Ao Jorge, Edna (e toda sua família), que me acolheram com muito carinho e amizade.

À minha grande amiga **Dani**, companheira de todos os momentos.

A Prof. Dr. **Adriana Paiva de Oliveira** pela amizade eterna, delicadeza, apoio e prazer de ajudar ensinando. Adoro você!!!

À Prof. **Mercedes**, pelos ensinamentos, sugestões e idéias ao longo deste tempo de amizade.

Ao Prof. Dr. **Eucler Bento Paniago**, que além de Orientador na Iniciação Científica, é um amigo, conselheiro que merece minha eterna admiração.

Ao Prof. Dr. **Leonardo Fraceto**, pelas conversas, risadas, análises feitas na Unicamp e pela grande atenção concedida sempre, destacando idéias e conselhos no exame de qualificação. Obrigada mesmo!!!!

Ao Prof. Dr. **Edenir Pereira filho** pela amizade, ajuda na parte químiométrica.

Aos meus eternos amigos, Dr. **Guenter Weber, Gundrun Kaumbergue, Magnus Elenmeyer e Peter Burba**, pela oportunidade de estágio no ISAS- Dortmund, conhecimentos, amizade e carinho.

Aos meus companheiros do Grupo de Estudos Ambientais (**GEA**), pela convivência, incentivo, idéias, discussões e risadas.

Ao Prof. Dr. **Júlio** e todo seu grupo de pesquisa pelo cooperativismo.

Aos **docentes, funcionários e alunos do Departamento de Química Analítica da Unesp-Araraquara e do departamento de Engenharia Ambiental da Unesp-Sorocaba** do pela amizade, auxílio e consideração durante estes anos.

Às *funcionárias da Seção de Pós-graduação* do Instituto de Química pelo amparo e dedicação durante estes anos de convivência.

Às *funcionárias da Biblioteca do Instituto de Química* pelo auxílio nas pesquisas e revisão das referências bibliográficas.

Às *meninas que moraram comigo (Joyce Cristale, Fernanda Pollo, Naíse Caldas, Katiana Vectirans, Natália Guimarães, Aline, Sayonara, Camila)* pelas conversas e companheirismo.

A todos *os meus verdadeiros amigos*, sem citar nomes para não correr o risco de esquecer alguém, obrigada pelo carinho e amizade.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao *CNQq* pela bolsa concedida..

Ao *DAAD* pela bolsa concedida no exterior.

À *FAPESP* pelo auxílio à Pesquisa concedido.

*

* "É necessário abrir os olhos e perceber que as coisas boas estão dentro de nós, onde os sentimentos não precisam de motivos nem os desejos de razão. O importante é aproveitar o momento e aprender sua duração, pois a vida está nos olhos de quem sabe ver."

Gabriel García Marquez



Oração da Paz

Senhor: Fazei de mim um instrumento de
vossa Paz!

Onde houver Ódio, que eu leve o Amor,

Onde houver Ofensa, que eu leve o Perdão.

Onde houver Discórdia, que eu leve a União.

Onde houver Dúvida, que eu leve a Fé.

Onde houver Erro, que eu leve a Verdade.

Onde houver Desespero, que eu leve a
Esperança.

Onde houver Tristeza, que eu leve a Alegria.

Onde houver Trevas, que eu leve a Luz!

Ó Mestre,

fazei que eu procure mais:

consolar, que ser consolado;

compreender, que ser compreendido;

amar, que ser amado.

Pois é dando, que se recebe.

Perdoando, que se é perdoado e

é morrendo, que se vive para a vida eterna!

Amém

São Francisco de Assis



RESUMO

O biodiesel, também conhecido como diesel vegetal, é um combustível obtido de fonte renovável, considerado ambientalmente atraente e uma ótima alternativa em substituição ao diesel. Porém, contaminantes inorgânicos podem estar presentes em amostras de biodiesel devido à absorção de metais pela própria planta (matéria-prima) do solo, e/ou podem ser incorporados durante o processo de produção/transporte/estocagem. Desta forma, por meio de um controle analítico dos teores de contaminantes inorgânicos é possível gerenciar a qualidade dos combustíveis e avaliar o impacto ambiental destes. Este trabalho propõe o desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de Cu, Cd, Ni e Pb em amostras de biodiesel por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS). Os procedimentos univariados e multivariados foram aplicados na avaliação das temperaturas ótimas de pirólise e atomização. O planejamento experimental foi usado também como ferramenta para a investigação de dois modificadores químicos (Pd + Mg e W) e dois diferentes procedimentos de preparo das amostras (amostras na forma de microemulsão e amostras digeridas por via úmida em sistema de microondas com radiação focalizada). Considerando que ao usar planejamento fatorial há um melhor entendimento das variáveis e das relações entre elas, os resultados usando o planejamento fatorial foram escolhidos para a determinação dos analitos nas amostras reais de biodiesel. Optou-se por trabalhar com W, pois as determinações são mais rápidas, há poucos problemas relacionados ao *background*, durante a deposição do modificador na superfície do atomizador, as impurezas voláteis do modificador podem ser eliminadas, melhorando os limites de detecção, além do W ser um modificador permanente, o que pode aumentar o tempo de vida útil do atomizador. Os procedimentos analíticos desenvolvidos podem ser considerados satisfatórios, visto que foram encontrados bons valores de recuperação e baixos desvios padrão relativos para todos os analitos avaliados nas amostras de biodiesel. Este trabalho contribui para o estabelecer ou propor uma normatização adequada, visto que ainda não existe na literatura e/ou na legislação vigente, em relação ao controle de qualidade destes metais em amostras de biodiesel.

Palavras-chave: Biodiesel, metais, planejamento fatorial, GFAAS.

ABSTRACT

Biodiesel, also known as vegetable diesel, is a fuel obtained from a renewable source and an excellent alternative to diesel. However, biodiesel samples may contain inorganic contaminants due to the plant's (raw material) absorption of metals in the soil, and/or be incorporated during production, transportation or storage. Therefore, based on the analytical control of the inorganic contaminant content, it is possible to manage the quality of fuels and evaluate their environmental impact. This work proposes the development of analytical methods for the determination of Cu, Cd, Ni and Pb in biodiesel samples using graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS). Univariate and multivariate procedures were applied in the evaluation of the optimal temperatures of pyrolysis and atomization. Experimental design was also used as a tool in the investigation of two chemical modifiers (Pd + Mg and W) and two different sample preparation procedures (microemulsions and wet digestion in a focused microwave system). Using a factorial design there is better understanding of variables and relations between them and the results using the factorial design were chosen for the determination of analytes in real samples of biodiesel. Therefore, it was decided to work with W, since the heating programs are faster, there are few *background* problems, the volatile impurities of the modifier can be eliminated during its deposition on the surface of the atomizer, improving the detection limits, and W is a permanent modifier, which may help prolong the service life of the atomizer. The developed analyticals procedures may also be considered satisfactory as were good values of recovery and low standard deviations for all analytes measured in samples of biodiesel. This work contributes to establish or to propose a suitable normalization, since there is not yet in the literature and / or legislation on the quality control of these metals in samples of biodiesel.

Keywords: Biodiesel, metals, experimental design, GFAAS.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Pág.
Figura 1: Transesterificação de triglicerídeos, onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R', a cadeia carbônica do álcool reagente (WOODS; FRYER, 2007).	26
Figura 2: Estrutura das microemulsões (OLIVEIRA, et al., 2004)	32
Figura 3: Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em amostras na forma de microemulsão (a) Cu; (b) Pb; (c) Ni e (d) Cd.	64
Figura 4: Sinais transientes de absorção em meio de microemulsão para: a- 25,0 $\mu\text{g Cu L}^{-1}$ a1) Pd + Mg; a2) W ; b- 25,0 $\mu\text{g Pb L}^{-1}$ b1) Pd + Mg; b2) W ; c- 25,0 $\mu\text{g Ni L}^{-1}$ c1) Pd + Mg; c2) W; d- 25,0 $\mu\text{g Cd L}^{-1}$ d1) Pd + Mg; d2) W. Como salientado nas Figuras, as linhas coloridas são correspondente aos sinais de absorção e as linhas cinza claras, são correspondente aos sinais do <i>background</i> . As análises foram todas feitas em triplicatas.	66
Figura 5: Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em amostras digeridas em sistema de microondas com radiação focalizada: (a) Cu; (b) Pb; (c) Ni e (d) Cd.	67
Figura 6: Sinais transientes de absorção em meio de digestão para: a- 25,0 $\mu\text{g Cu L}^{-1}$ a1) Pd + Mg; a2) W ; b- 25,0 $\mu\text{g Pb L}^{-1}$ b1) Pd + Mg; b2) W; c- 25,0 $\mu\text{g Ni L}^{-1}$ c1) Pd + Mg; c2) W; d- 25,0 $\mu\text{g Cd L}^{-1}$ d1) Pd + Mg; d2) W; Como salientado nas Figuras, as linhas coloridas são correspondente aos sinais de absorção e as linhas cinza claras, são correspondente aos sinais do <i>background</i> . As análises foram todas feitas em triplicatas.	69
Figura 7: Gráfico do valor dos efeitos das variáveis na otimização das temperaturas de pirólise e de atomização em amostras de biodiesel por GFAAS. a) Cu; b) Pb; c) Ni; d) Cd.	71
Figura 8: Sinais transientes de absorção para 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ usando W como modificador a) Cu em meio de digerido; b) Pb em meio de digerido; c) Ni em meio de microemulsão; d) Ni em meio de digerido; e) Cd em meio de microemulsão e f) Cd em meio de digerido.	74
Figura 9: Influência da massa de Triton X-100 sobre os sinais de absorbância (corrigida do sinal do branco) da solução de 25 $\mu\text{g Cd L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v).	75
Figura 10: Influência do volume de amostra sobre os sinais de absorbância (corrigida do sinal do branco) da solução a) 10,0 $\mu\text{g Ni L}^{-1}$ em	78

HNO₃ 1,0% (v/v); b) 1,0 µg Cd L⁻¹ em HNO₃ 1,0% (v/v).

- Figura 11:** Equações ajustadas às curvas analíticas para determinação de Cd nas 8 amostras. A₁: $A = 0,03017 + 0,0456[\text{Cd}]$, $r = 0,99961$; A₂: $A = 0,03503 + 0,05386[\text{Cd}]$, $r = 0,9995$; A₃: $A = 0,01486 + 0,04822[\text{Cd}]$, $r = 0,98956$; A₄: $A = 0,02971 + 0,05622[\text{Cd}]$, $r = 0,9737$; A₅: $A = 0,01386 + 0,04042[\text{Cd}]$, $r = 0,90695$; A₆: $A = 0,00931 + 0,04322[\text{Cd}]$, $r = 0,99141$; A₇: $A = 0,01088 + 0,05006[\text{Cd}]$, $r = 0,99595$; A₈: $A = 0,05069 + 0,10248[\text{Cd}]$, $r = 0,96394$; Padrão aquoso: $A = 0,01493 + 0,1076[\text{Cd}]$, $r = 0,99999$. **80**
- Figura 12:** Influência do volume de amostra sobre os sinais de absorvância (corrigida do sinal do branco) da solução de a) 10,0 µg Cu L⁻¹ em HNO₃ 1,0% (v/v); b) 30,0 µg Pb L⁻¹ em HNO₃ 1,0% (v/v); c) 10,0 µg Ni L⁻¹ em HNO₃ 1,0% (v/v) e d) 1,0 µg Cd L⁻¹ em HNO₃ 1,0% (v/v). **84**

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1: Especificações do óleo diesel e do biodiesel	30
Tabela 2: Alguns métodos analíticos que usaram planejamento fatorial	39
Tabela 3: Condições operacionais das fontes primárias de radiação	49
Tabela 4: Procedimento realizado para digestão do biodiesel usando microondas com radiação focalizada	50
Tabela 5: Seqüência do programa de recobrimento do atomizador com o modificador químico permanente W (OLIVEIRA, 2005)	52
Tabela 6: Programa de aquecimento empregado nos experimentos	54
Tabela 7: Fatores e níveis usados no planejamento fatorial	55
Tabela 8: Planejamento fatorial usado para a otimização das curvas de pirólise e de atomização	57
Tabela 9: Planejamento fatorial usado para Cd	57
Tabela 10: Amostras de biodiesel analisadas, origens e procedências.	57
Tabela 11: Preparo dos padrões monoelementares usando método das adições de analito para amostras de microemulsões	58
Tabela 12: Preparo dos padrões monoelementares usando método das adições de analito para amostras digeridas	60
Tabela 13: Procedimento otimizado realizado para digestão do biodiesel usando microondas com radiação focalizada	61
Tabela 14: Valores das temperaturas de pirólise (Ta) e atomização (Tp) encontradas para as amostras na forma de microemulsão, para os dois modificadores usados.	65
Tabela 15: Valores das temperaturas de pirólise (Ta) e atomização (Tp) encontradas para as amostras na forma de digestão, para os dois modificadores usados.	68
Tabela 16: Valores de absorvância para os analitos, usando o planejamento fatorial	70
Tabela 17: Valores de absorvância para o planejamento fatorial usado para o Cd	72
Tabela 18: Comparação dos valores das temperaturas de pirólise e atomização ótimas usando o procedimento univariado e	73

multivariado

Tabela 19:	Parâmetros analisados nas microemulsões	76
Tabela 20:	Concentrações de Ni e Cd obtidas na amostra, limites de detecção e de quantificação encontrado para as amostras	81
Tabela 21:	Recuperações ($n=3$) e desvios padrão relativos referentes a amostras de biodiesel, utilizando W como modificadores preparadas com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ni e $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd	83
Tabela 22:	Concentrações de metais obtidas na amostra, limites de detecção e de quantificação encontrado para as curvas analíticas nas amostras e para o padrão aquoso	85
Tabela 31:	Recuperações ($n=3$) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de biodiesel, utilizando W como modificadores preparadas com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu, $15 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ni e $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd	86
Tabela 24:	Concentrações de Cd obtidas nas amostras, limites de detecção e de quantificação encontrado para as amostras usando os diferentes procedimentos de preparo de amostra	87
Tabela 25:	Características analíticas dos métodos propostos para a determinação de Cu, Pb, Ni e Cd em biodiesel empregando W e dois procedimentos de preparo de amostra	89

LISTA DE ABREVIÇÕES E ACRÔNIMOS

AAS -	Espectrometria de absorção atômica (das iniciais em inglês: <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>)
AES -	Espectrometria de emissão atômica (das iniciais em inglês: <i>Flame Atomic Emission Spectrometry</i>)
ANP-	Agência Nacional do Petróleo
B10	10% v/v de biodiesel em diesel
B10	10% v/v de biodiesel em diesel
BTX -	Benzeno, tolueno e xileno (das iniciais em inglês: <i>Benzene, toluene and xylene</i>)
EDL-	Lâmpadas de descarga sem eletrodos (das iniciais em inglês: <i>Electrodeless Discharge Lamp</i>)
ETAAS -	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (das iniciais em inglês: <i>Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i>)
ETV-	Vaporização eletrotérmica (das iniciais em inglês: <i>Electrothermal vaporization</i>)
FAAS -	Espectrometria de absorção atômica (das iniciais em inglês: <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)
GFAAS -	Espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (das iniciais em inglês: <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>)
HCL-	Lâmpada de catodo oco (das iniciais em inglês: <i>Hollow Cathode Lamp</i>)
HGA-	Aquecimento longitudinal (das iniciais em inglês: <i>Horizontal Graphite Atomizer</i>)
HPLC -	Cromatografia líquida de alta resolução (das iniciais em inglês: <i>High Perfomance Liquid Chromatography</i>)
HR- CS- GF-AAS-	Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite usando fonte contínua de alta resolução (das iniciais em inglês: <i>high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry</i>)
ICP-MS-	Espectrometria de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (das iniciais em inglês: <i>Inductively coupled plasma mass spectrometry</i>)

ICP-OES-	Espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (das iniciais em inglês: <i>Inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i>)
LOD-	Limite de detecção (das iniciais em inglês: <i>Limit of Detection</i>)
LOQ-	Limite de Quantificação (das iniciais em inglês: <i>Limit of Quantification</i>)
M _o -	Massa Característica
nd-	Não determinado
PCS-	Espectrometria de correlação por fóton (das iniciais em inglês: <i>Photon Correlation Spectroscopy</i>)
PF-	Planejamento Fatorial
RSD-	Desvio padrão relativo (das iniciais em inglês: <i>Relative Standard Deviation</i>)
sd-	Estimativa do desvio padrão
SEM-	Microscopia eletrônica de Varredura (das iniciais em inglês: <i>Scanning Electron Microscopy</i>)
Ta-	Temperatura de atomização
THGA-	Aquecimento transversal (das iniciais em inglês: <i>Transversely-Heated Graphite Atomize</i>)
Tp-	Temperatura de pirólise

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
2.1	Preparo de amostras	29
2.2	Espectrometria de Absorção Atômica	29
2.2.1	<i>Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite</i>	33
2.2.1.1	<i>Modificadores químicos em GFAAS</i>	35
2.3	Emprego de planejamento experimental na otimização de parâmetros analíticos para determinação de metais por AAS	37
2.4	Determinação de contaminantes inorgânicos em combustíveis	41
3	RELEVÂNCIA E OBJETIVOS	48
4	PARTE EXPERIMENTAL	49
4.1	Instrumentos e acessórios	49
4.2	Regentes, soluções e amostras	49
4.2.1	<i>Descontaminação e armazenamento</i>	50
4.3	Preparo das amostras	51
4.3.1	<i>Estudos preliminares</i>	51
4.3.1.1	<i>Digestão por via úmida com aquecimento térmico</i>	51
4.3.1.2	<i>Digestão por microondas com radiação focalizada</i>	51
4.3.1.3	<i>Preparação de microemulsões</i>	52
4.4	Preparo dos modificadores químicos	53
4.4.1	<i>Recobrimento do atomizador com o modificador permanente W</i>	53
4.5	Estudo do comportamento eletrotérmico	54
4.5.1	<i>Estudo do comportamento eletrotérmico para avaliação das temperaturas de pirólise e de atomização usando procedimento univariado</i>	55
4.5.1.1	<i>Curvas de pirólise e de atomização</i>	55

4.5.1.2	<i>Sinais transientes de absorbância</i>	56
4.5.2	<i>Uso do planejamento experimental para otimização das curvas de pirólise e de atomização</i>	56
4.5.2.1	<i>Avaliação do comportamento eletrotérmico dos analitos utilizando o planejamento experimental</i>	58
4.5.2.2	<i>Otimização das temperaturas de pirólise e de atomização para Cd</i>	58
4.5.2.3	<i>Sinais transientes de absorbância</i>	58
4.6	Otimização dos métodos	58
4.6.1	Otimização do procedimento de microemulsão	59
4.6.1.1	<i>Influência da massa de Triton X-100</i>	59
4.6.1.2	<i>Avaliação de algumas características físico-químicas das partículas</i>	59
4.6.1.3	<i>Influência do volume de amostra</i>	59
4.6.1.4	<i>Influência da matriz da amostra</i>	59
4.6.1.5	<i>Teste de adição e recuperação</i>	60
4.6.2	<i>Otimização do procedimento de digestão por via úmida em sistema de microondas com radiação focalizada</i>	61
4.6.2.1	<i>Influência do volume de amostra</i>	61
4.6.2.2	<i>Procedimento de calibração pelo método das adições de analito</i>	61
4.6.2.3	<i>Teste de adição e recuperação</i>	62
4.7	Características Analíticas	62
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1	Resultados preliminares do preparo de amostra	63
5.1.1	<i>Digestão por via úmida com aquecimento térmico</i>	63
5.1.2	<i>Digestão por microondas com radiação focalizada</i>	63
5.1.3	<i>Microemulsão</i>	63
5.2	Avaliação do comportamento eletrotérmico dos analitos usando procedimento univariado	64
5.2.1	<i>Curvas de temperatura de pirólise e de atomização usando procedimento univariado para as amostras na forma de microemulsão</i>	64

5.2.2	<i>Curvas de temperatura de pirólise e de atomização usando procedimento univariado para amostras digeridas em sistema de microondas com radiação focalizada</i>	67
5.3	<i>Avaliação do comportamento eletrotérmico usando planejamento experimental</i>	70
5.3.1	<i>Resultados da otimização das temperaturas de pirólise e de atomização usando planejamento experimental</i>	70
5.3.2	<i>Resultados da otimização das temperaturas de pirólise e de atomização usando um segundo planejamento experimental para Cd</i>	72
5.4	<i>Otimização do procedimento de microemulsão</i>	75
5.4.1	<i>Influência da massa de Triton X-100</i>	75
5.4.2	<i>Caracterização de alguns parâmetros físico-químicos</i>	76
5.4.3	<i>Influência do volume de injeção da amostra</i>	77
5.4.4	<i>Avaliação da influencia de padrões na determinação de metais</i>	79
5.4.5	<i>Determinação de Ni e Cd nas amostras de biodiesel pelo método das adições de analito</i>	81
5.4.6	<i>Teste de adição e recuperação</i>	82
5.5	<i>Otimização do procedimento de digestão por sistema de microondas com radiação focalizada</i>	83
5.5.1	<i>Influência do volume de injeção da amostra</i>	83
5.5.2	<i>Determinação de Cu, Pb, Ni e Cd nas amostras de biodiesel pelo método das adições de analito</i>	85
5.5.3	<i>Teste de adição e recuperação</i>	86
5.6	<i>Comparação do procedimento de microemulsão e do procedimento digestão por microondas com radiação focalizada.</i>	87
6	CONCLUSÃO	88
7	PERSPECTIVAS FUTURAS	90
	REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

A demanda de recursos energéticos pelos vários sistemas, tais como produção, transporte e conforto torna-se maior dia após dia, aumentando cada vez mais a dependência em relação ao petróleo e de seus derivados. Desta forma, muitos programas privados e governamentais têm estabelecido em vários países alternativas viáveis para a substituição de derivados do petróleo (SAINT'PIERRE; AUCÉLIO; CURTIUS, 2003). Assim teria-se uma redução da dependência de energia importada e de fonte não renovável, diminuição de alguns problemas ambientais causados pelos derivados do petróleo e o desenvolvimento de uma tecnologia alternativa na área de energia (OLIVEIRA, et al, 2002a).

O biodiesel apresenta-se como uma alternativa promissora para a substituição do petróleo, em primeiro lugar, pela redução qualitativa e quantitativa da emissão de alguns poluentes atmosféricos (AGARWAI, 2005; LÓPEZ, et al., 2005) e, em segundo lugar, como fonte estratégica de energia renovável em substituição ao óleo diesel e outros derivados do petróleo (CHAVES, et al., 2008b; JESUS; SILVA; VALE, 2008). Vários países vêm investindo na produção e viabilização comercial do biodiesel, por meio de unidades de produção com diferentes capacidades, distribuídas particularmente na Europa (França, Áustria, Alemanha, Bélgica, Reino Unido, Itália, Holanda, Finlândia e Suécia), na América do Norte (Estados Unidos) e na Ásia (Japão) (COSTA NETO, et al., 2000).

O biodiesel, também conhecido como diesel vegetal, é um combustível obtido de fontes renováveis, tais como, óleos vegetais e gorduras animais, por intermédio de processos químicos como o da transesterificação, esterificação ou do craqueamento térmico (ARZAMENDI, et al., 2008; CANAKCI; MONYEM, VAN GERPEN, 1999; MEHER; DHARMAGADDA; NAIK, 2006). A Figura 1 mostra a reação de transesterificação de triacilgliceróis (triglicerídeos), onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R', a cadeia carbônica do álcool reagente. Geralmente se usa NaOH ou KOH como catalisador da reação (WOODS; FRYER, 2007).

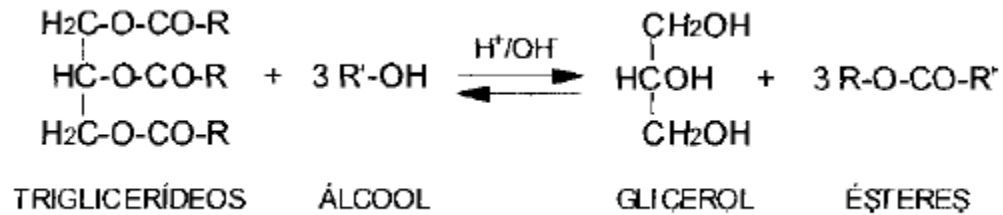


Figura 1. Transesterificação de triglicerídeos, onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R', a cadeia carbônica do álcool reagente (WOODS; FRYER, 2007).

Quimicamente o biodiesel é definido como um éster monoalquílico de ácidos graxos de cadeia longa com características físico-químicas semelhantes ao diesel mineral. Por ser perfeitamente miscível e físico-quimicamente semelhante ao óleo diesel mineral, o biodiesel pode ser utilizado puro ou misturado em quaisquer proporções com outro(s) solventes, em motores do ciclo diesel sem a necessidade de significantes ou onerosas adaptações (MA; HANNA, 1999; WOODS; FRYER, 2007). Além disto, várias publicações da literatura salienta algumas importantes características do biodiesel: (a) tem, ainda, preço de mercado relativamente superior ao diesel comercial (b) é livre de enxofre e aromáticos; (c) possui teor médio de oxigênio em torno de 11%; (d) possui maior viscosidade e maior ponto de fulgor que o diesel convencional; (e) possui vínculo de mercado específico, diretamente associado a atividades agrícolas e, finalmente (f) no caso do biodiesel de óleo de fritura, se caracteriza por um grande apelo ambiental (COSTA-NETO, et. al, 2000; FERRARI; OLIVEIRA; SCABIO, 2005; LÓPEZ, et. al, 2005; RAMADHAS; JAYARA; MURALEEDHARAN, 2004;).

Porém, dificilmente qualquer reação química, incluindo a transesterificação, consegue ser completa e por isso normalmente os produtos da reação (ésteres alquílicos) encontram-se contaminados com outros compostos. Entre os metais, os que têm sido especialmente controlados são Na e K, pois seus hidróxidos são empregados no processo de transesterificação como catalisadores. Estes elementos podem estar presentes como abrasivos sólidos ou como sabões solúveis e podem entupir várias partes da mecânica do veículo (CHAVES, et al., 2008b; JESUS; SILVA; VALE, 2008). Porém, outros contaminantes inorgânicos (tais como Cu, Pb, Cd, Zn, Ni etc) podem estar presentes em amostras de biodiesel devido à absorção de metais pela própria planta (matéria-prima) do solo, e/ou podem ser incorporados durante o processo de produção/estocagem (LOBO, et al., 2009; TAGLIABUE, et al.,

2006). O monitoramento quantitativo de elementos metálicos em amostras de combustíveis é de primordial importância em termos econômicos, não só para a indústria de combustíveis, mas também para vários outros setores da indústria e serviços. Uma das aplicações de maior importância é a determinação da concentração total ou o monitoramento da variação da concentração em função do tempo para certos elementos metálicos e semi-metálicos. Esse tipo de análise é vital para a manutenção de um controle de qualidade (GARCIA, et al., 1999). Um dos aspectos relevantes considerados é o fenômeno da corrosão existente na câmara de combustão de motores automotivos, que é provocada pelas altas temperaturas e pelos próprios combustíveis (AMORIM, et al., 2007; JESUS; SILVA; VALE, 2008; SANT`PIERRE, FRESCURA, AUCÉLIO, 2006). A desativação de catalisadores por envenenamento, incrustação ou transformações no estado sólido que acarretam uma diminuição na seletividade e perda da atividade catalítica também podem levar a prejuízos econômicos e ambientais (FIGUEIREDO; RIBEIRO, 1987; MEERAVALI; KUMAR, 2001; SANT`PIERRE, et al., 2004).

Por meio de um controle analítico eficiente dos teores de aditivos inorgânicos incidentais ou acidentais, é possível gerenciar, desde a produção até os pontos de distribuição, a qualidade dos combustíveis oferecidos ao consumidor (OLIVEIRA, 2002). No Brasil, a partir do dia 1º de julho de 2008 o percentual de mistura obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado em todo país vai aumentar de 2% para 3%. A decisão foi tomada pelo Conselho Nacional de Política Energética (CNPE). Apesar que biodiesel de diferentes origens já estejam sendo utilizados em veículos automotores, ainda há poucos artigos publicados na literatura e não há na legislação vigente uma normatização adequada para o controle de sua qualidade, em relação a metais como Cu, Pb, Ni e Cd. Desta forma, é importante o desenvolvimento de procedimentos de preparo de amostras e de determinação destes metais em amostras de biodiesel de diferentes origens.

Assim o objetivo principal deste trabalho foi desenvolver procedimentos analíticos para determinação dos metais Cu, Pb, Ni e Cd em amostras de biodiesel por GFAAS.

Para atingir este objetivo, utilizou-se (a) os métodos univariado e multivariado para avaliar as melhores condições experimentais em GFAAS; b) analisou-se o comportamento eletrotérmico dos analitos nas amostras de biodiesel, utilizando-se diferentes modificadores químicos; c) estudou-se a influência do

preparo de amostras de biodiesel por microemulsão e por digestão por via úmida em sistema de microondas com radiação focalizada; d) aplicou-se os métodos analíticos desenvolvidos para quantificação das espécies em amostras de biodiesel de diferentes origens.

Alguns dos principais resultados obtidos neste trabalho já foram publicados no periódico Fuel (Impact Factor: 1,829), o qual encontra-se em anexo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Preparo de amostras

A determinação de elementos metálicos e não-metálicos é de grande importância para o controle de qualidade não apenas de combustíveis, mas para diversos tipos de amostras, por exemplo, alimentos, amostras ambientais, amostras biológicas, etc. O objetivo do preparo de amostras é disponibilizar a espécie de interesse para uma futura determinação analítica, e pode envolver diversas etapas, muitas vezes, sujeitas a problemas, tais como perdas de analito, contaminação, decomposição parcial de compostos orgânicos, entre outros. Deste modo, o procedimento de preparo de amostras deve ser adequado de maneira a prevenir estes problemas, visto que é considerada a etapa mais complicada da análise (OLIVEIRA, 2003; KORN, et al., 2007).

As principais razões do pré-tratamento são baseadas na necessidade de algumas etapas tais como secagem, armazenamento, esterilização, homogeneização, filtração, extração, decomposição e dissolução das amostras. A decomposição é citada, habitualmente, como a etapa mais importante, embora as outras também sejam relevantes e sujeitas a erros. Diversas técnicas têm sido disponibilizadas, entretanto, não há regras definidas e gerais que possam ser adaptadas para todas as espécies e/ou amostras (OLIVEIRA, 2003; HARRIS, 2001).

Algumas características físico-químicas do biodiesel e do óleo diesel, são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1: Especificações do óleo diesel e do biodiesel

Características	Biodiesel*	Óleo Diesel
Densidade 15°C (kg/m ³)	0,849	0,888
Ponto inicial de destilação (°C)	189	307
10%	220	319
20%	234	328
50%	263	333
70%	286	335
80%	299	337
90%	317	340
Ponto final de destilação (°C)	349	342
Aromáticos (% v/v)	31,5	Nd
Carbono (%)	86,0	77,4
Hidrogênio (%)	13,4	12,0
Oxigênio (%)	0,0	11,2
Enxofre (%)	0,3	0,03
Índice de cetano	46,1	44,6
Número de cetano	46,2	50,8
Valor calórico (MJ/Kg)	42,30	37,50

*Biodiesel de óleo de fritura, no qual apresenta características bastante semelhantes ao biodiesel de origem de óleos “novos” (dados apresentados em Costa Neto et al. 2000)

Observando a Tabela 1, o biodiesel de óleos de fritura apresenta características bastante semelhantes às do óleo diesel convencional. Desta forma, os vários procedimentos de preparo de amostras empregados na determinação de metais em combustíveis como óleo diesel podem ser utilizados a princípio, também para biodiesel.

Todos os métodos citados na literatura para a análise de metais em combustíveis exibem vantagens e desvantagens e dentre os fatores que devem ser considerados são: a técnica analítica empregada, a natureza da amostra, o analito e sua concentração, o grau de exatidão e precisão requeridos, a disponibilidade de equipamentos, materiais e reagentes, e o custo da análise propriamente dita (KORN, et al., 2007).

Na maioria dos casos, a análise direta de combustíveis é uma tarefa difícil devido a sua volatilidade, baixa viscosidade, corrosividade e imiscibilidade em água e poucos trabalhos são mostrados na literatura (OLIVEIRA, et al., 2002c). Assim, vários procedimentos de pré-tratamento têm sido empregados para análise de combustíveis, dentre eles: diluição com solventes orgânicos, extração do analito, oxidação, mineralização e preparação de emulsão/microemulsão (KORN, et al., 2007).

As normas Brasileiras da ANP (Agência Nacional do Petróleo) para controle de qualidade de amostras de Biodiesel, NBR 15554 e NBR 15555², baseiam nas normas Britânicas (EN14108, EN14109) para a determinação de Na e K, respectivamente (AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS, 2009). Tais normas usam diluição com solventes orgânicos (xileno, ciclohexano ou outros produtos derivados do petróleo) para preparo de amostra. Apesar da simplicidade, este procedimento tem vários inconvenientes, como: baixa estabilidade do analito no padrão ou na amostra, alguns solventes são imiscíveis em água, outros são altamente voláteis, as curvas de calibração são preparadas com padrões organometálicos de alto custo, alguns solventes tem alto grau de periculosidade, com efeitos carcinogênicos, exigindo equipamentos de segurança para o laboratório e para o analista (JESUS; SILVA; VALE, 2008; SANTOS, et al., 2007).

A extração de analito é outro procedimento que combina a vantagem de separação do analito da matriz, transferindo-o para fase aquosa e proporcionando paralelamente uma pré-concentração. Porém, apresenta algumas desvantagens, como por exemplo, necessidade de grande volume de amostra e a possível adsorção do analito nas paredes do recipiente (LIANG, et al., 1996).

A conversão dos compostos organometálicos dos combustíveis numa forma inorgânica por adição de uma solução oxidante é um procedimento interessante, pois elimina a incompatibilidade das amostras orgânicas em relação a soluções preparadas com padrões aquosos (KORN, et al., 2007).

Dentre os procedimentos que envolvem a completa mineralização dos constituintes orgânicos, a decomposição por via seca ou calcinação é o procedimento mais rigoroso e também o mais barato, porém há grande risco de contaminação e/ou perda de analito por volatilização de compostos, além de baixa frequência analítica. Para analitos como Na este procedimento pode ser considerado eficiente (OLIVEIRA, et al., 2009). Outro procedimento de mineralização é a digestão por via úmida, que pode ser feita em blocos digestores (aquecimento térmico) ou assistida por microondas (esta é considerada mais eficiente que o procedimento usando aquecimento térmico) (KORN, et al., 2007).

² Normas dentro da Resolução ANP, nº 7, de 19.3.2008 - DOU 20.3.2008.

Uma alternativa para introdução de amostra sem prévia destruição da matéria orgânica, com eficiente estabilização de metais traços em soluções orgânicas é o sistema de emulsão / microemulsão. Uma microemulsão, como mostrado na Figura 2, é definida como agregados esféricos de óleo (ou água) dispersos em um sistema de água (ou óleo) e estabilizados por um filme interfacial de um surfactante (moléculas de detergente) (OLIVEIRA, et al., 2004).

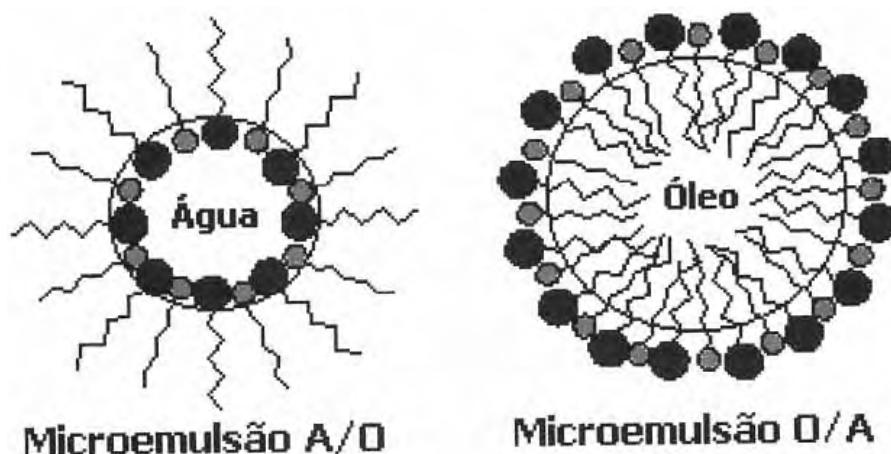


Figura 2: Estrutura das microemulsões (OLIVEIRA, et al., 2004).

As microemulsões possuem algumas características importantes tais como: são espontâneas e imediatamente formadas, estáveis, transparentes, isotrópica e com baixa viscosidade (REYES; CAMPOS, 2005). Além das características físico-químicas, o tamanho das gotas formadas é um diferencial entre emulsão e microemulsão. Enquanto as microemulsões são geralmente caracterizadas como agregados esféricos, com diâmetros menores que 1400 Å, tipicamente da ordem de 100 Å, as emulsões possuem gotículas de tamanho relativamente grande 1-10 µm (OLIVEIRA, et al., 2004). Nos últimos anos tem crescido significativamente, o uso destes sistemas para analisar combustíveis (CHAVES, et al., 2008a; CHAVES, et al., 2008b; JESUS; SILVA; VALE, 2008; LOBO, et al., 2009; SANT`PIERRE, et al., 2002; SANT`PIERRE, et al., 2004).

2.2 Espectrometria de Absorção Atômica

A espectrometria de absorção atômica (AAS) pode ser empregada na determinação quantitativa de muitos elementos (metais e semi-metais) em uma variedade de amostras alimentícias, biológicas, ambientais, geológicas, entre outras. A técnica apresenta ampla aplicação para diferentes elementos (cerca de 70), além da robustez, a AAS apresenta sensibilidade adequada para determinar traços de

elementos na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ ou mesmo ng L^{-1} com boa exatidão e precisão (WELZ; SPERLING, 1999).

O princípio da técnica baseia-se na absorção de radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte de radiação, por átomos gasosos no estado fundamental. O processo de formação de átomos gasosos no estado fundamental, denominado atomização, pode ser obtido via chama, via eletrotérmica, ou por reação química específica, como a geração de vapor frio de Hg. Atomizadores eletrotérmicos compreendem principalmente os tubos de grafite, filamento de tungstênio e tubos de quartzo (para a geração de hidretos). A espectrometria de absorção atômica é uma técnica que apresenta alta seletividade e relativamente poucas interferências, uma vez que as transições eletrônicas ocorrem em comprimentos de onda específicos para cada elemento. Nesta técnica são empregadas fontes de radiação específicas produzidas com o próprio elemento a ser determinado. As fontes de radiação comumente empregadas são as lâmpadas de cátodo oco (HCL) ou lâmpadas de descarga sem eletrodos (EDL).

2.2.1 Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS)

Dentre as várias técnicas espectrométricas disponíveis para a determinação de elementos-traço [espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS), espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS), espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICPOES) e espectrometria de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICPMS)], a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite é amplamente utilizada em análises de rotina em função de vários fatores: a) requer pequenos volumes de amostra; b) o atomizador age como reator químico, sendo possível análise sem prévia decomposição de certas amostras; c) consegue baixos LOD; d) tem caráter multielementar; e) rapidez; f) baixo custo operacional relativo e g) espectro simples (JACKSON, 1999; WELZ; SCHLEMMER; MUDAKAVI, 1992).

A amostra é introduzida no tubo de grafite através de um orifício no tubo, por meio de uma micropipeta ou de um amostrador automático. A amostra pode ser dispensada diretamente na parede do tubo ou sobre uma plataforma de L'vov ajustada na parte interior do tubo. Há diferentes configurações de tubos de grafite, sendo os de aquecimento transversal (THGA) ou longitudinal (HGA) os mais

comuns.

Uma vez injetada no tubo de grafite, a amostra é submetida a um programa de aquecimento (BUTCHER; SNEDDON, 1998). Geralmente o programa quatro cinco etapas básicas:

Secagem: Nesta etapa o solvente é evaporado lentamente da amostra de maneira controlada, para evitar respingos e perda do analito, formação de picos duplos e irregulares, que podem levar a imprecisão dos resultados (OLIVEIRA, 2005). Inicialmente, é recomendável otimizar a seqüência de secagem sem o uso do sistema de extração, observando-se a condensação do vapor do solvente em um pequeno espelho ou pela web cam, dependendo do equipamento. O vapor do solvente deve condensar regularmente e é importante que nenhum vapor seja observado 5-10 s antes do final da secagem (BUTCHER; SNEDDON, 1998).

Pirólise: O objetivo da pirólise é remover a matriz tanto quanto possível antes da atomização, diminuindo a possibilidade de interferência e reduzindo a magnitude do sinal de fundo. Essa etapa é particularmente crítica na determinação de elementos voláteis, como Hg, As, Se, Cd e Pb, que podem ser parcial ou totalmente volatilizados junto com a matriz. O tempo e a temperatura de pirólise devem ser controlados de tal forma que se elimine ao máximo os componentes da matriz sem perdas do analito, ou seja, são determinados pelas estabilidades térmicas relativas do analito e da matriz. O tempo de pirólise deve ser suficientemente longo para permitir que o sinal de fundo retome a linha base antes da atomização. Modificadores químicos costumam ser empregados para a estabilização do analito em elevadas temperaturas, tornando a matriz mais volátil para uma etapa de pirólise mais efetiva, sem perdas do sinal de absorbância integrada (BUTCHER; SNEDDON, 1998).

Atomização: Considerada uma das etapas mais importante, é onde ocorre a formação de átomos gasosos no estado fundamental no interior do tubo de grafite, absorvendo parte da radiação proveniente da fonte. Em seguida, é feita a leitura e a integração da absorbância. A temperatura selecionada nessa etapa deve ser aquela que garanta a máxima atomização do analito e a formação de sinais transientes típicos e repetitivos. Uma velocidade de aquecimento rápida e uma baixa temperatura de atomização são desejáveis a fim de prolongar o tempo de vida útil do tubo (BUTCHER; SNEDDON, 1998).

Limpeza: A limpeza é feita elevando a temperatura do atomizador até um valor alto por um curto período de tempo, para eliminar qualquer resíduo que tenha permanecido no tubo. O resfriamento é feito para garantir que a plataforma esteja à temperatura ambiente antes da introdução de uma nova amostra (HARRIS, 2001).

Para cada etapa, é utilizada uma rampa de aquecimento e um tempo de permanência. A rampa é a elevação gradual e controlada de temperatura entre duas etapas em um programa de aquecimento do forno e a permanência é o tempo em que o forno mantém determinada temperatura (WELZ; SPERLING, 1999).

Durante todo o programa de temperatura, a atmosfera é inerte e é obtida por dois fluxos independentes de um gás inerte, geralmente argônio. O fluxo externo passa ao redor do tubo de grafite protegendo-o da degradação a altas temperaturas por contato com oxigênio da atmosfera, enquanto que o fluxo interno elimina o ar e carrega vapores da matriz da amostra durante todo o programa, exceto na etapa de atomização. Durante a atomização, o fluxo interno de gás é interrompido e o tubo de grafite é aquecido rapidamente até uma temperatura suficientemente elevada para que o analito seja atomizado. Os átomos vaporizados absorvem a radiação que passa por dentro do tubo e a intensidade da radiação transmitida é medida (LAJUNEN, 1992; WELZ; SPERLING, 1999).

Esse acoplamento proporciona sensibilidade muito maior do que quando se emprega a chama, pois a maior parte do analito que é introduzida no tubo de grafite é atomizada no caminho óptico, enquanto que na chama, que é um sistema dinâmico, a maior parte da amostra aspirada ($\approx 95\%$) é descartada pelo dreno do nebulizador, e o tempo de permanência dos átomos do caminho óptico é muito menor (HARRIS, 2001).

2.2.1.1 Modificadores químicos em GFAAS

O termo “modificador de matriz” foi introduzido na espectrometria de absorção atômica em forno de grafite em 1975 por EDIGER (EDIGER, 1975). O uso de modificadores químicos nas análises por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite é, na maioria das vezes, uma condição essencial para reduzir ou eliminar a volatilização do elemento de interesse e interferências na fase vapor (WELZ; SPERLING, 1999). O modificador químico converte o analito em uma forma menos volátil, permitindo maiores temperaturas de pirólise e/ou converte os concomitantes em uma forma mais volátil, promovendo a separação analito-matriz.

Algumas características são imprescindíveis para um elemento químico atuar como modificador, tais como (FRESCHI, 2005; VOLYNSKY, 1998):

- O modificador deve ser aplicável a um grande número de analitos, contribuindo para uma maior simplicidade e rapidez na determinação;
- O modificador deve ser encontrado em uma forma altamente pura e não deve conter concentrações mensuráveis do analito;
- Em muitos casos é desejável que o elemento seja refratário ou forme compostos refratários;
- Preferivelmente, o modificador não deve reduzir a vida útil do tubo de grafite;
- O modificador não deve produzir atenuação de fundo próxima ao comprimento de onda do elemento de interesse;

2.2.1.1.1 Modificadores convencionais

Diversas substâncias vêm sendo utilizadas como modificadores químicos, porém a mistura $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ficou conhecida no começo dos anos 90 como “modificador universal”, por apresentar um bom desempenho para cerca de 21 elementos determinados por GFAAS (WELZ; SCHLEMMER; MUDAKAVI, 1992).

Em 1991, Qiao e Jackson apresentaram uma proposta de mecanismo físico de modificação por paládio quando soluções aquosas eram analisadas. O paládio (tipicamente $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$) é reduzido a Pd metálico durante a etapa de pirólise; em seguida, o analito se deposita na superfície do Pd e é difundido no mesmo após sua fusão, formando assim uma liga que estabiliza o analito a temperaturas de pirólise mais elevadas. A liberação do analito do paládio fundido é limitada pela velocidade de difusão do analito para fora da gota de paládio. Estudos de superfície dos tubos de grafite por microscopia eletrônica de varredura (SEM – *scanning electron microscopy*) indicaram que a utilização apenas de Pd como modificador produziu grandes gotas fundidas de Pd, e uma difusão lenta do analito dessas gotas produziu sinais de absorvância temporalmente atrasados e mais largos. Quando misturado com magnésio, o paládio distribuiu-se mais uniformemente sobre a superfície do tubo de grafite, ao contrário do observado quando somente paládio era utilizado como modificador (acúmulo nas extremidades do tubo), o que levou a produção de gotas menores de Pd fundido, resultando em sinais de absorvância temporalmente mais estreitos devido à difusão mais rápida do analito.

2.2.1.1.2 Modificadores permanentes

A solução do modificador químico também pode ser introduzida no tubo de grafite, e submetida a um tratamento térmico adequado, promovendo a modificação da superfície gráfitica para posterior amostragem da solução (ou suspensão) a ser analisada. Nesses casos, a modificação da superfície do tubo deve ocorrer antes de cada amostragem, se o elemento a ser determinado necessitar de altas temperaturas de atomização, o que provocaria a volatilização do modificador (MOREIRA; PIVETTA, 1998). Se a temperatura de atomização utilizada for menor do que a temperatura de vaporização do modificador, diversas amostragens podem ser feitas com uma única modificação do tubo de grafite, tornando possível a execução de vários ciclos de aquecimento antes que um outro procedimento seja efetuado. Nesse caso, o modificador é considerado permanente (WELZ; SCHLEMMER; MUDAKAVI, 1992).

Os modificadores permanentes oferecem uma melhor possibilidade para o controle de algumas limitações causadas pelos modificadores usuais. As análises são mais rápidas; durante a deposição do modificador na superfície do tubo de grafite as impurezas voláteis do modificador podem ser eliminadas, diminuindo os limites de detecção; entre outros (TSALEV, et al., 2000).

2.3 Emprego de planejamento experimental na otimização de parâmetros analíticos para determinação de metais por AAS

Em diversos segmentos da química o uso de recursos computacionais para analisar dados químicos aumentou muito nos últimos anos. Na área de química analítica a aquisição de dados atingiu um ponto bastante sofisticado, devido ao aumento da quantidade dos dados analíticos gerados. O interfaceamento dos instrumentos de análise aos computadores, produz uma enorme quantidade de informação, muitas vezes complexa e variada. Para uma melhor compreensão dos dados geralmente usa-se ferramentas estatísticas, como o planejamento fatorial (PF).

O PF é uma ferramenta importante e simples e tem sido bastante empregada ou explorada em espectrometria atômica na última década. Consiste na avaliação da influência de variáveis e das interações entre elas para entender melhor os

processos que estão sendo monitorados em um determinado sistema. Nesta etapa de triagem, ou seja, de definir as variáveis que influenciam na resposta do sistema e são importantes, usa-se geralmente planejamentos fatoriais completos e fracionários. O PF completo é muito útil para estudos preliminares e para os primeiros passos de uma otimização, enquanto modelos fracionários são usados quando a otimização envolve um grande número de fatores. Gráficos de pareto, gráfico de valores dos efeitos e gráficos de valores especiais são os mais empregados nesta etapa (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Após a realização dos experimentos de triagem, os fatores significativos são selecionados e uma metodologia de análise de superfícies de respostas pode ser executada para otimização do experimento. Neste sentido, otimizar significa encontrar os valores das variáveis que irão produzir a melhor resposta desejada, isto é, encontrar a região ótima na superfície definida pelos fatores. A metodologia de superfície de resposta baseia-se na construção de modelos matemáticos empíricos que geralmente empregam funções polinomiais lineares ou quadráticas para descrever o sistema estudado e, conseqüentemente, dão condições de avaliar o sistema até sua otimização (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Na literatura, alguns trabalhos utilizaram o planejamento experimental para otimização de alguns parâmetros analíticos em espectrometria de absorção atômica. A Tabela 2, mostra uma revisão bibliográfica dos trabalhos mais recentes e interessantes.

Tabela 2: Alguns métodos analíticos que usaram planejamento fatorial

Técnica	Analito	Tipo de Planejamento	Referência
FAAS	Cu	Superfície de Resposta	CRUZ, et al., 1995
GFAAS	Cd	Planejamento Fatorial fracionado	ARAÚJO et al.,(1995)
HGAAS	Ge	Planejamento Fatorial completo	HILLIGSOE; HANSEN, 1997
FAAS	Cu, Cr, Ni, Pb e Zn	Planejamento fatorial fracionado Plackett-Burman	LAVILLA; PEREZ-CID; BENDICHO, 1998
HGAAS	Sn	Planejamento fatorial fracionado	MARTIN-GARCIA, et al., 1999
HGAAS	Hg	Planejamento Fatorial completo	IZGI; DEMIR; GUCER, 2000
GFAAS	Sn	Planejamento Fatorial completo e Planejamento Composto central	ARAMBARRI; GARCIA; MILLAN, 2000
GFAAS	Pb e Cd	Planejamento fatorial fracionado	AMOEDO, et al., 2002
GFAAS	Cd, Pb, Al e Mo	Planejamento fatorial mais ponto central e planejamento em estrela	PEREIRA-FILHO; POPPI; ARRUDA, 2002
GFAAS	Cd	Planejamento fatorial fracionado	HERNÁNDEZ-CARABALHO; BURGUERA; BURGUERA, 2004
FAAS	Mn	Planejamento Fatorial completo	FERREIRA; KORN; FERREIRA, 2004
FAAS	Cd	Planejamento Fatorial completo e Planejamento Box-Behnken	SOUZA; SANTOS; FERREIRA, 2005
TSFFAAS	Cu	Planejamento Fatorial completo	TARLEY; FIGUEIREDO; MATOS, 2005
FAAS	Ni	Planejamento fatorial fracionado	HASHEMI; RAHMANI, 2006
FICVAAS	Hg	Planejamento Fatorial completo	CAPELO; MADURO; MOTA, 2006
FAAS	Cr	Planejamento Fatorial completo	GÓMEZ; PASAMONTES; CALLAO, 2006

HGAAS	As	Planejamento Fatorial completo	TRINDADE, et al., 2006
GFAAS	Al	Planejamento Fatorial completo mais ponto central	AMORIM, et al., 2006
GFAAS	Mn	Planejamento Fatorial completo mais ponto central	SILVEIRA, et al., 2007
GFAAS	Pb	Planejamento Fatorial completo	DIAS, et al., 2007
FAAS	Cu, Fe, Mn e Mn	Superfície de Resposta (Doehlert)	SORIANO; NETTO; CASSELA, 2007
HGAAS	Hg	Planejamento Fatorial completo	FERRUA, et al., 2007
FAAS	Pb	Planejamento Fatorial completo e Superfície de Resposta (Doehlert)	BARBOSA, et al., 2007
FAAS	Zn	Planejamento Fatorial completo e Superfície de Resposta (Doehlert)	CARLETTO, et al., 2008
GFAAS	As, Cd e Pb	Planejamento Fatorial completo e Planejamento Ponto Central	SANTOS; GONÇALVES; JACOB, 2008
GFAAS	Sb	Planejamento fatorial fracionado	PENA-PEREIRA; LAVILLA; BENDICHO, 2009
GFAAS	Mn	Planejamento fatorial fracionado	LARA, et al., 2009

Observando a Tabela 2, verifica-se portanto, a grande utilização da otimização multivariada para um melhor entendimento dos procedimentos em AAS.

2.4 Determinação de contaminantes inorgânicos em combustíveis

Na literatura, vários trabalhos utilizaram as técnicas espectroanalíticas para a determinação de contaminantes inorgânicos em combustíveis. A seguir, uma revisão bibliográfica de alguns trabalhos publicados no últimos 15 anos é apresentada.

Platteau e Carrillo (1995) determinaram V, Ni, Fe, Mg em óleo cru por espectrometria de absorção atômica em chama e Na por espectrometria de emissão atômica. O procedimento de preparo de amostras baseou-se na incineração e as recuperações de elementos variaram entre 95,8 a 104,3%, com desvios padrão relativos inferiores a 4%. A espectrometria de absorção atômica em forno de grafite foi usada por Liu, Sturgeon e Willie (1995) para determinação de 15 metais em amostras de óleo e tecidos que continham grande quantidade de matéria orgânica usando digestão por radiação microondas. Foi usado o procedimento de digestão por microondas com radiação com radiação focalizada para a digestão das amostras. Os resultados mostraram que a eficiência das digestões aumentaram, com o aumento do tempo de digestão e com a massa de amostra. O mínimo valor de recuperação encontrado foi 94,5% para Sr, com uma média de 99% para a digestão feita usando HNO_3 como oxidante e 97% com a mistura oxidante de H_2SO_4 .

Em 1996, Betinelli et al. determinaram As, Se, Hg, Ni, V e Pb em óleos combustíveis usando as técnicas espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, espectrometria de massas acoplada com plasma induzido, espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio e injeção em fluxo e espectrometria de massas com geração de vapor frio e injeção em fluxo. Os valores encontrados pelas várias técnicas foram concordantes com os valores de referência.

IANTCHEVA (1996) determinou Al e V por espectrometria de absorção atômica em chama em óleos combustíveis usados em navios. Liang, Horvat e Danilchik (1996) empregaram a espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio para a determinação de mercúrio em gasolina, querosene, diesel e óleo aquecido. Os valores de RSD foram $\leq 10\%$ para todas as amostras de gasolina, e $\leq 5\%$ para os materiais certificados. Em todas as amostras analisadas (gasolina e outros produtos do petróleo) a concentração de Hg foi abaixo de 1 ng / g).

Em 1997, Ni foi determinado em óleos combustíveis por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (MISSELWITZ; SENGUTTA, 1997). Usando pré-concentração em sílica modificada, Pesco, Campos e Costa (1997),

determinaram Cu, Zn e Cd em etanol por espectrometria de absorção atômica. Nas amostras de etanol foi encontrado Cu (com concentração entre 6,9 - 7,2 $\mu\text{g L}^{-1}$) e Zn (com concentração entre 1,0 - 2,4 $\mu\text{g L}^{-1}$). A sílica usada foi estável por muitos ciclos de adsorção-eluição.

Estanho foi determinado usando espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos em amostras de óleos lubrificantes. O preparo de amostra baseou-se na digestão por microondas e foi obtido RSD $\leq 2,3\%$ para 11 determinações em óleos lubrificantes contendo 30 ng g^{-1} de estanho (MARTINGARCIA, et al., 1999). Por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite empregando os modificadores químicos Pd e Pd/Mg, Kowalewska et al.(1999), determinaram Pb em frações destiladas de óleo cru combustível. Para 20 μL de amostra digerida em microondas, foi determinada uma massa característica de 11-12 pg de Pb e limite de detecção de 0,25 ng g^{-1} .

Zinco, Ca e Mg foram determinados em amostras de óleo de motor (de vários fornecedores) por espectrometria de absorção atômica em chama. Os valores de RSD encontrados foram $\leq 1,1$; 1,0; 1,8 para Zn, Ca e Mg, respectivamente (ZIĘBA-PALUS; KOŚCIELNIAK, 2000). Um procedimento de preparo de amostras de óleo residual de navio foi feito usando digestão assistida por microondas. Determinou-se 24 elementos (Ag, Al, As, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn, Sr, Ti, Tl, V, U, e Zn) por espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). Resultados mostraram boa concordância com os materiais certificados de óleos para 8 elementos analisados (Al, As, Co, Cr, Ni, Pb, V, Zn), com RSD $< 5\%$ para a maioria dos elementos (WONDIMU; GOESSLER; IRGOLIC, 2000)

Níquel e Vanádio foram determinados em óleos combustíveis e nafta por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite utilizando modificador permanente W-Ir (houve uma melhora na sensibilidade de 25-30%. Os limites de detecção encontrados foram de 0,002 e 0,006 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Ni e V, respectivamente para amostras de nafta e de 0,1 e 0,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Ni e V, respectivamente para amostras de óleo residual (MEERAVALI; KUMAR, 2001).

Um procedimento de determinação de Cu, Fe, Pb e Ni em gasolina foi feito usando preparo de amostra na forma de microemulsão e determinação por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. A mistura Pd + Mg foi adequada para a determinação de Fe e Pb, enquanto nenhum modificador foi usado

para Cu e Ni. Os LOD encontrados foram 0,4; 3,0; 0,8 e 1,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cu, Fe, Ni e Pb, respectivamente. As massas característica determinadas foram de 4,6; 1,8; 5,0 e 26 pg para Cu, Fe, Ni e Pb, respectivamente. (CAMPOS; SANTOS; GRINBERG, 2002).

A espectrometria de absorção atômica em forno de grafite foi usada para a determinação de Cd, Cr, Cu, Pb e Ni em amostras de gasolina e óleo diesel. Nenhum modificador foi usado. Massas característica encontradas foram de 0,8; 6,4; 12; 17 e 27 pg para Cd, Cr, Cu, Pb e Ni, respectivamente. Os LOD encontrados foram 0,13; 0,4; 0,9; 1,5; e 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd, Cr, Cu, Pb e Ni, respectivamente (ANSELMÍ; TITTARELLI; KATSKOV, 2002). Em 2002, Sant'Pierre et al. determinaram Cu, Mn, Ni e Sn em gasolina por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente. Para as 6 amostras analisadas preparadas na forma de emulsão, as concentrações dos analitos foram em torno de $\mu\text{g L}^{-1}$. Os LOD encontrados foram 0,22; 0,02; 0,38 e 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cu, Mn, Ni e Sn, respectivamente.

Por espectrometria de emissão atômica em chama, Na foi determinado em álcool etílico combustível utilizando-se o método das adições de analito. Foram analisadas 20 amostras comerciais de álcool etílico hidratado combustível (AEHC). Os limites de detecção situam-se entre 0,0026 e 0,0239 mg L^{-1} . A porcentagem de recuperação variou entre 95 a 104 % e os desvios padrão relativos ($n=12$) foram $\leq 4,1$ % para as três adições de analito, nas 20 amostras de AEHC (OLIVEIRA, et al., 2002c). Alumínio, As, Cu, Fe, Mn e Ni foram determinados direta e simultaneamente por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite utilizando o modificador permanente W-Rh e a plataforma pré-tratada com modificador permanente W-Rh seguida de co-injeção do modificador Pd+Mg em amostras de álcool etílico combustível (OLIVEIRA, et al., 2002a; OLIVEIRA, et al., 2002b).

Em 2003, As, Cu, Fe, Pb, Sb e Sn foram determinados em álcool etílico combustível por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Bons valores de recuperação foram encontrados, com $\text{RSD} \leq 10\%$ e limites de detecção na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ (SANT'PIERRE, et al., 2003). Arsênio, Cd e Pb foram determinados em ácido e etanol por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite usando Ir e Rh como modificadores permanentes. Os valores de RSD

foram $\leq 10\%$ para todas as amostras, incluindo etanol e metanol (GIACOMELLI, et al., 2004).

Um método usando emulsão como preparo de amostra foi feito para determinação de Cd, Cu, Fe, Pb e Tl em gasolina por espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e ainda acoplado com vaporização eletrotérmica (ETV). Os limites de detecção para os analitos foram $\leq 5 \mu\text{g L}^{-1}$. Resultados foram comparados e concordaram com os obtidos usando GFAAS (SANT'PIERRE, et al., 2004).

Microemulsão foi usada como preparo de amostra de nafta para a determinação de As e Sb por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Os valores de RSD encontrados foram menores que 4,6% ($20 \mu\text{g L}^{-1}$) e o LOD encontrado foi de $2,7 \mu\text{g L}^{-1}$ para As. Para Sb foram obtidos valores de RSD menores que 4,0% ($20 \mu\text{g L}^{-1}$) e LOD de $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ (CASSELLA, et al., 2004). Vale et al. (2004) determinaram Ni em óleo cru por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite usando fonte contínua de alta resolução (HR-CS- GF-AAS). Massas característica de 27 mg e LOD ao redor de $0,07 \mu\text{g g}^{-1}$ foram encontrados. A exatidão do método foi avaliada usando material certificado e os valores concordaram em 95 %.

Vanádio foi determinado em amostras de diesel e asfalto, preparadas na forma de microemulsão, por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Intervalo linear até $200 \mu\text{g L}^{-1}$ foi observado, bem como LOD de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $4 \mu\text{g g}^{-1}$ para diesel e asfalto, respectivamente (AUCÉLIO, et al., 2004).

Por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, Si foi determinado de em nafta. Um limite de detecção de $15 \mu\text{g L}^{-1}$ e uma massa característica de 143 pg foram encontrados. A precisão, expressa como desvio padrão relativo, foi de 8 e 11,4% para 100 e $50 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (AMARO; FERREIRA, 2004). Cobre, Co e Pb foram determinados em gasolina por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Foi usado sistema de três componentes (gasolina-etanol-água) para injeção da amostra, sendo que os LOD encontrados foram 1,5; 2,5; e $4,0 \mu\text{g Kg}^{-1}$ para Co, Cu e Pb, respectivamente (OZEAN; AKMAN, 2005). Diferentes modificadores foram usados em GFAAS para a determinação de Ni e Pb em amostras de gasolina preparadas na forma de microemulsão. A mistura (Pd + Mg), assim como Ir como modificadores foram eficientes na estabilização do Pb, porém para Ni foi necessário otimização

cuidadosa. LOD foram determinados, sendo 4,5 e 3,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Ni e Pb, respectivamente (REYES; CAMPOS, 2005). Por espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) acoplado com vaporização em forno de grafite (ETV), Ag, Cd, Cu, Pb e Tl foram determinados em álcool combustível (SANT'PIERRE; FRESCURA; CURTIUS, 2006).

Lepri et al. (2006) desenvolveram um método para a determinação da concentração total de V e da concentração de V estável termicamente em óleo cru por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite usando fonte contínua de alta resolução (HR-CS- GF-AAS), sem uma separação prévia da amostra. A determinação da concentração de vanádio volátil foi calculada pela diferença. Os limites de detecção e quantificação encontrados foram 0,04 e 0,12 mg kg^{-1} de V, respectivamente. A precisão foi menor que 4% para 3 mg kg^{-1} e 1,5% para 30 mg kg^{-1} .

Molibdênio, Cd, Ti, Ni, V, Fe, Mn, Cr e Co foram determinados em óleo cru usando espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), sendo as amostras introduzidas na forma de microemulsão. Escândio foi usado como padrão interno para minimizar efeitos de matriz e flutuações de sinais. Os limites de detecção situaram-se na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ para todos os elementos e o método a foi testado através de material de referência. Foram obtidas recuperações entre 97,9 e 103,8% e precisão menor que 4% (SOUZA, et al., 2006).

Usando espectrometria de absorção atômica em forno de grafite com diferentes modificadores, Pb foi determinado em nafta e petróleo condensado usando um método de introdução direta e técnicas multivariada na otimização dos parâmetros. Um limite de detecção de 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ e uma massa característica de 35 pg foram obtidos em presença de Pd como modificador. A precisão foi expressa como RSD e foi de 1,5 e 0,8% para Pb com concentrações de 3,0 e 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. Este método foi aplicado para a determinação de Pb em três amostras de petróleo condensado e duas amostras de nafta. As concentrações encontradas para o petróleo condensado estiveram entre 2,7 e 5,7 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto para as amostras de nafta não foi possível detectar chumbo. (DIAS, et al., 2007). Ducyck et al. (2007) fizeram uma revisão sobre a determinação de metais traços em óleo cru e frações de alta massa molar por espectrometria atômica.

Korn et al. (2007) elaboraram uma revisão sobre a utilização de espectrometria de absorção atômica para a determinação de metais e metalóides em combustíveis automotivos. Um procedimento para a determinação de Cu, Fe e V em petróleo foi desenvolvido usando amostragem direta em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Os limites de detecção encontrados para as condições otimizadas foram 10, 200 e 800 pg para Cu, Fe e V, respectivamente. A precisão foi avaliada pela análise de materiais certificados, bem como por comparação com outros métodos. Soluções aquosas foram utilizadas e nenhuma diferença foi significativa entre os valores esperados e obtidos (BRANDÃO, et al., 2007). Dois procedimentos de preparo de amostra (microemulsão e digestão ácida) foram feitos para a determinação de V em amostras de óleos combustíveis. O primeiro foi baseado na preparação de microemulsão da amostra que é diretamente injetada no tubo de grafite. Para este procedimento obteve-se um limite de detecção de 0,10 $\mu\text{g g}^{-1}$ e uma massa característica de 87 pg. O outro método utilizou digestão da amostra com ácido sulfúrico, ácido nítrico e peróxido de hidrogênio. Para este procedimento, obteve-se um limite de detecção de 0,25 $\mu\text{g g}^{-1}$ e uma massa característica de 63 pg. A exatidão de ambos os métodos foi confirmada pela análise do material de referência certificado (AMORIM, et al., 2007).

Por espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS), determinaram-se 32 metais em amostras de biodiesel e biocombustíveis. O procedimento de preparo de amostra, no caso do biodiesel, baseou-se na diluição em querosene e no caso de biocombustíveis foi feita uma diluição de 3 vezes. Limites de detecção na ordem de $\mu\text{g Kg}^{-1}$ foram encontrados para todos os analitos (WOODS; FRYER, 2007).

Sódio e K foram determinados por espectrometria de absorção atômica em chama em amostras de biodiesel, usando microemulsão como preparo de amostra. Os limites de detecção encontrados foram 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 0,06 $\mu\text{g g}^{-1}$, assim como as massas características obtidas foram 25 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 28 $\mu\text{g g}^{-1}$, para sódio e potássio, respectivamente. O método proposto apresentou melhores limites de detecção e melhor precisão (0,4 -1,0%) quando comparada com a técnica diluição (1,5- 4,5%). A precisão do método foi avaliada através de testes adição e recuperação e comparação com os resultados obtidos pela técnica diluição. As recuperações variaram de 95% a 115% para biodiesel e 90% a 115% para o óleo vegetal amostras. Comparação entre os resultados obtidos para o biodiesel por ambos os

métodos não apresentou diferenças significativas no nível de confiança de 95% (JESUS; SILVA; VALE, 2008). Usando espectrometria de emissão atômica em chama, Na e K foram determinados em amostras de biodiesel injetadas na forma microemulsão. Foram comparadas as injeções contínuas e a injeção discreta, sendo esta última considerada melhor. Ambas apresentaram LOD ao redor de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$. A exatidão do método foi avaliada por meio de testes de recuperação, com resultados entre 83% e 120% e, por meio da comparação dos resultados obtidos por ICP OES. (CHAVES, et al., 2008b).

Li et al. (2008) determinaram Pb em amostras de diesel e biodiesel, estabilizadas na forma de microemulsão, por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. As recuperações situaram-se entre 81,8% e 109,0%. O desvio padrão relativo foi de 5,84%.

Um procedimento foi aplicado para a determinação de Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V em amostras de diesel e biodiesel preparadas na forma de microemulsão por espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) acoplado a vaporização eletrotérmica (ETV). A precisão do método foi verificada através da análise de material certificado de referência, testes de recuperação e comparação dos resultados com os obtidos por GFAAS. Os resultados concordaram com o teste t com nível de confiança de 95%. Os valores de RSD foram inferiores a 20% e as recuperações variaram entre 80 e 120%. Os valores de LOD foram da ordem de ng g^{-1} , demonstrando a boa precisão e sensibilidade do método (CHAVES, et al., 2008a). Decomposição a seco foi usada como preparo de amostra por Oliveira et al. (2009), para a determinação de Na em amostras de biodiesel por espectrometria de emissão atômica em chama (AES). Os limites de detecção e de quantificação foram 1,3 e $4,3 \text{ mg kg}^{-1}$ de biodiesel, respectivamente. A precisão foi verificada por meio de testes de adição e recuperação e variaram entre 93%-110%. Os desvios padrão relativos foram inferiores a 4,0% em todos os casos.

3 RELEVÂNCIA E OBJETIVOS

Embora, biodiesel de diferentes origens já estejam sendo utilizados em veículos automotores, ainda há poucos artigos relacionados na literatura e não há na legislação vigente uma normatização adequada para o controle de sua qualidade, em relação a metais como Cu, Pb, Ni e Cd. Desta forma, o desenvolvimento de procedimentos de preparo de amostras e de determinação destes metais em amostras de biodiesel de diferentes matrizes é importante. Assim, os objetivos geral e específicos deste trabalho foram:

Objetivo Geral

Desenvolver procedimentos analíticos para determinação de metais (Cu, Pb, Ni e Cd) em amostras de biodiesel por GFAAS.

Objetivos Específicos

- a) Utilizar o método univariado e multivariado para avaliar as condições experimentais iniciais em GFAAS;
- b) Analisar o comportamento eletrotérmico dos analitos nas amostras de biodiesel, utilizando-se diferentes modificadores químicos;
- c) Estudar a influência do preparo de amostras de biodiesel por microemulsão e por digestão por via úmida em sistema de microondas com radiação focalizada;
- d) Aplicação dos procedimentos analíticos desenvolvidos para quantificação das espécies em amostras reais de biodiesel de diferentes origens.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Instrumentos e acessórios

Os instrumentos utilizados foram um Espectrômetro de Absorção Atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (Varian AA240Z) com corretor de fundo Zeeman, e fornos de grafite com aquecimento longitudinal e plataforma integrada; fontes de radiação (lâmpadas) de catodo oco da Varian (a Tabela 3 cita os comprimentos de onda e as correntes das lâmpadas empregadas para cada analito); sistema desionizador de água Milli-Q Plus, Millipore®; micropipetas automáticas (Gilson), de vários volumes (fixos e variáveis); balança analítica Sartorius – 2432, com capacidade máxima de 200 g; agitador magnético com aquecimento (Nova Técnica); tubos descartáveis de polietileno (Corning); analisador de partículas Zeta plus (Brookhaven); destilador de ácido em quartzo (Tecnal); microondas com radiação com radiação focalizada - Rapid Digestion system (MX350) e o argônio 99,9% (White Martins, Brasil).

Tabela 3. Condições operacionais das fontes primárias de radiação.

Analito	Comprimento de onda, nm	Largura da fenda, nm	Corrente da lâmpada, mA
Cu	327,4	0,5	10
Pb	283,3	0,5	10
Ni	232,0	0,2	10
Cd	228,8	0,5	10

4.2 Reagentes, soluções e amostras

Todas as soluções foram preparadas em água desionizada de alta pureza (resistividade $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) obtida em sistema desionizador (Milli-Q Plus, Millipore®). Ácido nítrico (Synth 65% v/v) foi utilizado após *sub boiling* para o preparo das soluções analíticas de referência e das amostras. As soluções analíticas foram preparadas diariamente a partir das soluções estoque 1000 mg L^{-1} (Normex®, Carlo Erba) em 1,0% (v/v) HNO_3 destilado. Triton X-100 (Tedia) foi usado como surfactante. Peróxido de hidrogênio (Synth- PA, 29-32%) foi usado para ajudar na completa mineralização da amostras digeridas em microondas e o pentóxido de vanádio (Riedel-99,5% m/m) foi usado como catalisador na reação. As amostras de biodiesel foram obtidas de laboratórios de pesquisa em biodiesel de Curitiba (Paraná) e de Cuiabá (Mato Grosso) e de Posto de abastecimento do comércio de

Sorocaba (São Paulo). Segundo, os fornecedores do biodiesel, todas as amostras foram obtidas através do processo de transesterificação, preparadas utilizando rota etanólica e NaOH como catalisador. Para a amostra B10 (10% v/v de biodiesel em diesel) obtida de um posto de abastecimento de Sorocaba, infelizmente informações adicionais não foram fornecidas. As características das amostras e suas respectivas denominações são mostradas no Tabela 4:

Tabela 4: Amostras de biodiesel analisadas, origens e procedências.

Amostras	Origem	Procedência
A ₁	Soja	Curitiba, PR
A ₂	Soja	Cuiabá, MT
A ₃	Gordura Animal pura (sebo bovino)	Cuiabá, MT
A ₄	Gordura Animal sem lavagem (misturas de sebos)	Cuiabá, MT
A ₅	Gordura Animal com processo de lavagem	Cuiabá, MT
A ₆	Girassol	Cuiabá, MT
A ₇	Algodão	Cuiabá, MT
A ₈	10% de biodiesel em diesel (B10)	Sorocaba, SP

4.2.1 Descontaminação e armazenamento

Todo o material necessário à realização dos experimentos, tais como balões volumétricos, frascos para armazenamento de soluções, copinhos do amostrador automático, entre outros utilizados no preparo de soluções, foram deixados imersos em solução 10% (v/v) HNO₃ e enxaguados abundantemente com água deionizada antes do uso. Todas as soluções foram armazenadas em frascos de vidro descontaminados e sob refrigeração.

4.3 Preparo das amostras

4.3.1 Estudos preliminares

Foram feitos alguns testes preliminares de preparo das amostras, como digestão por via úmida com aquecimento térmico, digestão por microondas com radiação focalizada (usando diferentes quantidades de reagentes e diferentes programas no microondas) e microemulsão (usando também diferentes preparos e quantidades de reagentes).

4.3.1.1 Digestão por via úmida com aquecimento térmico

a) A amostra de biodiesel foi digerida em sistema aberto, segundo o procedimento de digestão proposto por BETINELLI et al., 1996 modificado.

O método para digestão das amostras utilizou HNO_3 como ácido oxidante. Aproximadamente 0,5 g de amostra foram transferidos a tubos digestores; em seguida, adicionou-se 14 mL de HNO_3 destilado e 2,0 mL de H_2O_2 . Funis com haste curta e curva foram encaixados na boca dos tubos para favorecer o refluxo da solução. Levou-se ao aquecimento $\sim 110\text{ C}^\circ$ por 10h. A seguir, foram retirados os funis de refluxo.

b) O procedimento anterior foi realizado novamente, porém os reagentes oxidantes foram aquecidos, sendo a amostra adicionada nos reagentes aquecidos.

4.3.1.2 Digestão por microondas com radiação focalizada

A amostra de biodiesel de soja foi digerida em sistema de microondas com radiação focalizada, segundo o procedimento de digestão proposto por BETINELLI et al., 1996 modificado.

O método para digestão das amostras utilizou HNO_3 como oxidante. Aproximadamente 0,5 g de amostra foram transferidos a tubos digestores; em seguida, adicionou-se HNO_3 e H_2O_2 de acordo com valores mostrados na Tabela 5, no qual apresenta alguns procedimentos realizados.

Tabela 5: Procedimento utilizado para digestão do biodiesel usando microondas com radiação focalizada.

Procedimento	Potência (Watts)	Patamar (minutos)	Reagentes (mL)	
			HNO ₃	H ₂ O ₂
1	135	15	14	3
	180	30	-	3
	210	10	-	-
2	135	15	14	6
	180	30	-	3
	210	10	-	-
3	210	10	14	6
	210	20	-	-
	210	20	-	-
4*	210	10	14	6
	180	20		3
	210	20	4	3
5**	210	10		
	210	10	14	3
	210	20		
	210	10		-
	210	10	6	6

* O procedimento 4 foi realizado após 24h (overnight) da mistura da amostra, 14mL de HNO₃, 6 mL H₂O₂, e catalisador V₂O₅; ** No procedimento 5 foi adicionado o catalisador V₂O₅ antes do procedimento de digestão.

4.3.1.3 Preparação de microemulsões

A maioria das publicações apresentados na literatura, com relação ao preparo de sistemas de emulsão/microemulsão para combustíveis, utilizaram Triton X-100 como surfactante (CASSELA, et. al. 2004) e ácido nítrico (REYES; CAMPOS, 2005; JESUS, SILVA, VALE, 2008) para estabilizar o sistema.

a) Microemulsões foram preparadas segundo Meeravali e Kumar, 2001 modificado. Aproximadamente 4 mL de biodiesel foi transferido para um balão de 10 mL, adicionou-se 2 mL de Triton X -100 e em seguida completou-se o volume com HNO₃ 1,0 % (v/v).

b) Microemulsões foram preparadas segundo Villafranca, 2004. Aproximadamente 0,5 g de biodiesel foi transferido para tubos descartáveis de 50,0 mL, adicionou-se aproximadamente 5 g de Triton X-100 e em seguida completou-se o volume com HNO₃ 1,0 % (v/v). Agitou-se a mistura usando agitador magnético, por aproximadamente 20 minutos.

4.4 Preparo dos modificadores químicos

Alguns elementos são relativamente voláteis, como, por exemplo, Pb e Cd. Desta forma, o uso de modificadores químicos torna-se imprescindível para estabilizar termicamente esses elementos em temperaturas mais altas, possibilitando uma satisfatória eliminação da maior parte da matriz, reduzindo as interferências. No caso deste trabalho, usou-se dois diferentes modificadores químicos, o modificador universal (Pd + Mg) e o modificador permanente W. Desta forma foi possível avaliar os elementos de diferentes formas, visto que o mecanismo de atomização é diferente usando diferentes modificadores.

A solução 1000 mg L⁻¹ de modificador químico Pd(NO₃)₂ foi preparada a partir da solução estoque 10000 mg L⁻¹ Pd(NO₃)₂ em 15% HNO₃, (Perkin-Elmer, Part número BO190635).

A solução 1000 mg L⁻¹ de modificador químico Mg(NO₃)₂ foi preparada a partir da solução estoque 10000 mg L⁻¹ Mg(NO₃)₂ (Perkin-Elmer, Part número BO190634).

Para a mistura Pd + Mg como modificador químico foi utilizado 5 µL de solução 1000 mg L⁻¹ Pd(NO₃)₂ e 3 µL de solução 1000 mg L⁻¹ Mg(NO₃)₂.

A solução 1,0 g L⁻¹ de W foi preparada pela dissolução de 0,1792 g de NaWO₄.2H₂O (Merck) em 100 mL de água desionizada.

4.4.1 Recobrimento do atomizador com o modificador permanente W

O recobrimento do atomizador com o modificador permanente W consistiu de duas etapas: i) deposição de tungstênio, ii) tratamento térmico do tungstênio depositado no tubo. O programa de aquecimento referente a este recobrimento está indicado na Tabela 6 (JACKSON, 1998; LIMA; KRUG; OLIVEIRA, 2005) e permitiu que 250 µg de W fossem depositados.

Tabela 6: Seqüência do programa de recobrimento do atomizador com o modificador químico permanente W (OLIVEIRA, 2005)

Etapas	Ações e Parâmetros
Deposição do W	
1	Introduziram-se 50 µL de uma solução 1,0 g L ⁻¹ de W sobre o atomizador
2	Seguiu-se o seguinte programa de aquecimento (rampa, patamar) para a secagem e pirólise: 120°C (5, 25s); 150°C (10, 60s); 600°C (20, 15s) e 1000°C (10, 15s)
3	Repetiu os passos 1 e 2 três vezes
4	Repetiu o passo 1 e seguiu-se o programa de aquecimento (rampa, patamar): 120°C (5, 25s); 150°C (10, 60s); 600°C (20, 15s), 1000°C (10, 15s), 1400°C (10, 5s), 2000°C (3, 2s) e 2100°C (1, 1s)
Tratamento térmico do W	
5	Repetiu-se por quatro vezes o programa de aquecimento para o condicionamento do carbetto de W à média temperatura (rampa, patamar): 150°C (1, 10s), 600°C (10, 15s), 1100°C (10, 5s), 1400°C (10, 10s)
6	Repetiu-se por quatro vezes o programa de aquecimento para o condicionamento do carbetto de W à alta temperatura: 150°C (1, 10s), 600°C (10, 15s), 1100°C (10, 5s), 1400°C (10, 10s), 1500°C (3, 5s), 1600°C (1, 1s), 1700°C (1, 1s), 1800°C (1, 1s), 1900°C (1, 1s) e 2000°C (1, 1s)

4.5 Estudo do comportamento eletrotérmico

A otimização do programa de aquecimento em GFAAS é importante para estabelecer as condições iniciais de trabalho (WELZ, 1999; OLIVEIRA, et al., (2002a, 2002b). Para avaliar o comportamento térmico dos elementos foram construídas curvas de temperatura pirólise e de atomização na presença dos modificadores químicos.

O programa de aquecimento do atomizador é mostrado na Tabela 7.

Tabela 7: Programa de aquecimento empregado nos experimentos.

Etapas	Ciclos	Temperatura(°c)	Tempo (s)	Fluxo de gás (ml min⁻¹)
1	Secagem	85	5	300 (Ar)
2	Secagem	95	40	300(Ar)
3	Secagem	120	10	300(Ar)
4	Pirolise	*	***	300(Ar)
5	Pirolise	*	***	300(Ar)
6	Pirolise	*	***	0
7	Atomização	**	***	0 (read)
8	Atomização	**	***	0 (read)
9	Limpeza	3000	***	300(Ar)

* Temperaturas de pirólise; **Temperaturas de atomização

*** Tempo específico para cada analito, de acordo com o manual do fabricante

Todo o procedimento de otimização do comportamento eletrotérmico dos analitos na presença das amostras foram feitos usando biodiesel de origem de soja, adquirido junto ao laboratório de biodiesel de Curitiba, Paraná, Brasil.

4.5.1 Estudo do comportamento eletrotérmico para avaliação das temperaturas de pirólise e de atomização usando procedimento univariado

Na determinação das temperaturas de pirólise e atomização em espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GFAAS), geralmente, fixa-se a temperatura de pirólise, varia-se somente a temperatura de atomização. Depois de encontrar a melhor temperatura de pirólise, esta é fixada, e a temperatura de atomização é variada (PEREIRA-FILHO; POPPI; ARRUDA, 2002).

4.5.1.1 Curvas de pirólise e de atomização

As curvas de pirólise em presença dos modificadores químicos foram obtidas fixando-se a temperatura de atomização (de acordo com o manual do fabricante) e variando-se a de pirólise em intervalos de 200 °C ou 100 °C, dependendo do analito. Fixou-se, então, a temperatura de pirólise ótima e variou-se a temperatura de atomização em intervalos de 200 °C ou 100 °C. O tempo total de um ciclo de aquecimento é ao redor de 65 a 90 segundos, dependendo do analito.

As curvas de pirólise e de atomização foram obtidas para 25 µg L⁻¹ de Cu, Pb, Ni e Cd na presença de dois modificadores (W e Pd + Mg) para os dois diferentes procedimentos de preparo de amostra (microemulsão e digestão por via úmida em sistema de microondas com radiação focalizada).

Todas as curvas de pirólise e de atomização obtidas na presença dos dois diferentes modificadores químicos foram construídas injetando-se 10 µL de amostra. As medidas para este estudo foram feitas em triplicata.

4.5.1.2 Sinais transientes de absorvância

Os sinais transientes de absorvância podem fornecer informações valiosas que podem auxiliar na seleção das melhores condições experimentais. A comparação do tempo de aparecimento do sinal transiente e do tempo de restauração à linha de base, assim como o seu perfil, podem ser utilizados para avaliar os mecanismos de atomização (CALODAS, 2008)

Os sinais transientes de absorvância obtidos para 25 µg L⁻¹ de Cu, Pb, Ni e Cd na presença de dois modificadores (W e Pd + Mg) e para os dois diferentes procedimentos de preparo de amostra (microemulsão e digestão por microondas com radiação focalizada) foram avaliados.

4.5.2 Uso do planejamento experimental para otimização das temperaturas de pirólise e de atomização

Para os processos de otimização das temperaturas de pirólise e atomização foi usado planejamento fatorial completo. Este fatorial possuiu dois níveis relativos à menor (-) e maior (+) temperaturas para duas variáveis (temperaturas de pirólise e de atomização), assim como dois níveis relativos ao preparo de amostra (amostras digeridas em microondas (-) e microemulsão (+)) e dois níveis relativos ao tipo de modificador usado (Pd + Mg (-) e W (+)), resumidos na Tabela 8 (os valores das Temperaturas recomendados pelo fabricante do equipamento, as quais são citadas na Tabela 8, encontram-se mostrados na Tabela 9).

Tabela 8: Fatores e níveis usados no planejamento fatorial

Fatores	Níveis	
	Baixo (-)	Alto (+)
Temperatura de Pirólise, °C	*	*
Temperatura Atomização °C	*	*
Preparo de amostra	Digestão microondas	Microemulsão
Modificadores	Pd + Mg	W

*Onde: as temperaturas de pirólise (T_p) e atomização (T_a) relativas ao nível inferior (-1) foram realizadas a 100 °C a menos que os valores recomendados pelo fabricante, e para o nível superior (1) foram realizadas a 100 °C a mais que os valores recomendados pelo fabricante (Tabela 9).

Tabela 9: Valores das temperaturas de pirólise (T_a) e atomização (T_p) recomendados pelo manual do fabricante, VARIAN:

Elementos	T_p , (°C)*	T_a , (°C)*
Cu	900	2300
Pb	600	2100
Ni	900	2400
Cd	300	1800

*Temperaturas de pirólise (T_p) e Temperaturas de atomização (T_a)

O planejamento fatorial 2^4 para Cu, Pb, Ni e Cd com 16 experimentos, para cada na alito, está descritos na Tabela 10.

Tabela 10: Planejamento fatorial usado para a otimização das curvas de pirólise e de atomização.

Experimentos	Preparo de amostra	Temperatura de pirólise	Temperatura de atomização	Modificador	
1	Digestão	-	-	Pd + Mg -	
2	Microemulsão	+	-	Pd + Mg -	
3	Digestão	-	+	Pd + Mg -	
4	Microemulsão	+	+	Pd + Mg -	
5	Digestão	-	-	+	Pd + Mg -
6	Microemulsão	+	-	+	Pd + Mg -
7	Digestão	-	+	+	Pd + Mg -
8	Microemulsão	+	+	+	Pd + Mg -
9	Digestão	-	-	-	W +
10	Microemulsão	+	-	-	W +
11	Digestão	-	+	-	W +
12	Microemulsão	+	+	-	W +
13	Digestão	-	-	+	W +
14	Microemulsão	+	-	+	W +
15	Digestão	-	+	+	W +
16	Microemulsão	+	+	+	W +

4.5.2.1 Avaliação do comportamento eletrotérmico dos analitos utilizando o planejamento experimental

As leituras de absorvância foram feitas para $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu, Pb, Ni e Cd na presença de dois diferentes modificadores, W e Pd + Mg para os dois diferentes procedimentos de preparo de amostra, injetando-se $10 \mu\text{L}$ de amostra. Os experimentos foram realizados conforme mostrado na Tabela 10.

4.5.2.2 Otimização das temperaturas de pirólise e de atomização para Cd

Foi necessária à realização de um novo procedimento fatorial para o Cd. Foi feito um planejamento fatorial 2^2 com 4 experimentos, conforme descritos na Tabela 11. Este fatorial possui dois níveis relativos à menor (-) e maior (+) temperaturas para duas variáveis (temperaturas de pirólise e de atomização). O preparo de amostra usado foi a digestão por via úmida em sistema de microondas com radiação focalizada e o modificador químico foi o Pd + Mg.

Tabela 11: Planejamento fatorial usado para Cd.

Experimentos	Preparo de amostra	Temperatura de pirólise		Temperatura de atomização		Modificador
1	Digestão	500	-	1400	-	Pd + Mg
2	Digestão	600	+	1400	-	Pd + Mg
3	Digestão	500	-	1500	+	Pd + Mg
4	Digestão	600	+	1500	+	Pd + Mg

4.5.2.3 Sinais transientes de absorvância

Definidas as condições ideais (T_p e T_a) para a determinação de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu, Pb, Ni e Cd, os sinais transientes de absorvância obtidos foram analisados.

4.6 Otimização dos métodos

De acordo com os resultados obtidos usando planejamento experimental, otimizou-se os métodos usando os dois procedimentos de preparo de amostra. Todo o procedimento de otimização das amostras foi feito usando biodiesel de soja adquirido do laboratório de biodiesel do Paraná.

4.6.1 Otimização do procedimento de microemulsão

Com os resultados obtidos para as temperaturas de pirólise e de atomização usando o planejamento experimental, otimizou-se o procedimento para a determinação de Ni e Cd utilizando-se a amostra na forma de microemulsão.

4.6.1.1 Influência da massa de Triton X-100

O tamanho da gotícula é fortemente afetado pela mistura de surfactante no sistema, havendo tendência à diminuição do tamanho das gotículas com o aumento da concentração do mesmo (FORMARIZ, et al., 2005). Desta forma, avaliou-se a influência da massa de Triton X-100 de 1,0; 3,0; 5,0 e 10 g nos valores de absorvância da amostra na forma de microemulsão com a concentração de 25,0 $\mu\text{g Cd L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v) (VILLAFRANCA, 2004).

4.6.1.2 Avaliação de algumas características físico-químicas das partículas

A técnica de espalhamento de luz foi utilizada para determinação do tamanho médio e da distribuição de tamanho das partículas (fornecida pelo índice de polidispersão). Essa avaliação foi realizada utilizando espectrometria de correlação por fóton (PSC, do inglês: *photon correlation spectroscopy*) usando instrumento de dispersão a laser (Zeta plus Brookhaven) a um ângulo fixo de 90° e temperatura de 25°C (MORAES, 2009). O Potencial Zeta foi medido usando o mesmo equipamento. Este estudo foi feito para as amostras preparadas no mostrado no item 4.6.1.1.

4.6.1.3 Influência do volume de amostra

Avaliou-se a influência do volume de amostra de 10, 20, 30 e 40 μL nos valores de absorvância do padrão de 10,0 $\mu\text{g Ni L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v) e 1,0 $\mu\text{g Cd L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v).

4.6.1.4 Influência da matriz da amostra

Embora alguns estudos com sistema emulsão/microemulsão usaram calibração externa com padrões aquosos para a calibração, boa parte trabalhos avaliam a influência das amostras, e consideram muito importante avaliar a diferença

de sensibilidade entre calibração com padrões aquosos e calibração com padrões preparados nas amostras (ou seja, com adição de analitos, verificando se há uma compatibilização de matriz) (CHAVES, et. al, 2008 a; OLIVEIRA, et. al, 2009; JESUS; SILVA; VALE, 2008). Como neste trabalho foram usadas sete amostras de biodiesel, com diferentes características, origens e preparos, realizou-se o estudo da influência da matriz da amostra. As características das amostras e suas respectivas denominações já foram mostradas no Tabela 4.

4.6.1.4.1 Procedimento de calibração pelo método das adições de analito

O método das adições de analito consiste na adição de volumes de soluções com concentrações conhecidas de analito à amostra. Este método é especialmente apropriado quando a composição da amostra é desconhecida ou complexa, como é o caso das amostras de biodiesel. Assim, visando minimizar interferências (pois os padrões e a amostra possuem a mesma composição e propriedades físicas), faz-se a quantificação do analito mesmo quando presente em baixas concentrações, de modo que as medidas dos sinais analíticos situem-se num intervalo apropriado para a técnica (HARRIS, 2001).

Para cada amostra foram preparados 4 padrões, com diferentes concentrações de cádmio adicionadas, conforme mostram os dados da Tabela 12 (o intervalo de concentração foi usado com base no manual do fabricante).

Tabela 12: Preparo dos padrões monoelementares usando método das adições de analito para amostras de microemulsões.

Balão	Va* (mL)	[Cd] adicionada $\mu\text{g L}^{-1}$	[Ni] adicionada $\mu\text{g L}^{-1}$	Volume final, (mL)
1	1,0	0	0	10,0
2	1,0	0,5	5,0	10,0
3	1,0	1,0	10,0	10,0
4	1,0	1,5	15,0	10,0

Onde: *Va- volume de amostra adicionada na forma de microemulsão.

4.6.1.5 Teste de adição e recuperação

Devido a falta de material certificado de biodiesel, testes de adição e recuperação foram feitos com o objetivo de se ter uma idéia da exatidão e precisão

do método (JESUS; SILVA; VALE, 2008) utilizando a microemulsão das amostras para $10,0 \mu\text{g Ni L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); $1,0 \mu\text{g Cd L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v).

4.6.2 Otimização do procedimento de digestão por via úmida em sistema de microondas com radiação focalizada

Com os resultados obtidos para as temperaturas de pirólise e de atomização usando o planejamento experimental, otimizou-se o procedimento para a determinação de Cu, Pb, Ni e Cd utilizando-se a amostra digerida em sistema de microondas com radiação focalizada.

4.6.2.1 Influência do volume de amostra

Avaliou-se a influência do volume de amostra de 10, 20, 30 e 40 μL nos valores de absorbância do padrão de $10,0 \mu\text{g Cu L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); $30,0 \mu\text{g Pb L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); $10,0 \mu\text{g Ni L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); $1,0 \mu\text{g Cd L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v).

4.6.2.2 Procedimento de calibração pelo método das adições de analito

Da mesma forma que o procedimento usado no item 4.6.1.4 para cada amostra foram preparados 4 padrões, com diferentes concentrações de metais adicionadas, conforme mostra a Tabela 13 (o intervalo de concentração também foi usado com base no manual do fabricante).

Tabela 13: Preparo dos padrões monoelementares usando método das adições de analito para amostras digeridas.

Balão	Va* (mL)	[Cu] adicionada $\mu\text{g L}^{-1}$	[Pb] adicionada $\mu\text{g L}^{-1}$	[Ni] adicionada $\mu\text{g L}^{-1}$	[Cd] adicionada $\mu\text{g L}^{-1}$	Volume final, (mL)
1	1,0	0	0	0	0	10,0
2	1,0	5,0	15,0	5,0	0,5	10,0
3	1,0	10,0	30,0	10,0	1,0	10,0
4	1,0	15,0	45,0	15,0	1,5	10,0

*Va- volume de amostra digerida em microondas com radiação focalizada.

4.6.2.3 Teste de adição e recuperação

Teste de adição e recuperação foi feito com o objetivo de verificar a exatidão e precisão do método de digestão das amostras por via úmida em sistema de microondas com radiação focalizada para 10,0 $\mu\text{g Cu L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); 30,0 $\mu\text{g Pb L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); 10,0 $\mu\text{g Ni L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); 1,0 $\mu\text{g Cd L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v).

4.7 Características Analíticas

As características analíticas dos procedimentos desenvolvidos como o limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LQ), estimativa do desvio padrão (SD) e desvio padrão relativo (RSD) foram calculados de acordo Harris (2001).

As variâncias foram comparadas por meio do teste F (BACCAN et al., 1985; VOGEL, 1992) e a concordância entre as médias foi verificada pelo teste t de *Student* (HARRIS, 2001).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Resultados preliminares do preparo de amostra

5.1.1 Digestão por via úmida com aquecimento térmico

a) A amostra de biodiesel de soja foi aquecida ~ 110 °C por 10h. A seguir, foram retirados os funis de refluxo, e amostra não foi digerida completamente. Ficando resquícios de gordura no final. Como o tempo de aquecimento foi alto e não se conseguiu uma digestão eficiente, este método pode ser considerado inadequado e inviável para a digestão de biodiesel.

b) Resultado semelhante ao anterior, foi obtido ao adicionar a amostra nos reagentes oxidantes já aquecidos. Tempo alto de aquecimento e digestão ineficiente, tornaram este método inadequado e inviável para a digestão de biodiesel.

5.1.2 Digestão por microondas com radiação focalizada

Os procedimentos de 1 a 3 mostrados na Tabela 2 do item 4.3.1.2 da Parte Experimental, não obtiveram uma digestão eficiente. Ao final destes procedimentos, resquícios de gordura, ou os reagentes acabaram sem completa digestão do biodiesel. Usando o procedimento 5, os reagentes secaram muito rapidamente, sem a completa digestão do biodiesel. O procedimento 4 levou a uma digestão mais eficiente e completa, com uma solução límpida e transparente ao final do procedimento.

5.1.3 Microemulsão

a) As microemulsões preparadas segundo Meeravali e Kumar, 2001 modificado não obtiveram resultados satisfatórios, pois as mesmas não ficaram estáveis. Outra observação foi que os reagentes ficaram aderidos na parede interior do recipiente.

b) As microemulsões preparadas segundo VILLAFRANCA, 2004 ficaram límpidas e estáveis.

5.2 Avaliação do comportamento eletrotérmico dos analitos usando procedimento univariado

Os elementos Pb e Cd são relativamente voláteis, e o uso de modificadores químicos torna-se indispensável. Desta forma, usou-se Pd + Mg e W como modificadores químicos para estabilizar termicamente os analitos, possibilitando uma satisfatória eliminação da maior parte da matriz, reduzindo as possíveis interferências. Serão apresentados a seguir os estudos para os procedimentos de preparo de amostra (digestão em microondas com radiação focalizada e microemulsão), de acordo com o discutido no item 5.1

5.2.1 Curvas de temperatura de pirólise e de atomização usando procedimento univariado para as amostras na forma de microemulsão.

Curvas de pirólise e de atomização foram obtidas para Cu, Pb, Ni e Cd na presença de dois modificadores, W e Pd + Mg, no qual é mostrado na Figura 3.

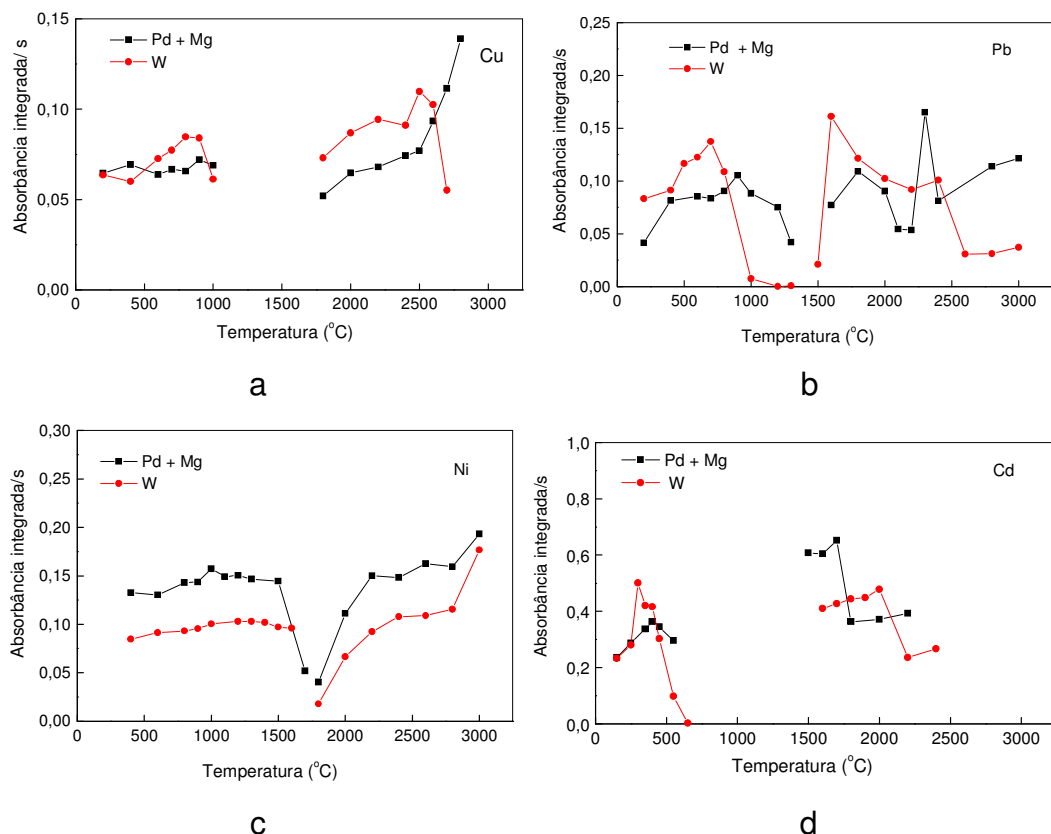


Figura 3: Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em amostras na forma de microemulsão (a) Cu; (b) Pb; (c) Ni e (d) Cd. Condições: injetou-se 10 μL de amostra; o programa de aquecimento usado de acordo com o mostrado na Tabela 4, sendo as T_p e T_a fixas usadas de acordo com o manual do fabricante (Tabela 9)

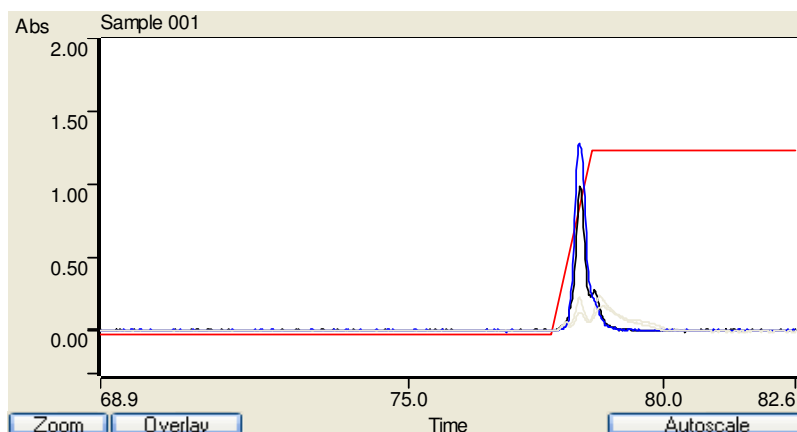
Observando a Figura 3, há uma pequena diferença de sensibilidade quando se usa, Pd + Mg ou W, e desta forma, analisando-se apenas as curvas de temperatura de pirólise e de atomização, não se pode tirar conclusões sobre o modificador químico ótimo para os analitos em questão. As T_p e T_a escolhidas para os analitos são mostradas na Tabela 14. se der comparar com a literatura

Tabela 14: Valores das temperaturas de pirólise (T_a) e atomização (T_p) encontradas para as amostras na forma de microemulsão, para os dois modificadores usados.

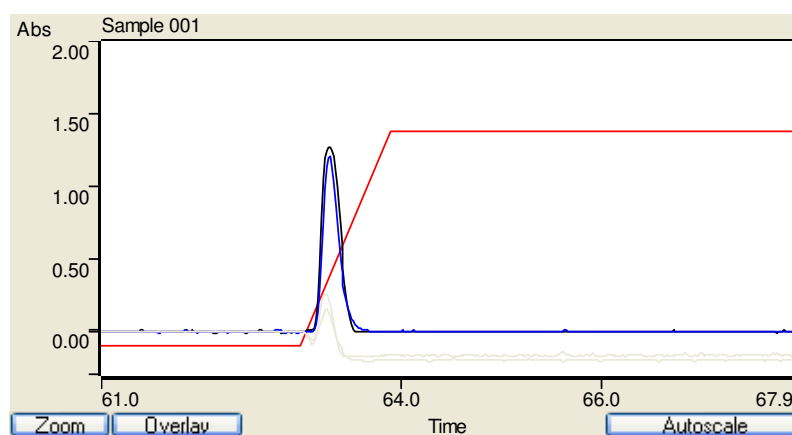
Elementos	T_p , ($^{\circ}\text{C}$)*		T_a , ($^{\circ}\text{C}$)*	
	Pd + Mg	W	Pd + Mg	W
Cu	900	900	2700	2500
Pb	900	700	2300	1600
Ni	900	1200	3000	3000
Cd	400	300	1700	2000

*Temperaturas de pirólise (T_p) e Temperaturas de atomização (T_a)

A Figura 4 mostra o perfil dos sinais transientes para o Cd em meio de microemulsão usando estas temperaturas escolhidas.



d1) Pd + Mg



d2) W.

Figura 4: Sinais transientes de absorção em meio de microemulsão para: a- $25,0 \mu\text{g Cd L}^{-1}$ a1) Pd + Mg; a2) W. As linhas coloridas são correspondente aos sinais de absorção e as linhas cinza claras, são correspondente aos sinais do *background*. As análises foram todas feitas em triplicatas.

Os perfis dos sinais transientes de absorbância para todos os analitos foram semelhantes aos mostrados para o Cd na Figura 4, ou seja, bem delineados e com os sinais do *background* pequenos, o que mostra que o procedimento de preparo de amostra utilizando microemulsões foi satisfatório. Somente para o Cd observa-se estranho comportamento em relação ao sinal do *background*, provavelmente para estas temperaturas, os precursores são formados e liberados mais rapidamente, gerando a forma do sinal do *background* observado, além disto, as temperaturas ainda não eram as temperaturas adequadas. Para os todos os analito também se observou uma pequena diferença de sensibilidade entre as replicatas, efeito um pouco mais pronunciado para o modificador Pd + Mg.

5.2.2 Curvas de temperatura de pirólise e de atomização usando procedimento univariado para amostras digeridas em sistema de microondas com radiação focalizada

As curvas de temperatura de pirólise e de atomização foram obtidas para Cu, Pb, Ni e Cd na presença de dois modificadores, W e Pd + Mg, conforme é mostrado na Figura 5.

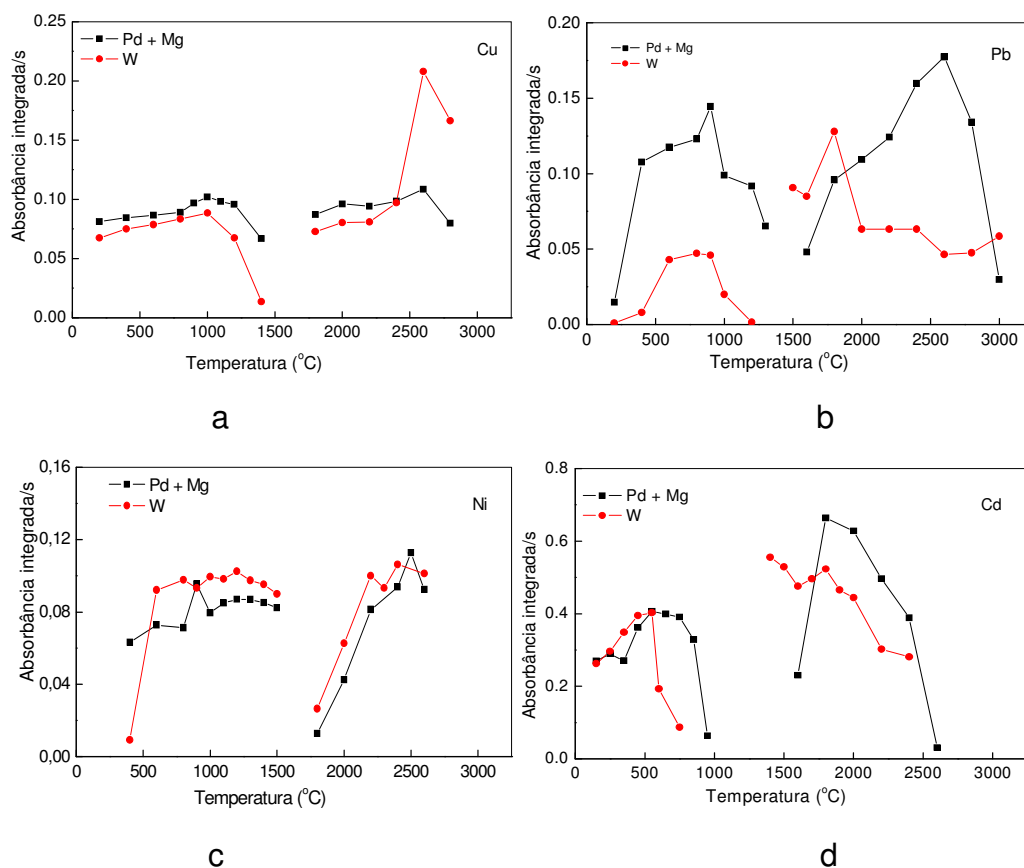


Figura 5: Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ em amostras digeridas em sistema de microondas com radiação focalizada: (a) Cu; (b) Pb; (c) Ni e (d) Cd. Condições: injetou-se $10 \mu\text{L}$ de amostra; o programa de aquecimento usado de acordo com o mostrado na Tabela 4, sendo as T_p e T_a fixas usadas de acordo com o manual do fabricante (Tabela 9)

Observando a Figura 5, resultados semelhantes ao procedimento microemulsão foram obtidos, ou seja, há uma pequena diferença de sensibilidade quando se utiliza o modificador Pd + Mg ou W. As T_p e T_a escolhidas para os analitos são mostradas na Tabela 15.

Tabela 15: Valores das temperaturas de pirólise (T_p) e atomização (T_a) encontradas para as amostras na forma de digestão, para os dois modificadores usados.

Elementos	T_p , ($^{\circ}\text{C}$)*		T_a , ($^{\circ}\text{C}$)*	
	Pd + Mg	W	Pd + Mg	W
Cu	1000	1000	2600	2600
Pb	900	800	2000	1800
Ni	1500	1400	2600	2400
Cd	550	550	2000	1800

*Temperaturas de pirólise (T_p) e Temperaturas de atomização (T_a)

Os sinais transientes para os analitos são mostrados na Figura 6 para os dois modificadores usados para a amostra preparada na forma de digestão. Os resultados também foram semelhantes aos obtidos para as amostras de microemulsão, ou seja, os sinais transientes apresentaram-se bem delineados e com baixos sinais do *background*, mostrando a eficiência do método.

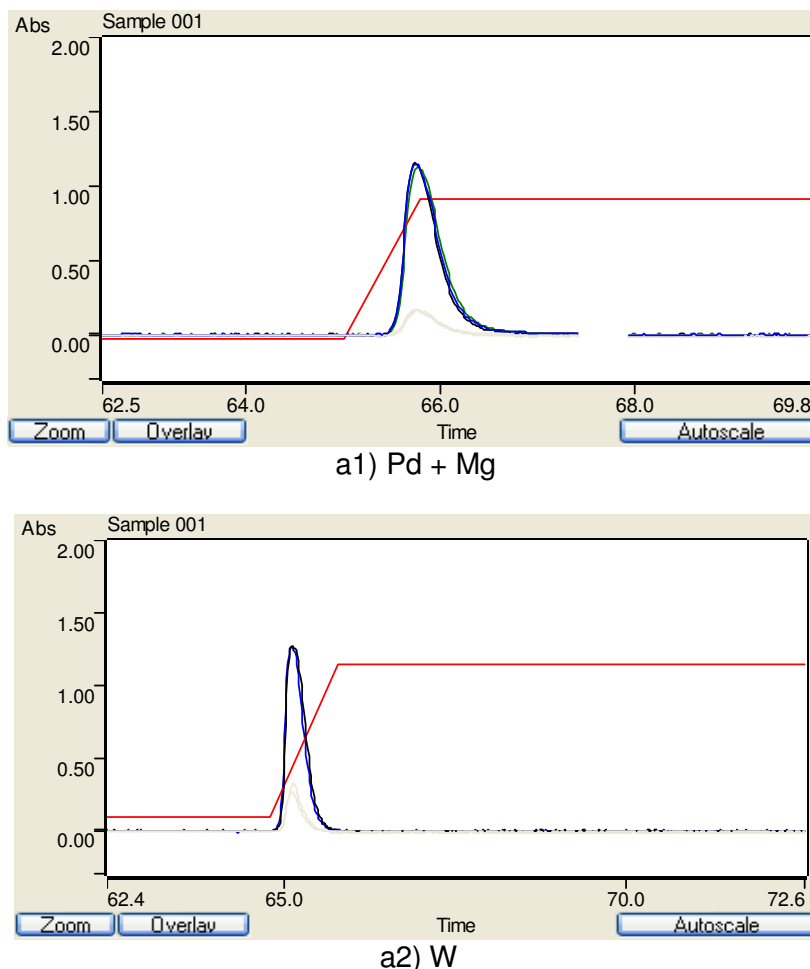


Figura 6: Sinais transientes de absorção em meio de digestão para: **a-** 25,0 $\mu\text{g Cd L}^{-1}$ **a1)** Pd + Mg; **a2)** W; As linhas coloridas são correspondente aos sinais de absorção e as linhas cinza claras, são correspondente aos sinais do *background*. As análises foram todas feitas em triplicatas.

Os sinais transientes são relativamente semelhantes quanto aos aspectos anteriormente citados, ou seja, para os todos os analito também se observou uma pequena diferença entre as replicatas, efeito um pouco mais pronunciado para o modificador Pd + Mg, porém não se observou estranhas absorções do *background* para Cd.

Portanto, observando-se apenas as curvas de pirólise e de atomização e os sinais transientes de absorção, verifica-se que há algumas pequenas diferenças quando se compara os procedimentos de preparo de amostra e os modificadores químicos, tais como tempo de aparecimento do sinal transiente, sensibilidade maior ou menor para certos analitos, dependendo do modificador usado. Desta forma, utilizou-se o planejamento fatorial para verificar possíveis variações na otimização das condições experimentais.

5.3 Avaliação do comportamento eletrotérmico usando planejamento experimental

5.3.1 Resultados da otimização das temperaturas de pirólise e de atomização usando planejamento experimental

O método de otimização, usando o planejamento fatorial avalia as interações entre as variáveis importantes, assim como, a combinação simultânea das mesmas. A Tabela 16 ilustra os resultados de absorvância para os elementos avaliados utilizando-se o planejamento fatorial 2⁴.

Tabela 16: Valores de absorvância para os analitos, usando o planejamento fatorial.

Experimentos	Preparo de amostra (Variável 1)	Temperatura de Pirólise (Variável 2)	Temperatura de Atomização (Variável 3)	Modificador (Variável 4)	Cu	Pb	Ni	Cd
1	-	-	-	-	0,0974	0,1562	0,0658	0,3810
2	+	-	-	-	0,0651	0,0483	0,0912	0,3520
3	-	+	-	-	0,0988	0,1506	0,0651	0,5010
4	+	+	-	-	0,0656	0,0555	0,0824	0,5390
5	-	-	+	-	0,0991	0,1538	0,0744	0,3840
6	+	-	+	-	0,0701	0,0452	0,0968	0,3520
7	-	+	+	-	0,0945	0,1406	0,0621	0,4170
8	+	+	+	-	0,0694	0,0431	0,0908	0,3130
9	-	-	-	+	0,0971	0,1599	0,632	0,3120
10	+	-	-	+	0,0636	0,0488	0,0947	0,3310
11	-	+	-	+	0,1008	0,1597	0,0894	0,4560
12	+	+	-	+	0,0630	0,0430	0,0626	0,4600
13	-	-	+	+	0,1033	0,1673	0,0921	0,2720
14	+	-	+	+	0,0759	0,0356	0,0735	0,3040
15	-	+	+	+	0,1044	0,1455	0,0905	0,3530
16	+	+	+	+	0,0706	0,0397	0,0769	0,3950

Obs: Este fatorial possuiu dois níveis, (-) para o nível inferior e (+) nível superior, relativos ao preparo de amostra (Variável 1) sendo digestão (-) e microemulsão (+), níveis relativos à menor (-) e maior (+) temperaturas para duas variáveis temperaturas de pirólise (Variável 2) e de atomização (Variável 3), assim como níveis relativos ao tipo de modificador usado (Variável 4) Pd + Mg (-) e W (+).

Para avaliar a interações entre as variáveis, assim como definir as que são significativas gráficos de pareto, gráfico de valores dos efeitos e gráficos de valores especiais são os mais empregados. Neste trabalho foi feito os gráficos de valores versus probabilidade para os quatro analitos. Neste tipo de gráfico, os efeitos são calculados em função dos valores de absorvância, considerando os níveis (+ e -) apresentados na matriz da amostra. O gráficos de valores dos efeitos versus escala de probabilidade são apresentados na Figura 7.

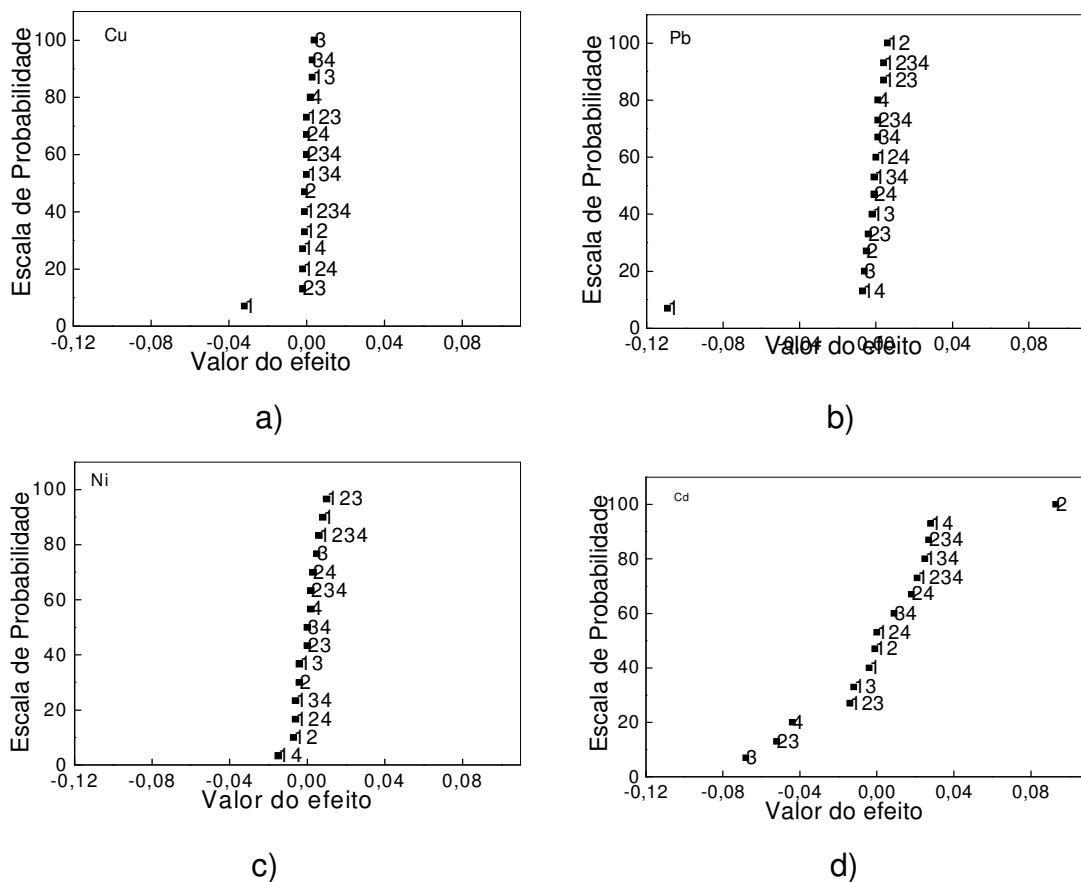


Figura 7: Gráfico do valor dos efeitos das variáveis na otimização das temperaturas de pirólise e de atomização em amostras de biodiesel por GFAAS. a) Cu; b) Pb; c) Ni; d) Cd.

A partir da plotagem de um gráfico de escala de probabilidade X valor do efeito, os pontos menores que tendem formar uma reta são considerados insignificantes, enquanto que quanto maiores (em valor de efeito) e mais afastados os pontos estiverem, mais significativo é o efeito.

Observando as Figuras 7a e 7b, o gráfico de otimização para o Cu e Pb mostra que a variável 1 (preparo de amostra) para o meio de digestão por microondas com radiação focalizada (definido como (-), Tabela 16) é mais importante para os dois analitos (maior efeito na absorbância), pois este ponto se afastou dos demais, sendo as outras variáveis indiferentes, podendo-se assim, utilizar qualquer modificador. As temperaturas ideais de pirólise e de atomização foram escolhidas de acordo com a maior sensibilidade levando em consideração as menores temperaturas que degradam menos o tubo de grafite, ou seja, as temperaturas de pirólise e atomização escolhidas para o Cu foram 1000 °C e 2200 °C e Pb foram 500 °C e 2000 °C, respectivamente.

A Figura 7c mostra que para o Ni nenhuma das variáveis avaliadas foram importantes. As temperaturas de pirólise e atomização escolhidas para o Ni foram 800 °C e 2300 °C. Observando a Figura 7d, o gráfico de otimização para o Cd, as variáveis que mais se afastaram foram as variáveis 2 e 3, mostram que é necessário aumentar a temperatura de pirólise e diminuir a de atomização para garantir melhor eficiência no processo indicando a necessidade de utilizar outro planejamento fatorial para esse elemento. As variáveis meio (1) e modificador (4) não foram importantes, podendo-se usar qualquer meio ou qualquer modificador.

5.3.2 Resultados da avaliação da temperatura de pirólise e de atomização usando um segundo planejamento experimental para Cd

O método de otimização, usando o planejamento fatorial para o Cd é mostrado na Tabela 17.

Tabela 17: Valores de absorvância para o planejamento fatorial usado para o Cd.

Experimentos	Preparo de amostra	Temperatura de Pirólise*	Temperatura de Atomização*	Modificador	Cd
1	Digestão	-	-	Pd + Mg	0,7622
2	Digestão	+	-	Pd + Mg	0,8427
3	Digestão	-	+	Pd + Mg	0,7274
4	Digestão	+	+	Pd + Mg	0,7707

Os valores dos efeitos foram muito pequenos para o planejamento usado. Assim escolheram-se as menores temperaturas, T_p -500 °C e T_a -1400 °C, pois se aumenta a vida útil do tubo de grafite.

A formação de depósitos de carbetos (ou oxicarbeto) metálicos sobre a plataforma do tubo de grafite, ou diretamente sobre a parede do tubo, é uma estratégia de modificação interessante para prolongar a vida útil do tubo de grafite quando se trabalha com solventes ou matrizes agressivas. Além de atuar como revestimento do tubo e/ou como modificador, esses carbetos podem promover a decomposição da matriz por meio de efeitos catalíticos, atuando como catalisadores, destruindo os concomitantes da matriz previamente à atomização do analito, minimizando ou eliminando possíveis interferências (FRESCHI, 2005). Como os resultados obtidos para todos os metais usando o planejamento experimental, não houve diferença ao se trabalhar com Pd + Mg ou W, optou-se por trabalhar com W, pois além das vantagens citadas anteriormente, os programas de aquecimentos são

mais rápidos (consequentemente as determinações são mais rápidas), ocorre menor contaminação devido a purificação ser *in situ*, poucos problemas relacionados ao background, as impurezas voláteis do modificador podem ser eliminadas, melhorando desta forma os limites de detecção. (SAINT'PIERRE *et al.*, 2002).

A Tabela 18 sumariza e compara as temperaturas definidas utilizando os métodos univariado e multivariado.

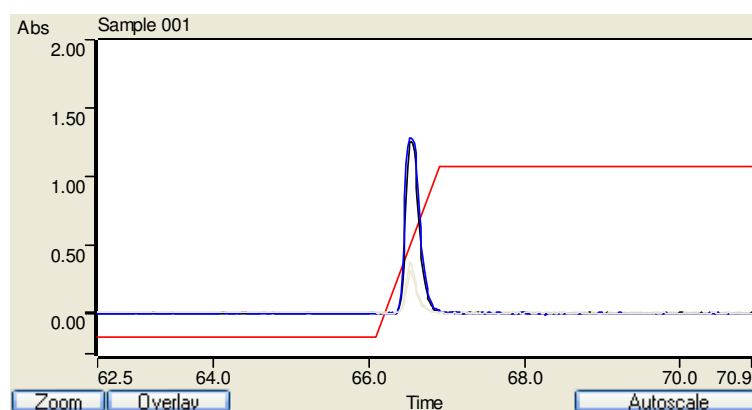
Tabela 18: Comparação dos valores das temperaturas de pirólise e atomização ótimas usando o procedimento univariado e multivariado.

Elementos	Modificador	Digestão Microondas		Microemulsão	
		Método	Método	Método	Método
		Convencional Tp / Ta*	Multivariado Tp / Ta	Convencional Tp / Ta	Multivariado Tp / Ta
Cu	Pd + Mg	1000 / 2600	1000 / 2200	900 / 2700	-
	W	1000 / 2600		900 / 2500	
Pb	Pd + Mg	900 / 2000	500 / 2000	900 / 2300	-
	W	800 / 1800		700 / 1600	
Ni	Pd + Mg	1500 / 2600	800 / 2300	900 / 3000	800 / 2300
	W	1400 / 2400		1200 / 3000	
Cd	Pd + Mg	550 / 2000	500 / 1400	400 / 1700	500 / 1400
	W	550 / 1 800		300 / 2000	

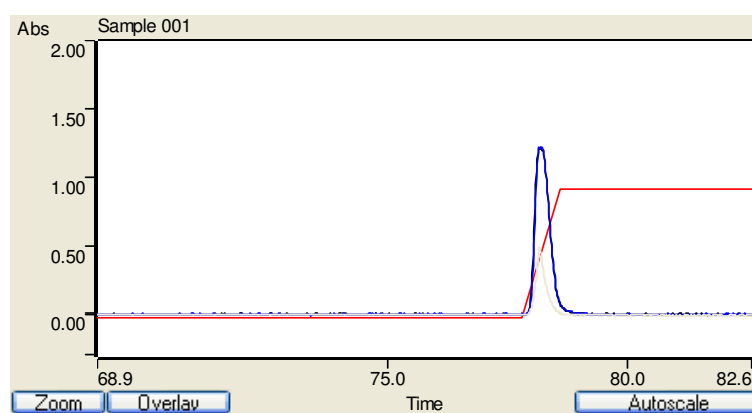
* Tp- Temperatura de pirólise, °C / Ta- Temperatura de atomização, °C.

Observando a Tabela 18, os valores das temperaturas usando o planejamento fatorial são geralmente condições de temperaturas mais amenas. Apesar de uma certa diferença na sensibilidade, pode-se considerar várias vantagens para o uso do planejamento experimental, como definir parâmetros experimentais apropriados (preparo de amostra, modificadores químicos), auxiliar na definição das temperaturas de pirólise e atomização e avaliar as interações entre as variáveis estudadas. Desta forma, verifica-se que é interessante a aplicação de técnicas envolvendo otimização multivariada em várias áreas da química, e em específico, em química analítica.

Os sinais transientes obtidos para as melhores condições experimentais definidas usando planejamento experimental (Tabela 18) são semelhantes aos obtidos usando o procedimento univariado para todos os elementos (itens 5.2.1 e 5.2.2, Figuras 4 e 6), porém as replicatas foram mais semelhantes e não ocorreram estranhas absorções do background como no procedimento univariado, mostrando que as temperaturas usadas foram realmente mais adequadas. A Figura 8 mostra os sinais para Cd, no qual perfis semelhantes foram encontrados para Cu, Pb e Ni.



a) Cd em meio de microemulsão



b) Cd em meio de digerido

Figura 8: Sinais transientes de absorção para $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ usando W como modificador. **a)** Cd em meio de microemulsão e **b)** Cd em meio de digerido. As linhas coloridas são correspondente aos sinais de absorção e as linhas cinza claras, são correspondente aos sinais do background. As análises foram todas feitas em triplicatas.

Assim, verifica-se a importância da otimização simultânea de todos os fatores envolvidos no sistema, com menor número de experimentos, maior rapidez e principalmente maior eficiência. As temperaturas escolhidas foram, portanto, as mostradas na Tabela 18 para o método multivariado, para cada analito em específico.

5.4 Otimização do procedimento de microemulsão

Definidas as temperaturas ideais, otimizou-se os parâmetros experimentais específicos para cada procedimento.

5.4.1 Influência da massa de Triton X-100

Considerando que a maioria das publicações apresentados na literatura utilizaram Triton X-100 como surfactante para preparo de sistemas de emulsão / microemulsão de amostras de combustíveis (CHAVES, et. al, 2008a; CHAVES, et. al, 2008b; JESUS; SILVA; VALE, 2008) e que a sua estabilidade é alta em relação a outros surfactantes (CASSELA, et. al. 2004), neste trabalho usou-se Triton X 100 no preparo das microemulsões. A Figura 9 mostra a influência da massa de Triton X-100 sobre os sinais de absorbância do padrão de $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd em HNO_3 em 1,0% (v/v).

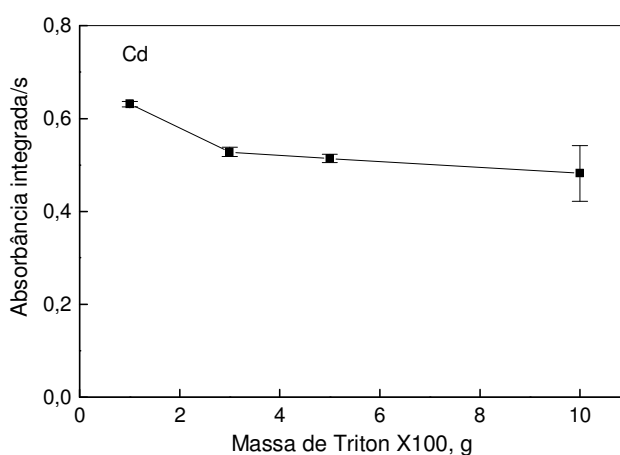


Figura 9: Influência da massa de Triton X-100 sobre os sinais de absorbância (corrigida do sinal do branco) da solução de $25 \mu\text{g Cd L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v).

A Figura 9 mostra a influência da massa de Triton X-100 sobre os sinais de absorbância do padrão de $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd em HNO_3 em 1,0% (v/v). Observa-se na Figura 8 que a maior absorbância foi obtida para 1,0 g de Triton X-100. Porém, observou-se a formação de muita espuma, ocasionando um maior tempo para a homogeneização da microemulsão. Para 3,0 g de Triton X-100 observou-se as mesmas características para 1,0 g de Triton X-100, enquanto que a massa de 10 g de Triton X-100 o tempo de formação da microemulsão foi longo, devido provavelmente às dificuldades para a homogeneização dos reagentes. Assim,

considerando-se que com a massa de 5,0 g de Triton X-100 ocorreu uma maior estabilização e formação de pouca espuma, neste ponto do trabalho considerou-se essa massa adequada para o preparo das microemulsões, também para os outros analitos. Apesar deste estudo ter sido feitos apenas para Cd, este estudo ainda deverá ser feito futuramente para os outros analitos.

5.4.2 Caracterização de alguns parâmetros físico-químicos

Quando uma radiação eletromagnética incide sobre um sistema qualquer, o campo elétrico da radiação induz uma polarização nos elétrons das moléculas que oscila no tempo com a mesma frequência da radiação. As moléculas, por sua vez, passam a ser fontes secundárias de radiação e, por consequência, irradiam a radiação incidente. As mudanças de frequência, a distribuição angular, a polarização e a intensidade da radiação espalhada dependem do tamanho, forma e das interações moleculares dentro do material irradiado. Logo, a partir das características da radiação espalhada de um dado sistema, é possível obter informações sobre a estrutura e a dinâmica molecular do meio espalhador. A técnica de espalhamento de luz foi utilizada para determinação do tamanho médio e da distribuição de tamanho das partículas (fornecida pelo índice de polidispersão). Essa avaliação foi realizada utilizando um instrumento de dispersão a laser. As amostras foram diluídas com água (Milli-Q) na proporção 1:20 e, utilizando-se um analisador de partículas a um ângulo fixo de 90° e temperatura de 25°C. Cada resultado foi expresso como média de cinco determinações. Os parâmetros avaliados são mostradas na Tabela 19.

Tabela 19: Parâmetros analisados nas microemulsões

Massa de Triton X-100, (g)	Tamanho, (nm)	Polidispersividade	Potencial Zeta, (mV)
1	311,4	0,03	+ 6,53
3	450,3	0,02	+ 8,70
5	550,2	0,01	+ 9,31
10	556,8	0,12	+ 10,01

Observa-se pela Tabela 19 que o tamanho médio encontrado nas amostras estão na ordem de (310 nm – 560 nm). Na literatura, as microemulsões (ME) são geralmente caracterizadas como agregados esféricos, com diâmetros menores que

1400 Å, tipicamente da ordem de 100 Å (JESUS; SILVA; VALE, 2008; OLIVEIRA, 2004; REYES, CAMPOS, et.al, 2005). Apesar da denominação “micro”, o sistema envolve gotículas com tamanhos suficientemente pequenos para ser opticamente transparente (FORMARIZ, et al., 2005; SANT’PIERRE, et. al, 2002). Porém o tamanho destas partículas considerado na literatura oscila. Por essa razão, outras denominações, como “sub-microemulsão” e “nanoemulsão” têm sido utilizadas para designar esses sistemas (MASON, WILKING, MELESON, 2006). Outro parâmetro interessante é a polidispersividade (distribuição de tamanho das esferas) que devem ser idealmente baixo. Pela Tabela 19 tem-se que para 5 g de Triton X100, obteve-se a menor polidispersividade (0,01). O potencial zeta reflete a carga de superfície das partículas e esse parâmetro pode ser influenciado pela composição da partícula e meio dispersante. As esferas devem apresentar um valor de potencial zeta relativamente alto para garantir a estabilidade físico-química da partícula, pois grandes forças repulsivas tendem a evitar agregação em função de colisões ocasionais de esferas adjacentes. Partículas com zeta de aproximadamente (+/-) 30 são altamente estáveis em suspensão (ATKINS, 2006). Portanto os valores de Zeta (Z) encontrados na Tabela 15 ($+6,53 \leq Z \leq +10,01$) estão dentro de um intervalo considerado bom para determinações analíticas. Desta forma, as microemulsões podem ser consideradas estáveis, no qual a escolha da massa de 5 g de Triton foi mantida visto que apresentou baixo valor de polidispersividade e considerável valor de potencial Zeta.

5.4.3 Influência do volume de injeção da amostra

A Figura 10 mostra a influência do volume de amostra sobre os sinais de absorvância do padrão de $10,0 \mu\text{g Ni L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v) e $1,0 \mu\text{g Cd L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v).

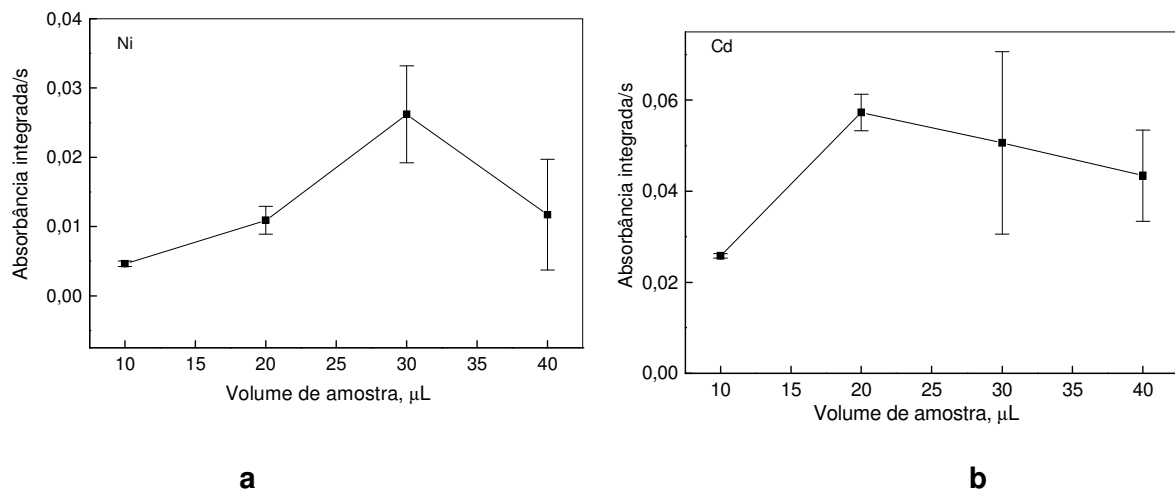


Figura 10: Influência do volume de amostra sobre os sinais de absorvância (corrigida do sinal do branco) da solução a) $10,0 \mu\text{g Ni L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); b) $1,0 \mu\text{g Cd L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v).

Observando-se a Figura 10a, verifica-se que o volume de amostra de $10 \mu\text{L}$ apresenta um valor de absorvância baixo para Ni. Para 30 e $40 \mu\text{L}$ de amostra (Figura 9a), houve um aumento na sensibilidade para o Ni, mas as replicatas não foram satisfatórias, com alto valor da estimativa do desvio padrão, provavelmente não ocorreu uma atomização homogênea para todas as replicatas, devido projeção de amostra para fora do atomizador, o que foi observado pela webcam do equipamento. O volume de $20 \mu\text{L}$ de amostra foi adequado, pois apresentou um valor significativo de absorvância para o padrão de $10,0 \mu\text{g Ni L}^{-1}$ e pequeno valor da estimativa para o desvio padrão, e foi escolhido para as análises seguintes.

Observando-se a Figura 10b verifica-se que o volume de amostra de $10 \mu\text{L}$ apresenta um baixo valor de absorvância, enquanto para $20 \mu\text{L}$ de amostra houve um aumento significativo na intensidade do sinal de absorvância, devido ao aumento da população de átomos gerada no atomizador, além disto, para a introdução de 10 e $20 \mu\text{L}$ de amostra a estimativa do desvio padrão foi relativamente baixa, mostrando que há boa repetibilidade nas medidas experimentais para Cd. Porém para 30 e $40 \mu\text{L}$ de amostra, também ocorreu projeção de amostra para fora do atomizador, sendo observada pela webcam do equipamento. Portanto $20 \mu\text{L}$ também foi escolhido para as análises seguintes.

5.4.4 Avaliação da influência de padrões na determinação de metais

Uma das grandes vantagens dos sistemas empregando microemulsões é justamente o fato de usar padrões inorgânicos para as determinações (AUCÉLIO, et. al, 2004). Visto que o uso de padrões orgânicos possuem vários inconvenientes como alto custo, instabilidade, altamente perigosos, cancerígenos, além de muitas vezes serem necessários aparatos e equipamentos especiais para a sua utilização. Porém, boa parte dos trabalhos usam padrões emulsificados e não padrões aquosos (CHAVES, et. al, 2008a; CHAVES, et. al, 2008b; JESUS, et. al, 2008; SANT`PIERRE, et. al, 2004, GIACOMELI, et. Al, 2004) justificando que na maioria dos casos há uma maior estabilidade para padrões emulsificados, além da diferença na sensibilidade em relação a padrões aquosos.

A Figura 11 ilustra os resultados das equações ajustadas para as sete amostras de biodiesel, avaliadas pelo método das adições de analito, visando uma comparação do comportamento do Cd nas diferentes matrizes (padrões emulsificados) e em padrões aquosos. A faixa de concentração usada foi baseada no intervalo recomendado pelo manual do fabricante

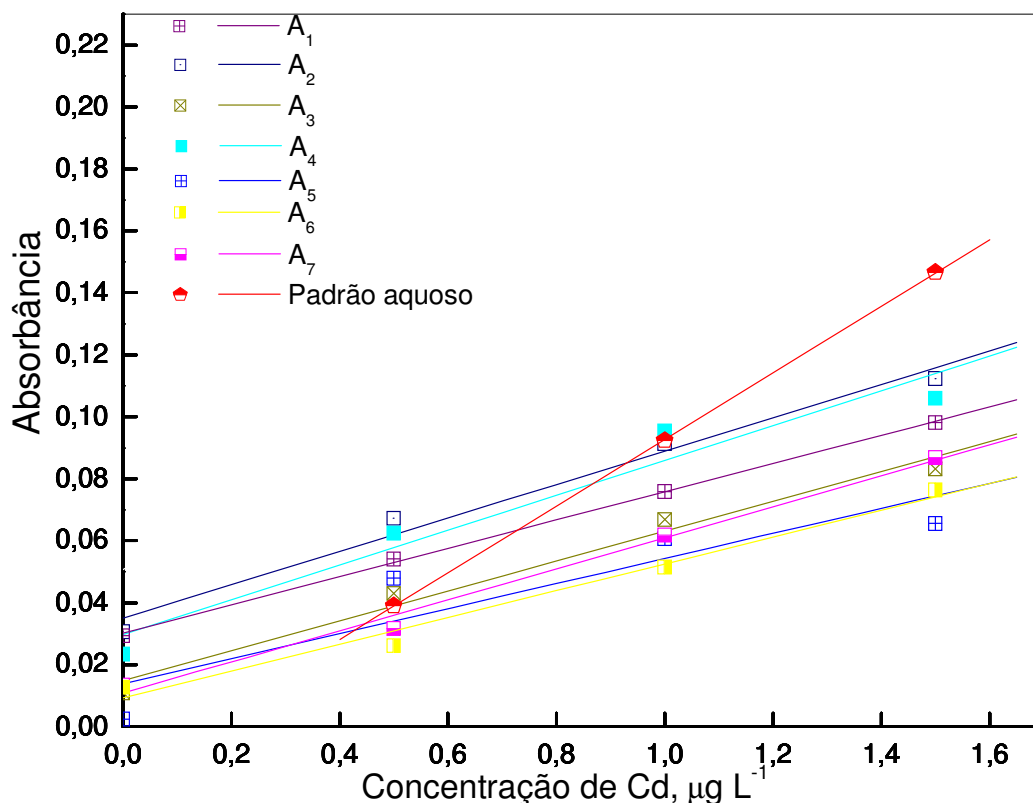


Figura 11: Equações ajustadas às curvas analíticas para determinação de Cd nas 8 amostras. A₁: $A = 0,03017 + 0,0456[\text{Cd}]$, $r = 0,99961$; A₂: $A = 0,03503 + 0,05386[\text{Cd}]$, $r = 0,9995$; A₃: $A = 0,01486 + 0,04822[\text{Cd}]$, $r = 0,98956$; A₄: $A = 0,02971 + 0,05622[\text{Cd}]$, $r = 0,9737$; A₅: $A = -0,01386 + 0,04042[\text{Cd}]$, $r = 0,98695$; A₆: $A = 0,00931 + 0,04322[\text{Cd}]$, $r = 0,99141$; A₇: $A = 0,01088 + 0,05006[\text{Cd}]$, $r = 0,99595$; Padrão aquoso: $A = 0,01493 + 0,1076[\text{Cd}]$, $r = 0,99999$.

Pela Figura 11, verifica-se significativa diferença entre os padrões analisados. As sensibilidades das curvas analíticas para o biodiesel puro (Amostras de A₁ a A₇) é sempre menor o padrão aquoso. Confirmando a observação de alguns trabalhos da literatura de que padrões emulsificados possuem diferentes sensibilidades em relação a padrões aquosos (CASSELLA, et al. 2004; REYES; CAMPOS, 2005; SANT'PIERRE; AUCÉLIO; CURTIUS, 2003; SANT'PIERRE, et al., 2002; SANT'PIERRE; FRESCURA; AUCÉLIO, 2006).

Verifica-se, ainda que as curvas analíticas nas amostras de biodiesel, não apresentaram mesma sensibilidade, embora sejam similares. Este comportamento distinto das curvas analíticas nas amostras pode ser explicado, a partir da diferença de composição entre as amostras analisadas, isto é, teores de gorduras, viscosidade, procedência, origens, processos de produção dentre outros. Desta forma cada amostra foi determinada usando padrões emulsificados.

Foi feito uma curva também para a amostra B10, porém como esta amostra consiste em sua grande maioria de diesel (90%), não houve boa estabilização para esta amostra, e os valores foram inadequados para a determinação dos analitos nesta amostra.

5.4.5 Determinação de Ni e Cd nas amostras de biodiesel pelo método das adições de analito

A forma mais adequada de calcular os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ), quando se usa o método das adições de analito é passar padrões de baixas concentrações, até que se encontre os menores sinais referente à mais baixa concentração detectável. Calcula-se então a estimativa do desvio padrão (sd) para 10 medidas do padrão de mais baixa concentração e os valores de LOD e LOQ podem então ser calculados de acordo como a literatura, ou seja, $LOD = (3sd) / K$ e $LOQ = (10sd) / K$, onde k é a inclinação da reta (BACCAN et al., 1985; VOGEL, 1992). Porém, em virtude de dificuldades experimentais decorrentes da necessidade da finalização deste trabalho, os LOD e LOQ foram calculados usando o procedimento tradicional, considerando o branco das amostras ao invés do padrão de mais baixa concentração e a Tabela 20 mostra os valores dos limites de detecção e de quantificação, assim como as concentrações de Ni e Cd obtidas na amostras.

Tabela 20: Concentrações de Ni e Cd obtidas na amostra, limites de detecção e de quantificação encontrado para as amostras.

Amostra	LOD encontrada, $\mu\text{g L}^{-1}$		LQ encontrada, $\mu\text{g L}^{-1}$		[C]* obtida na amostra, $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{sd}$	
	Ni	Cd	Ni	Cd	Ni	Cd
A ₁	0,78	0,10	2,67	0,36	≤LOD	0,66
A ₂	0,81	0,10	2,71	0,31	≤LOD	0,61
A ₃	0,85	0,10	2,85	0,34	≤LOD	0,19
A ₄	0,44	0,07	1,47	0,23	≤LOD	0,33
A ₅	0,41	0,12	1,37	0,40	≤LOD	≤LOD
A ₆	0,29	0,12	0,97	0,39	≤LOD	0,21
A ₇	0,46	0,10	1,53	0,33	≤LOD	0,21

*Concentração do analito

A Tabela 20 mostra que para Ni, foram obtidos baixos limites de detecção ($LOD \leq 0,85 \mu\text{g L}^{-1}$), mas Ni não foi detectável nas amostras usando este método. Muitas explicações podem ser consideradas, pois Ni geralmente se apresenta em

combustíveis como Ni volátil e Ni-complexado de baixa massa molar (VALE, et. al, 2004) e pode ter sido perdido durante as análises.

Para Cd, foram obtidos baixos limites de detecção ($LOD \leq 0,12 \mu\text{g L}^{-1}$) pelo método das adições de analito. As concentrações de cádmio encontradas nas amostras são baixas, mas situam-se acima dos respectivos limites de detecção obtidos estatisticamente.

Observando-se a Tabela 20, tem-se que a amostra A₅ (gordura animal com processo de lavagem), não apresentou concentração de Cd, provavelmente no passo de lavagem do processo de produção do biodiesel, o Cd foi eliminado, não sendo detectável nesta amostra pelo método proposto.

Os valores obtidos para Cd nas amostras de gordura animal são sempre mais baixos que em relação aos valores obtidos nas amostras de biodiesel vegetal. Isto provavelmente se deve ao fato, que os vegetais podem absorver metais do solo, o que não acontece nas amostras de origem animal, além disto pode ter a presença das cadistinas que são sintetizadas pela maioria das plantas superiores, e são presentes também em algas e fungos. A presença de Cd em biodiesel pode ser atribuída a alta mobilidade deste elemento no solo (COSTA-NETO, et. al, 2007; OLIVEIRA, et. al, 2001). Outro fator importante que se deve destacar é que Cd tem sido usado na forma de CdCl₂ como fungicida, e pode ser considerado uma fonte contaminação do solo (HERNÁNDEZ-CARABALLO; BURGUERA; BURGUERA, 2004; CAMPOS, et. al, 2005).

5.4.6 Teste de adição e recuperação

Devido a falta de material certificado de referência para Biodiesel usou teste de adição e recuperação do analito para avaliar exatidão e precisão do método. Os resultados para cada amostra são mostrados na Tabela 21.

Tabela 21: Recuperações ($n=3$) e desvios padrão relativos referentes a amostras de biodiesel, utilizando W como modificadores preparadas com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ni e $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd.

Amostra	Recuperação, %	
	Ni \pm RSD*	Cd \pm RSD
A ₁	108 \pm 1,5	100 \pm 4,3
A ₂	105 \pm 0,7	104 \pm 3,3
A ₃	103 \pm 2,9	108 \pm 0,6
A ₄	102 \pm 1,8	99 \pm 3,7
A ₅	101 \pm 3,0	116 \pm 3,7
A ₆	93 \pm 8,2	98 \pm 4,7
A ₇	97 \pm 2,7	102 \pm 4,6
A ₈	93 \pm 0,8	95 \pm 1,8

*RSD- desvio padrão relativo

A exatidão de uma análise depende da matriz, do processamento da amostra e da concentração de analito. Dados do manual AOAC (“Peer verified Methods Program”) mostram que para concentrações $\leq 10 \mu\text{g L}^{-1}$ valores de recuperação entre 40%-120% são aceitáveis (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2009).

A Tabela 21 mostra que os valores de recuperação situam-se entre 93 e 108% para Ni e 95 e 116% para Cd, indicando que o método utilizado é adequado para a determinação Ni e Cd nas matrizes de biodiesel, de diferentes procedências e origens. Os valores de RSD foram satisfatórios, sendo $\leq 8,2\%$ (amostra A₇) e $\leq 4,7\%$ (amostra A₈) para $10,0 \mu\text{g Ni L}^{-1}$ e $1,0 \mu\text{g Cd L}^{-1}$, respectivamente.

5.5 Otimização do procedimento de digestão por sistema de microondas com radiação focalizada

5.5.1 Influência do volume de injeção da amostra

A Figura 11 mostra a influência do volume de amostra sobre os sinais de absorvância do padrão de $10,0 \mu\text{g Cu L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); $30,0 \mu\text{g Pb L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); $10,0 \mu\text{g Ni L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v) e $1,0 \mu\text{g Cd L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v).

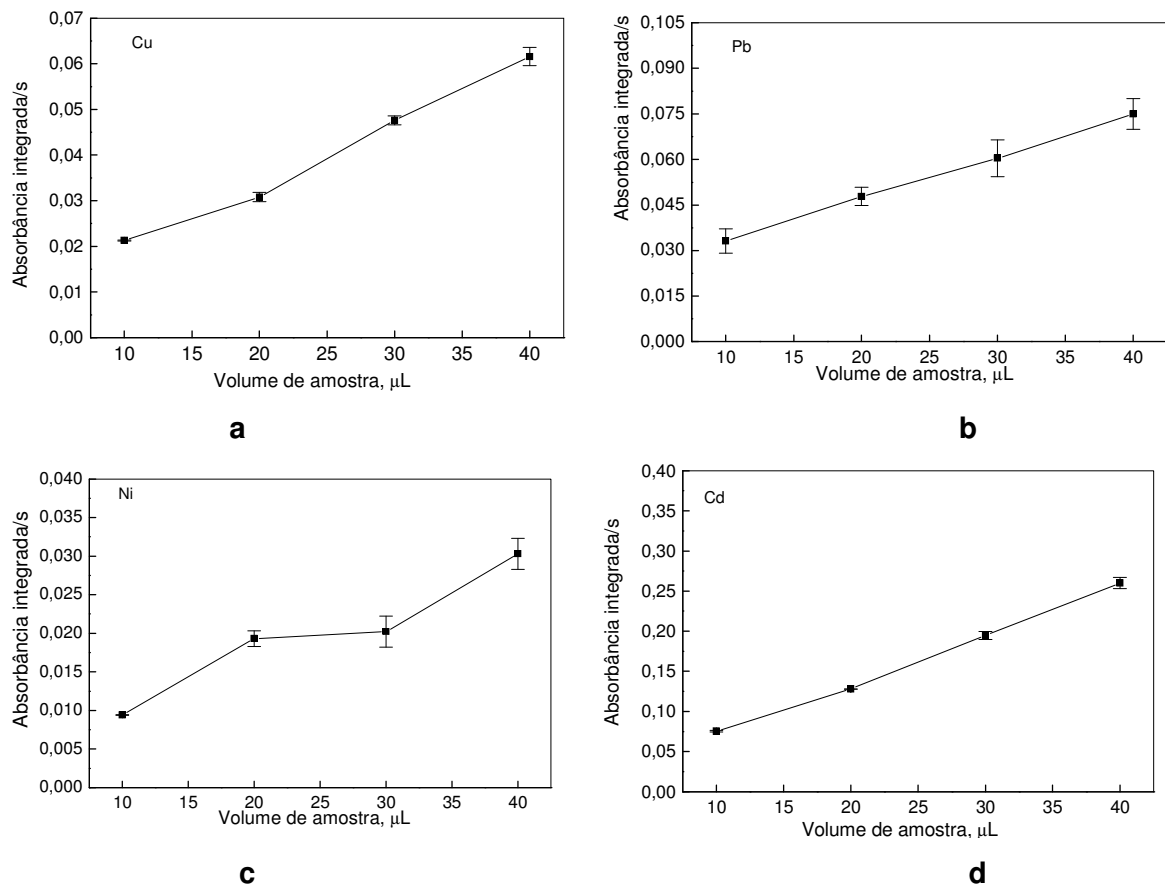


Figura 12: Influência do volume de amostra sobre os sinais de absorvância (corrigida do sinal do branco) da solução de a) $10,0 \mu\text{g Cu L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); b) $30,0 \mu\text{g Pb L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v); c) $10,0 \mu\text{g Ni L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v) e d) $1,0 \mu\text{g Cd L}^{-1}$ em HNO_3 1,0% (v/v).

Observando-se a Figura 12, todas as curvas apresentam um perfil semelhante. Ou seja, verifica-se que o volume de amostra de 10 µL apresenta um valor de absorvância significativo, entretanto baixo, devido ao volume de amostra também ser baixo, para todos os analitos. Ao usar 20 µL de amostra houve um aumento significativo na intensidade do sinal de absorvância, pois ao aumentar o volume de amostra que é introduzida no atomizador do espectrômetro de absorção atômica, a população de átomos no volume de absorção também aumenta, sendo que para estes dois volumes, a estimativa do desvio padrão foi relativamente baixa, mostrando que há boa repetibilidade nas medidas experimentais. Ao usar 30 e 40 µL de amostra, a quantidade de amostra foi grande para o atomizador (semelhante ao descrito no item 5.4.3), houve maior sensibilidade, mas as replicatas não foram satisfatórias, com alto valor da estimativa do desvio padrão principalmente para Pb e

Ni. Portanto o volume de 20 μL de amostra apresenta um valor significativo de absorvância para todos os analitos, com pequeno valor da estimativa do desvio padrão, e foi escolhido para as análises seguintes.

5.5.2 Determinação de Cu, Pb, Ni e Cd nas amostras de biodiesel pelo método das adições de analito

Devido a diferença de sensibilidade obtida pelos padrões emulsificados e aquoso (item 5.5.4), os analitos foram aqui determinados usando padrões em presença das amostras digeridas pelo método das adições de analito.

Com certo tempo de armazenamento, a amostra de gordura animal sem o processo de lavagem (amostra A_4) apresentava-se com nódulos (como pedras de gorduras), portanto não foi possível uma homogeneização desta amostra e não foi feito o procedimento de digestão para a mesma.

Não foi possível fazer digestão para a amostra de algodão (A_7), pois apresentou resíduos de gordura ao final do procedimento de digestão. Apesar de todas as amostras serem semelhantes, a amostra de algodão deve apresentar uma carga orgânica maior que as outras amostras, e a quantidade de ácido usado, não foi suficiente para digestão completa desta.

A Tabela 22 mostra as concentrações de Cu, Pb, Ni e Cd, os valores dos limites de detecção e de quantificação encontrados para as amostras digeridas.

Tabela 22: Concentrações de metais obtidas na amostra, limites de detecção e de quantificação encontrado para as curvas analíticas nas amostras e para o padrão aquoso.

Amostra	LOD, $\mu\text{g L}^{-1}$				LQ, $\mu\text{g L}^{-1}$				[C] *, $\mu\text{g g}^{-1}$			
	Cu	Pb	Ni	Cd	Cu	Pb	Ni	Cd	Cu	Pb	Ni	Cd
A_1	2,26	6,61	3,25	0,27	7,50	22	11	0,90	$\leq\text{LOD}$	7,00	$\leq\text{LOD}$	0,43
A_2	1,62	3,96	2,55	0,30	5,40	13	8,5	1,00	$\leq\text{LOD}$	$\leq\text{LOD}$	$\leq\text{LOD}$	0,17
A_3	2,00	5,18	2,55	0,28	6,67	18	8,5	0,93	$\leq\text{LOD}$	5,1	$\leq\text{LOD}$	$\leq\text{LOD}$
A_5	1,64	3,88	2,59	0,84	5,47	13	8,6	2,80	$\leq\text{LOD}$	$\leq\text{LOD}$	$\leq\text{LOD}$	$\leq\text{LOD}$
A_6	2,97	6,17	2,16	0,25	9,90	21	7,2	0,83	$\leq\text{LOD}$	$\leq\text{LOD}$	$\leq\text{LOD}$	0,19
A_8	2,54	4,02	2,90	0,20	8,47	13	9,6	0,67	$\leq\text{LOD}$	$\leq\text{LOD}$	$\leq\text{LOD}$	$\leq\text{LOD}$

[C]*- Concentração de metal obtida nas amostras

Observando-se a Tabela 22 para Cu, todas as amostras apresentam concentrações abaixo do LOD. Para Pb, as concentrações encontradas apenas nas amostras A_1 e A_3 foram acima do LOD, mas foram abaixo do LQ. Para Ni, a

concentração obtida para as amostras foram abaixo dos limites de detecção ($\text{LOD} \leq 3,25 \mu\text{g L}^{-1}$). Ainda na Tabela 1, para Cd foram obtidos baixos limites de detecção ($\text{LOD} \leq 0,84 \mu\text{g L}^{-1}$) pelo método das adições de analito, no entanto maiores que os obtidos no item 5.2.5. Cádmio não foi quantificado na amostra A_5 pelo método usado.

A Tabela 18 mostra que para Ni, foram obtidos baixos limites de detecção ($\text{LOD} \leq 0,85 \mu\text{g L}^{-1}$), mas Ni também não foi detectável nas amostras usando este método. As prováveis explicações são as mesmas comentadas no item 5.2.5.

5.5.3 Teste de adição e recuperação

Os resultados de adição e recuperação para cada amostra são mostrados na Tabela 23.

Tabela 23: Recuperações ($n=3$) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de biodiesel, utilizando W como modificadores preparadas com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu, $15 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ni e $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd.

Amostra	Recuperação, % \pm RSD			
	Cu \pm RSD*	Pb \pm RSD	Ni \pm RSD	Cd \pm RSD
A_1	99 \pm 2,18	111 \pm 3,30	97 \pm 6,80	103 \pm 0,90
A_2	98 \pm 1,40	101 \pm 4,70	100 \pm 5,03	100 \pm 0,29
A_3	101 \pm 1,64	124 \pm 8,50	101 \pm 5,53	105 \pm 1,68
A_5	106 \pm 5,80	114 \pm 4,90	102 \pm 2,53	101 \pm 2,41
A_6	91 \pm 1,64	106 \pm 1,38	98 \pm 3,15	100 \pm 1,92
A_8	103 \pm 2,70	100 \pm 5,30	95 \pm 5,30	95 \pm 1,39

*RSD- desvio padrão relativo

A Tabela 23 mostra que os valores de recuperação situam-se entre 91 e 106% para Cu, entre 100 e 124% para Pb, 95 e 102% para Ni e 95 e 105% para Cd, indicando que, apesar dos baixos valores de concentração encontrados para as amostras (Tabela 19), o método utilizado é adequado para a determinação destes analitos nas matrizes de biodiesel, de diferentes procedências e origens. Os valores de RSD foram satisfatórios, sendo $\leq 5,80\%$ (amostra A_5) para Cu- $10 \mu\text{g L}^{-1}$; sendo $\leq 8,50\%$ (amostra A_3) para Pb- $15 \mu\text{g L}^{-1}$; $\leq 6,80\%$ (amostra A_1) para Ni- $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e $\leq 2,41\%$ (A_5) para Cd- $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

5.6 Comparação do procedimento de microemulsão e do procedimento digestão por microondas com radiação focalizada

A Tabela 24 mostra os valores de Cd nas amostras A₁, A₂, A₃, A₅, A₆ e A₈ que foram determinadas pelos dois métodos, ou seja, usando amostra na forma de microemulsão e de digerido.

Tabela 24: Concentrações de Cd obtidas nas amostras, limites de detecção e de quantificação encontrado para as amostras usando os diferentes procedimentos de preparo de amostra.

Amostra	LOD encontrada, µg L ⁻¹		LQ encontrada, µg L ⁻¹		[C] obtida na amostra, µg g ⁻¹	
	Cd _{ME} [*]	Cd _D ^{**}	Cd _{ME} [*]	Cd _D ^{**}	Cd _{ME} [*]	Cd _D ^{**}
A ₁	0,10	0,27	0,36	0,90	0,66	0,43
A ₂	0,093	0,30	0,31	1,00	0,61	0,17
A ₃	0,07	0,28	0,34	0,93	0,33	≤LOD
A ₅	0,12	0,84	0,40	2,80	≤LOD	≤LOD
A ₆	0,12	0,25	0,39	0,83	0,21	0,19

ME^{*}- Microemulsão; D^{**}- Digerido

Observando a Tabela 24, para Cd foram obtidos baixos limites de detecção (LOD ≤ 0,84 µg L⁻¹) pelo método das adições de analito para os dois métodos, no entanto, os LOD foram maiores para o método de digestão. As concentrações encontradas nas amostras digeridas são sempre mais baixas que as concentrações obtidas para a mesma amostra, determinada na forma de microemulsão, devido a uma possível perda de analito durante a digestão, pois o microondas usado tem processo semi aberto, e apesar do refluxo, pode ter ocorrido a evaporação parcial do analito (MEERAVALI; KUMAR, 2001).

A amostra A₅ (Gordura animal com procedimento de lavagem) não apresentou concentração quantificável de Cd concordante para os dois procedimentos (Tabela 20 e Tabela 22). A amostra A₈, apresentou resultados diferentes, ou seja, como B10 é uma amostra de biodiesel misturada ao diesel. As únicas amostras que apresentaram concentração de Cd pelos 2 métodos foram as A₁, A₂ e A₆.

O teste F é um teste de hipóteses utilizado para verificar se as variâncias de duas determinações são diferentes, ou para verificar qual das duas determinações têm mais variabilidade. Foi feito também o teste F para verificar se as variâncias são iguais ou diferentes e os valores de F_{calculado} foram sempre menores que o valor de

F_{tabelado} , para 95% de confiança. Desta forma é possível concluir que não há diferenças significativas entre as duas precisões ao nível de 95% de confiança.

O teste t é uma ferramenta estatística muito usada para verificar a concordância entre as médias. Foi feito teste t de student para avaliar as amostras comparando diferenças individuais, pois cada amostra foi medida pelo método de microemulsão e pelo método de digestão, a qual não fornecem exatamente o mesmo resultado. O valor de $t_{\text{calculado}}$ encontrado foi menor que o valor t_{tabelado} para 95% de confiança. Portanto, os 2 métodos não são significativamente diferentes no nível de 95% de confiança.

A Tabela 25 sumariza as características analíticas para o analitos nos dois métodos desenvolvidos:

Tabela 25: Características analíticas dos métodos propostos para a determinação de Cu, Pb, Ni e Cd em biodiesel empregando W e dois procedimentos de preparo de amostra

PARÂMETROS	MICROEMULSÃO				DIGESTÃO MICROONDAS			
	Cu	Pb	Ni	Cd	Cu	Pb	Ni	Cd
Temperatura de Pirólise, °C	1000	500	800	500	1000	500	800	500
Temperatura de Atomização, °C	2200	2000	2300	1400	2200	2000	2300	1400
Volume de amostra, µL				20				
Intervalo linear de calibração usado, µg L ⁻¹	5 - 15	15 - 45	5 - 15	0,5 - 1,5	5 - 15	15 - 45	5 - 15	0,5 - 1,5
Massa característica, pg	nd*	nd*	≤ 11	≤ 2	≤ 41	≤ 54	≤ 25	≤ 2
Valores de recuperação, %	nd*	nd*	93 - 108	95 - 116	91 - 106	100 - 124	95 - 102	95 - 105
Massa de modificador (µg)			520	200			450	
Vida útil do tubo de grafite (média do n° de queimas)								
Frequência analítica (determinações por hora)				40				
Desvio padrão relativo R.S.D., n=12), mL	nd*	nd*	≤ 8,20%	≤ 4,71%	≤ 5,80%	≤ 8,50%	≤ 6,80	≤ 2,41
LOD, µg L ⁻¹	nd*	nd*	≤ 1	≤ 0,12	≤ 3	≤ 7	≤ 4	≤ 0,84
LQ, µg L ⁻¹	nd*	nd*	≤ 3	≤ 3	≤ 10	≤ 22	≤ 11	≤ 3

nd*- não determinado

6 CONCLUSÃO

Técnicas envolvendo otimização multivariada, atualmente vem sendo preferencialmente aplicadas em química analítica por permitirem, dentre outras vantagens, a otimização simultânea de todos os fatores envolvidos no sistema com menor número de experimentos, maior rapidez e principalmente maior eficiência. Apesar destas múltiplas vantagens, somente nas últimas décadas houve uma utilização efetiva e crescente das técnicas multivariadas na otimização de métodos analíticos. O planejamento fatorial foi aplicado neste trabalho e verificou-se a importância deste para avaliar a significância de algumas variáveis, bem como indicar condições ótimas para obtenção dos melhores resultados. Outro ponto a ser destacado é o menor número de experimentos obtidos com o planejamento fatorial, em comparação com o método tradicional (univariado). Foram realizados no máximo 16 experimentos na otimização das temperaturas de pirólise e de atomização para cada elemento, ao invés de 17 a 25 experimentos conforme mostra a literatura para o método tradicional.

As temperaturas de pirólise e de atomização para a determinação de Cu, Cd, Ni e Pb foram obtidas observando os gráficos do valor dos efeitos. Por meio destes, verificou-se que para os analitos Cu e Pb, o preparo de amostra na forma de digestão foi a única variável significativa, assim estes elementos foram analisados apenas em amostras digeridas em microondas focalizado. Para Ni nenhuma das variáveis avaliadas foram importantes. As temperaturas ótimas de pirólise (T_p) e atomização (T_a) encontradas foram: Cu 1000 °C e 2200 °C, Pb 500 °C e 2000 °C, Ni 800 °C e 2300 °C, respectivamente. Para Cd foi necessário aumentar a temperatura de pirólise e diminuir a de atomização para garantir melhor eficiência no processo. Foi feito um planejamento fatorial 2^2 com 4 experimentos. Este fatorial possui dois níveis relativos à menor (-1) e maior (+1) temperaturas para duas variáveis (temperaturas de pirólise e de atomização), resultados mostram que os valores dos efeitos foram muito pequenos para o planejamento usado, assim escolheu-se as menores temperaturas, T_p -500°C e T_a -1400°C. As outras variáveis não foram importantes. Optou-se por trabalhar com W, pois as análises são mais rápidas, menor contaminação, poucos problemas relacionados ao background e incompatibilidade de soluções, além do W ser um modificador permanente, o que pode aumentar o tempo de vida útil do atomizador.

O procedimento analítico desenvolvido usando microemulsão podem ser considerados satisfatórios, pois mostraram bons valores de recuperação e baixos valores de RSD.

A grande vantagem dos procedimentos usados é a possibilidade de usar padrões inorgânicos nas determinações, ao invés de solventes orgânicos que apresentam alguns inconvenientes, como a necessidade de equipamentos, conexões e aparatos adequados devido à toxicidade envolvida, além de apresentar instabilidade química.

Apesar de não ter sido determinado alguns destes elementos nas amostras analisadas usando estes métodos, foram encontrados baixos valores de LOD e LOQ. Desta forma é interessante, pois se os respectivos analitos estiverem presentes nas amostras de Biodiesel analisadas, estão presentes em concentrações abaixo de $3 \mu\text{g L}^{-1}$ (maior valor de LOQ encontrado). Valores estes bem menores que os valores para estes elementos encontrados em combustíveis fósseis na literatura, o que pode ser considerado bom do ponto de vista ambiental para o uso de Biodiesel, visto que alguns elementos, por exemplo o Ni, é um constituinte natural do petróleo, e geralmente é encontrado nos seus derivados em altas concentrações.

Desta forma, os métodos desenvolvidos pode contribuir para o estabelecer ou propor uma normatização adequada, visto que ainda não existe na literatura e/ou na legislação vigente, em relação ao controle de qualidade destes metais em amostras de biodiesel.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Otimização de outros parâmetros dos sistemas, tais como a avaliação da influência da massa de biodiesel; avaliação da massa de Triton X-100 para os outros analitos;
- Uso do planejamento fatorial para avaliar todas as variáveis juntas (Ta, Tp, volume de amostra, modificador, massa de amostra, massa de triton, procedimento de preparo de amostras);
- Desenvolvimento de método analítico para a determinação de Cu, Cd, Ni, Pb e outras espécies metálicas em material particulado proveniente da combustão do biodiesel em veículos automotores por AAS.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, A. K. Experimental investigations of the affect of biodiesel utilization on the lubricating oil tribology in diesel engines. **Proc. Inst. Mech. Eng. Transp. Eng.**, v. 219, p. 703-713, 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Validação e incerteza na medição analítica**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/reblas/cursos_ggglas/validacao_incertezas_pierre_2.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2009.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Portaria nº 311, de 27 de dezembro de 2001. Estabelece os procedimentos de controle de qualidade na importação de petróleo, seus derivados, álcool etílico combustível, biodiesel e misturas óleo diesel/biodiesel. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 28 de dezembro de 2001. Disponível em: <[http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/folder_portarias_anp/portarias_anp_tec/2001/dezembro/panp%20311%20-%202001.xml?f=templates\\$fn=default.htm&sync=1&vid=anp:10.1048/enu](http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/folder_portarias_anp/portarias_anp_tec/2001/dezembro/panp%20311%20-%202001.xml?f=templates$fn=default.htm&sync=1&vid=anp:10.1048/enu)>. Acesso em: 10 maio 2009.

AMARO, J. A. D.; FERREIRA, S. L. C. Application of factorial design and Doehlert matrix in the optimisation of instrumental parameters for direct determination of silicon in naphtha using graphite furnace atomic absorption spectrometry. **J. Anal. Atom. Spectrom.**, v. 19, n. 2, p. 246-249, 2009.

AMOEDO, L.; CAPELO, J. L.; LAVILHA, I.; BENDICHO, C. Evaluation of *Platanus occidentalis* and *Pinus sylvestris* as bioindicators for lead and cadmium by slurry sampling-electrothermal atomic absorption spectrometry. **J. AOAC Int.**, v. 85, p. 212-218, 2002.

AMORIM, F. A. C.; LIMA, D. C.; AMARO J. A. A.; VALE, M. G. R.; FERREIRA, S. L. C. Methods for vanadium determination in fuel oil by gf aas with microemulsification and acid digestion sampling. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 18, n. 8, p.1566-1570, 2007.

AMORIM, F. R.; BOF, C.; FRANCO, M. B.; SILVA J. B.; NASCENTES, C. C. Comparative study of conventional and multivariate methods for aluminum determination in soft drinks by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchem. J.**, v. 82, p. 168-173, 2006.

ANSELMINI, A.; TITTARELLI, P.; KATSKOV, D. A. Determination of trace elements in automotive fuels by filter furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 57, p. 403-411, 2002.

ARAMBARRI, I.; GARCIA, R.; MILLAN, E. Optimisation of tin determination in aqua regia-HF extracts from sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry using experimental design. **Analyst.**, v. 125, p. 2084-2088, 2000.

ARAÚJO, P. W.; GOMEZ, C. V.; MARCANO, E.; BENZO, Z. Application of a fractional factorial design for the determination of cadmium by eta-aas in different atomization systems. **Fresenius' J. Anal. Chem.**, v. 351, p. 204-208, 1995.

ARZAMENDI, G.; ARGUINÃRENA, E.; CAMPO, I.; ZABALA, S.; GANDIÁ, L. M. **Catal. Today**, v. 133-135, p. 305-313, 2008.

ATKINS, P.; PAULA, J. **Physical chemistry**. 8 th ed. [Oxford](#): Oxford University Press, 2006.

AUCÉLIO, R. Q.; DOYLE, A.; PIZZORNO, B. S.; TRISTÃO, M. L. B.; CAMPOS, R. C. Electrothermal atomic absorption spectrometric method for the determination of vanadium in diesel and asphaltene prepared as detergentless microemulsions. **Microchem. J.**, v. 78, p. 21-26, 2004.

BACCAN, N.; ANDRADE, J. C.; GODINHO, O. E. S.; BARONE, J. S. **Química analítica quantitativa elementar**. 2. ed. Campinas: Ed. UNICAMP, 1985. 259 p.

BARBOSA, A. F.; SAGATELLI, M. G.; PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. D.; KUBOTA, L. T.; LUCCAS, P. O.; TARLEY, C. R. T. Solid-phase extraction system for Pb (II) ions enrichment based on multiwall carbon nanotubes coupled on-line to flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 71, p. 1512-1519, 2007.

BETTINELLI, M.; SPEZIA, S.; BARONI, U.; BIZZARRI, G. The use of reference materials in the fossil fuels quality control. **Microchim. Acta**, v. 123, p. 217-230, 1996.

BRANDÃO, G. P.; CAMPOS, R. C.; CASTRO, E. V. R.; JESUS, H. C. Determination of copper, iron and vanadium in petroleum by direct sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 62, p. 962-969, 2007.

BUTCHER, D. J.; SNEDDON, J. **A practical guide to graphite furnace atomic absorption spectrometry**. New York: John Wiley & Sons, 1998. 250 p.

CALDAS, N. M. **Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de As, Cu e Pb em cachaça por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite**. 2008. 142 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

CAMPOS, M. L.; SILVA, F. N.; FURTINI NETO, A. E. F.; GUILHERME, L. R. G.; MARQUES, J. J.; ANTUNES, A. S. Determinação de cádmio, cobre, cromo, níquel, chumbo e zinco em fosfatos de rocha. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 40, p. 361-367, 2005.

CAMPOS, R. C.; SANTOS, H. R.; GRINBERG, P. Determination of copper, iron, lead and nickel in gasoline by electrothermal atomic absorption spectrometry using threecomponent solutions. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 57, p. 15-28, 2002.

CANAKCI, M.; MONYEM, A.; VAN GERPEN, J. Accelerated oxidation processes in biodiesel. **Trans. of the Asae**, v. 42, p. 1565-1572, 1999.

CAPELO, J. L.; MADURO, C.; MOTA, A. M. Evaluation of focused ultrasound and ozonolysis as sample treatment for direct determination of mercury by FI-CV-AAS. Optimization of parameters by full factorial design. **Ultrason. Sonochem.**, v. 13, n. 1, p. 98-106.

CARLETTO, J. S.; ROUX, K. C. P.; MALTEZ, H. F.; MARTENDAL, E.; CARASEK, E. Use of 8-hydroxyquinoline-chitosan chelating resin in an automated on-line preconcentration system for determination of zinc(II) by F AAS. **J. Hazard. Mater.**, v. 157, p. 88-93, 2008.

CASSELLA, R. J.; BARBOSA, B. A. R. S.; SANTELLI, R. E.; RANGEL, A. T. Direct determination of arsenic and antimony in naphtha by electrothermal atomic absorption spectrometry with microemulsion sample introduction and iridium permanent modifier. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 379, p. 66-71, 2004.

CHAVES, E. S.; LEPRI, F. G.; SILVA, J. S. A.; QUADROS, 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.**, v. 10, p. 1211-1216, 2008a.

CHAVES, E. S.; SAINT'PIERRE, T. D.; SANTOS, E. J.; TORMEN, L. V.; BASCUNANA, L. A. F.; CURTIUS, A. Determination of Na and K in biodiesel by flame atomic emission spectrometry and microemulsion sample preparation. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 19, n. 5, p. 856-861, 2008b.

COMMISSION REGULATION. EU no 401/2006 of 23 February 2006. Laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L. 70, p. 12-34 (9.3.2006). Disponível em:

<<http://europa.eu.int/eurlex/lex/JOHtml.do?uri=OJ:L:1998:201:SOM:PT:HTML>>.

Acesso em: 06 ago. 2007.

COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S.; ZAGONEL, G. F.; RAMOS, L. P. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Quim. Nova**, v. 23, n. 4, p. 531-537, 2000.

COSTA, C. N.; MEURER, E. J.; BISSANI, C. A.; TEDESCO, M. J. Fracionamento sequencial de cádmio e chumbo em solos. **Ciênc. Rural**, v. 37, p. 1323-1328, 2007.

CRUZ, A. M.; BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M.; RIVAS, C. Factorial design for the response exploration of a flow injection system. **Talanta**, v. 42, n. 5, p. 701-709, 1995.

DIAS, F. D.; SANTOS, V. N. L.; COSTA, A. C. S.; WELS, B.; VALE, M. G. R.; FERREIRA, S. L. C. Application of multivariate techniques for optimization of direct method for determination of lead in naphtha and petroleum condensate by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchim. Acta**, v. 158, p. 321-326, 2007.

DUCYCK, C.; MIEKELEY, N.; SILVEIRA, C. L. P.; AUCÉLIO, R. Q.; CAMPOS, R. C.; GRINBERG, P.; BRANDÃO, G. P. The determination of trace elements in crude oil and its heavy fractions by atomic spectrometry. **Spectroch. Acta Part B**, v. 62, p. 939-951, 2007.

EDIGER, R. D. Atomic absorption analysis with graphite furnace using matrix modification. **At. Absorption Newsletter**, v. 14, p. 127-130, 1975.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia, **Quim. Nova**, v. 28, n. 1, p. 19-23, 2005.

FERREIRA, A. C.; KORN, M. D. A.; FERREIRA, S. L. Multivariate optimization in preconcentration procedure for manganese determination in seawater samples by FAAS. **Microchim. Acta**, v. 146, p. 271-278, 2004.

FERRUA, N.; CERUTTI, S.; SALONIA, J. A.; OLSINA, R. A.; MARTINEZ, L. D. On-line preconcentration and determination of mercury in biological and environmental samples by cold vapor-atomic absorption spectrometry. **J. Hazard. Mater.**, v. 141, p. 693-699, 2007.

FIGUEIREDO, J. L.; RIBEIRO, F. R. Desativação de catalisadores. In: _____. **Catálise heterogênea**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, 1987. cap. 7, p. 219-252.

FORMARIZ, T. P.; URBAN, M. C. C.; SILVA JÚNIOR, A. A.; GREMIÃO, M. P. D.; OLIVEIRA, A. G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 41, n. 3, p. 301-313, 2005.

FRESCHI, C. S. D.; FRESCHI, G. P. G.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Arsenic as internal standard to correct for interferences in determination of antimony by hydride generation *in situ* trapping graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 60, n. 5, p. 759-763, 2005.

GARCIA, M. B. M.; MILLA, D. B.; JIMENIZ, A. J.; ARTIGA, M. P. H. Application of a fractionary factorial design to the determination of tin in lubricating oils by continuous flow hydride generation atomic-absorption spectrometry. **Fresenius` J. Anal. Chem.**, v. 364, n. 6, p. 527-532, 1999.

GIACOMELLI, M. B. O.; SILVA, J. B. B.; SANT`PIERRE, T. D.; CURTIUS, A. J. Use of iridium plus rhodium as permanent modifier to determine As, Cd and Pb in acids and ethanol by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchem. J.**, v. 77, p. 151-156, 2004.

GÓMEZ, V.; PASAMONTES, A.; CALLAO, M. P. Factorial design for optimising chromium determination in tanning wastewater. **Microchem. J.**, v. 83, p. 98-104, 2006.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2001.

HASHEMI, P.; RAHMANI, Z. A novel homocystine–agarose adsorbent for separation and preconcentration of nickel in table salt and baking soda using factorial design optimization of the experimental conditions. **Talanta**, v. 68, p. 1677-1682, 2006.

HERNÁNDEZ-CARABALLO, E. A.; BURGUERA, M.; BURGUERA, J. L. Determination of cadmium in urine specimens by graphite furnace atomic absorption spectrometry using a fast atomization program. **Talanta**, v. 63, p. 419-424, 2004.

HILLIGSØE, B.; HANSEN, E. H. Application of factorial designs and simplex optimization in the development of flow injection-hydride generation-graphite furnace atomic absorption spectrometry (FI-HG-GFAAS) procedures as demonstrated for the determination of trace levels of germanium. **Fresenius J. Anal Chem.**, v. 358, p. 775-780, 1997.

IANTCHEVA, M. Atomic absorption spectrophotometry determination of aluminium and vanadium in navy oils and related raw materials. **Anal. Lab.**, v. 5, n. 1, p. 31-35, 1996.

IZGI, B.; DEMIR, C.; GUCER, S. Application of factorial design for mercury determination by trapping and graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 55, p. 971-977, 2000.

JACKSON, K. W. **Electrothermal atomization for analytical atomic spectrometry**. Chichester: John Wiley, 1999.

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**, v. 74, p. 1378-1384, 2008.

KORN, M. G. A.; SANTOS, D. S. S.; WELZ, B.; VALE, M. G. R.; TEIXEIRA, A. P.; LIMA, D. C.; FERREIRA, S. L. C. Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels: a review. **Talanta**, v. 73, p. 1-11, 2007.

KOWALEWSKA, Z.; BULSKA, E.; HULANICKI, A. Organic palladium and palladium-magnesium chemical modifiers in direct determination of lead in fractions from distillation of crude oil by electrothermal atomic absorption analysis. **Spectrochim. Acta part B**, v. 54B, n. 5, p. 835-843, 1999.

LAJUNEN, L. H. J. **Spectrochemical analysis by atomic absorption and emission**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1992.

LARA, P. C. P.; SILVEIRA, J. N.; BORGES NETO, W.; SILVA, J. B. B. Direct determination of Mn in breast milk by GF AAS after multivariate optimization. **Anal. Letters**, v. 42, n. 7, p. 923-924, 2009.

LAVILLA, I.; PEREZ-CID, B.; BENDICHO, C. Optimization of digestion methods for sewage sludge using the Plackett-Burman saturated design.

Fresenius' J. Anal. Chem., v. 361, p. 164-167, 1998.

LEPRI, F. G.; WELZ, B.; BORGES, D. L. G.; SILVA, A. F.; VALE, M. G. R.; HEITMANN, U. Speciation analysis of volatile and non-volatile vanadium compounds in Brazilian crude oils using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 558, p. 195-200, 2006.

LI, S. Q.; HE, X. M.; DU, P.; WANG, M.; CHEN, H.; WU, M. C. Determination of lead in microemulsified rapeseed oil and biodiesel oil by GFAAS.

Spectrosc. and Spectral Analysis, v. 28, n. 10, p. 2431-2435, 2008.

LIANG, L.; HORVAT, M.; DANILCHIK, P. A novel analytical method for determination of picogram levels of total mercury in gasoline and other petroleum based products.

Sci. Total Envir., v. 187, n. 1, p. 57-64, 1996.

LIU, J.; STURGEON, R. E.; WILLIE, S. N. Open-focused microwave-assisted digestion for the preparation of large mass organic samples. **Analyst**, v. 120, n. 7, p. 1905-1909, 1995.

LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; ROSA, A. H.; OLIVEIRA, A. P.; PEREIRA FILHO, E. R.; FRACETO, L. F.; DIAS FILHO, N. L. Comparison of the univariate and multivariate methods in the optimization of experimental conditions for determining Pb, Cu, Ni and Cd in biodiesel by GFAAS. **Fuel**, v. 88, p. 1907-1914, 2009.

LOPEZ, D. E.; GOODWIN Jr., J. G.; BRUCE, D. A.; LOTERO, E. Transesterification of triacetin with methanol on solid acid and base catalysts. **Appl. Catal.**, v. 295, p. 97-105, 2005.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review. **Bioresour. Technol.**, v. 70, p. 1-15, 1999.

MARTIN-GARCIA, M. B.; BELLIDO-MILLA, D.; JIMENEZ-JIMENEZ, A.; HERNADES-ARTIGAS, M. P. Application of a fractionary factorial design to the determination of tin in lubricating oils by continuous flow hydride generation-atomic absorption spectrometry. **Fresenius' J. Anal. Chem.**, v. 364, p. 527-532, 1999.

MASON, T. G.; WILKING, J. N.; MELESON, K.; CHANG, S. M.; GRAVES, S. M. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. **J. Physics: Condensed Matter**, v. 18, p. 635-666, 2006.

MEERAVALI, N. N.; KUMAR, S. J. The utility of a W-Ir permanent chemical modifier for the determination of Ni and V in emulsified fuel oils and naphta by transverse heated electrothermal atomic absorption spectrometer. **J. Anal. Atom. Spectrom.**, v. 16, n. 5, p. 527-532, 2001.

MEHER, L. C.; DHARMAGADDA, V. S. S.; NAIK, S. N. Optimization of alkali-catalyzed transesterification of *Pongamia pinnata* oil for production of biodiesel. **Bioresour. Technol.**, v. 97, p. 1392-1397, 2006.

MISSELWITZ, R.; SENGUTTA, U. Determination of elements in oily matrices. **Laborpraxis**, v. 21, n. 4, p. 47-48, 1997.

MORAES, C. M. **Preparo, caracterização físico-química e avaliação da estabilidade de nanopartículas poliméricas contendo anestésicos locais**. 2009. 119 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

MOREIRA, F. R.; PIVETTA, F. Manganese determination in air, blood, and urine, using $Mg(NO_3)_2$ as modifier and in situ decontamination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **At. Spectrosc.**, v. 19, p. 137-142, 1998.

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. **Quim. Nova**, v. 27, n. 1, p. 131-138, 2004.

OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M.; LIMA, E. C. Direct determination of Al, As, Cu, Fe, Mn and Ni in fuel ethanol by simultaneous GFAAS using integrated platforms pretreated with W-Rh permanent modifier together with Pd+Mg modifier. **At. Spectrosc.**, v. 23, n. 6, p. 190-195, 2002a.

OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M.; LIMA, E. C. Simultaneous determination of Al, As, Cu, Fe, Mn and Ni in Fuel Ethanol by GFAAS. **At. Spectrosc.**, v. 23, n. 2, p. 39-43, 2002b.

OLIVEIRA, A. P.; OKUMURA, L. L.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M. Avaliação do método das adições de analito para a determinação de sódio em álcool combustível por espectrometria de emissão atômica em chama. **Eclet. Quim.**, v. 27, p. 285-291, 2002c.

OLIVEIRA, A. P.; VILLA, R. D.; ANTUNES, K. C. P.; MAGALHÃES, A.; SILVA, E. C. Determination of sodium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry using dry decomposition for the sample preparation. **Fuel**, v. 88, p. 764-766, 2009.

OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n. 2, p. 174-182, 2003.

OLIVEIRA, J. A.; CAMBRAIA, J.; CANO, M. A. O.; JORDÃO, C. P. Absorção e acúmulo de cádmio e seus efeitos sobre o crescimento relativo de plantas de aguapé e de salvinia. **R. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 13, p. 329-341, 2001.

OZCAN, M.; AKMAN, S. Determination of Cu, Co and Pb in gasoline by electrothermal atomic absorption spectrometry using aqueous standard addition in gasoline-ethanol-water three-component system. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 60, p. 399-402, 2005.

PENA-PEREIRA, F.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Headspace single-drop microextraction with in situ stibine generation for the determination of antimony (III) and total antimony by electrothermal-atomic absorption spectrometry. **Microchim. Acta**, v. 164, p. 77-83, 2009.

PEREIRA FILHO, E. R.; POPPI, R. J.; ARRUDA, M. A. Z. Emprego de planejamento fatorial para a otimização das temperaturas de pirólise e atomização de Al, Cd, Mo e Pb por ETAAS. **Quim. Nova**, v. 25, n. 2, p. 246-253, 2002.

PESCO, C.; CAMPOS, E. A.; COSTA, C. M. M. Preconcentration of transition metal ions from ethanol solution on N-acyl-N'-benzoylthiourea - modified silica gel. **Microchim. Acta**, v. 127, n. 3-4, p. 229-232, 1997.

PLATTEAU, O.; CARRILLO, M. Determination of metallic elements in crude oil-water emulsions by flame AAS. **Fuel**, v. 74, n. 5, p. 761-767, 1995.

QIAO, H.; JACKSON, K. W. Mechanism of modification by palladium in graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 46, n. 14, p. 1841-1859, 1991.

RAMADHAS, A. S.; JAYARAJ, S.; MURALEEDHARAN, C. Use of vegetable oils as I.C. engine fuels: a review. **Renewable Energy**, v. 29, p. 727-742, 2004.

REYES, M. N. M.; CAMPOS, R. C. Graphite furnace absorption spectrometric determination of Ni and Pb in diesel and gasoline samples stabilized as microemulsion using conventional and permanent modifiers. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 60, p. 615-624, 2005.

SANT'PIERRE, T.; AUCÉLIO, R. Q.; CURTIUS A. J. Trace elemental determination in alcohol automotive fuel by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchem. J.**, v. 75, n. 1, p. 59-67, 2003.

SANT'PIERRE, T. D.; FRESCURA, V. I. A.; AUCÉLIO, R. Q. The development of a method for the determination of trace elements in fuel alcohol by ETV-ICP-MS using isotope dilution calibration. **Talanta**, v. 68, p. 957-962, 2006.

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

SANT'PIERRE, T. D.; DIAS, L. F.; POZEBON, D.; AUCÉLIO R. Q.; CURTIUS A. J.; WELZ, B. Determination of Cu, Mn, Ni and Sn in gasoline by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, and emulsion sample introduction. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 57, n. 12, p. 1991-2001, 2002.

SANTOS, E. J.; HERRMANN 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. Atom. Spectrom.**, v. 22, p. 1300-1303, 2007.

SANTOS, L. M. G.; GONÇALVES, J. M.; JACOB, C. S. Determinação simultânea de As, Cd e Pb em amostras de água purificada para hemodiálise por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, após otimização multivariada baseada no uso de planejamento experimental. **Quim. Nova**, v. 31, n. 5, p. 975-979, 2008.

SILVEIRA, J. N.; LARA, P. C. P.; DIAS, M. B.; NASCENTES, C. C.; DEMICHELI, C.; SILVA, J. B. B. Comparative studies of univariate and multivariate optimizations for manganese determination in antihypertensive drugs by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Can. J. Chem.**, v. 85, n. 9, p. 619-25, 2007.

SORIANO, S.; PEREIRA NETTO, A. D. P.; CASSELLA, R. J. Multivariate optimization of a microwave-assisted leaching procedure using dilute acid solutions, for FAAS determination of Cu, Fe, Mn, and Zn in multivitamin/ multimineral supplements. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 387, p. 1113-1120, 2007.

SOUZA, A. S.; SANTOS, W. N. L.; FERREIRA, S. L. C. Application of Box–Behnken design in the optimisation of an on-line pre-concentration system using knotted reactor for cadmium determination by flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 60, p. 737-742, 2005.

SOUZA, R. M.; MATHIAS, B. M.; SCARMINIO, I. S.; SILVEIRA, C. L. P.; AUCÉLIO, R. Q. Comparison between two sample emulsification procedures for the determination of Mo, Cr, V and Ti in diesel and fuel oil by ICP OES along with factorial design. **Microchim. Acta**, v. 153, p. 219-225, 2006.

TAGLIABUE, S.; GASPAROLI, A.; DELLA BELLA, L.; BONDIOLI, P. Influence of metal contamination on biodiesel thermo-oxidation stability. **Riv. Ital. Sostanze Grasse**, v. 82, p. 93-96, 2006.

TARLEY, C. R. T.; FIGUEIREDO, E. D.; MATOS, G. D. Thermospray flame furnace-AAS determination of copper after on-line sorbent preconcentration using a system optimized by experimental designs. **Anal. Sci.**, v. 21, p. 1337-1342, 2005.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial **Quim. Nova**, v. 29, n. 2, p. 338-350, 2006.

TRINDADE, J. M.; MARQUES, A. L.; LOPES, G. S.; MARQUES, E. P.; ZHANG, J. J. Arsenic determination in gasoline by hydride generation atomic absorption spectroscopy combined with a factorial experimental design approach. **Fuel**, v. 85, p. 2155-2161, 2006.

TSALEV, D. L.; SLAVEYKOVA, V. I.; LAMPUGNANI, L.; D'ULIVO, A.; GEORGIEVA, R. Permanent modification in electrothermal atomic absorption spectrometry-advances, anticipations and reality. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 55, p. 473-490, 2000.

VALE, M. G. R.; DAMIN, I. C. F.; KLASSEN, A.; SILVA, M. M.; WELZ, B.; SILVA, A. F.; LEPRI, F. G. Method development for the determination of nickel in petroleum using line-source and high-resolution continuum-source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchem. J.**, v. 77, p.131-140, 2004.

VILLAFRANCA, A. C. **Avaliação da espectrometria de absorção atômica com nebulização térmica em tubo aquecido em chama (TS-FF-AAS) para determinação de Cd, Cu, Pb e Zn em álcool combustível e óleo diesel.** 2004. 144 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

VOGEL, A. **Química analítica quantitativa.** 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1992.

VOLYNSKY, A. B. Application of graphite tubes modified with high-melting carbides in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 53, n. 4, p. 509-535, 1998.

WELZ, B.; SCHLEMMER, G.; MUDAKAVI, J. R. Palladium nitrate- magnesium nitrate modifier for electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 5. Performance for the determination of 21 elements. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 7, p. 1257-1271, 1992.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic absorption spectrometry.** 3rd ed. Weinheim: Wiley-VCH, 1999.

WONDIMU, T.; GOESSLER, W.; IRGOLIC, K. J. Microwave digestion of “residual fuel oil” (NIST SRM 1634b) for the determination of trace elements by inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 367, p. 35-42, 2000.

WOODS, G. D.; FRYER, F. I. Direct elemental analysis of biodiesel by inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 389, p. 753-761, 2007.

ZIĘBA-PALUS, J.; KOŚCIELNIAK, P. An analysis of the similarity of motor oils on the basis of their elemental composition. **Forensic. Sci. Int.**, v. 112, p. 81-90, 2000.